Diplomarbeit

Therapeutische Optionen zur Reduktion von Advanced Glycation End Products bei Patienten mit Diabetes mellitus

eingereicht von

Philipp Hermann Jud

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Institut / Klinik für Endokrinologie und Stoffwechsel

unter der Anleitung von Betreuer

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Harald Sourij

Feldbach, 31.01.2015

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Feldbach, am 31.01.2015 *Philipp Hermann Jud eh*

Vorwort

Die vorliegende Diplomarbeit befasst sich mit dem Diabetes mellitus Typ 1 und 2, insbesondere in Bezug auf Advanced glycation end products (AGEs), sowie den therapeutischen Möglichkeiten zur Reduktion der AGEs. Im ersten Teil der Diplomarbeit wird sowohl auf das Krankheitsbild des Diabetes mellitus als auch auf die AGEs, u.a. auf deren Entstehung und Auswirkungen auf den Organismus, eingegangen. Der zweite Teil befasst sich mit den medikamentösen und nicht medikamentösen Therapieoptionen zur Reduktion der AGEs. Im dritten Teil der Diplomarbeit, der Diskussion, erfolgt die kritische Zusammenfassung der vorhandenen Daten sowie ein subjektiver Ausblick auf zukünftige Therapieansätze zur Reduktion der AGEs aus Sicht des Autors.
In dieser Diplomarbeit wird auf eine gendergerechte Formulierung verzichtet, um die Lesbarkeit zu erleichtern. Es wird jedoch darauf hingewiesen, dass sich die Diplomarbeit an beide Geschlechter richtet, sofern es nicht anderwertig im Text vermerkt wurde.

Danksagungen

Ich möchte mich bei meinen Eltern und bei meinem Bruder, die mich während des Studiums und die Jahre davor unterstützt haben, sowie bei meiner Freundin Stefanie, die mir zusätzlichen sozialen Rückhalt in dieser Zeit gegeben hat, für die Motivation und Engagement bei der Erstellung meiner Diplomarbeit recht herzlich bedanken.
Ein weiterer Dank gilt Herrn Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Harald Sourij für seine Unterstützung, Betreuung, und Kritik bei der Erstellung dieser Diplomarbeit.

Zusammenfassung

Advanced glycation end products (AGEs) sind Makromoleküle, die in verschiedenen Geweben und Organen abgelagert werden und mit dem Rezeptor für AGEs (RAGE) interagieren können. Sie spielen in der Pathogenese des Diabetes mellitus eine wichtige Rolle und sind für die Entwicklung von vielen diabetischen Komplikationen und anderen Erkrankungen, wie dem Morbus Alzheimer, mitentscheidend. Daher wurden in letzter Zeit diverse therapeutische Ansätze entwickelt, um die AGE-Vernetzungen aufzubrechen, die Bildung der AGEs zu inhibieren oder die RAGE-Interaktion zu blockieren. Diese Ansätze reichen von AGE-Cross-link Breaker und AGE-Inhibitoren, über RAGE-Antagonisten bis hin zu natürlichen therapeutischen Ansätzen aus der Ernährung und Phytotherapie. Medikamente, die bereits die klinische Zulassung erhalten haben und in der antidiabetischen Therapie eingesetzt werden, wie Antihypertensiva, Statine oder orale Antidiabetika, scheinen ebenfalls einen AGE-inhibierenden und RAGE-antagonisierenden Effekt zu besitzen.
Diese Literaturrecherche fasst die möglichen therapeutischen Optionen gegen AGEs zusammen und betrachtet diese Optionen kritisch. Die Ergebnisse jener therapeutischen Optionen beruhen zumeist auf in vitro- und in vivo-Studien am Tiermodell und waren durchaus überzeugend. Allerdings wurden jene Resultate in klinischen Studien am Menschen kaum wiedergegeben und sind weiterhin inkonklusiv. Nach der momentanen Datenlage kann man somit nicht behaupten, dass diese neu entwickelten Wirkstoffe und die natürlichen therapeutischen Ansätze gegen die AGEs effektiv in der Behandlung von diabetischen Komplikationen seien.

Abstract

Advanced glycation end products (AGEs) are macromolecules, which are deposited in different tissues and can interact with the receptor for AGEs (RAGE). Thus AGEs contribute to the development of many diabetic complications and other diseases, like Alzheimer disease. Recently many therapeutic approaches have been developed to break up AGE-cross-links, inhibit the formation of AGEs or to block the RAGE interaction. These approaches range from AGE-cross-link breakers and AGE inhibitors over RAGE antagonists to natural options like nutrition, foods and herbal medicine. Drugs, which are already clinically proven and are used in the anti-diabetic therapy like antihypertensives, statins or oral anti-diabetic drugs, seem to have an AGE-inhibiting and RAGE-antagonizing effect too.

This review discusses the individual therapeutic options against the AGEs. Most results of these therapeutic options are found in vitro and in vivo on animals. The studies supplied quite convincing results but hardly any study does this in vivo on human beings in a clinical trial. The data are still not clear or do not provide conclusive results than you can say that these newly developed drugs and natural options against AGEs are effective in the treatment of diabetic complications.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort **3**

Danksagungen **4**

Zusammenfassung **5**

Abstract **6**

Inhaltsverzeichnis **7**

Glossar und Abkürzungen **10**

Abbildungsverzeichnis **12**

Tabellenverzeichnis **14**

1. Methoden und Literaturrecherche **15**

2. Epidemiologie des Diabetes mellitus **16**

3. Typen des Diabetes mellitus und Ursache **17**

4. Pathogenese des Diabetes mellitus **18**
4.1. AGE **19**
4.1.1. Pentosidin 19
4.1.2. Argpyrimidin 19
4.1.3. Glucosepan 19
4.1.4. CML & CEL 19
4.1.5. Imidazol-Derivate 19
4.2. RAGE **21**
4.3. Polyol-Mechanismus **23**
4.4. PKC-Weg **23**
4.5. Hexosamin-Weg **23**

5. Entstehung der AGEs **24**

6. Auswirkungen/Vorgänge von AGEs/RAGE auf den Körper **27**
6.1. Diabetische Mikroangiopathie **27**
6.1.1. Diabetische Nephropathie 28
6.1.1.1. Vorgänge bei der diabetischen Nephropathie 28
6.1.2. Diabetische Retinopathie 29
6.1.2.1. Vorgänge bei der diabetischen Retinopathie 30
6.1.3. Diabetische Neuropathie 31
6.1.3.1. Vorgänge bei der diabetischen Neuropathie 31
6.2. Diabetische Makroangiopathie **31**
6.2.1.1. Vorgänge der diabetischen Makroangiopathie 32
6.3. Weitere diabetische Folgeerkrankungen und nicht diabetische Erkrankungen im Zusammenhang mit AGEs/RAGE **34**

7. Abbau/Ausscheidung der AGEs **36**

8. Diagnostik/Messung der AGEs **37**

9. Therapieoptionen gegen AGEs **40**
9.1. AGE-Cross-link Breaker **40**
9.1.1. Alagebrium 41
9.1.1.1. Kardiovaskuläre Wirkungen 41
9.1.1.2. Renale Wirkungen 44
9.1.1.3. Weitere Wirkungen 45

9.1.1.4. Nebenwirkungen 47
9.1.2. Weitere AGE-Cross-link Breaker 47
9.1.2.1. C16 & C36 47
9.1.2.2. PTB 48
9.1.2.3. TRC4186 & TRC4149 48
9.1.2.4. 2,3-Diaminophenazin 50
9.2. AGE-Inhibitoren 50
9.2.1. Aminoguanidin/Pimagedin 51
9.2.1.1. Renale Wirkungen 52
9.2.1.2. Okluäre Wirkungen 54
9.2.1.3. Neuronale Wirkungen 55
9.2.1.4. Weitere Wirkungen 56
9.2.1.5. Nebenwirkungen 57
9.2.2. Carnosin 57
9.2.2.1. Okuläre Wirkungen 58
9.2.2.2. Metabolische und renale Wirkungen 60
9.2.2.3. Kardiovaskuläre Wirkungen 61
9.2.2.4. Weitere Wirkungen 62
9.2.3. Pyridoxamin 62
9.2.3.1. Renale Wirkungen 63
9.2.3.2. Weitere Wirkungen 65
9.2.3.3. Nebenwirkungen 66
9.2.4. Benfotiamin (milgamma® protekt) 67
9.2.4.1. Neuronale Wirkungen 67
9.2.4.2. Weitere Wirkungen 69
9.2.5. Weitere AGE-Inhibitoren 70
9.2.5.1. ALT-462, ALT-486, ALT-946 70
9.2.5.2. OPB-9195 71
9.2.5.3. LR-9, LR-74, LR-90 72
9.2.5.4. Tenilsetam 74
9.2.5.5. TM2002 75
9.3. RAGE-Antagonisten/RAGE-Blocker 75
9.3.1. sRAGE 75
9.3.2. RAGE-Inhibitoren 76
9.3.2.1. TTP488/PF-04494700 77
9.3.2.2. TTP4000 77
9.3.3. RAGE-Antikörper 78
9.4. Bereits verwendete Medikamente mit Anti-AGE-Wirkung 78
9.4.1. Insulin-Sensitizer 78
9.4.1.1. Pioglitazon (Actos®) 80
9.4.1.2. Rosiglitazon (Avandia®) 81
9.4.2. Biguanide 81
9.4.2.1. Metformin 81
9.4.2.2. Buformin (Silubin®) & Phenformin 83
9.4.3. Weitere Antidiabetika 83
9.4.3.1. Acarbose (Glucobay®, Precose®) 83
9.4.3.2. Exenatid (BYETTA®) 84
9.4.3.3. Linagliptin (Trajenta®), Sitagliptin (Januvia®), Vildagliptin (Galvus®), Alogliptin (Vipidia®) 84
9.4.3.4. Glimepirid (Amaryl®), Gliclazid (Diamicron®), Gliquidon (Glurenorm®) 85
9.4.3.5. Repaglinid (Prandin®), Nateglinid (Starlix®) 85

9.4.4. AT_1-Antagonisten/ACE-Hemmer 86
9.4.5. Calciumantagonisten 88
9.4.5.1. Amlodipin (Norvasc®), Azelnidipin (Calblock®), Nifedipin (Adalat®) 89
9.4.6. Statine 90
9.4.7. Weitere Medikamente 92
9.4.7.1. Acetylsalicylsäure (Aspirin®) 92
9.4.7.2. Pentoxifyllin 92
9.4.7.3. Sevelamer 92
9.4.7.4. N-Acetyl-Cystein 93
9.4.7.5. α-Liponsäure 93
9.5. Ernährung & Phytotherapie 94
9.5.1. Ernährung 94
9.5.1.1. Polyphenole 99
9.5.1.2. Vitamin C und E 100
9.5.1.3. Weitere natürliche Stoffe 100
9.5.1.4. Ernährungsweisen 101
9.5.2. Phytotherapie 101
10. Diskussion 104
11. Literaturverzeichnis 108

Glossar und Abkürzungen

3-DG 3-Deoxyglucoson
4-HNE 4-Hydroxy-2,3-nonenal
ACE ..... Angiotensin Converting Enzyme
ACTION I ..... A Clinical Trial in Overt Nephropathy of Type 1 Diabetics
ACTION II ..... Aminoguanidine Clinical Trial in Overt Type 2 Diabetic Nephropathy
AGE ..... Advanced glycation end product
ALADIN ..... Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy
ALE ..... Advanced lipoxidation end product
ANCA ..... Anti-Neutrophile zytoplasmatische Antikörper
aNP ..... Autonome Neuropathie
Apo A1 ..... Apolipoprotein A1
Apo E ..... Apolipoprotein E
AT-R1 ..... Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp 1
ATP ..... Adenosintriphosphat
BEDIP ..... Benfotiamine in the treatment of diabetic polyneuropathy
BENDIP ..... Benfotiamine in diabetic polyneuropathy
BMI ..... Body Mass Index
BNP ..... Brain natriuretic peptide
CEL ..... N(6)-Carboxyethyllysin
cGMP ..... Zyklisches Guanosinmonophosphat
CML ..... N(6)-Carboxymethyllysin
cRAGE ..... Cleaved-type soluble RAGE
CRP ..... C-reaktives Protein
CTGF ..... Connective tissue growth factor
DCCT ..... Diabetes Control and Complications Trail
DDP-4 ..... Dipeptidylpeptidase 4
DEKAN ..... Deutsche Kardinale Autonome Neuropathie
Diastol. RR ..... Diastolischer Blutdruck
DNA ..... Desoxyribonukleinsäure
DOLD ..... Deoxyglucoson-Lysindimer
EDIC ..... Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study
eGFR ..... Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
eNOS ..... Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
esRAGE ..... Endogenous secretory RAGE
ETDRS ..... Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study
FAD/$FADH_2$ ..... Flavin-Adenin-Dinukleotid
gBM ..... Glomeruläre Basalmembran
GFR ..... Glomeruläre Filtrationsrate
GIP ..... Glukoseabhängiges insulinotropes Peptid
GLO ..... Glyoxalase
GLP-1 ..... Glucagon-like Peptid 1
GLUT4 ..... Glukose-Transportprotein Typ 4
GOLD ..... Glyoxal-Lysindimer
GTP ..... Guanosintriphosphat
HDL ..... High density lipoprotein
HLA ..... Humanes Leukozytenantigen
HMG-CoA 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
Hsp27 ..... Hitzeschockprotein 27
HZV ..... Herzzeitvolumen
i.p. ..... Intraperitoneal

i.v. ..... Intravenös
IC50 ..... Mittlere inhibitorische Konzentration
ICAM ..... Intercellular Adhesion Molecule
IL ..... Interleukin
iNOS ..... Induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
JNK ..... c-Jun-N-terminale Kinase
KG ..... Körpergewicht
KHK ..... Koronare Herzerkrankung
LDL ..... Low density lipoprotein
MAD ..... Malondialdehyd
MAP-K ..... Mitogenaktivierte Proteinkinase
MCP-1 ..... Monocyte chemotactic protein 1
MG ..... Methylglyoxal
MHC ..... Major histocompatibility complex
MOLD ..... Methylglyoxal-Lysindimer
mRNA ..... Messenger Ribonukleinsäure
NAC ..... N-Acetylcarnosin
NADH ..... Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH ..... Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NF-κB ..... Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NOS ..... Stickstoffmonoxid-Synthase
NYHA ..... New York Heart Association
ODC ..... Octyl-D-Carnosin
OLETF ..... Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty
ox-LDL ..... Oxidiertes low density lipoprotein
p.o. ..... Peroral
PAI-1 ..... Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1
pAVK ..... Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCOS ..... Polyzystisches Ovar-Syndrom
PDGF ..... Platelet-derived growth factor
PI3K Phosphoinositid-3-Kinase
PKC ..... Proteinkinase C
pNP ..... Periphere Polyneuropathie
PPAR ..... Peroxisome-proliferator-activated receptor
RAAS ..... Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RAGE ..... Rezeptor für Advanced glycation end products
ROS ..... Reaktive Sauerstoffradikale
s.c. ..... Subcutan
sRAGE ..... Soluble RAGE
STZ ..... Streptozotozin
Syst. RR ..... Systolischer Blutdruck
TGF ..... Transforming Growth Factor
TNF-α ..... Tumor-Nekrose-Faktor α
UKPDS ..... UK Prospective Diabetes Study
VCAM ..... Vascular cell adhesion molecule
VEGF ..... Vascular endothelial growth factor
α-SMA ..... α-smooth muscle actin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: 5 Wege der ROS-Bildung durch die Hyperglykämie. 18

Abbildung 2: Chemische Strukturen von AGEs. 20

Abbildung 3: Chemische Strukturen von AGE-Präkursorsubstanzen. 21

Abbildung 4: Intrazelluläre Signalkaskade der RAGE-Aktivierung. 22

Abbildung 5: Maillard-Reaktion bis zum Amadori-Produkt. 25

Abbildung 6a & 6b: Modelle des AGE-Readers & Unterarmmessung des AGE-Readers. 37

Abbildung 7: Chemische Strukturformeln der AGE-Cross-link Breaker. 41

Abbildung 8: Veränderungen diverser kardiovaskulärer Parameter bei Patienten durch Alagebriumgabe (70mg dreimal täglich p.o.) am 28. und am 56. Tag. 44

Abbildung 9: Veränderung der erektilen Funktion bei Ratten, gemessen mittels des Verhältnisses zwischen intrakavernösem Druck (ICP) und mittlerem arteriellem Druck (MAP). 46

Abbildung 10: Immunhistochemische Markierung von penilem Ratten-Gewebe. 46

Abbildung 11: Verbesserung der kardialen Funktion, gemessen durch das HZV, an diabetischen hypertensiven Ratten durch TRC4186, verglichen zur diabetischen Kontrollgruppe. 49

Abbildung 12a & 12b: Immunhistochemische Markierung der aortalen Gefäßwand. 49

Abbildung 13: Chemische Struktur des Aminoguanidin. 51

Abbildung 14: Histomorphologische Bilder der Nierenrinde. 53

Abbildung 15: Durchschnittliche Veränderung der Proteinurie durch 150mg Aminoguanidin und 300mg Aminoguanidin. 54

Abbildung 16: AGE-spezifische Floureszenz-Mikroskopierbilder der retinalen Gefäße. 55

Abbildung 17: Durchschnittliche Nervenfaserdicke von Ratten. 56

Abbildung 18: Chemsiche Struktur des Carnosin. 57

Abbildung 19a & 19b: Veränderung der Kataraktformation durch 1%-NAC-Tropfen (Can-C™) am menschlichen Auge. 59

Abbildung 20: Chemsiche Struktur des Pyridoxamin. 62

Abbildung 21: Verlauf des Plasma-Kreatinin-Wertes an Ratten. 64

Abbildung 22: Durchschnitts-Plasmatriglyzeridwerte von Ratten. 64

Abbildung 23: Durchschnittliche Veränderung des Serumkreatinins aller Probaden bei Williams et al. durch Pyridoxamin im Vergleich zur Placebogruppe. 65

Abbildung 24: Chemsiche Struktur des Benfotiamin. 67

Abbildung 25a & 25b: Durchschnittliche Reduktion des Neuropathy Symptom Score (NSS) durch 600mg bzw. 300mg Benfotiamin sowie durch Placebo. 68

Abbildung 26: Durchschnittliche Reduktion einzelner Symptome (Schmerz, Taubheit, Brennen, Parästhesie) des Total Symptom Score (TSS) in der Intention-to-treat-Population durch 600mg Benfotiamin täglich. 69

Abbildung 27: Chemische Strukturformeln weiterer AGE-Inhibitoren. 70

Abbildung 28: Immunhistochemische Markierungen für diverse Gewebsproteine bei Zucker lean-Ratten (ZL), unbehandelten diabtetischen Zucker-Ratten (ZDF) und mit LR-90 behandelten (50mg/l Trinkwasser) diabetischen Zucker-Ratten (ZDF90)..... 73

Abbildung 29: Plaquefläche und -anzahl bei diabetischen Mäusen in der Aorta. 76

Abbildung 30: Post-Futility-Analyse der Durchschnittsveränderung des Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive subscale (ADAS-cog) vom Anfang über die 18-monatige Studiendauer durch TTP488 (unter Einbezug aller Daten). 77

Abbildung 31: Veränderungen auf die ICAM-1 und die TGF-β Genexpression in renalen Tubuluszellen durch Metformin. 82

Abbildung 32: AGE-Inhibierung durch Metformin, Buformin und Aminoguanidin. 83

Abbildung 33: Immunhistochemische Markierungen für renale AGE-Ablagerungen in Ratten. 88

Abbildung 34: Immunhistochemische Markierungen für RAGE und AGEs in atheromatösen Plaques von menschlichen Probanden. 91

Abbildung 35: Auswahl an Obst-, Gemüse und Gewürzsorten für die eine AGE-inhibierende Wirkung beschrieben wurde..... 95

Abbildung 36a & 36b: *Panax ginseng* (Abb. 36a Wurzel, Abb. 36b Beere)..... 102

Abbildung 37a, 37b, 37c: Weitere Pflanzen, deren Bestandteile als Phytopharmaka zur AGE-Senkung potenziell verwedet werden können. 102

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: In vitro-Prozentsatz der Glykierung vom humanen LDL-Cholesterins. 60

Tabelle 2: Mögliche Wirkweisen diverser Insulin-Sensitizer zur AGE-Hemmung und RAGE-Blockierung 79

Tabelle 3: IC50-Werte der Pentosidinbildung von verschiedenen ACE-Hemmern und AT_1-Antagonisten während der Inkubation mit bovinem Serumalbumin und Arabinose. 86

Tabelle 4: CML- und Pentosidinwerte in pmol/ml. 89

Tabelle 5: Nahrungsmittel, für die glykationshemmende Effekte beschrieben wurden. 96

Tabelle 6: Lebensmittel und ihre AGE-Last (basierend auf dem CML-Gehalt der einzelnen Lebensmittel). 97

Tabelle 7: Phytopharmaka und ihre Effekte auf die AGE/RAGE-Achse. 102

1. Methoden und Literaturrecherche

Die Literaturrecherche wurde vorwiegend mit Reviews, Papers und Artikeln aus Fachjournalen durchgeführt, die direkt in Pubmed Central database (US National Institutes of Health free digital archive of biomedical and life sciences journal literature) gefunden sowie indirekt aus Referenzlisten der in Pubmed gefundenen Reviews, Papers und Artikeln entnommen und zitiert wurden. Zudem wurde auch mit anderen Literaturformen, wie Büchern, Zeitungen und Internetseiten, nach therapeutischen Optionsmöglichkeiten zur AGE-Reduktion gesucht. Über Pubmed wurden hauptsächlich Publikationen auf Englisch bzw. anderssprachigen Publikationen mit englischem Abstract für diese Literaturrecherche herangezogen. Wenige Publikationen waren komplett anderssprachig. Herangezogene Bücher waren vorwiegend auf Deutsch, während herangezogene Internetseiten vorwiegend auf Englisch waren. Verwendete Medical Subject Headings/MESH-Schlagwörter umfassten *glycation*, *advanced glycation end products*, *RAGE* in Kombination mit *diabetes*, *therapy, treatment*, *trial* sowie die Namen der nachfolgenden Wirkstoffe und Therapieoptionen. Geeignete Fachjournal-Literatur wurde aufgrund des Abstracts ausgewählt und, sofern möglich, in ihrer Gesamtarbeit genau durchgelesen, betrachtet und, falls jene als geeignet erschien, in diese Literaturrecherche aufgenommen. Ebenso wurden aus den Referenzlisten mancher Fachliteratur Referenzen entnommen, überprüft und, wenn jene als geeignet erschienen, in diese Literaturrecherche einbezogen und zitiert. 571 Zitate wurden als geeignet bewertet und in jene Literaturrecherche aufgenommen. Es wurden Bücher (n=4), Internetseiten (n=12) sowie Reviews, Papers und Artikeln von Fachjournalen (n=555) zitiert, die den Zeitraum von 1900-2014 umfassen. Mitunter wurden präklinische in vitro und tierexperimentelle in vivo Studien sowie klinische Studien bis Phase III herangezogen und zitiert.

2. Epidemiologie des Diabetes mellitus

Weltweit sind nach der International Diabetes Federation bis zum Jahr 2013 382 Millionen Menschen an Diabetes mellitus erkrankt, dessen Inzidenz als auch Prävalenz in den kommenden Jahren weiter ansteigen werden, weshalb die International Diabetes Federation auch annimmt, dass die Zahl der an Diabetes mellitus erkrankten Menschen 2035 bei ca. 592 Millionen liegen wird (1). Etwa 90% sind dabei an Typ 2 Diabetes mellitus erkrankt, während es für Typ 1 Diabetes mellitus lediglich 5-10% sind (2). In Industrienationen und Schwellenländern stellt Typ 2 Diabetes mellitus und die damit assoziierten Folgeerkrankungen auch ein großes gesundheitsökonomisches Problem dar. Dennoch leben ca. 80% der an Diabetes mellitus-Erkrankten in niedrig entwickelten Ländern. Die höchsten Zahlen an Diabetes mellitus-Erkrankten zwischen 20 und 79 Jahren weist China auf, gefolgt von Indien und den USA, hingegen findet man die höchsten Prävalenzraten für diese Altersgruppe in Ozeanien (Tokelau 37,49%) (1). Für die Zukunft wird angenommen, dass in den nächsten Jahren und Jahrzehnten die Inzidenz und die Zahl der an Diabetes mellitus-Erkrankten, besonders in Entwicklungsländern, stärker ansteigen wird. Dies ist zum einen auf die Urbanisierung und zum anderen besonders auf die Lebensstiländerung in diesen Ländern zurückzuführen. Vor allem die „westliche Ernährung“ und der „westliche Lifestyle“ werden für diese Anstiege verantwortlich gemacht. In Österreich waren 2013 fast 590.000 Menschen an Diabetes mellitus erkrankt, für 2035 wird angenommen, dass diese Zahl auf über 750.000 anwachsen wird (3).

Diabetes mellitus geht mit einer Reihe von Folgeerkrankungen einher und erhöht das Risiko viele weitere Erkrankungen zu entwickeln. Bei Diabetikern entstehen, im Vergleich zur gesunden Population, leichter und schneller kardiovaskuläre Erkrankungen und ihr Risiko, an diesen zu versterben, ist doppelt so hoch (4). Die diabetische Retinopathie ist in höher entwickelten Ländern die häufigste Ursache der Erblindung (5), während die diabetische Nephropathie weltweit am häufigsten zur chronischen Niereninsuffizienz führt (6). Zudem zeigen Patienten mit Diabetes mellitus, neben diesen mikrovaskulären Erkrankungen, auch ein erhöhtes Risiko für makrovaskuläre Krankheiten, welche durch die beschleunigte Atherosklerose getriggert wird, wie Myokardinfarkt, pAVK und Insult (7,8). Weiterhin haben Diabetiker auch eine erhöhte Prävalenz eine kognitive Beeinträchtigung, darunter auch Morbus Alzheimer, eine pNP, Katarakt sowie eine erektile Dysfunktion zu bekommen (9,10,11,12). In der Schwangerschaft sorgt eine diabetogene Stoffwechsellage für ein erhöhtes Risiko, dass das Neugeborene eine diabetische Embryopathie oder eine diabetische Fetopathie entwickelt. Doch nicht nur das Ungeborene wäre betroffen, auch neigt eine Schwangere mit Diabetes mellitus leichter dazu, eine Präeklampsie, eine Vaginalcandidose sowie Harnwegsinfekte zu bekommen, darunter auch aszendierende Entzündungen mit der Gefahr einer Pyelonephritis. Neben den Faktoren, die bei diesen diabetischen Komplikationen häufig koinzidieren und vorzeitig zu einem diabetogenen Metabolismus führen können, wie Nikotinabusus, ein hochkalorischer Ernährungsstil und Bewegungsmangel, ist der erhöhte Blutzuckerspiegel, insbesondere eine chronische Hyperglykämie, für die Entstehung des Diabetes mellitus und seiner Folgekomplikationen entscheidend. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Hyperglykämie und vaskulären Komplikationen konnte durch groß angelegte prospektive Studien, nämlich durch die DCCT und UKPDS, nachgewiesen werden (13,14).

3. Typen des Diabetes mellitus und Ursache

Es gibt verschiedene Typen des Diabetes mellitus, die wichtigsten sind dabei der Typ 1 und der Typ 2 Diabetes mellitus. Beim Typ 1 Diabetes mellitus ist die Ursache ein Autoimmunprozess, bei dem die Beta-Zellen des Pankreas durch körpereigene T- und B-Lymphozyten zerstört werden, wodurch ein konsekutiver Insulinmangel entsteht, der zur diabetogenen Stoffwechsellage führt. Noch kennt man nicht die genaue Ätiologie, wieso es zu dieser Autoimmunreaktion kommt. Vermutet wird derzeit ein multifaktorielles Geschehen, bei dem genetische Komponenten und Umweltfaktoren eine Rolle spielen. Umweltfaktoren, die auf die Entstehung Einfluss nehmen können, wären Viren, darunter Coxsackie- und Rötelnviren, sowie Kuhmilch. Man nimmt an, dass Antikörper, die gegen Virusantigene und gegen die in der Kuhmilch enthaltenen Proteine gerichtet sind, mit den körpereigenen HLA-Molekülen der Beta-Zellen kreuzreagieren, diese zerstören und dadurch zum Insulinmangel führen können (15,16). Auch scheint ein Vitamin D-Mangel im Neugeborenenalter Typ 1 Diabetes mellitus zu begünstigen und eine Supplementierung mit 2000 IE Vitamin D pro Tag ist mit einem geringeren Risiko, einen Typ 1 Diabetes mellitus zu bekommen, assoziiert (17).
Genetische Ursachen konnten vor allem auf Aberrationen auf dem kurzen Arm vom Chromosom 6 zurückgeführt werden. Dort befindet sich die MHC-Region und Gene eben jener Region besitzen Informationen für Oberflächenproteine von Körperzellen. Durch Mutationen werden diese HLA-A und HLA-B Gene verändert, wodurch körpereigene Zellen vom Immunsystem als fremd erkannt werden können und wodurch es schließlich zu einer Autoimmunreaktion kommen kann (18).
Während der Typ 1 Diabetes mellitus für lediglich 5-10% der Diabetesfälle verantwortlich ist, ist der Typ 2 Diabetes mellitus, wie bereits oben erwähnt, für ca. 90% verantwortlich. Typ 2 Diabetes mellitus entsteht durch eine Kombination aus Insulinresistenz und dysfunktionale pankreatische Beta-Zellen, zudem begünstigen Übergewicht und eine Ernährung, die durch eine hohe glykämische Last sowie durch ein Zuviel an Zucker, gesättigten und trans-Fettsäuren charakterisiert ist, diese Entstehung (19,20). Übergewicht führt zu einer Zunahme des Fettgewebes, insbesondere des viszeralen Fettes. Das viszerale Fett bildet diverse Zytokine und chemische Botenstoffe, die wiederum Effekte auf andere Organe, wie die Leber, haben. Bei Übergewichtigen resultiert aus der Zunahme des Fettgewebes eine vermehrte Produktion von Zytokinen, die den Transkriptionsfaktor NF-κB aktivieren, welcher eine Entzündungsreaktion in Gang setzt, die schließlich über längere Zeit zur Insulinresistenz führen kann (21). Die exakte Entstehungsweise der Insulinresistenz ist noch nicht ganz geklärt, allerdings führt die Insulinresistenz zu einer Down-Regulation des GLUT4 im Muskel- und Fettgewebe, wodurch diese die Glukose nicht mehr aufnehmen können. Die Folge ist eine Hyperglykämie.
Auch scheint bei der Insulinresistenz das Retinol Binding Protein 4 eine wichtige Rolle zu spielen. Die Menge des Retinol Binding Protein 4 steigt bei Übergewichtigen stark an und führt dazu, dass Insulin an Muskel- und Leberzellen kaum mehr eine Wirkung zeigt (22,23).
Weitere Risikofaktoren, die Typ 2 Diabetes mellitus begünstigen, sind unzureichende Bewegung, Stress, Nikotinabusus, ein verminderter Vitamin D-Spiegel und ein Mangel an Melatonin, der durch ungenügenden Schlaf zustande kommt (24,25). Auch scheint die individuelle Genetik, wie beim Typ 1 Diabetes mellitus, eine Rolle zu spielen, wenn auch nur eine geringere als beim Typ 1. 2011 wurde angenommen, dass mindestens 36 Gene für die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes mellitus mitverantwortlich sein können (26). Diese Zahl dürfte mittlerweile angestiegen sein.

4. Pathogenese des Diabetes mellitus

Gemeinsamer Endpunkt sowohl vom Typ 1 als auch vom Typ 2 Diabetes mellitus ist die Hyperglykämie. Wie stark sich die Hyperglykämie auf den Metabolismus und in weiterer Folge auf die diabetischen Folgeerkrankungen auswirkt, wird aber von Faktoren beeinflusst, die bei jedem Diabetiker unterschiedlich stark ausgeprägt sind. Zu jenen Faktoren, die die Manifestation des Diabetes mellitus beschleunigen und den Einfluss der Hyperglykämie verstärken können, zählen vor allem eine begleitende Dyslipidämie, Hypertonus, Rauchen, erhöhter Alkoholkonsum und auch eine gewisse genetische Veranlagung (27).

Es wird angenommen, dass die Hyperglykämie sowohl über eine direkte Glykierung von Lipiden, Proteinen und DNA als auch über fünf Wege zu einer Schädigung der Gewebszellen führt (28). Über eine vermehrte Bildung von AGEs, eine vermehrte Expression des RAGE und seiner Liganden, eine erhöhte Verwertung der Glukose über den Polyol-Weg, über die Aktivierung der PKC und über eine erhöhte Aktivität des Hexosamin-Weges. Während eines normalen Blutzuckerspiegels wird Glukose über die Glykolyse im Zitratzyklus abgebaut, im hyperglykämen Zustand jedoch vermehrt auch über diese fünf Wege. Besonders Zellen, die ihre Glukoseaufnahme nicht gut steuern können, sind davon betroffen. Dazu zählen Endothel- und Nervenzellen (29,30). Diese fünf Wege scheinen sich gegenseitig zu beeinflussen und einen gemeinsamen Endpunkt zu haben. Sie führen zu einer gesteigerten mitochondrialen Produktion von ROS (28). Normalerweise werden in der Atmungskette Elektronen von NADH und $FADH_2$, die im Zitratzyklus entstanden sind, durch die vier Komplexe transportiert und Protonen in den Intermembranraum gepumpt. Es bildet sich dadurch ein Protonengradient aus, der zur Bildung von ATP dient. Dabei werden die Elektronen und Protonen auf O_2 übertragen, wodurch sich H_2O bildet. Im Falle der Hyperglykämie wird mehr Pyruvat, NADH und $FADH_2$ im Zitratzyklus gebildet, wodurch mehr Elektronen als Protonen in der Atmungskette zur Verfügung stehen, die mit O_2 zu Superoxid-Radikalen ($O_2^{\cdot -}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Hydroxyl-Radikalen ($HO^{\cdot}$) reagieren. Allerdings können diese Wege auch über andere Mechanismen Einfluss auf die Entstehung und Komplikationen des Diabetes mellitus haben, insbesondere AGEs und RAGE haben hierfür mehrere Möglichkeiten.

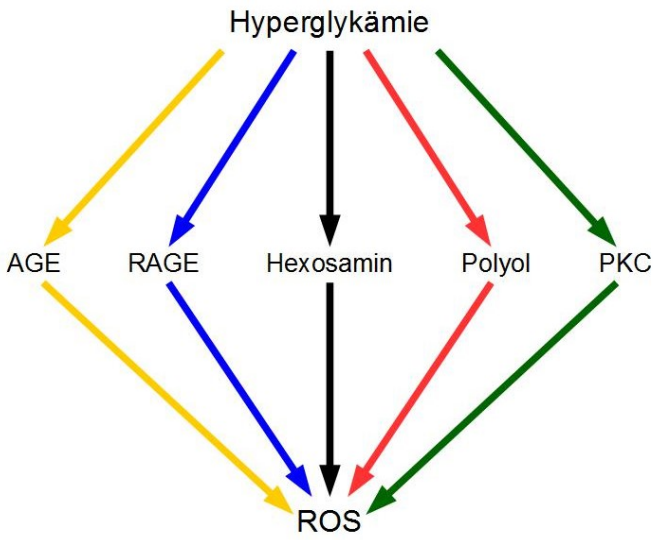

Abbildung 1: 5 Wege der ROS-Bildung durch die Hyperglykämie

4.1. AGE

Advanced Glycation End products scheinen in der diabetischen Pathogenese, besonders bei den mikrovaskulären Erkrankungen, eine Schlüsselrolle einzunehmen. AGEs sind Makromoleküle, die durch eine nicht enzymatische Reaktion (Maillard-Reaktion) aus Proteinen, DNA und Lipiden mit reduzierenden Kohlenhydratmolekülen, in vivo meist Glukose und Carbonylverbindungen, entstehen (31). AGEs im engeren Sinne sind lediglich Glykoxidationsprodukte, die durch die Maillard-Reaktion im Kohlenhydratstoffwechsel entstehen. Im weiteren Sinne zählen zu den AGEs auch die ALEs. ALEs gehen aus einer Reaktion von Carbonylen, welche aus einer Lipidperoxidation im Fettsäuremetabolismus entstehen, mit Proteinen, DNA und Lipiden hervor.
Zu den AGEs im engeren Sinne zählen Pentosidin, Glucosepan, Vesperlysine, Pyrallin und Imidazolon-Derivate. Bekannte und erforschte Vorläufersubstanzen, die AGEs bilden können, sind Carbonyle, wie Glyoxal, MG und 3-DG. ALEs und deren Vorläufer sind MDA-Lysin und N(6)-Hexanoyllysin, sowie MAD, Acrolein und 4-HNE. Da einige Carbonyle sowohl im Fettsäure- als auch im Kohlenhydratstoffwechsel gebildet werden und man nicht unterscheiden kann, ob das Produkt nun aus einem Zucker oder aus einer mehrfach ungesättigten Fettsäure hervorging, werden die AGEs und ALEs von vielen Autoren zusammengefasst, so auch von mir, und als AGEs bezeichnet. Solche AGEs, also jene die sowohl im Kohlenhydrat- als auch im Fettsäuremetabolismus gebildet werden, wären CML, CEL, GOLD, MOLD, sowie Argpyrimidin (32).

4.1.1. Pentosidin

Pentosidin entsteht aus der Aldopentose Ribose, indem diese mit Arginin- und Lysinresten reagiert.

4.1.2. Argpyrimidin

Bildet sich entweder aus Arginin und MG oder aus Arginin und Glyceralaldehyd.

4.1.3. Glucosepan

Jene Entstehung ist noch nicht ganz aufgeklärt. Aus der Reaktion von Lysinresten mit Dicarbonylen bildet sich das α-Dicarbonyl N(6)-(2,3-dihydroxy-5,6-dioxohexyl)-L-lysinat (33). Wie es anschließend zu der Ringbildung kommt, ist noch weitestgehend unbekannt. Anschließend geht jenes Molekül eine Verbindung mit Argininresten ein, wodurch Wasser abgespalten und Glucosepan gebildet wird.

4.1.4. CML & CEL

CML entsteht, indem Fructoselysin mit ROS reagieren oder aus der Reaktion von Glyoxal bzw. 3-DG mit Lysin. CEL ist ein Produkt aus der Reaktion von MG mit einem Lysin.

4.1.5. Imidazol-Derivate

Diese können unterteilt werden in Imidazolone und Imidazolium-Verbindungen (MOLD; GOLD, DOLD). Während sich erstere aus diversen Dicarbonylen und einem Argininrest bilden, entstehen letztere aus Dicarbonylen und Lysindimeren.

Die chemische Strukturformel wichtiger AGEs und Vorläufersubstanzen sind Abb. 2 und 3 zu entnehmen.

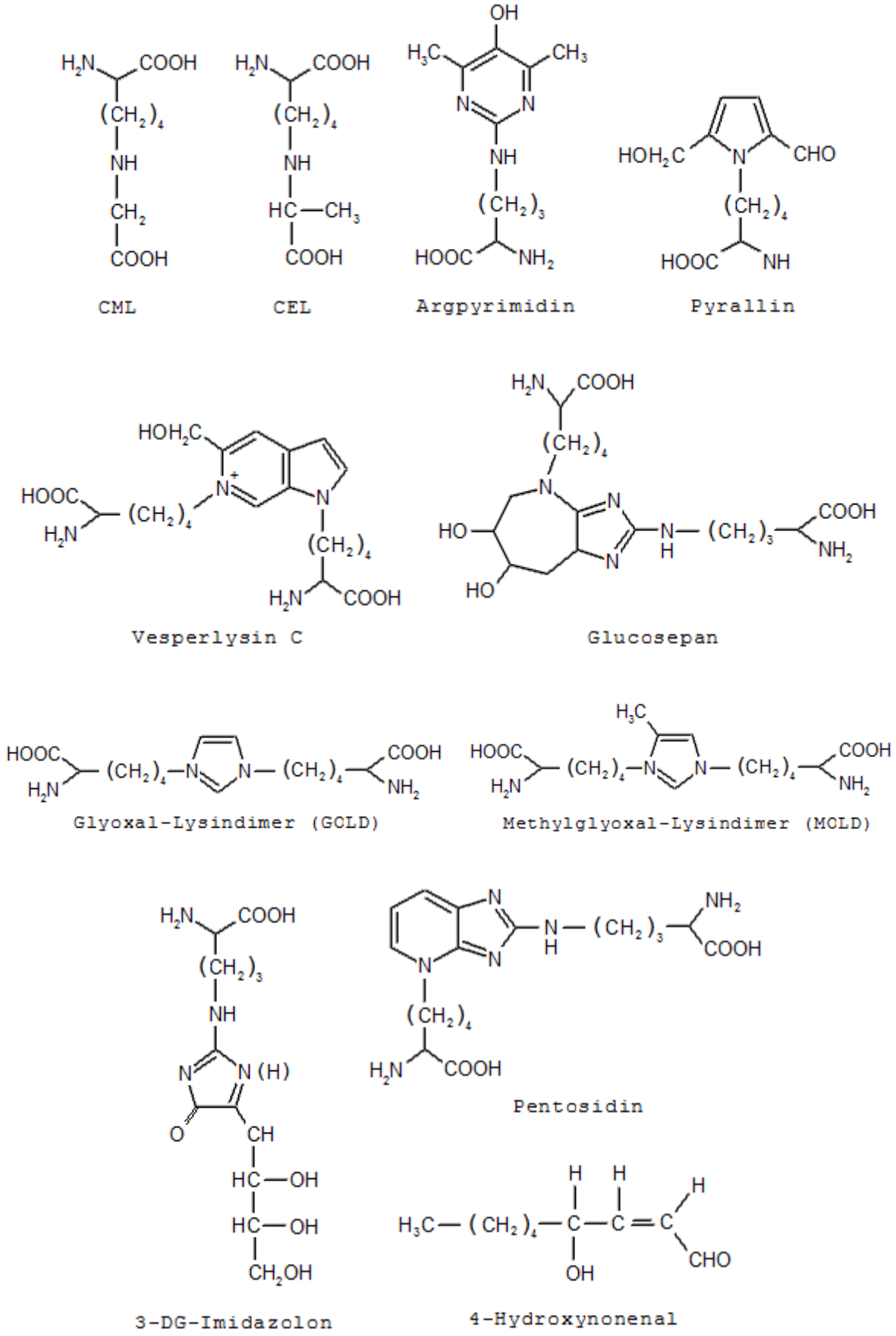

Abbildung 2: Chemische Strukturen von AGEs

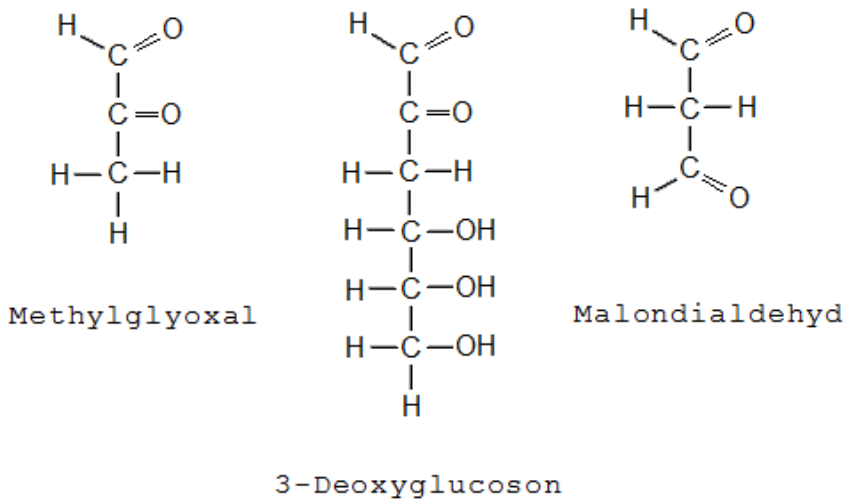

Abbildung 3: Chemische Strukturen von AGE-Präkursorsubstanzen

4.2. RAGE

RAGE ist ein Oberflächenrezeptor, der auch im normalen Gewebe vorkommt, und Mitglied der Immunoglobulin-Superfamilie ist. Er befindet sich in verschiedenen Geweben und Organen, wie z.B. auf Endothel- und Nervenzellen, sowie in Niere, Gehirn und Lunge (34). Wenn es zu einer Akkumulation von Liganden des RAGE kommt, wird auch RAGE vermehrt auf diesen Zellen und Geweben exprimiert. Neeper et al (35) bezeichneten RAGE erstmals 1992. RAGE besteht aus 5 Proteindomänen. Es gibt drei immunoglobulin-ähnliche extrazelluläre Domänen, wovon es eine variable Domäne und zwei konstante Domänen gibt. Nur die variable Domäne kann die Liganden binden. Neben den drei extrazellulären Domänen ist der RAGE aus einer transmembranen Domäne, welche den Rezeptor in der Zellmembran verankert, und aus einer kurzen, geladenen zytoplasmatischen Domäne aufgebaut. Letztere ist für die Signaltransduktion entscheidend.

AGEs stellen aber nicht den einzigen Bindungspartner dar, weswegen man auch annimmt, dass RAGE auch ein Pattern-Recognition Receptor sei. Weitere Liganden wären high-mobility group box 1 protein, auch als Amphoterin bekannt, verschiedene Kalzium-bindende Proteine der S100-Familie (S100A4, S100A12, S100B oder S100P), Mac-1 und β-Amyloid Peptid (34). Die meisten Ligaden binden nur an die variable Domäne, so auch die AGEs, wobei andere auch an die konstanten Domänen binden (36). Umgekehrt ist RAGE nicht der einzige Rezeptor für AGEs, denn AGEs können auch an Oligosaccharyl Transferase Protein 48 (AGE-R1), 80 K-H Protein (AGE-R2), Galectin-3 (AGE-R3) und an Scavenger-Rezeptoren von Makrophagen binden.

Der Genort des RAGE befindet sich auf der MHC III-Region auf Chromosom 6. Durch posttranskriptionelles Splicen der mRNA können Isoformen von RAGE entstehen, die wichtigste wäre der sRAGE. Vom sRAGE kann man zwei Subtypen unterscheiden, den esRAGE und den cRAGE (37). Beide Subtypen bestehen nur aus den drei extrazellulären Domänen, wobei esRAGE noch an der Zelloberfläche gebunden ist. Durch die fehlende zytoplasmatische Domäne kann die Signaltransduktion zwar nicht in Gang gesetzt werden, aber es können AGEs daran binden und unschädlich gemacht werden. Metalloproteinasen können esRAGE abspalten, das dann im Blut als cRAGE auch Serum-AGEs binden kann. In Tiermodellen konnte durch eine Behandlung mit sRAGE die Entzündungsreaktion bei verschiedenen Krankheiten, darunter auch die der diabetische Atherosklerose, verlangsamt werden (34).

Wenn es zu Bindung eines Liganden an RAGE kommt, werden Signalkaskaden in Gang gesetzt, die im Endeffekt zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB führen. Dabei gibt es verschiedene Wege (38,39,40). Bei der Bindung des Liganden wird die NADPH-Oxidase

aktiviert, die zu einer Bildung von Sauerstoffradikalen führt. Die ROS schädigen die Zelle zum einen direkt, aktivieren zum anderen auch das NF-κB. Weitere Aktivierungswege erfolgen über die p38-MAP-K, über die Phosphorylierung des p21/Ras-Proteins, über die MAP-K ERK-1, ERK-2 und JNK. Daneben kommt es auch zur Aktivierung von Januskinasen, Rho-GTPasen und PI3K. Das NF-κB wird in den Zellkern aufgenommen und bindet an die DNA, wodurch es zur Transkription von diversen Genen, wie z.B. von VEGF, Gewebethromboplastin (tissue factor), diverse IL (IL-1α, IL-6), TNF-α, ICAM-1, VCAM-1 etc. kommt (41). NF-κB sorgt zudem selbst für eine Aktivierung von Signaltransduktionsmolekülen, wie von MAP-K, NADPH-Oxidase, PKC und der Rho-GTPase CDC42 und für Hochregulierung des RAGE selbst (42,43,44). Dadurch bildet sich ein Circulus vitiosus, der die Entzündungsreaktion triggert und zu einer allgemeinen Zelldysfunktion führt. Zudem kann die Bindung an RAGE zur verminderten Aktivität der eNOS führen, die somit weniger NO produziert (45). Durch die verminderte NO-Bereitstellung nimmt der oxidative Stress zu und die Vasodilatation ab.
Einen Überblick über die Signalkaskaden gibt Abb. 4 wieder.

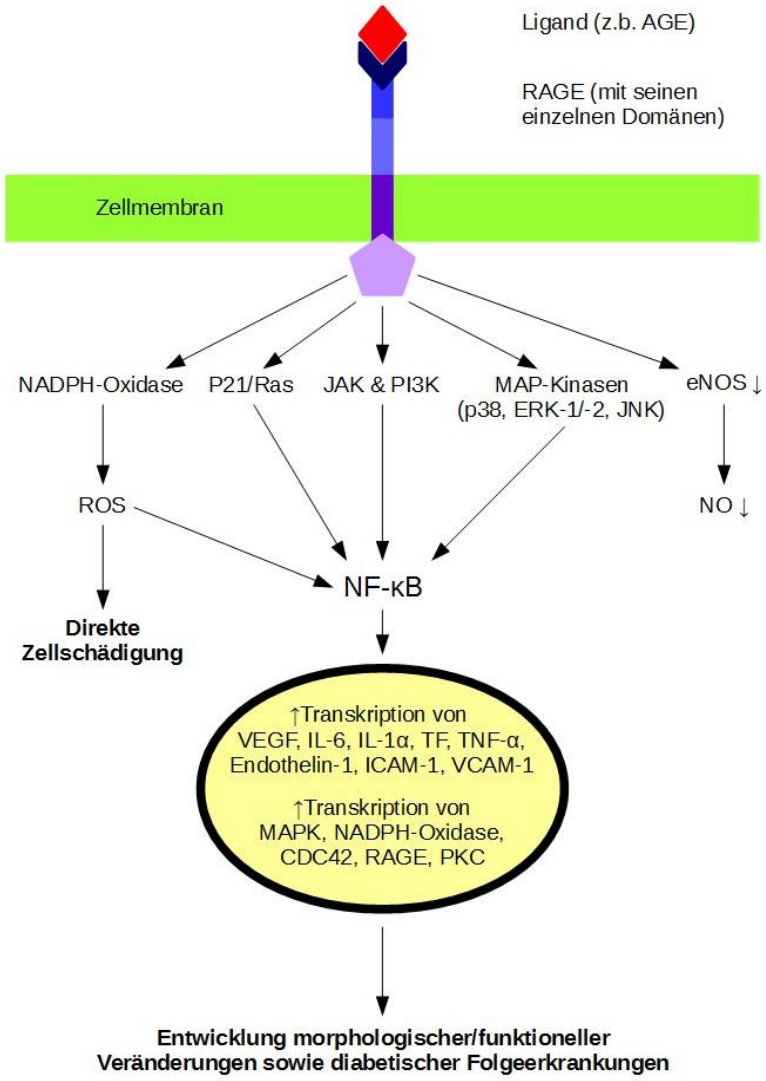

Abbildung 4: Intrazelluläre Signalkaskade der RAGE-Aktivierung

Der Vollständigkeit halber möchte ich auch auf die anderen drei Wege der Zellgewebsschädigung beim Diabetes mellitus eingehen.

4.3. Polyol-Mechanismus

Bei diesem Weg wird Glukose über die Aldose-Reduktase zu Sorbit umgewandelt, welches über die Sorbit-Dehydrogenase zu Fruktose enzymatisiert wird. Als Kofaktor benötigt die Aldose-Reduktase das NADPH. In der Hyperglykämie wird mehr Glukose zu Sorbit umgewandelt, wodurch es zu einer Verminderung des NADPH kommt. Das NADPH wird aber auch als Kofaktor für andere Enzyme gebraucht, z.B. für die Glutathion-Reduktase, die dann weniger Glutathiondisulfid zu Glutathion reduzieren kann. Glutathion schützt die Zellen vor ROS. Dadurch fällt bei einem hyperglykämen Metabolismus nicht nur vermehrt Sorbit an, es werden auch mehr freie Sauerstoffradikale gebildet. ROS bewirken die Zellschädigung über den oxidativen Stress. Sorbit lagert sich in Zellen ab und bewirkt eine Veränderung der osmotischen Homöostase, vor allem in der Retina, in peripheren Nerven und in der Augenlinse. Die Folge ist ein erhöhtes Risiko eine Retinopathie, Neuropathie und einen Katarakt zu entwickeln (46). Die bei diesem Prozess gebildete Fruktose kann weiter zum Fruktose-3-Phosphat phosphoryliert werden, das zum 3-DG umgewandelt wird und in weiterer Folge zur Bildung von AGEs führt (47,48).

4.4. PKC-Weg

Die Bedeutung für Diabetes mellitus liegt hierbei in der Beeinflussung der Zellproliferation und Gefäßpermeabilität. Von der PKC gibt es verschiedene Isoenzyme und einige dieser Isoenzyme werden durch das Diacylglycerin aktiviert. Das Diacylglycerin ist in der Hyperglykämie erhöht, was zu einer vermehrten Aktivität der PKC führt, wodurch die Plättchenaggregation, der Perizyten-Zelluntergang, sowie die Expression von VEGF gefördert werden und die NO-Produktion in glatten Muskelzellen vermindert wird (49,50,51,52). Der PKC-Weg nimmt somit Einfluss auf die mikro- als auch auf die makrovaskulären Krankheiten beim Diabetes mellitus.

4.5. Hexosamin-Weg

Hierbei wird Fruktose-6-Phosphat durch das Enzym Glutamin-Fruktose-6-Phosphat Amidotransferase zu Glucosamin-6-Phosphat umgewandelt, welches weiter metabolisiert wird und zur Entstehung folgender Produkte führt: UDP-N-Acetylglucosamin, UDP-N-Acetylgalactosamin und CMP-N-Acetylneuraminsäure (53). Das UDP-N-Acetylglucosamin kann an Transkriptionsfaktoren binden, z.B. an Sp1 (54). Es konnte gezeigt werden, dass über diesen Weg die Transkription der Wachstumsfaktoren TGF-α, TGF-β1 und PAI-1 in Gang gesetzt wird, die zu einer Endotheldysfunktion und zu einer Gewebsproliferation an den glatten Muskelzellen führt, welche vor allem die Glomerulosklerose beschleunigen (55,56).

5. Entstehung der AGEs

Die Entstehung der AGEs ist ein längerer Prozess, in dem die Präkursoren der AGEs durch weitere chemische Reaktionen modifiziert werden. Die nicht enzymatische Reaktion, die bei der Entstehung abläuft, heißt Maillard-Reaktion. Im ersten Schritt dieser nach dem französischen Naturwissenschaftler Louis Camille Maillard benannten Reaktion reagiert die Carbonyl-Gruppe des reduzierenden Zuckermoleküls mit der Aminogruppe einer Aminosäure des Proteins, wie Lysin oder Arginin. Das Produkt dieses ersten Schrittes ist ein Imin bzw. eine Schiffsche Base. Die Bildung der Schiffschen Base ist eine Gleichgewichtsreaktion und das Imin kann entweder dissoziieren und in seine Edukte zerfallen oder durch eine Amadori-Umlagerung in ein Amadori-Produkt umgewandelt werden. Im Falle einer Umlagerung bildet sich zunächst aus der Schiffschen Base ein Enol, bei dem dann ein H-Atom umgelagert wird, wodurch sich ein Aminoketon bzw. ein Amadori-Produkt bildet. Amadori-Produkte sind relativ stabile Glykosamine, deren Entstehung im menschlichen Körper von der Glukosereaktion abhängig ist. Je stärker die Hyperglykämie ist und je länger sie andauert, desto eher verschiebt sich diese Gleichgewichtsreaktion hinüber zum Amadori-Produkt. Auch beschleunigt ein leicht saures Milieu die relativ langsame Bildung des Amadori-Produkts. Das wohl bekannteste Amadori-Produkt, welches auch in der Diagnostik und in der Therapie des Diabetes mellitus eine wichtige Rolle einnimmt, ist das HbA_{1c}.

Während die Bildung des Imins und des Aminoketons noch reversibel ist, ist die Bildung eines „echten“ AGE irreversibel. Die entstandenen Amadori-Produkte besitzen reaktive Carbonylgruppen, wodurch Präkursoren der AGEs gebildet werden (57). Zu jenen Präkursoren zählen Glyoxal, MG und 3-DG. Im letzten Schritt der Maillard-Reaktion bilden sich aus diesen Dicarbonylen infolge weiterer chemischer Umlagerungen und Reaktionen, vor allem durch Oxidation und Interaktionen von Präkursoren mit ROS, schließlich AGEs, die entweder akkumulieren, mit Extrazellulärmolekülen reagieren oder mit Rezeptoren interagieren.

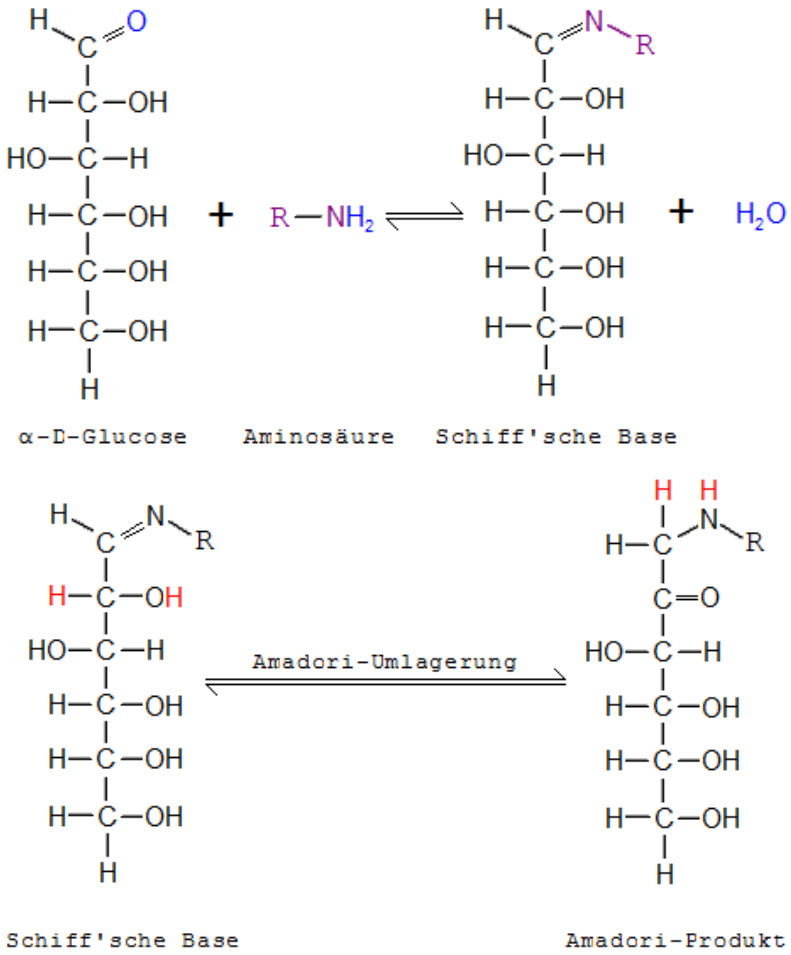

Abbildung 5: Maillard-Reaktion bis zum Amadori-Produkt (58)

AGEs können aber nicht nur über diesen Weg gebildet werden, sondern auch über oxidativen Stress, über Carbonyl-Stress sowie exogen zugeführt werden (59,60,61,62). Oxidativer Stress unterstützt die Entstehung von AGEs, weil ROS mit Glukose allein bereits reagieren können (Autoxidation der Glukose) und reaktive Moleküle entstehen lassen, wie Glyoxal und Glykoaldehyd (60). Es kommt hierbei zur Bildung von Carbonylverbindungen. ROS können aber nicht nur mit der Glukose reagieren, sondern auch mit dem Amadori-Produkt und mit Lipiden, wodurch in weitere Folge erneut Carbonyle und daraus AGEs entstehen (63). Die Hyperglykämie alleine führt bereits zu oxidativen Stress, daneben auch der verzögerte Abbau von ROS durch eine Verminderung der antioxidativen Enzyme und des Glutathion-Systems. Weiters führen ein gesteigerter Polyol-, Hexosamin- und PKC-Weg, sowie bereits gebildete AGEs und eine vermehrte Aktivierung von RAGE zu oxidativen Stress. Kurz gesagt, alle fünf Wege können ROS und somit AGEs bilden und AGEs können zur Aktivierung aller fünf Wege führen. Bereits der Abbau von Schiffschen Basen und von Amadori-Produkten kann zur Bildung von ROS führen (64).

Wie bereits erwähnt führt neben dem oxidativen Stress auch der Carbonyl-Stress zu einer vermehrten Bildung von AGEs. Dieser entsteht, wenn es zur vermehrten Bildung von Carbonylen kommt. Ursachen dafür sind erneut die Hyperglykämie, eine gesteigerte Lipoxidation und der verminderte Abbau durch Enzyme. Die Ausscheidungsfunktion der Nieren nimmt ebenfalls eine bedeutende Rolle im Carbonyl-Stress ein, denn in der Urämie nimmt die Konzentration an Carbonylen, wie Glyoxal, MG und MDA, zu (65,66).

Zudem stellt das Altern auch eine Ursache für die Bildung und Akkumulation der AGEs dar. Je älter ein Mensch ist, desto höhere AGEs Konzentrationen weist er in verschiedenen Geweben auf, unabhängig davon, ob er einen diabetogenen Stoffwechsel hat oder nicht.

Dieser Mechanismus scheint auch mitverantwortlich für den altersabhängigen Verlust an elastischen Fasern in Haut und Lunge zu sein (67), sowie auch für die altersbedingte Entwicklung von atherosklerotischen Veränderungen in Gefäßen (68). Ein Diabetes mellitus beschleunigt diese Prozesse jedoch.
Endogene Ursachen sind aber nicht die einzigen, die die Bildung und Akkumulation der AGEs beschleunigen. Eine exogene Ursache wäre Nikotinabusus, der indirekt durch den erhöhten Gehalt an Sauerstoffradikalen im Zigarettenrauch zur Bildung beiträgt. Allerdings entstehen beim Trocknen der Tabakblätter in Gegenwart von Zuckermolekülen AGEs, die beim Anzünden der Zigarette inhaliert und über die Lungen aufgenommen werden. Raucher weisen auch einen signifikant höheren Serumgehalt an AGEs auf, als Nichtraucher (69).
Eine weitere exogene Ursache sind Nahrungsmittel. Die Maillard-Reaktion ist nicht nur beim Diabetes mellitus eine wichtige chemische Reaktion, sondern auch in der Lebensmittelindustrie. Beim Erhitzen über 140°C wird nämlich die Maillard-Reaktion in Gang gesetzt, wodurch Amadori- und Heyns-Produkte entstehen. Aus jenen bilden sich Dicarbonylverbindungen, die weiter reagieren und AGEs, aber auch Melanoidine bilden. Diese Melanoidine sind bei einigen Nahrungsmitteln erwünscht, denn sie geben den Lebensmitteln ihr Aroma, ihre Färbung, vor allem die Bräunung, und den typischen Geschmack. Sie verursachen z.B. die braune Farbe bei Backwaren, den typischen Geruch und Geschmack bei gebratenem Fleisch oder sind für den Geruch und das Aussehen von Ahornsirup und geröstetem Kaffee verantwortlich. Lebensmittel, die lange und hoch erhitzt werden sowie einen hohen Anteil an Proteinen und Fetten aufweisen, besitzen auch einen höheren Anteil an AGEs als solche, die nur kohlenhydratreich sind (62).
In einer Studie mit Diabetikern konnte gezeigt werden, dass eine AGE-arme Diät, zu einer signifikanten Reduktion der Serum AGEs führte. Ebenso führte diese Diät zu einer Reduktion von Entzündungsmediatoren bei den Probanden (70). Dennoch sind Studien zu den genauen Vorgängen, die AGEs aus der Nahrung verursachen können, rar. Auch ist nicht ganz klar, wie stark der tatsächliche Einfluss von aus Nahrungsmitteln zugeführten AGEs auf den Körper ist bzw. wie stark diese mit den endogenen AGEs interferieren. Messungen bezüglich der Quantität an AGEs, die nun tatsächlich in den Körper aufgenommen werden, sind (noch) nicht zu bewerkstelligen.

6. Auswirkungen/Vorgänge von AGEs/RAGE auf den Körper

Beim Diabetes mellitus stehen die mikro- und makrovaskulären Erkrankungen im Vordergrund. Neben diesen vaskulären Krankheiten gibt es auch noch andere diabetesassoziierte Begleiterkrankungen. Ursächlich dafür sind die schlechte Stoffwechseleinstellung sowie auch eine häufige Koinzidenz von Dyslipidämie und Hypertonie. AGEs und RAGE sind besonders für die mikroangiopathischen Erkrankungen sowie für die diabetische Neuropathie von Bedeutung. Doch auch bei den makrovaskulären Komplikationen und bei anderen diabetischen Folgeerkrankungen nehmen sie eine nicht zu unterschätzende Stellung ein. Zahlreiche Interaktionen zwischen AGEs/RAGE und diversen Körperzellen sind untersucht worden, weshalb man auch annimmt, dass sie eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie und Triggerung verschiedener Krankheiten spielen (71,72,73), bei manchen scheinen sie sogar ein ätiologischer Faktor zu sein (74,75).

Bei den Angiopathien im Allgemeinen lagern sich AGEs in den Gefäßen ab und können mit extrazellulären Proteinen, wie Kollagen Typ IV, Laminin und Elastin vernetzt werden. Gewebe mit einem niedrigen Zell-Turnover sind bevorzugt davon betroffen (31). Durch diese Vernetzung geht deren Funktion verloren, die Fasern versteifen sich und können auch nicht mehr so gut abgebaut werden (76). Außerdem bewirken die AGEs eine Freisetzung des TGF-β. Bereits durch diese Mechanismen kommt es zur Endotheldysfunktion, es werden die Fibrosierung und Gefäßwandproliferation gefördert und die Plaqueprogression beschleunigt (45,76,77,78).

AGEs und RAGE erhöhen die Menge an ROS (28), wodurch der oxidative Stress zunimmt, der das NO und konsekutiv die vasodilatativen Möglichkeiten einschränkt, Zellen schädigt und die Apoptose in Gang setzt. Dies stellt einen wichtigen Schritt in der Endotheldysfunktion dar. Die AGE-RAGE-Interaktion kann die NO-Menge durch Hemmung der eNOS erniedrigen (79), ebenso über eine Hemmung des Prostazyklins (80) und vermehrter Expression des Endothelin-1 (81). Dies verstärkt die Endotheldysfunktion weiter.

Bei der AGE-RAGE-Interaktion kommt es, wie oben erwähnt, auch zu weiteren Signaltransduktionen, wodurch es einerseits zur direkten Zellschädigung und andererseits zur Entzündungsreaktion über NF-κB kommt. Hierbei werden diverse Zytokine und andere Botenstoffe freigesetzt (41), die eine Zell- und Bindegewebsvermehrung bewirken, vasokonstriktorisch wirken, und die Adhäsion sowie die Immigration von Leukozyten fördern. VEGF bewirkt zudem eine Angiogenese. Ebenso resultiert eine prothrombotische Neigung durch vermehrte Expression des Gewebethromboplastins bzw. Tissue factors, einer Reduktion des Thrombomodulins sowie einer verstärkter Ausbildung an Thrombozyten-Neutrophilen-Aggregaten (82). Weiters wird die Koagulation durch Glykierung des Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptors und einer erhöhten Fibrinstabilität bewirkt (57). Hierdurch werden Gefäßwandverdickung, Plaqueprogression und die Entzündungsreaktion ebenfalls getriggert (82). Eine direkte Glykierung von Proteinen und Lipiden der Gefäßwand kann ebenfalls zur Endotheldysfunktion beitragen.

Neben den oben beschriebenen Vorgängen, die Endotheldysfunktion und Gefäßwandveränderungen sowohl bei den diabetischen Mikro- als auch Makroangiopathien nach sich ziehen, gibt es aber auch weitere Veränderungen durch AGEs und RAGE, die spezifisch im jeweiligen Organ entstehen.

6.1. Diabetische Mikroangiopathie (entnommen aus Böhm et al. (83))

Hierbei kommt es zu einer Schädigung der Arteriolen im gesamten Organismus. Bevorzugt betroffen sind aber die Retina, bei der sich der Gefäßschaden als diabetische Retinopathie manifestiert, die Nieren, als diabetische Nephropathie, sowie die Nerven, als diabetische Neuropathie. Letztere hat aber nicht nur eine Gefäßschädigung als Ursache. Bei den

diabetischen Mikroangiopathien spielt die Hyperglykämie mit ihren fünf Schädigungswegen eine entscheidende Rolle neben dem arteriellen Hypertonus. Es bildet sich hierbei eine Arteriolosklerose mit Verdickung der Intima und später der gesamten Gefäßwand aus. Durch die Hyperglykämie nehmen die Endothelzellen vermehrt Glukose auf. Dies führt zu einer direkten Vernetzung der Glukose an Proteinen, Lipiden und DNA, wodurch deren Funktion verändert wird, gleichzeitig werden die fünf oben beschriebenen Wege beschritten, die ebenfalls Endotheldysfunktionen und -schädigungen bewirken. Es lagert sich hyalines Material in der Intima ab, welches aus Glykoproteinen, Proteoglykanen und Lipiden besteht. Die Endotheldysfunktion sorgt für eine Ausschüttung diverser Moleküle und Faktoren, wie TGF-β, VEGF, Endothelin, PDGF, IL, ICAM-1, Selektine, TNF-α, und andere, die indirekt und direkt zur Gefäßpermeabilitätserhöhung und Gefäßverdickung führen. Ein begleitender Hypertonus bewirkt ebenfalls Endothelschädigungen, die die Arteriolosklerose fördern. Nimmt die Stenosierung immer weiter zu, wird schließlich das Gewebe unzureichend mit O_2 und Nährstoffen versorgt und geht zu Grunde. Da die Gefäße einen kleinen Durchmesser haben, reichen bereits geringe Wandverdickungen aus, um klinisch relevante Stenosen zu schaffen. Zudem ist das Nervengewebe hypoxieanfällig und auch die Nieren bedürfen einer ausreichenden Durchblutung, weshalb man die diabetische Nephropathie, Retinopathie und Neuropathie häufig und auch recht frühzeitig findet.

6.1.1. Diabetische Nephropathie

Die Nephropathie, auch diabetische Glomerulosklerose genannt, ist durch eine Gefäßschädigung der glomerulären Kapillaren und Gewebsproliferation des Glomerulus gekennzeichnet. Zunächst wird die Basalmembran des Glomerulus verdickt, gefolgt von einer Verbreiterung des Mesangiums. GBM-Verdickung und Mesangiumverbreiterung schreiten zur Kapillarsklerose mit hyalinen Ablagerungen (Klimmenstiel-Wilson-Läsion) fort. Den Endpunkt bildet dann die Glomerulosklerose. Ätiologisch wichtig sind die Hyperglykämie und hämodynamische Faktoren, wie ein Hypertonus. Daraus resultiert eine gBM-Verbreiterung sowie eine Ausschüttung vasoaktiver Substanzen und Zytokinen. Die Durchblutung in den glomerulären Kapillaren nimmt ab, der intraglomeruläre Druck steigt an und die Endotheldysfunktion geht mit einer Vasopermeabilitätserhöhung einher, was eine Hyperfiltration zur Folge hat. Durch die Hyperfiltration kommt es zur Polyurie, die beim Diabetes mellitus durch die Glukosurie noch verstärkt wird. Die Folge ist eine Volumsdepletion und erhöhte Natriurese. Um dem entgegenzuwirken, wird das RAAS aktiviert, das den Hypertonus verursacht bzw. verschlechtert. Dieser verstärkt die Hyperfiltration und trägt auch zur Zellschädigung bei. Hyperfiltration, Endotheldysfunktion und Vermehrung glomerulärer Bestandteile bewirken eine Zellschädigung sowie anfangs eine Mikroalbuminurie. Schreiten diese Mechanismen weiter fort, entwickelt sich eine Glomerulosklerose. Glomeruli, die sklerosiert sind, sind nicht mehr funktionstüchtig, und deren Ausscheidungsfunktion muss von den anderen, noch funktionstauglichen Glomeruli übernommen werden. Diese erfahren das gleiche Schicksal der Glomerulosklerose. Die Anzahl der geschädigten Glomeruli nimmt kontinuierlich zu, damit verbunden nimmt die GFR und Ausscheidungsfunktion der Nieren stetig ab. Es bildet sich schließlich eine diabetische Nephropathie mit verschiedenen Graden der Albuminurie aus, die sich schließlich als chronische Niereninsuffizienz bis hin zur terminalen, dialysepflichtigen Niereninsuffizienz entwickeln kann.

6.1.1.1. Vorgänge bei der diabetischen Nephropathie

Durch die Hyperglykämie werden bei der Nephropathie verschiedene Zellproteine direkt glykiert, es bilden sich vermehrt AGEs und lagern sich ab, die RAGE-Signalkaskade wird aktiviert, ebenso werden der PKC- und der Polyol-Weg beschritten. Bei diabetischen Patienten konnte eine vermehrte AGE-Akkumulation sowohl im Mesangium als auch in der glomerulären als auch in der tubulären Basalmembran gefunden werden (84). AGEs

akkumulieren in der gBM, und führen dadurch zu deren Verbreiterung (85). Da die Nieren das wichtigste Ausscheidungsorgan für die AGEs darstellen, lagern sich AGEs auch in der Tubulusmembran vermehrt ab. Somit werden nicht nur Glomeruli, sondern auch Tubuluszellen geschädigt (86). Eine Mesangiumverbreiterung sowie eine Proliferation der Mesangialzellen werden von den AGEs durch erhöhte Konzentrationen von Insulin-like Growth Factor und TGF-β sowie durch eine vermehrte Expression derer Rezeptoren gefördert (87).Die Mesangiumverbreiterung engt die Kapillaren ein und bildet fokale Skleroseherde aus. Dies beeinträchtigt die Ausscheidung, nicht nur die der AGEs, sondern auch weiterer toxischer Substanzen. Die Niereninsuffizienz wird somit beschleunigt. Für eine normale Nierenfunktion sind auch Podozyten entscheidend. Ein Untergang der Podozyten bedeutet Proteinverlust. Eine Möglichkeit dieses Podozytenverlustes, wie er durch AGE-Akkumulation entstehen kann, könnte über die Intergrin-linked Kinase bestehen, welche durch AGEs hochreguliert wird (88).
Des Weiteren konnte man eine vermehrte RAGE-Expression an Podozyten (84) und an Mesangiumzellen bei Diabetikern nachweisen (89). Die oben genannte RAGE-Signalkaskade bewirkt eine vermehrte Bildung von Wachstumsfaktoren, darunter die des TGF-β, welches sowohl die Glomerulosklerose als auch die tubulointerstitiellen Fibrose beschleunigt (86,90). Außerdem kommt es zur vermehrten Expression zahlreicher proinflammatorischer Moleküle, die an den Glomeruli eine Entzündungsreaktion bewirken. Durch den VEGF kommt es zu einer Permeabilitätserhöhung und Hyperfiltration, die die Albuminurie noch weiter begünstigt (91). Die Albuminurie wird auch durch die direkte Glykierung und Vernetzung der AGEs mit Extrazellulärmolekülen begünstigt, da die Ladung der glomerulären Basalmembran verändert wird (92).
Speziell in der diabetischen Nephropathie ist das RAAS von großer Bedeutung, da Hypertonie und Hyperglykämie zusammen die Nieren schneller und stärker schädigen als jeweils allein. Durch Stenosierung der Nierenkapillaren kommt es zu einer lokalen arteriellen Hypotension, wodurch Renin vom juxtaglomerulären Apparat sezerniert und das RAAS aktiviert wird. In weiterer Folge wird Angiotensin II gebildet. Jenes wirkt stark vasokonstriktorisch, vor allem an der efferenten Arteriole über den AT-R1, was eine Hyperfiltration auch beim normalen Blutdruck bewirken kann. Zudem wird die Bildung des TGF-β und anderer Wachstumsfaktoren durch Angiotensin II gefördert, die die gBM-Verdickung und diabetische Nephropathie beschleunigen (91).
Wie sich nun das RAAS und die AGEs gegenseitig beeinflussen, bleibt aber vorerst zukünftiger Forschung vorbehalten. Ein Zusammenhang zwischen den beiden konnte aber dadurch hergestellt werden, dass Studien (93,94) mit ACE-Hemmer und AT1-Antagonisten eine Verminderung der AGEs bzw. des RAGE bewirkten. Eine Möglichkeit, wie das RAAS die AGE-Konzentration beeinflusst, wäre, dass das Angiotensin II zur Erhöhung der ROS führt, welche die Menge an AGEs erhöhen. Zudem können ROS das NF-κB aktivieren, das wiederum RAGE hochreguliert (95).
In einem Rattenmodell, bei dem Methlyglyoxal infundiert wurde, zeigten sich erhöhte Werte von Renin, Angiotensin, Aldosteron und vom AT1-Rezeptor (96). Auch Cheng et al (97) konnten einen möglichen Weg nachweisen, und zwar über den RAGE/PI3K-Weg. Mauspodozyten reagierten auf die AGEs mit einer vermehrten Expression von Angiotensinogen, Angiotensin II, ACE und AT-R1. Womöglich stellt die Prorenin:(Pro)renin-Rezeptor-Interaktion in wichtiges Bindeglied in dieser Frage dar (98). Es bedarf nach wie vor weitere Forschung, um herauszufinden, inwiefern sich AGEs/RAGE und RAAS beeinflussen.

6.1.2. Diabetische Retinopathie

Dies ist eine der okulären Komplikationen des Diabetes mellitus, gleichzeitig eine der häufigsten überhaupt. Bei dieser Retinopathie kommt es zur Schädigung der kleinen Gefäße der Retina im Rahmen einer diabetogenen Stoffwechsellage. Neben der Endotheldysfunktion

ist vor allem die Perizytenschädigung wichtig. Die Perizyten übernehmen in der Regulation des Gefäßtonus und der Permeabilität sowie in der Herstellung von extrazellulären Bestandteilen und vasoaktiven Stoffen eine wichtige Funktion. Hypertonus, Hyperglykämie und Hyperlipidämie sind Risikofaktoren für die Entwicklung dieser Retinopathie. Zwei Typen der diabetischen Retinopathie werden unterschieden, die nicht-proliferative und die proliferative Retinopathie. Bei der nicht-proliferativen Form kommt es durch die Mikroangiopathie zu kapillären Mikroaneurysmen, Retinaödem und „harten Exsudaten", Netzhautblutungen und Cotton-wool-Herde, die ischämische Infarkte der Netzhaut darstellen. In den ischämischen Retinabezirken werden vasoaktive Stoffe freigesetzt, vor allem der VEGF, der zur Gefäßneubildung führt. Durch die Gefäßneubildung wird das Stadium der proliferativen Retinopathie erreicht. Diese neuen Gefäße sind von minderer Qualität, rupturieren leicht und wachsen in Richtung des Glaskörpers. Folglich entstehen Glaskörperblutungen, Visusverluste und durch den narbigen Umbau der geplatzten Gefäße kann sich eine Netzhautablösung mit konsekutiver Erblindung entwickeln. Auch die Makula bleibt von Veränderungen nicht verschont und so kommt es durch die Mikroangiopathie zu Exsudaten und Ödembildung mit Visusverlust.

6.1.2.1. Vorgänge bei der diabetischen Retinopathie

Ähnlich, wie bei der diabetischen Nephropathie, kommt es bei der diabetischen Retinopathie zu Veränderungen sowohl der kleinen Gefäße als auch der gewebsspezifischen Zellen, wobei der vaskuläre Schaden bedeutender ist (99). AGEs lagern sich in der retinalen Gefäßwand ab, aber auch Nervengewebe, wie Müllerzellen und Neurone, zeigen AGE-Akkumulationen (100,101). Hierdurch kommt es auch zu einer Dysfunktion, welche die Retinopathie verstärken kann. RAGE wird im hyperglykämen Zustand ebenfalls hochreguliert, vor allem in den Müller-Zellen (102).
In der Mikroangiopathie stehen Perizytenschädigung, Endotheldysfunktion und Gefäßwandwandverdickung im Vordergrund. Die Perizytenschädigung wird durch eine Proteinkinase-C sowie durch die p38-MAP-K induziert, wodurch sich eine gestörte Gefäßtonusregulation entwickelt, sich dadurch die Permeabilität erhöht und es zur Kapillarschädigung und zur Gefäßwandverdickung kommt. Dies könnte über RAGE passieren, dessen Signalkaskade diese zwei Transduktionsproteine miteinbezieht, aber ROS können auch direkt den PKC-Weg aktivieren (50). Besonders die Schädigung durch Induktion vermehrter ROS-Mengen infolge der AGEs/RAGE-Interaktionen scheint neben der Direkten wichtig zu sein und AGEs/RAGE-Interaktionen führen auch in den retinalen Gefäßen zur vermehrten Expression verschiedener Zytokine und vasoaktiver Substanzen. Der VEGF verursacht eine Angiogenese, die zur proliferativen Retinopathie führen kann und wird durch AGEs hochreguliert (103), ebenso das ICAM-1 (104), welches die Leukostase vermittelt und das retinale Ödem begünstigt. Daneben wird auch die Endothelin-1-Wirkung in Perizyten vermindert (105). AGEs scheinen aber konzentrationsabhängige Wirkungen in der diabetischen Retinopathie zu haben. In hohen Mengen wirken sie toxisch auf retinale Endothelzellen und Perizyten und sorgen für deren Untergang, während in niedrigeren Mengen AGEs eine Proliferation bewirken (106). Beide Zustände verschlechtern somit die Retinopathie, die niedrige AGE-Konzentration würde die proliferative Retinopathie beschleunigen.
Auch der Polyol-Weg über die Sorbitbildung wirkt in der Entstehung der diabetischen Retinopathie mit. In menschlichen Müller-Zellen, Perizyten und Endothelzellen konnte man die Aldose-Reduktase nachweisen und Gefäßveränderungen, wie Perizyten-, Endothelapoptose, erhöhte Kapillarpermeabilität und Komplementaktivierung, konnten durch den Aldose-Reduktase-Inhibitor Sorbinil verhindert werden (107). Auch auf die retinalen Nerven- und Gliazellen hatten Aldose-Reduktase-Hemmer einen günstigen Einfluss (108).

6.1.3. Diabetische Neuropathie

Diese Komplikation ist neben den diabetischen Angiopathien eine der häufigsten. Man kann sie in zwei Typen unterteilen, in die pNP und in die aNP. Die pNP beginnt typischerweise an den Füßen, von wo sie sich dann proximal ausbreitet. Oft kommt es zu einem Verlust der Sensibilität. Meist gehen zunächst die Nervenfasern für das Vibrationsempfinden verloren, gefolgt vom Verlust der sensiblen Nerven für Wärme, Berührung und Schmerzempfindung. Auch ist ein Verlauf mit Parästhesie anstatt einer Hypästhesie möglich, welcher sich als Brennen und Schmerz äußert. Mit fortgeschrittenem Stadium sind auch motorische Nerven betroffen und es kann sich aus der pNP auch ein diabetisches Fußsyndrom entwickeln, da durch die aufgehobene Schmerzwahrnehmung Mikrotraumen und kleine Verletzungen nicht mehr wahrgenommen werden. Es bilden sich schließlich ohne Behandlung Ulzera und Gangräne aus, die teilweise zur Amputation des betroffenen Areals führen. Eine begleitende pAVK erhöht das Risiko sowohl für Ulzera als auch für Amputationen zusätzlich.
Die pNP ist die häufigere diabetische Neuropathie, wobei es im Rahmen des Diabetes mellitus auch zur aNP kommen kann. Dabei sind die vegetativen Nervenfasern des gesamten Körpers betroffen. Sie kann sich durch kardiovaskuläre Störungen, wie Tachykardie und Gefäßwandtonusveränderungen, durch Hyper- und Hypohidrose, gastroenterale Störungen, wie Obstipation und Diarrhoe, sowie durch Miktions- und Potenzstörungen äußern.

6.1.3.1. Vorgänge bei der diabetischen Neuropathie

Bei beiden diabetischen Neuropathien sind sowohl mikroangiopathische Veränderungen der Vasa nervorum als auch Zellschädigungen durch AGE und RAGE ursächlich. Auch scheinen der Polyol-Weg sowie eine erhöhte PKC-Aktivität mitentscheidend in der Auslösung dieser Neuropathie zu sein (46). AGEs akkumulieren in den Nervenzellen und lagern sich an neurale Proteine an. Dadurch kommt es zu einer nachgewiesenen Veränderung der Extrazellulärmatrix (109)und zu einer Funktionsveränderung der Nervenzellen. In einer Studie an diabetischen Ratten konnte man im endoneuralen Gewebe jener eine erhöhte Anzahl an verschiedenen AGEs finden. Weiterhin beobachtete man eine Verschlechterung der neuralen Regeneration mit einem verminderten Auswuchs an Neuriten im diabetischen Gewebe (110). Beim Menschen wurde AGE-Akkumulation in Schwann-Zellen, im Perineurium sowie im Axoplasma myelinisierter und nicht-myelinisierter Neuronen gefunden (111). Zudem ging diese Akkumulation mit einer Reduktion der myelinisierten Nervendichte einher. Meerwaldt et al (112) konnten in ihrer Studie zeigen, dass die Hautfloureszenz, als Marker der in die Haut eingelagerten AGEs, mit dem Diabetic Neuropathy Symptoms-Score ($r=0,34$, $p=0,02$) als auch mit dem Diabetic Neuropathy Examination-Score ($r=0,50$, $p=0,001$) positiv korreliert. Mit steigender Autofloureszenz der Haut nahm sowohl die Nervenleitgeschwindigkeit als auch deren Amplitude ab ($r=-0,4$), daneben kam es auch, als Zeichen der aNP, zu einer Abnahme der Baroreflex-Sensitivität ($r=-0,63$) und der Herzfrequenzvariabilität ($r=-0,61$). Zudem stellte man bei Mäusen, bei denen das RAGE-Gen ausgeschaltet wurde, fest, dass die funktionellen sowie strukturellen Veränderungen der Nerven durch den Verlust des RAGE abgeschwächt werden (113).

6.2. Diabetische Makroangiopathie (entnommen aus Böhm et al. (83))

Bei der Makroangiopathie sind die großen Gefäße von atherosklerotischen Veränderungen betroffen, was sich als KHK, pAVK und als zerebrovaskuläre Schädigung zeigt. Durch jene steigt das Risiko einen Herzinfarkt, ein diabetisches Fußsyndrom, Schlaganfälle sowie weitere Komplikationen, wie z.B. ein Aortenaneurysma oder eine demenzielle Erkrankung, zu entwickeln. Diese Veränderungen können auch ohne einen begleitenden Diabetes mellitus auftreten, allerdings beschleunigt jener die Progression der Makroangiopathie, weshalb man auch von einer diabetischen Makroangiopathie spricht.

Ursächlich dafür ist die Atherosklerose, wobei die genaue Pathogenese dieser bis heute nicht vollständig geklärt ist. Förderlich sind beim Diabetes mellitus die Hyperglykämie, die Insulinresistenz, eine häufig koinzidente Hyperlipoproteinämie und eine durch den gestörten Metabolismus geförderte Erhöhung an Zytokinen und Wachstumsfaktoren. Zwei Hypothesen zur Pathogenese der Atherosklerose sind derzeit anerkannt, die Response-to-injury und die Lipid-Hypothese, wobei beide zusammenspielen und einen chronisch entzündlichen Prozess verursachen. Zunächst kommt es, wie bei der diabetischen Mikroangiopathie, zu einer endothelialen Dysfunktion, die durch einen arteriellen Hypertonus, Toxine wie Nikotin, Immunreaktionen und hämodynamische Faktoren verursacht wird. Entscheidender Faktor ist auch hier die vermehrte Bildung an ROS mit einer Reduktion des NO. Die Dysfunktion bewirkt neben einer Vasokonstriktion eine Entzündungsreaktion mit einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Ausschüttung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Durch die erhöhte Gefäßpermeabilität lagern sich vermehrt Lipoproteine in der Intima ab, insbesondere LDL, welches durch ROS oxidiert wird. Diese Ablagerungen in der Tunica intima bilden eine Neointima. Das ox-LDL führt zur Ausschüttung weiterer Zytokine, die zum einen Monozyten anlocken, welche sich in Makrophagen differenzieren und das ox-LDL phagozytieren, und zum anderen zur Bildung von Adhäsionsmolekülen und Wachstumsfaktoren führen. Die Makrophagen beginnen das ox-LDL über Scavenger-Rezeptoren aufzunehmen, werden zu Schaumzellen und sammeln sich in der Intima an. Schaumzellen nehmen immer mehr ox-LDL auf bis sie platzen, was zur Freisetzung dieses aufgenommenen ox-LDLs führt. Hierdurch kommt es zur Anlockung weiterer Monozyten, die sich ihrerseits wieder differenzieren, erneut das ox-LDL phagozytieren und ebenfalls platzen. Parallel dazu wandern glatte Muskelzellen, durch Wachstumsfaktoren stimuliert, aus der Tunica media in die Neointima ein. Diese Fettablagerungen verbunden mit der Einwanderung von Makrophagen und glatten Muskelzellen heißen Fatty Streak-Läsionen. Dieser Prozess schreitet fort. Wachstumsfaktoren fördern die Proliferation und Migration der glatten Muskelzellen weiter, wodurch diese extrazelluläre Matrixmoleküle zu bilden beginnen. Zudem werden auch T-Lymphozyten angelockt und wandern in die Gefäßwand ein, die die Makrophagendifferenzierung und die Proliferation von glatten Muskelzellen stimulieren. Das Produkt dieser Vorgänge ist die Ausbildung einer fibrösen Plaque, die den Lipidkern bedeckt. Dieser chronisch entzündliche Prozess bedingt, dass es auch zur Apoptose von diesen Zellen sowie zur Freisetzung diverser Enzyme, darunter Proteinasen, kommt. Eine Ausdünnung und Vulnerabilität der fibrösen Plaque ist die Folge, wodurch diese rupturieren können, was zur Thrombenbildung führt. Die fibrösen Plaques verkalken zudem über längere Zeit hinweg. Durch diese Vorgänge wird die Gefäßwand immer dicker und das Gefäßlumen immer kleiner, was sich als KHK und pAVK zeigt. Durch eine akute Thrombose kann das Gefäß auch ganz verschlossen werden, was im Myokardinfarkt, Hirninsult oder einem akuten peripheren Arterienverschluss endet.

6.2.1.1. Vorgänge der diabetischen Makroangiopathie

Auch in der makroangiopathischen Pathogenese nehmen die AGEs und RAGE einen wichtigen Punkt ein, der zumindest bei Typ 2 Diabetikern mehr Relevanz zu scheinen hat (27). Obayashi et al. sowie Schleicher et al. konnten in den atherosklerotischen Plaques von diabetischen Patienten AGE-Ablagerungen nachweisen (114,115). Neben der allgemeinen Endotheldysfunktion und Wandverdickung können AGEs und RAGE über die vermehrte Bildung an ROS mehr LDL oxidieren, was den atherosklerotischen Effekt beschleunigt (116). Zudem scheinen AGEs auch selbst das LDL in das ox-LDL umwandeln zu können (117). Ob AGEs auch das HDL verändern und somit in die Atherogenese einen noch stärkeren Einfluss haben, konnte noch nicht eindeutig gezeigt werden. Hedrick et al konnten in einer in vitro Studie nachweisen, dass auch das HDL im hyperglykämen Zustand glykiert und damit in

seiner Funktion verändert wird (118). Inwiefern aber AGEs damit zu tun haben oder ob es sich um ein reine direkte Glykierung handelt, bleibt Gegenstand weiterer Forschung.
Durch die RAGE-Signalkaskade wird das NF-κB aktivieret, welches zu Transkriptionen von verschiedenen vasoaktiven Substanzen und Wachstumsfaktoren führt, die in der Entwicklung der Atherosklerose eine Rolle spielen (41). Diverse Studien konnten eine positive Korrelation zwischen den makrovaskulären Erkrankungen und den AGE-Gehalt herstellen. Bei Patienten mit einer KHK fand Kilhovd et al (119) signifikant erhöhte Serum-AGE Werte im Vergleich zu Nicht-Diabetikern (8,1 [6,4-10,9] vs. 7,1 [3,5-9,8] U/ml).
In einer prospektiven 12-Jahres Follow-up Studie bei Typ-1 Diabetikern (120) waren erhöhte Serum-AGE Werte mit einer erhöhten Inzidenz für kardiovaskuläre Ereignisse assoziiert. Auch die Gesamtmortalität stieg, unabhängig von anderen Risikofaktoren, bei erhöhten AGE-Werten an. In einer 5-Jahres Follow-up Studie waren erhöhte Autofluoreszenzwerte bei pAVK-Patienten mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko sowie mit dem Risiko, ein tödliches oder nicht-schwerwiegendes kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden, assoziiert (121). Bei Patienten mit Diabetes mellitus, die eine pAVK hatten, konnte ebenfalls eine signifikante, positive Korrelation zwischen Serum-AGE-Werte und dem Auftreten dieser Erkrankung gezeigt werden (122). Nicht nur Serumwerte, sondern auch eine veränderte Hautfluoreszenz, welche mit einer vermehrten AGE-Akkumulation assoziiert ist, zeigte bei Diabetikern einen starken Zusammenhang mit kardialer Mortalität. In einer Arbeit war die Hautfluoreszenz mit der Schwere der KHK und ihrer Mortalität stärker assoziiert als HbA_{1c}, LDL oder Triglyzeride (123). Weiters konnte eine inverse Assoziation zwischen den Serum-Werten für sRAGE und der koronaren Atheroklerose gefunden werden (124) und sRAGE wurde von manchen Autoren auch als möglicher zukünftiger Laborparameter in der Diagnosestellung der diabetische Nephropathie (125) sowie des Mb. Alzheimer in Betracht gezogen (126). Kürzlich konnte bei Ratten auch ein möglich ursächlicher Zusammenhang zwischen der Entstehung eines pulmonalen Hypertonus und der RAGE-Expression gezeigt werden. Eine Hemmung des RAGE wirkte sich günstig auf den pulmonalen Gefäßdruck und auf die Rechtsherzdilatation aus (127).
AGEs nehmen zudem auch direkt Einfluss auf die rein kardialen Veränderungen beim Diabetes mellitus. Kennzeichen der diabetischen Kardiomyopathie sind myokardiale Hypertrophie und Fibrosierung, die auch ohne Hypertonie bzw. KHK auftreten. Es kommt sowohl zu einer diastolischen als auch später zu einer systolischen Dysfunktion mit reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion. AGEs scheinen vor allem für die diastolische Dysfunktion verantwortlich zu sein (128). Alle Vorgänge, wie AGEs/RAGE genau zu der Herzinsuffizienz führen, sind jedoch noch nicht bekannt. Ähnlich wie in den Gefäßen, können AGEs auch am Herzen zur Vernetzung von extrazellulären Proteinen führen, wodurch deren Elastizität abnimmt (129). Dadurch könnte die diastolische Relaxation vermindert werden. Durch die RAGE-Interaktion wird TGF-β gebildet, welches die Myokardfibrose beschleunigen könnte. Jedoch scheinen AGEs/RAGE auch in der myokardialen Kontraktion direkt einzugreifen, indem sie die intrazelluläre Ca^{2+}-Konzentration vermindern und somit sowohl die systolische als auch die diastolische Funktion beeinträchtigen (130). Am Myokard können AGEs sowohl den Ryanodin-Rezeptor 2 als auch die sarkoplasmatische Ca^{2+}-ATPase 2a, zwei intrazelluläre Proteine, verändern und somit zur Herzinsuffizienz beitragen (131,132).
Die positive Korrelation zwischen erhöhten AGE-Werten und einer systolischen (133) sowie diastolischen Dysfunktion konnte in Studien nachgewiesen werden (134,135), allerdings wurden auch Daten dazu veröffentlicht, die nur zum Teil die erhofften Ergebnisse lieferten (136).

6.3. Weitere diabetische Folgeerkrankungen und nicht diabetische Erkrankungen im Zusammenhang mit AGEs/RAGE

Neben den diabetischen Angio- und Neuropathien sind AGEs und RAGE auch bei anderen diabetischen Folgeerkrankungen, aber auch bei nicht diabetischen Krankheiten, unterschiedlich stark involviert. Eine der wichtigsten wäre der Katarakt. In der Kataraktgenese sind die AGEs, neben dem Sorbit, entscheidend für deren Progression. Die Anzahl an Pentosidin, CML und Imidazolonen ist in Katarakt-Augenlinsen höher als in normalen Augenlinsen, ebenso ist der Gehalt an CML und Imidazolonen bei Diabetiker-Linsen höher als bei den Nicht-Diabetikern (137). Hierbei ist die Vernetzung der AGEs mit den Aminosäuren der Linsenkristallinen ursächlich und auch die Bildung von ROS durch die AGEs scheint ein weiterer Grund für die Kataraktbildung zu sein (138). Eine weitere okuläre Komplikation betrifft den Glaskörper. AGEs entstehen im Glaskörper, indem Glukose mit Kollagenen vernetzt wird. Beim Diabetiker tritt diese Vernetzung bevorzugt auf und kann einen Anteil an der Entstehung einer Glaskörperabhebung und -trübung haben (139).
Ebenso diabetes-relevant ist, dass AGEs durch Sauerstoffradikale die Beta-Zellen des Pankreas zu schädigen vermögen und folglich die Insulinproduktion vermindern können (140). Weiterhin sind sie auch bei der Entstehung einer erektilen Dysfunktion mitverantwortlich (141). Hierbei verursachen AGEs sowohl eine direkte Schädigung der glatten Muskelzellen im Corpus cavernosum als auch eine indirekte Schädigung der peripheren Nerven im Rahmen der peripheren Polyneuropathie.
Außer bei den typischen diabetischen Komplikationserkrankungen haben AGEs und RAGE auch bei weiteren Pathologien Relevanz. Eine womöglich nicht so bekannte diabetische Komplikation wäre die kognitive Beeinträchtigung. In einer Zusammenschau von prospektiven Studien zeigte sich, dass Diabetiker im Vergleich zu Nicht-Diabetiker ein bis zu 1,5-fach erhöhtes Risiko haben kognitive Funktionseinbußen zu erleiden (9). Eine mögliche Assoziation bestünde hierbei über AGEs/RAGE. Zum einen könnten AGEs makro-, aber eventuell auch mikroangiopathische Veränderungen bewirken, die eine vaskuläre Demenz fördern. Wissenschaftliche Daten dazu sind kaum zu finden und deswegen ist dies eine Überlegung meinerseits. Hingegen gibt es Studien, in denen AGEs/RAGE bei einer anderen Demenzerkrankung von wesentlicher Relevanz sind. Bei dieser Erkrankung handelt es sich um Morbus Alzheimer. Die genauen Mechanismen hierbei sind ziemlich unbekannt, aber es wurden AGEs zusammen mit Alzheimer-relevanten Molekülen wie Tau-Protein und β-Amyloid-Peptiden in senilen Plaques gefunden (142). Die neurotoxischen β-Amyloide 40 und 42 können zur vermehrten Bildung von AGE-Albumin führen, das seinerseits wieder die β-Amyloid-Synthese und den Zelltod der Neuronen fördert und auch das AGE-Hauptprodukt in Mikrogliazellen darstellt (143). Dadurch wird die Demenz verschlechtert. RAGE wird bei der neuralen Apoptose und bei Alzheimer auch hochreguliert (144). Das AGE-Albumin bindet daran, wodurch über den Kalzium-JNK-Bax Weg der Zelluntergang aktiviert wird (143). Auch konnte Srikanth, et al (73) zeigen, dass Patienten, die sowohl einen Diabetes mellitus als auch einen Mb. Alzheimer haben, in ihren Gehirnen, vor allem in der Hippocampusregion, eine größere Menge an AGEs, β-Amyloid-Ablagerungen, Tau-positive Zellen und an RAGE aufweisen.
Ein weiteres potenzielles Zielorgan ist die Leber, in der AGEs, die vom Acetaldehyd abstammen, welches wiederum vermehrt beim Alkoholabbau gebildet wird, zur alkoholischen Leberzirrhose beitragen können (145). Bei chronischen Lungenerkrankungen, vor allem bei solchen, die durch Rauchen bedingt sind, konnte man eine Überexpression von RAGE sowie erhöhte Konzentrationen des CML an Alveolarmakrophagen und an Lungenepithelzellen finden (146). Außerdem wurden am Menschen Ergebnisse geliefert, dass die Höhe der AGE-Konzentration mit der Aktivität und der Schwere bei der rheumatoiden Arthritis (147) korreliert und bei der Osteoarthritis die Progression jener beeinflussen kann (148).

Klinisch relevante Veränderungen in puncto AGEs können bereits sehr früh auftreten. Bei Small for Gestational Age- und Large for Gestational Age-Kindern konnte man eine signifikante Verminderung von sRAGE und esRAGE im Vergleich zu Kindern, die normalgewichtig auf die Welt kamen, finden (149). Dies könnte auch ein wichtiger ätiologischer Faktor in der Entwicklung einer möglichen späteren Insulinresistenz bei Small for Gestational Age- und Large for Gestational Age-Kindern sein.

7. Abbau/Ausscheidung der AGEs

AGEs werden von Gewebsmakrophagen über AGE-spezifische und unspezifische Scavenger-Rezeptoren aufgenommen und abgebaut. Auch scheinen Endothel- und Mesangiumzellen im Abbau eine nicht unwesentliche Rolle zu spielen (150,151).Insbesondere Gewebsmakrophagen und Endothelzellen der Leber könnten hierzu beitragen indem sie über ihre Scavenger-Rezeptoren Serum-AGEs endozytieren (152).

Ein weiterer wichtiger Abbaumechanismus ist die Proteolyse der vernetzten AGEs von ihren Makro- und Mikromolekülen durch Proteasen und Peptidasen, die freie AGE-Addukte und AGE-Peptide bilden. Die AGE-Abbauprodukte werden in das Blut abgegeben und über die Nieren im Urin ausgeschieden. Die Nieren übernehmen wohl die wichtigste Exkretionsfunktion. AGE-Peptide werden, im Gegensatz zu den freien AGE-Addukten, vorher über proximale Tubuluszellen aufgenommen, weiter abgebaut und als AGE-Aminosäuren in den Urin abgegeben (153). Bei Niereninsuffizienz und wenn zu viele AGE-Abbauprodukte angeflutet werden, akkumulieren diese und schädigen die Nieren weiter, wodurch die Konzentrationen an AGEs im Serum und in diversen Geweben ansteigen (154).

Den Abbau von einigen AGE-Präkursoren, insbesondere der α-Oxoaldehyde wie MG und Gloxyal, übernimmt das GLO-System. Dieses besteht aus GLO1 und GLO2. Reagiert ein α-Oxoaldehyd mit Glutathion, dann bildet sich Hemithioacetal, welches durch GLO1 in das S-2-Hydroxyacylglutathion umgewandelt wird (155). Dieses wird mit H_2O durch die GLO2 zu Glutathion und einer 2-Hydroxacarbonsäuren umgewandelt (156).

8. Diagnostik/Messung der AGEs

Die Messung der AGEs kann grundsätzlich in zwei Medien erfolgen. Zum einen aus dem Blut, wobei die Plasma-Werte gemessen werden, zum anderen aus Geweben, v.a. die Haut wird hierbei verwendet. Neben der Haut kann die AGE-Konzentration auch aus Kornea und der Augenlinse gemessen werden. Mögliche Messmethoden zur Erfassung der AGEs sind hierbei Massenspektrometrie mit einer Hochleistungsflüssigkeits- oder Gaschromatographie, Enzyme-linked Immunosorbent Assay und die Fluoreszenzspektroskopie (157).
Zur Bestimmung der Plasma-AGEs können die eben genannten Methoden eingesetzt werden, während die Fluoreszenzspektroskopie zur Gewebemessung dient. Neben den AGEs kann man auch deren Präkursoren im Plasma bestimmen sowie den sRAGE-Rezeptor. Häufig gemessene AGEs sind Pentosidin, CML und CEL. Die Bestimmung der AGEs aus dem Blut wird vor allem für Studienzwecke verwendet. Im Gegensatz zu den Gewebemessungen ist die klinische Relevanz der Plasma-AGEs geringer, auch wenn noch nicht ganz klar ist, ob die AGE-Bestimmung aus dem Plasma oder aus den Geweben, speziell der Haut, genauer ist.
Bei der AGE-Gewebemessung macht man sich der Autofluoreszenz der einzelnen Gewebe nutzbar, die durch die Spektroskopie erfasst wird. Manche Moleküle haben die Eigenschaften, Licht zu absorbieren, wodurch sie dann kurzeitig in einem angeregten Zustand vorliegen. Bei Rückführung in den energetisch niedrigeren Zustand wird wieder Licht, nun aber mit niedrigerer Energie und längerer Wellenlänge emittiert. Endogene Fluorophore, die zu dieser Autofluoreszenz fähig sind, wären Kollagen, Aminolävulinsäure, Tryptophan, Elastin, NADH und FAD, sowie manche AGEs. Zu jenen AGEs zählen Pentosidin, Vesperlysine und Argpyrimidin. All diese Moleküle tragen zur Autofluoreszenz bei, man misst also die Gesamtanzahl an abgelagerten AGEs. Die Menge an Pentosidin scheint aber die Autofluoreszenz der Haut, im Vergleich zu anderen AGEs, am stärksten zu beeinflussen (158). Nicht fluoreszierende AGE, wie CML oder Glucosepan, werden mit dieser Methode nicht erfasst.
Die exemplarische Durchführung der Messung wird anhand der Haut-Autofluoreszenzmessung beschrieben: Meist wird eine leicht zugängliche Hautstelle für die Messung genommen. Bei den am Markt befindlichen Messgeräten AGE-Reader und Diab-spot® von DiagnOptics oder SCOUT DS® von VeraLight wird der Unterarm genommen, auch der AGE-Reader von SMT medical verwendet den Unterarm zur Messung. Mittels UV-Licht wird der Autofluoreszenzeffekt der Haut ausgelöst und jenes reflektierte Licht von der Haut über ein Spektrometer gemessen und mit einer Referenz verglichen.

Abbildung 6a & 6b: Modelle des AGE-Readers. Abb. 6b: Unterarmmessung des AGE-Readers. Bilder entnommen von Diagnoptics Technologies B.V. (159)

Eine andere Möglichkeit der Gewebemessung wäre die Autofluoreszenz von Kornea und Linse. Diese Autofluoreszenzen korrelieren mit jener der Haut und auch mit der Gefäßsteifigkeit in Typ 1-Diabetikern (160). Sie können daher ebenso zur AGE-Messung eingesetzt werden, wie die Hautmessmethoden.

Der große Vorteil der Messung von gewebsgebundenen AGEs liegt in ihrer Stabilität. AGEs unterliegen, genau wie der Blutzucker, Schwankungen, die insbesondere von der Nahrungsaufnahme abhängt (161). Gewebe, die hingegen einen niedrigen Zell-Turnover und Zellstoffwechsel haben, wie eben Augenlinse, Kornea und Gewebsschichten der Dermis, repräsentieren den AGE-Metabolismus und damit auch die glykämische Last über einen längeren Zeitraum besser, als Messungen der AGEs im Blut. Das glykämische Gedächtnis, welches für den Diabetesverlauf und damit auch für die diabetischen Komplikationen wesentlich zu sein scheint, wird hierbei besser erfasst. Jenes beruht auf Erkenntnissen der DCCT sowie der 17-jährigen Follow-up Studie EDIC. Patienten, die während der DCCT eine intensivere Blutzuckertherapie bekamen, hatten weniger mikrovaskuläre Komplikationen. Im Rahmen der EDIC stellte sich heraus, dass Patienten, die zuvor eine Standardtherapie erhielten und nun auf die Intensivtherapie umgestellt wurden, dennoch signifikant höhere HbA_{1c}-Werte in den ersten zwei Jahren aufwiesen, als jene Patienten, die von Anfang an mit der Intensivtherapie behandelt wurden. Jene HbA_{1c}-Werte glichen sich erst später an (162). Ebenso war die Inzidenz für mikrovaskuläre und kardiovaskuläre Komplikationen für jene Patienten, die erst in der EDIC eine intensivere Therapie bekamen, höher als für jene Patienten, die bereits während der DCCT mit einem intensiveren Blutzuckerregime behandelt wurden (163). Jene Erkenntnisse wurden auch beim Typ 2 Diabetes mellitus durch Holman et al. geliefert (164). Dadurch wurde der Begriff „glykämisches Gedächtnis“ in den Raum gestellt und nach möglichen Entstehungsmechanismen gesucht. Jenes könnte durch epigenetische Histonveränderungen in der Posttranslation geschehen. Indem die Hyperglykämie zu einer verstärkten ROS-Produktion in den Mitochondrien beiträgt, können diese epigenetischen Veränderungen an der Promotorregion der NF-κB-p65-Untereinheit passieren, wodurch es zur einer vermehrten Genexpression von den in diesem Entzündungsweg involvierten Proteinen kommt und zur Gefäßschädigung führt. Diese Veränderungen blieben in Endothelzellen für mindestens 6 Tage bestehen, auch unter anschließender Normoglykämie. Kurzfristige Hyperglykämieanstiege können gravierende Veränderungen bewirken (165). Da nun AGEs in diversen Organen akkumulieren, können sie durch die vermehrte Bildung an ROS und den verursachten oxidativen Stress ein wichtiger Mediator dieses glykämischen Gedächtnisses sein (166,167).
Ein bekannter klinischer Parameter, der sowohl ein Amadori-Produkt darstellt als auch in der Diabetes-Diagnose und -Nachsorge bestimmt wird, ist das HbA_{1c}. Damit wird der Langzeit-Blutzucker bestimmt bzw. wie gut der Blutzucker des Patienten/der Patientin in den letzten drei Monaten war. Das HbA_{1c} gibt somit auch einen Teil des glykämischen Gedächtnisses wieder, ist aber von der Lebensdauer der Erythrozyten abhängig. Ein besserer Marker dieses Blutzuckergedächtnisses stellt die AGE-Akkumulation in der Haut dar (168,169,170). Zudem stellt die AGE-Gewebsmessung eine nicht-invasive Messmethode dar, ist einfach und schnell durchzuführen sowie vom Untersucher/Bediener unabhängig.
Ein Nachteil von den Gewebsmessungen ist aber, dass die Konzentration der gewebsgebundenen AGEs im Alter ebenfalls bereits erhöht ist, da das Alter, unabhängig von einer eventuellen diabetogenen Stoffwechsellage, höhere Autofloureszenzwerte mit sich bringt (171). Experten sind sich daher immer noch uneinig, welche Methode nun wirklich am genausten zur Messung der AGEs ist, ebenso, welche man im Klink-Alltag am besten einsetzen könnte. Vieles deutet aber darauf hin, dass sich die Gewebemessungen gegenüber den Serummessungen durchsetzen werden, die Hautmessmethoden wahrscheinlich gegenüber denen der Augen.
Goldstandard der Gewebsmessungen ist jedoch nach wie vor die Analyse von Hautbiopsien, auch wenn diese zeitaufwendiger, teurer und technisch aufwendiger ist als die Messung der Autofluoreszenz der Haut. Die Autofluoreszenzwerte der Haut korrelieren aber eng mit den Werten der Hautbiopsien (172).

In verschiedenen Studien konnte bereits die klinische Relevanz der AGE-Messmethoden aufgezeigt werden. Lutgers et al wiesen nach, dass in Typ 2 Diabetikern die Haut-Autofluoreszenz im Vergleich zu einer Kontrollgruppe höhere Werte aufwies. Ebenso bestand eine signifikante Korrelation zwischen Haut-Autofluoreszenz und Diabetesdauer, BMI, Rauchen, HbA_{1c}, Alter, Kreatinin und dem HDL-Cholesterin. Typ 2-Diabetespatienten, die bereits mikro- und makrovaskuläre Komplikationen entwickelten, hatten zudem höhere Fluoreszenzwerte als Probanden aus der Kontrollgruppe bzw. als solche, die nur Mikrovaskulopathien hatten (171). Diabetiker mit erhöhtem vaskulären Komplikationsrisiko könnten dadurch profitieren und erkannt werden. Erhöhte Autofluoreszenzwerte wurden auch bei Typ 1 Diabetikern mit autonomer und mit peripherer Polyneuropathie gemessen. Jene Werte waren mit den beiden Polyneuropathien auch stärker assoziiert als das mittlere HbA_{1c} (173). Insbesondere in der Risikoabschätzung für Mortalität (174), für kardiovaskuläre Erkrankungen (175) sowie für Transplantatverlust bei Nierentransplantierten (176) können Autofluoreszenzmessungen als starker und unabhängiger Prädiktor eingesetzt werden. Dank der Haut-Autofluoreszenzmessung könnten Scores und Risikorechner, wie z.B. UKPDS Risk Engine, eventuell hinsichtlich der kardiovaskuläres Risikoprädiktion optimiert werden (175).
Einzelne AGEs kann man im Blut separat bestimmen und manche davon könnten zukünftig auch als Biomarker für einzelne diabetische Folgeerkrankungen darstellen, da sie für jene stärker und früher erhöht sind als andere AGEs. Bisher werden sie oft nur für Studienzwecke verwendet und sind in der Klink (noch) nicht etabliert. So zeigte sich, dass die Serum-Pentosidinkonzentration einer Kontrollgruppe (246,03±55,05pg/ml) im Vergleich zu Patienten mit diabetischer Nephropathie (287,58±41,9pg/ml) als auch mit diabetische Retinopathie (337,79±63,16pg/ml) signifikant erhöht ist (177). Besonders im Stadium G5 des chronischen Nierenversagens steigt der Pentosidinlevel im Blut stark an (178). In der diabetischen Retinopathie könnte sich eventuell die Messung der Hämoglobinwerte für N(6)-3-formyl-3,4-dehydropiperidino-Lysins durchsetzen. Jenes ist bei der proliferativen Retinopathie, unabhängig vom HbA_{1c}, erhöht und könnte somit den Schweregrad einer diabetischen Retinopathie widergeben (102). In einer Erkrankung, die nicht diabetesassoziiert ist, nämlich bei der Multiplen Sklerose, könnten CML und CEL in Zukunft auch als Biomarker eingesetzt werden (179).

9. Therapieoptionen gegen AGEs

Sowohl in den diabetischen Komplikationen als auch in einer Reihe von weiteren Erkrankungen, wie z.B. Mb. Alzheimer, scheinen AGEs einen wichtigen Einfluss auf die Entstehung, den Verlauf, die Prognose und nicht zuletzt auch auf die Mortalität zu haben. Daher erscheint es nicht verwunderlich, dass man Therapieoptionen gegen diese zu entwickeln versucht. AGEs erzielen ihre Effekte unter anderem dadurch, dass sie mit verschiedenen Extrazellulärmolekülen, wie Kollagen oder Elastin, Bindungen eingehen, wodurch ihre Struktur verändert wird und somit die Funktion verloren geht. Solche Pharmaka, die diese Vernetzungen mit diesen Proteinen aufbrechen können, werden auch als AGE-Cross-link Breaker bezeichnet. Eine Entstehungsstufe vorher setzen hingegen die AGE-Inhibitoren an, die auf unterschiedliche Wirkungsweise die AGE-Bildung hemmen können. Da aber die AGEs nicht nur über die Vernetzung mit Proteinen zu Veränderungen führen, sondern auch über ihren Rezeptor Schaden anrichten können, gibt es auch bezüglich der RAGE-Blockierung therapeutische Ansätze, nämlich RAGE-Antagonisten.
Neben diesen genannten Substanzen, wovon viele speziell für die AGE-Reduktion entwickelt wurden, gibt es auch Medikamente, bei denen erst kürzlich ein glykationshemmender Effekt bzw. ein RAGE-antagonisierender Effekt nachgewiesen wurde. Viele dieser Medikamente werden bereits in der Therapie des Diabetes mellitus und seinen Folgeerkrankungen verwendet, finden aber auch bei nicht diabetischen Komplikationen Verwendung. Weiters wurden Ergebnisse geliefert, die zeigen, dass auch Wirkstoffe und Substanzen, welche man eher als Nahrungsergänzungsmittel bezeichnen würde, zu einer effektiven Reduktion der AGE-Konzentration führen und positive Effekte auf die diabetischen Komplikationen haben könnten.
Neben den Medikamenten und den nicht-medikamentösen Wirksubstanzen gibt es noch weitere therapeutische Interventionsmöglichkeiten. Zum einen die Ernährung , zum anderen die Phytotherapie. Wie bereits aus Uribarri et al. entnommen (62), ist der AGE-Gehalt verschiedener Lebensmittel nicht gleich und so enthält gebratener Speck fast 4000-mal mehr CML als eine Tomate.
Auf diese sechs „Optionen“ der AGE-Therapie, nämlich AGE-Cross-link Breaker, AGE-Inhibitoren, RAGE-Antagonisten, bereits erprobte Medikamente, Ernährung und Phytotherapie, sofern man diese als solche bezeichnen kann, soll im Nachfolgenden genauer eingegangen werden.

9.1. AGE-Cross-link Breaker

Diese Wirkstoffgruppe kann, wie der Name schon vermuten lässt, die Verbindungen und Vernetzungen zwischen den AGEs und den Extrazellulärmolekülen aufspalten. Zu den bekannteren Vertretern dieser Wirkstoffklasse zählen z.B. Alagebrium, TRC4186, TRC4149 und PTB. Viele der AGE-Cross-link Breaker sind Thiazolium-Derivate. Dieser Thiazolring scheint auch im Wirkmechanismus wichtig zu sein, denn Vitamin B1, welches auch einen Thiazolring besitzt, kann ebenfalls zu einer Reduktion der AGE-Konzentration führen (s.u.). Benfotiamin, das Prodrug vom Vitamin B1, reduziert die Menge an AGEs ebenso. Die genaue Wirkungsweise, wie die AGE-Vernetzungen aufgebrochen werden, ist aber noch nicht komplett aufgeklärt, auch wenn es bereits Ansätze und Erklärungen gibt, vor allem zum Alagebrium. Alagebrium bricht die Verbindungen von Alpha-Diketonen, besser gesagt die Verbindung zwischen den beiden Kohlenstoffatomen der Carbonylgruppen auf. Dadurch entsteht aus der einen Carbonylgruppe eine Carboxygruppe (-COOH) und aus der anderen Carbonylgruppe eine Aldehydgruppe (-COH) (180). Die anderen AGE-Cross-link Breaker wirken auch in ähnlicher Weise auf die Carbonylgruppen der AGEs, PTB beispielsweise auch auf die Beta-Diketone (181).

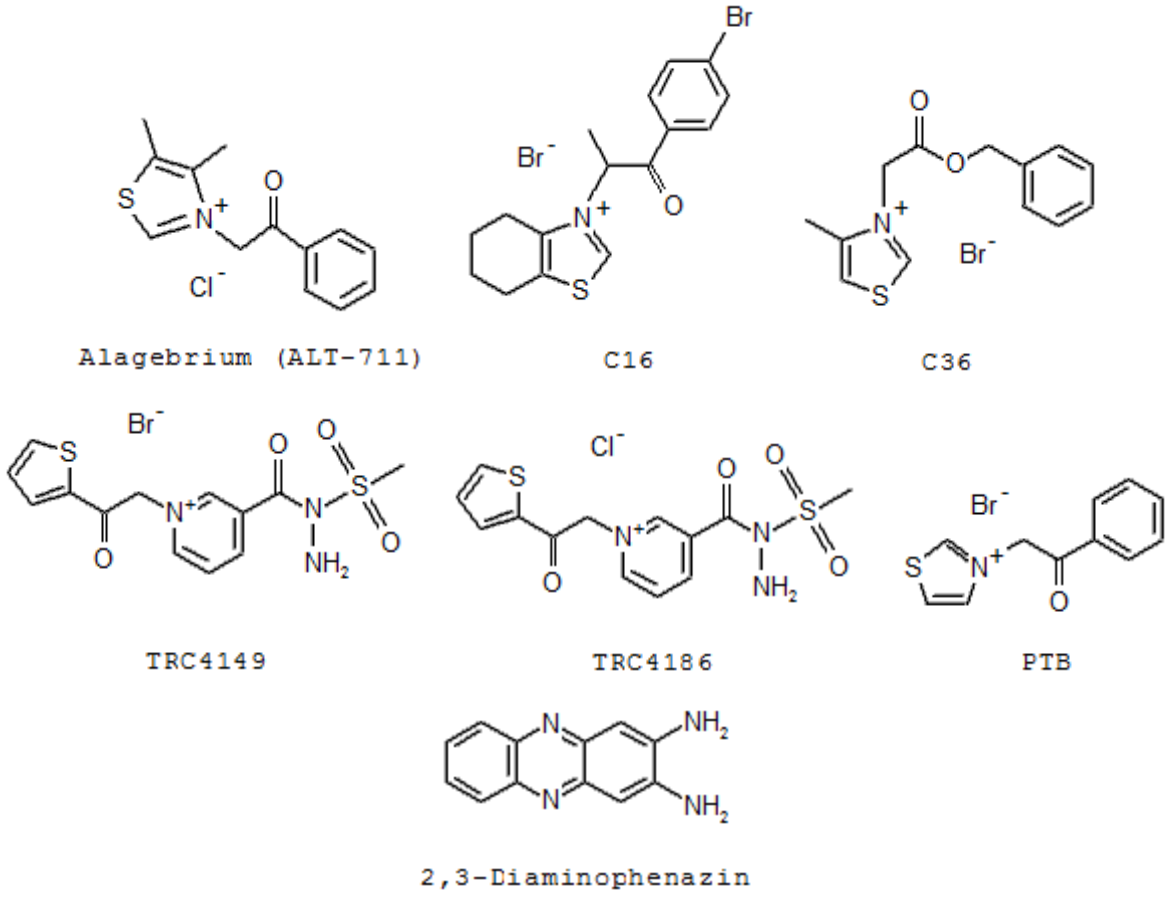

Abbildung 7: Chemische Strukturformeln der AGE-Cross-link Breaker

9.1.1. Alagebrium

Alagebrium (4,5-Dimethyl-3-(2-oxo-2-Phenylethyl)-Thiazoliumchlorid, ALT-711) ist wohl der bekannteste AGE-Cross-link Breaker. Es wurde von Alteon Corporation entwickelt und war ein Hoffnungsträger dieser Firma, da diese Substanz in Phase I und II Studien überzeugende Ergebnisse lieferte.

9.1.1.1. Kardiovaskuläre Wirkungen

Alagebrium wurde vor allem als neuartiges und zukünftiges Medikament gegen kardiovaskuläre Erkrankungen gehandelt. Eine der früheren präklinischen in vivo Studien war jene von Wolffenbuttel et al. (182). An Ratten zeigte sich, dass durch die Gabe von Alagebrium die Steifigkeit in den Karotis-Arterien abnahm und der Lumendurchmesser jener Arterien signifikant größer wurde. Die Dehnbarkeit der Arterienwand der Ratten, welche mit Alagebrium für eine Woche behandelt wurden, nahm um ca. 40% zu, und blieb nach 3-wöchiger Behandlung weitgehend konstant. Blutzuckerwerte (24,5±3,2mmol/l), sowie die Blutdruckwerte (syst. RR 111±12mmHg, diast. RR 87±15mmHg) der diabetischen Ratten blieben während der 3-wöchigen Therapie mit Alagebrium recht konstant und wiesen keine signifikanten Änderungen auf (Blutzucker 24,0±3,5mmol/l, syst. RR 109±13mmHg, diast. RR 85±16mmHg). Hingegen zeigte sich durch die Alagebrium-Therapie eine Verbesserung des Herzindex und des HZV, beide Parameter der Herzfunktion ($p<0,05$). Die Herzfunktion konnte auch bei STZ-induzierten diabetischen Ratten verbessert werden (183). Unter der Therapie (10mg/kg täglich) nahmen das left ventricle mass/body weight-Verhältnis, die BNP- sowie die Kollagen III-Expression in den diabetischen Ratten ab, auch wurde der AGE-Gehalt im Herzmuskel sowie die RAGE-Expression reduziert ($p<0,05$), während der Blutzucker oder das HbA_{1c} unverändert blieben. Bei Kranstuber et al. (184) zeigte sich auch eine Verbesserung der kardialen Dysfunktion unter Alagebrium, indem es die isovolumetrische

Relaxationszeit der Diastole verbesserte. Der Ryanodin-Rezeptor 2 und die sarkoplasmatische Ca^{2+}-ATPase 2a, zwei wichtige Proteine der regulatorischen Kalziumhomoöstase und damit der Herzkontraktion, waren bei den diabetischen Ratten signifikant vermindert. Alagebrium wirkte dieser Abnahme entgegen und konnte die Ca-Rückaufnahme verbessern.
Ähnliche Ergebnisse zur Elastizität der Arterien sowie zu den Herzfunktionsparametern und Herzleistungsparametern wurden bei Rhesusaffen (Macaca mulatta) sowie bei Mischlingshunden geliefert. Bei Vaitekvicius et al. (185) beruhten die organischen Veränderungen jener Affen auf dem höheren Alter und nicht auf einen diabetischen Metabolismus. Diese Studie wurde als Doppelcrossovertest geführt. Durch das Alagebrium nahm die Dehnbarkeit der Karotiden zu und die Pulswellengeschwindigkeit ab ($p=0,007$). Ebenso kam es zu einer Vergrößerung des enddiastolischen Durchmessers im linken Ventrikel ($p=0,02$), während der endsystolische Durchmesser keine signifikante Veränderung aufwies ($p=0,22$). Schlagvolumenindex und das linksventrikuläre Verkürzungsausmaß wiesen wiederum eine signifikante Erhöhung auf. Jene positiven Effekte des Alagebriums hielten ein paar Wochen an, nachdem der Wirkstoff abgesetzt wurde, ehe die Parameter wieder jene Werte erreichten, welche vor der Beginn bei den Affen gemessen wurden. Man hätte bei dieser Studie allerdings eine größere Anzahl an „Probanden“ als nur 6 Affen heranziehen können, um das Ergebnis aussagekräftiger erscheinen zu lassen und um vielleicht manche Erkenntnis besser zu verdeutlichen. Bei Liu et al. (186) zeigte die Alagebriumtherapie (1mg/kg/Tag) ebenfalls, dass sie zu einer Zunahme des Schlagvolumen, der linksventrikulären Ejektionsfraktion und der aortalen Dehnbarkeit führen kann ($p<0,05$ jeweils) sowie die Anzahl der Kollagentypen I und III signifikant sinken lässt. Shapiro et al. (187) haben einen positiven Effekt auf die Gefäße gezeigt, indem der systemarterielle Widerstand und der systolische Blutdruck signifikant abnahmen, während gleichzeitig die arterielle Compliance zunahm. Hingegen änderte sich das linksventrikuläre enddiastolische Volumen nicht signifikant, ebenso blieben Zeichen der Herzhypertrophie, wie das BNP oder das left ventricle mass/body weight-Verhältnis durch die Intervention unverändert. Schlagvolumen und Ejektionsfraktion stiegen bei den therapierten Hunden ebenfalls unzureichend an ($p>0,1$). Biochemisch betrachtet führte das Alagebrium zu keiner Verminderung des CML bei Shapiro et al. Forbes et al. (188) zeigten hingegen jene CML-Reduktion zum ALT-711 und zum Aminoguanidin. An diabetischen Apo E (-/-)-Mäusen wurde hierbei durch Alagebrium eine hoch signifikante Reduktion an CML in der Gefäßwand sowie für die Plasma AGE-Peptide beschrieben. Ebenso kam es zur Reduktion der RAGE-Expression in der Aorta ($p<0,01$), zur Abnahme der Expressionen von CTGF und TGF-β1 sowie zur Verringerung des Kollagengehalts der atherosklerotischen Plaques für die Kollagentypen III und IV, nicht aber für den Typ I. Eine neue Erkenntnis durch diese Studie wurde geliefert, indem Alagebrium auch zu einer signifikanten Reduktion des Cholesterins, LDL-Cholesterins sowie der Triglyzeride führte. Wahrscheinlich waren diese Veränderungen in jener Studie verantwortlich, dass es zu einer gleichzeitigen Verringerung der Plaqueprogression und der Atherosklerose in diabetischen Mäusenaorten durch die Alagebriumtherapie gekommen ist. Lediglich die Plaques des Aortenbogens zeigten sowohl durch Alagebrium als auch durch Aminoguanidin keine Verminderung ihrer Fläche und Morphologie. Alagebrium, genauso wie Aminoguanidin, Pyridoxamin und Metformin, haben auch auf das HDL-Cholesterin Einfluss, indem sie die Glykierung des Apo A1 hemmen, welches für die HDL-Funktion und den reversen Cholesterintransport essentiell ist (189). Die Glykierung des Apo A1 verhindert die Bildung der reifen HDL-Partikeln, da das strukturveränderte Apo A1 dann für die Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase nicht mehr als Substrat zur Verfügung steht. Jene MG-vermittelte Glykation konnte durch Alagebrium verringert werden, bereits glykiertes Apo A1 wurde aber weder durch das Alagebrium noch durch die anderen Medikamente aufgespalten.

In einer humanen Studie an 93 über 50-jährigen Probanden, bei denen Zeichen einer verringerten Gefäßelastizität bestanden (systol. RR ≥140mmHg, arterielle Compliance ≤1,25mL/mmHg, Pulsdruck ≥60mmHg), verbessert sich die arterielle Dehnbarkeit (190). Jene Patienten, die 70mg Alagebrium dreimal täglich erhielten (n=62), wiesen im Vergleich zu der Placebogruppe (n=31) nach 8 Wochen eine Abnahme des Pulsdrucks auf (-5,3±9,9 vs. -0,6±8,2mmHg, p=0,033). Eine Reduktion des diastolischen und systolischen Blutdrucks wurde zwar erreicht, zeigte jedoch keine statistische Signifikanz (p=0,058). HZV sowie der systemarterielle Widerstand änderten sich weder in der Placebo- noch in der mit Alagebrium-Gruppe signifikant. Hingegen zeigte die arterielle Dehnbarkeit eine Erhöhung (p<0,01 am 28. Tag, p<0,05 am 56. Tag) und das Schlagvolumen/Pulsdruck-Verhältnis, welches mit der arteriellen Compliance eng korrelierte, wies am 28. Tag auch eine Erhöhung auf (p=0,03), die Pulswellengeschwindigkeit am 56. Tag eine Abnahme (p<0,05). Bei Kass et al. wurde Alagebrium von den Probanden auch gut vertragen. Jedoch wurden in jener Studie Patienten ausgeschlossen, falls sie z.B. folgende Krankheiten hatten, wie eine Herzinsuffizienz (ab NYHA II), Angina pectoris, Herzinfarkt, Vorhofflimmern, Diabetes mellitus Typ 1 und nicht eingestellten Diabetes mellitus Typ 2, sowie falls sie eine spezielle Laborkonstellation aufwiesen. Viele dieser genannten Krankheiten sind aber häufig mit Diabetes mellitus vergesellschaftet. Auch dass ein Diabetes mellitus unzureichend eingestellt ist, ist in der klinischen Praxis kein Einzelfall. Zudem wiesen 90% der Probanden eine vorbestehende antihypertensive Therapie auf. Ob jene Ergebnisse daher auch für Diabetiker gelten, ist somit fraglich, ebenso, ob Alagebrium als alleiniges Therapeutikum vergleichbare Daten liefern würde oder ob es nur als Zusatzmedikament zur etwaigen Behandlung in Frage käme. Nachfolgende Studien lieferten nämlich bereits ernüchterndere Ergebnisse und brachten mehr Klarheit. In der Studie von Little et al (191) zeigte Alagebrium zwar vorteilhafte Effekte in Bezug auf eine diastolische Herzinsuffizienz, indem es die linksventrikuläre Herzmasse reduzierte (124±35g vs. 119±34g, p=0,036), die diastolische Füllung verbesserte und die Probanden gaben auch eine subjektive Verbesserung der Lebensqualität an. Vaskulär betrachtet, wurde aber keine signifikante Verbesserung der aortalen Dehnbarkeit durch Alagebrium gezeigt. Alagebrium hatte auch bei anderen älteren Probanden keine positiven vaskulären Effekte (192). Bei Hartog et al. (193) blieb zudem die kardiale Wirkung aus, sodass eine Alagebriumgabe (200mg 2x täglich) bei älteren Patienten mit Herzinsuffizienz keine signifikanten Verbesserungen der diastolischen und systolischen Funktion sowie Veränderungen des NT-pro-BNP und der NYHA-Klasse zeigte. Auch kam es zu keiner signifikanten Reduktion der AGE-Akkumulation, welche mittels der Haut-Autofloureszenz gemessen wurde (p=0,42). Dafür wurde Alagebrium auch bei diesen Probanden gut vertragen.

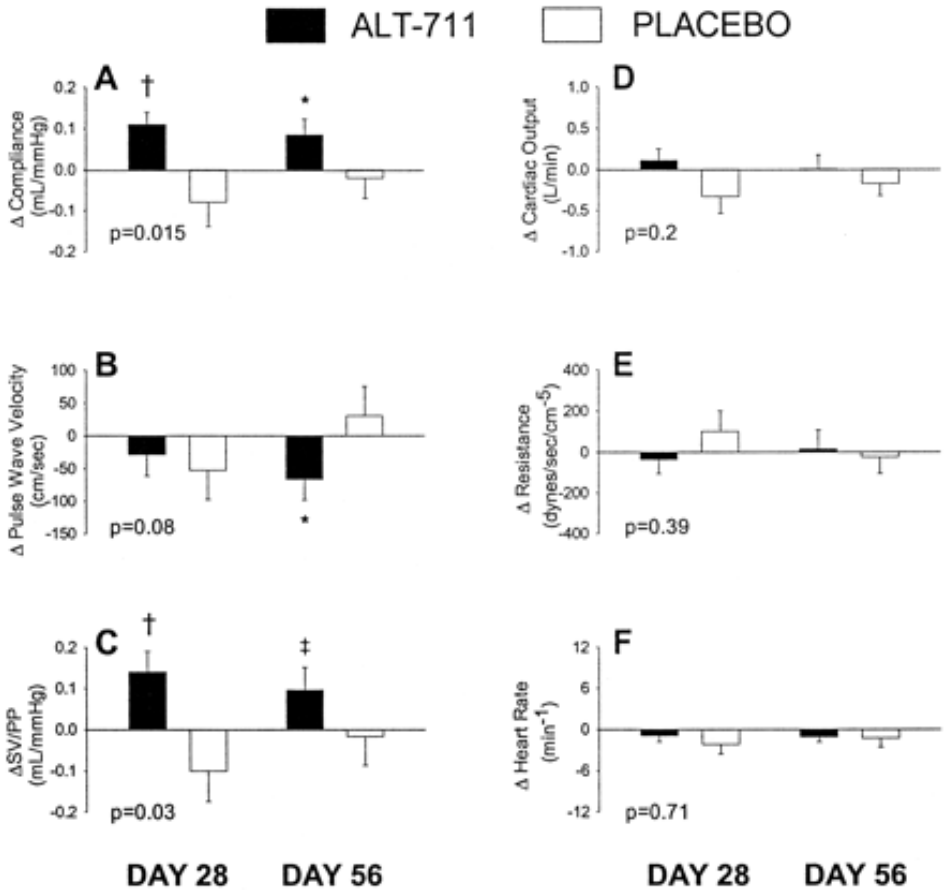

Abbildung 8: Veränderungen diverser kardiovaskulärer Parameter bei Patienten durch Alagebriumgabe (70mg dreimal täglich p.o.) am 28. und am 56. Tag.
Änderung durch Alagerbium auf A) die Arteriencompliance, B) die Pulswellengeschwindigkeit, C) den Schlagvolumen-Pulsdruck-Quotienten, D) das HZV, E) den systemischen Gefäßwiderstand und auf F) die Herzfreuquenz. Entnommen aus Kass et al. (190)

9.1.1.2. Renale Wirkungen

Alagebrium lieferte auch in der Behandlung der diabetischen Nephropathie recht überzeugende Resultate, vornehmlich allerdings am Tiermodell und nicht am Menschen. So führte Alagebrium bei STZ-Ratten zu einem niedrigeren Blutdruck ($p<0,01$). Die Albuminausscheidungsrate, ein Parameter der glomerulären Funktion und wichtiger Prognosefaktor der diabetischen Glomeruosklerose, sank zumindest auf mehr als die Hälfte von jenem Wert, welchen die diabetischen Ratten im Durchschnitt hatten ($p<0,001$). Daneben verringerte Alagebrium die Serum-AGE-Konzentrationen ($p<0,001$), die CML-Ablagerung ($p<0,001$) und RAGE-Expression ($p<0,01$) im Gewebe, sowie die Genexpression von TGF-β1 und CTGF ($p<0,001$). Allerdings wiesen die Ratten, welche die Alagebriumtherapie später erhielten, für manche Werte keine signifikante Reduktion auf, und nur jene Ratten, welche die Therapie früher erhielten, zeigten eine Abnahme des gesamten renalen Kollagens, TGF-β1, Nitrotyrosin, als Marker des nitrosativen Stress, sowie der Glomerulosklerose (194). Ähnliches wurde auch durch Lassila et al. gezeigt (195). Der systolische Blutdruck blieb bei den mit Alagebrium (20mg/kg/Tag) behandelten Apo E (-/-)-Mäusen zwar unverändert, dafür wurde die Albuminurie und die Schädigungen auf die Glomeruli und auf das Tubulointerstitium signifikant reduziert. Auch in dieser Studie erreichte das Alagebrium eine Abnahme der Serum-AGEs, der AGE-Ablagerungen in der Niere, der RAGE-Expression und der TGF-β1-Expression im Vergleich zu diabetischen Apo E (-/-)-Mäusen (für alle $p<0,01$). Zusätzlich schien Alagebrium auch die Zelldifferenzierung und -migration zu beeinflussen. α-SMA positive Zellen werden bei entzündlichen Prozessen, z.B. durch Makrophagen, stimuliert und führen zu einer Bindegewebsproliferation. Solche α-SMA-positive Zellen sind z.B. Myofibroblasten, aber auch Perizyten und Mesangiumzellen, und waren bei den

diabetischen Mäusen vor allem im Mesangiumbereich vermehrt zu finden. Zusammen mit der Makrophageninfiltration kann hierdurch die Fibrosierung zunehmen. Alagebrium wirkte antiproliferativ auf beide Zellen, sowohl auf die Makrophagen als auch auf die α-SMA-positiven Zellen, und könnte mit diesem weiteren therapeutischen Angriffspunkt strukturelle nierenprotektive Effekte zusätzlich verbessern. Die morphologischen diabetischen Veränderungen, wie Mesangiumproliferation, gBM-Verdickung und glomeruläre Hypertrophie wurden durch ALT-711 bei db/db-Mäusen abgeschwächt (196). Daneben führte Alagebrium zu einer verbesserten renalen AGE-Ausscheidung, jedenfalls für das CML, dessen Konzentration im Serum gleichzeitig abnahm.
Wie bereits zuvor beschrieben, verursachen AGEs Schäden nicht nur über die AGE-RAGE Kaskade, sondern auch über andere Wege sowie direkt, nur eben im unterschiedlichem Maße. Insbesondere renale Entzündungsprozesse scheinen auch ohne RAGE durch AGEs aktiviert zu werden, das sich am RAGE-Apo E double-Knockout-Tiermodell zeigte (197). Bei diesen Mäusen wurde bereits eine geringere glomeruläre Akkumulation an Fibronektin und Kollagen Typ IV gefunden, welche unter der Therapie mit Alagebrium weiter verringert wurde. Eine weitere Reduktion von TGF-β, VEGF und CTGF durch Alagebrium wurde hingegen nicht beobachtet, ebenso zeigte sich keine signifikante Verminderung der Albuminurie. Dort, wo die AGE-RAGE-Achse bereits inaktiviert wird, kann Alagebrium keine oder nur schwache Wirkungen zeigen, da ein Aufbrechen der AGE-Vernetzungen dazu führt, dass dem RAGE das Substrat zur Aktivierung fehlt. Da aber RAGE in diesem Tiermodell bereits inaktiv ist, hatte ein zusätzlicher Substratmangel so gesehen kaum Effekte. Jedoch kann man bis zum heutigen Zeitpunkt nur vermuten, welcher dieser beschriebenen fünf Wege nun für welchen pathogenetischen Vorgang entscheidender ist. Jedoch könnte dies für zukünftige Therapieoptionen wichtig sein. Einer der Alternativwege für AGEs ist der PKC-Weg, in dem Alagebrium durch Hemmung der PKC-α-, -βI-, -βII-, und -ε-Isoformen Wirkungen zu haben scheint, zumindest auf die renalen AGE-Veränderungen (198). Die phosphorylierte PKC-α zeigte unter dem Alagebrium auch eine Abnahme ($p<0,05$), verglichen mit der diabetischen Kontrollgruppe, ebenso der VEGF und Extrazellulärproteine wie Fibronektin und Laminin ($p<0,001$ jeweils).
Dass Alagebrium die CML-Konzentrationen verringern kann, zeigte sich bereits. In der Studie von Park et al. (199) hatte Alagebrium zusätzlich Auswirkungen auf die glomeruläre Pentosidinakkumulation, indem es in db/db-Mäusen jene reduzierte ($p<0,05$). Auf die CEL-Akkumulation hatte es jedoch keinen Einfluss. Auch scheint es nicht effektiv Glucosepan aufbrechen zu können bzw. vor dessen Auswirkungen zu schützen (200).

9.1.1.3. Weitere Wirkungen

Mögliche Ansätze einer Alagebriumtherapie bzw. Studien mit Alagebrium wurden in der Augenheilkunde sowie Urologie erbracht. Die Überlegung, Alagebrium zur Senkung des intraokulären Drucks einzusetzen, kam von Kiland et al. (201), da es im Alter zum Elastizitätsverlust der hinteren Anteile des Ziliarkörpers kommen kann, wodurch der Abfluss des Kammerwasser vermindert werden würde. Dieser Elastizitätsverlust könnte durch die AGEs verstärkt werden. Daher bekamen Rhesusaffen transcorneale und intravitreale Injektionen mit Alagebrium gespritzt. Alagebrium zeigte jedoch keine signifikanten Veränderungen des intraokulären Druckes oder der Akkommodationseigenschaften, dafür wurde die Abflussfazilität nach 6 Monaten signifikant erhöht. Daher, und wie vom Autor auch selbst beschrieben, ist die intraokulare Alagebriumgabe kein überzeugender Therapieansatz des primären Offenwinkel-Glaukom wird sich daher auch nicht in Zukunft dafür eignen. Überzeugender waren Studien zur erektilen Dysfunktion an Diabetes mellitus Typ 1 Ratten. In Kombination mit Sildenafil verbesserte sich deren erektile Funktion, indem der intrakavernöse Druck signifikant anstieg und ähnliche Werte der Kontrollgruppe erreichte. Peniles Gewebe wurde untersucht, um die Konzentrationen an AGEs, MDA, eNOS

und iNOS, cGMP, NF-κB, MAP-K sowie den Apoptosegrad zu bestimmen. Durch die Kombinationstherapie konnte eine Verminderung dieser Parameter festgestellt werden, mit Ausnahme des cGMP, welches eine Konzentrationszunahme erfuhr, sowie der eNOS, die keine signifikanten Veränderungen zeigte (202). Die Verbesserung der erektilen Funktion bei diabetischen Ratten wurde auch mit der Kombination von ALT-711 und Insulin erzielt. Während die Monotherapien mit Insulin bzw. mit Alagebrium die erektile Funktion sowie die histologischen Veränderungen, wie den Apoptosegrad und den Gehalt an glatten Muskelzellen sowie Endothelzellen, nur teilweise wiederherstellen konnten, erwies sich die kombinierte Therapie als effektiver. Durch das Alagebrium wurde jedoch, im Vergleich zu den mit der Insulin-Monotherapie behandelten Ratten, eine stärkere Abnahme der AGE-Ablagerungen und eine geringere Expression des RAGE im Gewebe gefunden (203). Klinische Studien dazu fehlen bislang und daher bleibt es vorerst ungeklärt, ob Alagebrium zur Behandlung der erektilen Dysfunktion überhaupt geeignet wäre und wenn ja, ob es alleine bereits ausreicht oder ob es eher als Zusatztherapeutikum in Frage käme. Auch beim Hypertonus konnten durch eine Kombinationstherapie aus Alagebrium und Nifedipin signifikant bessere Blutdruckwerte erzielt werden (204). Jedoch scheint eine Kombinationstherapie mit Alagebrium nicht bei jedem Medikament signifikante Verbesserungen zu haben. An Ratten zeigte die Monotherapie von Ramipril (1mg/kg/Tag) und von Alagebrium (10mg/kg/Tag) zwar eine signifikante Reduktion, die Kombinationstherapie aus beiden führte aber zu keiner weiteren Verbesserung (205). Es zeigten sich jedoch auch kaum Medikamenteninteraktionen und die Kombinationstherapie wurde sehr gut vertragen.

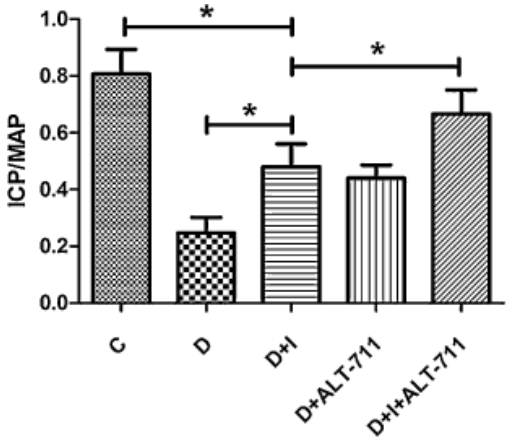

Abbildung 9: Veränderung der erektilen Funktion bei Ratten, gemessen mittels des Verhältnisses zwischen intrakavernösem Druck (ICP) und mittlerem arteriellem Druck (MAP).
C=nicht diabetische Kontrollgruppe, D=diabetische unbehandelte Ratten, D+I=diabetische Ratten mit mittellang wirksamen Insulin (2-6 Einheiten s.c. zweimal täglich) behandelt, D+ALT711=diabetische Ratten mit Alagebrium (3 mg/kg täglich i.p.) behandelt, D+I+ALT711=diabetische Ratten, die eine Kombinationstherapie mit aus Insulin und Alagebrium bekamen. * steht für den Signifikanzwert ($p<0,05$) verglichen zwischen jenen zwei Gruppen unterhalb der Linie.

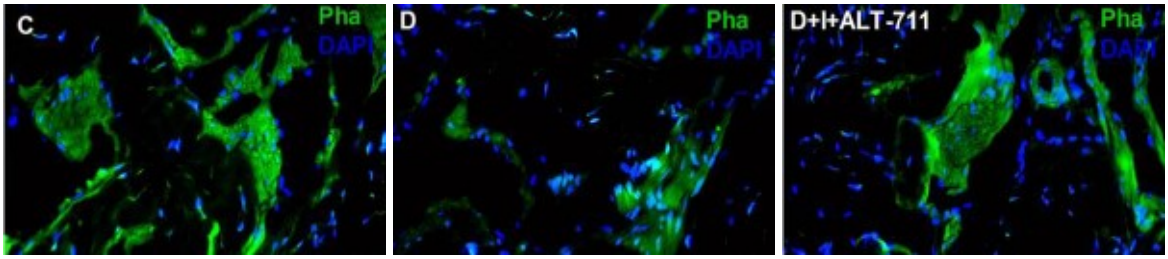

Abbildung 10: Immunhistochemische Markierung von penilem Ratten-Gewebe.
Grün markiert Phalloidin (Pha), ein Marker der glatten Muskelzellenexpression. Blau markiert 4′,6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI), ein Marker für Zellkerne. C=nicht diabetische Kontrollgruppe, D=diabetische unbehandelte Ratten, D+I+ALT711=diabetische Ratten mit einer Kombinationstherapie aus Insulin und Alagebrium. Abbildung 9 & 10 entnommen aus Wang et al. (203)

Ein weiterer möglicher Effekt des Alagebriums zeigte sich metabolisch in einer Verbesserung der Glukoseintoleranz des Diabetes mellitus. Eine Vorbehandlung mit i.p. Alagebrium verbesserte bei Ratten die Glukosetoleranz signifikant. Diese wurde durch die vorherige Gabe von MG verschlechtert. Durch das MG wurde auch die Insulin-vermittelte Glukoseaufnahme reduziert und die Plasmainsulin-Werte waren in jenen Tieren, die nur Methlyglyoxal bekamen, höher. In der mit Alagebrium vortherapierten Gruppe wurden aber beide Effekte abgeschwächt (206).

9.1.1.4. Nebenwirkungen

Da Alagebrium bisher in der Therapie des Diabetes mellitus bzw. dessen Komplikationen und Komorbiditäten, wie Hypertonie, keinen wirklichen Stellenwert besitzt, sind Studien und Fakten zu den möglichen Nebenwirkungen auch rar und die Daten dazu mehr Theorie als abgesichertes Wissen. Allerdings scheint Alagebrium sehr gut verträglich zu sein und weist nur wenige, leichtgradige Nebenwirkungen auf (207). Auch in der Studie von Kass et al. (190) wurde das Alagebrium gut toleriert. Als mögliche Nebenwirkungen wurden Verwirrtheit, Schmerzen, Infektionsneigung sowie Kopfschmerzen und Diarrhoe genannt. In zwei Fällen wurde von Vorhofflimmern berichtet und in der Alagebrium-Gruppe wurde ein Anstieg der Triglyzeride beobachtet, obwohl Forbes et al. (188) in ihrer Studie eine Verminderung der Triglyzeride zeigen konnten. Andere Laborparameter blieben, so auch das HbA_{1c}, unverändert. Eine theoretische Nebenwirkung könnte die Hemmung der Thiaminpyrophosphokinase sein, wodurch das Thiamin nicht mehr in das Thiamindiphosphat umgewandelt wird und somit ein Vitamin B1-Mangel mit Beri-Beri oder einer Wernicke-Enzephalopathie resultieren könnte. Alagebrium wäre ein Inhibitor dieses Enzyms, jedoch nur mit geringer Affinität, sodass Thiaminmangelzustände, wenn überhaupt, nur bei Überdosierungen beobachtet werden würden (208). Ebenso scheint Alagebrium zumindest mit manchen Medikamenten keine Wechselwirkungen einzugehen, jedenfalls nicht am Tiermodell mit ACE-Hemmern, Insulin oder Sildenafil.

9.1.2. Weitere AGE-Cross-link Breaker

Im Vergleich zum Alagebrium sind andere AGE-Cross-link Breaker eher unbekannte Wirkstoffe. Die Wirkungsweise dieser AGE-Cross-link Breaker ist ähnlich wie die des Alagebrium, indem sie auch Verbindungen zwischen den Kohlenstoffatomen der Carbonylgruppen aufbrechen. Die exakte Angriffsstelle jener Substanzen ist aber, wie gesagt, nicht bekannt.

9.1.2.1. C16 & C36

Daten zu beiden AGE-Cross-link Breaker, C16 (3-[2-(4-Bromo-Phenyl)-1-Methyl-2-oxo-Ethyl]-4,5,6,7-Tetrahydro-Benzothiazol-3-iumbromid) sowie C36 (3-Benzyloxycarbonylmethyl-4-Methyl-Thiazol-3-iumbromid), liegen wenige vor. C16 hatte günstige Effekte auf das kardiovaskuläre System bei diabetischen Ratten (209). Es zeigte eine signifikante Erhöhung des HZV, des linksventrikulären systolischen Drucks und der systemarteriellen Compliance sowie eine Verminderung des totalperipheren Widerstands ($p<0,05$ jeweils). Die Verbesserung dieser Parameter war in jener Gruppe, die mit 50mg/kg C16 behandelt wurden, größer als in der Gruppe mit 25mg/kg, mit Ausnahme des linksventrikulären systol. Drucks. Der systolische und diastolische Blutdruck bei den mit C16-behandelten Ratten zeigte im Vergleich zu den nicht therapierten diabetischen Ratten zwar eine tendenzielle Abnahme, jedoch keine statistische Signifikanz. Eine Alagebriumtherapie (12,5mg/kg bzw. 25mg/kg) lieferte ähnliche Ergebnisse, welche im Vergleich zu der C16-Therapie aber keine Verbesserungen bzw. Verschlechterungen zeigte. Wie das Alagebrium wies auch das C16 unabhängig zur Dosis, keine Veränderungen im Hinblick auf den Blutzucker auf. Dafür führte es zur Senkung der abgelagerten AGEs in der

Media der Aorta. C16 scheint somit auf das kardiovaskuläre System ähnlich zu wirken wie das Alagebrium.
Auch C36 zeigte bei diabetischen Ratten recht ähnliche Ergebnisse. Das Studienmodell zum C36 von Cheng et al. (210) war ähnlich aufgebaut wie jenes zum C16 und zeigte ebenso eine signifikante Erhöhung des Schlagvolumens, des HZV, des Herzindexes und der systemarteriellen Compliance sowie eine Verminderung des totalperipheren Widerstands. Die Effekte waren dosisabhängig und eine Behandlung mit 12,5mg/kg C36 verbesserte lediglich das HZV und den Herzindex ($p<0,05$), verglichen mit der diabetischen Gruppe. Währenddessen zeigte die Therapie mit 50mg/kg C36 jedoch für alle genannten Parameter Verbesserungen ($p<0,01$). Der linksventrikuläre systol. RR zeigte ebenfalls eine dosisabhängige Erhöhung (128,7±1,0mmHg für 12,5mg/kg C36 vs. 136,3±0,6mmHg für 50mg/kg C36, $p<0,01$ für 50mg/kg). Diese Effekte von C36 gingen einher mit der Reduktion der myokardialen und aortalen AGE-Akkumulation, sowie einer Downregulation der Genexpression für RAGE, TGF-β1, CTGF und Kollagen Typ III. Der systol. und diastol. RR nahm bei den mit C36 behandelten Ratten genauso ab wie der Blutzuckerwert, aber nicht signifikant. Eine vergleichende Alagebriumtherapie mit 12,5mg/kg zeigte auch hier analoge Ergebnisse zur C36-Therapie mit 25mg/kg bzw. mit 50mg/kg. 12,5mg/kg Alagebrium wirkte aber besser als 12,5mg/kg C36 und zeigte für alle beschriebenen Parameter, ausgenommen der Blutglukose und des Blutdrucks, signifikant bessere Werte.

9.1.2.2. PTB

PTB (N-Phenacylthiazoliumbromid) ist einer der ersten AGE-Cross-link Breaker, von dem auch das Alagebrium abgeleitet ist. PTB zeigte bereits 1996 in vitro und in vivo an Tieren, dass es die AGE-Vernetzungen aufspalten konnte, womit es als „Prototyp“ der AGE-Cross-link Breaker bezeichnet werden kann (211). Trotz dieser Erkenntnis waren einige weitere in vivo Studien ziemlich ernüchternd. Vaskulär wurden die AGE-Ablagerungen in diabetischen Rattengefäßen reduziert sowie die mesenteriale Gefäßhypertrophie vermindert, was aber nur bei jenen Ratten zu sehen war, die das PTB vom Beginn des Diabetes bekamen (212). An den Nieren verringerte es zwar die Menge der an Kollagen gebundenen AGEs, der glomerulären und tubulären AGE-Ablagerungen und die AGE-Ausscheidung über den Harn nahm zu. Funktionell oder morphologisch betrachtet, zeigte PTB aber keine signifikanten Veränderungen. Der Albumin/Kreatinin-Quotient wurde nicht verbessert und glomeruläre Histologie unterschied sich in der mit PTB-therapierten Mäusen von der mit NaCl-therapierten Mäusen nicht (213). Auch in der Studie von Oturai et al (214), die die Wirkungen des PTB und des 2,3-Diaminophenazin auf die diabetischen Mikrovaskulopathien untersuchte, zeigte PTB keinerlei signifikante Verbesserung.
Ein mögliches Problem, warum PTB therapeutisch nicht so effektiv ist, liegt darin, dass dieses Thiazoliumderivat schlechte pharmakokinetische Eigenschaften unter physiologischen Bedingungen hat. Sowohl bei 37°C als auch bei einem pH-Wert von 7,4 hat es eine Halbwertszeit von etwa 44 Minuten, da es schnell hydrolysiert wird und in zwei isometrische Thiazinderivate zerfällt. Zudem spaltet es effektiv die Alpha und Beta-Dicarbonyle nur auf, wenn jene in sehr hoher und damit nicht-physiologischer Konzentration vorkommen (181).

9.1.2.3. TRC4186 & TRC4149

Diese beiden AGE-Cross-link Breaker gehören zu den Pyridinium-Derivaten und wurden von Torrent Pharmaceuticals Ltd. entwickelt. Beide sind relativ neue Präparate und wie bei vielen bisherigen AGE-Cross-link Breaker gibt es auch hierbei nur wenige Daten zu den Effekten und Wirkungen dieser zwei. Allerdings existieren in vivo Studien am Menschen für das TRC4186.
TRC4186 (Pyridinium-3-[[2-(Methylsulfonyl)-Hydrazino]-Carbonyl]-1-[2-oxo-2-(2-Thienyl)-Ethyl]-Chlorid) verbesserte bei fettleibigen Zucker-Mäusen mit Hypertonus (Ob-ZSF1) sowohl deren Herz- als auch Nierenfunktion (215). Das HZV stieg unter der Therapie

(27mg/kg) an, was durch eine verbesserte diastolische Relaxation und systolische Kontraktion erzielt wurde. Daneben wurde die Nachlast vermindert und der Blutdruck blieb konstant. Auch sanken die Konzentrationen des BNP, was ein weiteres Zeichen der verbesserten Herzfunktion darstellte. Die Therapie mit 9mg/kg erhöhte das HZV ebenfalls, aber die niedrige Dosis war zu gering als dass auch die Nachlast signifikant verbessert wurde. TRC4186 verbesserte auch die Nierenfunktion, was sich mit einem erniedrigten Albumin/Kreatinin-Quotienten äußerte und sich auch morphologisch in der Histologie zeigte. Zudem reduzierte es die Expression des IL-6, welches bei der RAGE-AGE-Interaktion freigesetzt wird. Mit TRC4186 wurde zudem eine klinische Phase I-Studie durchgeführt, dessen Pharmakokinetik und Sicherheit untersucht und zusammengefasst wurde (216). Nach den drei randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudien und der einen randomisierten, nicht verblindeten Crossoverstudie zeigte sich, dass TRC4186 gut vertragen wurde und sicher war, unabhängig von Geschlecht oder Alter. Es wurde schnell absorbiert, erreichte die maximale Plasmakonzentration nach 1-4 Stunden und die renale Ausscheidung zeigte keine signifikanten altersabhängigen Veränderungen. Man konnte einen zur Dosis proportionalen Anstieg des Plasma-TRC4186-Spiegels bei den Probanden feststellen.

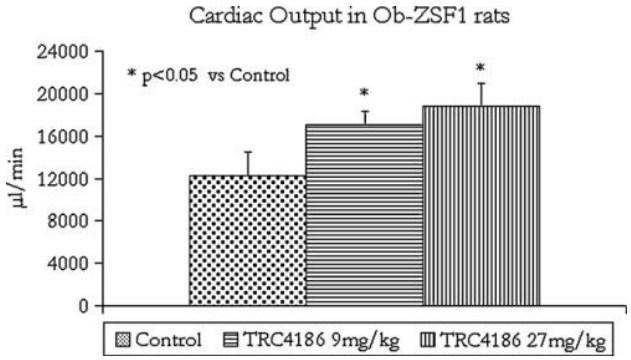

Abbildung 11: Verbesserung der kardialen Funktion, gemessen durch das HZV, an diabetischen hypertensiven Ratten durch TRC4186, verglichen zur diabetischen Kontrollgruppe.

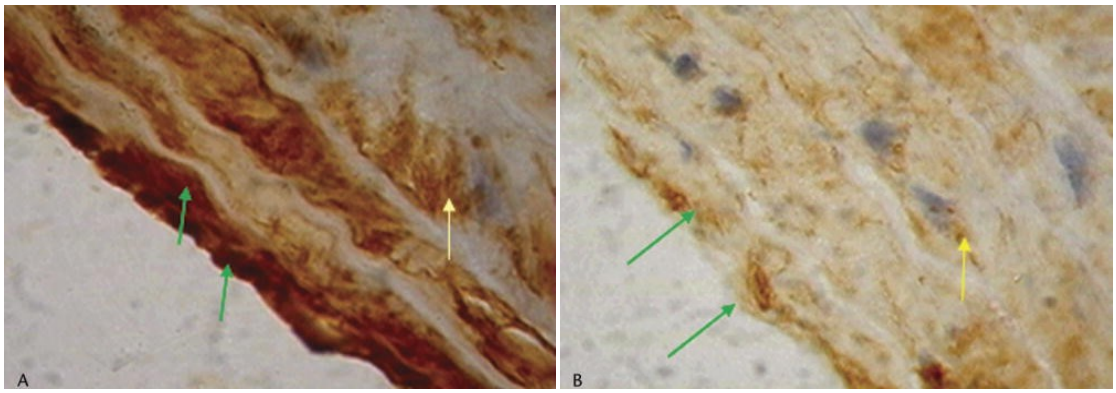

Abbildung 12a & 12b: Immunhistochemische Markierung der aortalen Gefäßwand.
Abb. 12a an diabetischen Ratten der Kontrollgruppe mit Antikörper gegen AGEs, gegengefärbt mit Hämatoxylin. Abb. 12b: Immunhistochemische Markierung der aortalen Gefäßwand an diabetischen Ratten, die mit TRC4186 (27mg/kg) behandelt wurden, mit Antikörper gegen AGEs, gegengefärbt mit Hämatoxylin. Beide Abbildungen entnommen aus Joshi et al. (215)

Pyridinium-3-bromo-5-[[2-(Methylsulfonyl)-Hydrazino]-Carbonyl]-1-[2-oxo-2-(2-Thienyl)-Ethyl]-Bromid, kurz TRC4149, unterscheidet sich chemisch zum TRC4186 nur durch das Bromidion. In Bezug auf die Wirkung und den AGE-Metabolismus ist es ebenfalls dem TRC4186 recht ähnlich. In vitro konnte es AGE-Verbindungen aufbrechen und eine AGE-Anlagerungen verhindern, darunter auch die Bildung des AGE-LDL ($p<0,001$ jeweils). In vivo nahm der CML-Gehalt der Aortawand auch ab und die Behandlung mit TRC4149 (20mg/kg) konnte bei diabetischen Ratten die hämodynamischen Parameter verbessern, indem es den linksventrikulären systol. RR erhöhte und den diastol. RR reduzierte. Es zeigte

sich zudem, ähnlich wie beim Alagebrium, dass die Kombination aus einem AGE-Cross-link Breaker und einem anderen Medikament, in diesem Fall Losartan, eine verbesserte Wirkung zeigen kann. Die Non-Responderrate für Losartan nahm bei den mit TRC4149-therapierten Ratten ab und erzielte signifikant bessere Blutdruck-Werte ($p<0,05$). Jener Effekt hielt auch nach Absetzen des TRC4149 länger an (217).

9.1.2.4. 2,3-Diaminophenazin

Jene Substanz gehört zu den Aminophenazinen und ist, vergleichbar mit dem C16 und C36, ein eher unbekannter Vertreter der AGE-Cross-link Breaker. Vergleichbar mit der Bekanntheit zum C16 oder zum C36 ist die Wirkung vergleichbar mit der des PTBs. Es führte in vivo zu einer Reduktion der AGE-Ablagerungen in Gefäßen sowie in der Niere und zur Abnahme der Gefäßhypertrophie bei diabetischen Ratten (218). Allerdings waren funktionelle Veränderungen auf die diabetischen Folgekomplikationen durch das 2,3-Diaminophenazin nicht signifikant, sodass eine Abnahme der Albuminurie bei der diabetischen Nephropathie ebenso wenig gefunden werden konnte wie eine Verbesserung der diabetischen Retinopathie. Dafür konnte es, im Vergleich zum PTB, die Löslichkeit des Kollagens verbessern (214).

Abschließend ist zu den AGE-Cross-link Breaker noch zu sagen, dass wahrscheinlich alle Wirkstoffe dieser Gruppe ein gewisses Problem in der Anwendung besitzen. AGE-Cross-link Breaker können nur bereits formierte AGE-Bindungen spalten. Die Bildung neuer Vernetzungen wird nicht verhindert, ebenso bilden sich aus den gebrochenen Bindungen erneut wieder Vernetzungen aus, sobald der abgesetzt wird. Jenes Problem zeigte sich auch bei den Rhesusaffen unter der Alagebriumtherapie, bei denen die Gefäße nur so lang elastischer wurden, solang Alagebrium gegeben wurde (185). Dieselbe Problematik galt nicht nur für Gefäße, sondern auch für das Herz. Daher müssten Patienten, um die Wirkungen des Alagebriums zu erfahren, den Wirkstoff ununterbrochen einnehmen. Und genau darin könnte eine mögliche Problematik des Alagebriums und ebenso gut auch der restlichen AGE-Cross-link Breaker liegen, denn somit würde die Compliance des Patienten eine sehr wichtige Rolle im Wirkeffekt spielen, zum anderen gibt es bisher keine Langzeitstudie, wie z.B. eine klinische Studie der Phase IV, mit einem großen Patientenkollektiv zu einer AGE-Cross-link Breaker-Therapie, welche mögliche schwerwiegende Nebenwirkungen aufzeigen könnte.

9.2. AGE-Inhibitoren

Während die AGE-Cross-link Breaker lediglich präformierte AGE-Vernetzungen mit diversen Molekülen aufbrechen können, setzen die AGE-Inhibitoren eine oder zwei Stufen vorher an und verhindern bereits die Bildung dieser Vernetzungen oder gar die Bildung der AGEs. Die Gruppe der AGE-Inhibitoren ist im Allgemeinen auch heterogener als die der AGE-Cross-link Breaker und auch manche Medikamente, die bereits in der Therapie des Diabetes mellitus eingesetzt werden, besitzen inhibierende Wirkungen auf die AGEs sowie einen antagonisierenden Effekt auf RAGE. Jene Medikamente werden in einem eigenen Kapitel gesondert betrachtet. Hier soll nur auf jene Wirkstoffe eingegangen werden, die noch in experimenteller bzw. klinischer Erprobung sind und vorwiegend eine AGE-inhibierende Wirkung besitzen, sowie auf einige Wirksubstanzen, die in der Literatur bereits als „typische“ AGE-Inhibitoren gelten.
Die Gruppe der AGE-Inhibitoren ist recht heterogen und die einzelnen Substanzen besitzen auch unterschiedliche Wirkmechanismen zur AGE-Inhibition. Manche AGE-Inhibitoren wirken als Dicarbonyl-Scavenger. Sie reagieren mit den reaktiven Carbonylen und verhindern so die AGE-Vernetzung bzw. -Bildung. Andere wiederum besitzen die Eigenschaft eines Metall-Chelators und können die Vernetzungen zwischen AGEs und die AGE-Formation durch Chelation von Metallionen blockieren, die vor allem die Vorgänge der Maillardreaktion katalysieren. Wirkstoffe, die vor allem in die Vorgänge, welche nach dem Amadori-Produkte

ablaufen, eingreifen, werden auch als Amadorine bezeichnet. Amadorine sind somit solche Substanzen, die die Umwandlung von Amadori-Produkten in AGEs blockieren (219). Der dritte Wirkmechanismus, über welchen auch mancher AGE-Inhibitor verfügt, ist die ROS-Suppression. Schlussendlich gibt es wiederum Wirkstoffe, wo der Wirkmechanismus bisher immer noch unklar ist und man nur Vermutungen aufstellt, sowie einen Wirkstoff, der besonders frühzeitig die AGE-Entstehung blockieren kann.

9.2.1. Aminoguanidin/Pimagedin

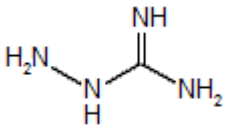

Abbildung 13: Chemische Struktur des Aminoguanidin

Als ein Derivat des Guanidins kann Aminoguanidin auch als Vorläufersubstanz in der Arzneimittelherstellung dienen und seine Verwendung und Forschung reichen sogar über die Grenzen der Medizin hinaus. Im Bereich der AGEs fungiert es als deren Inhibitor und Aminoguanidin ist auch unter dem Namen Pimagedin bekannt, welches ebenfalls von Alteon entwickelt wurde. Da seine AGE-inhibierende Wirkung bereits 1986 bekannt wurde (220) und somit vor allen anderen AGE-Inhibitoren, wird es auch häufig als der „Prototyp“ der AGE-Inhibitoren bezeichnet. Die Wirkung auf die AGEs geht primär auf eine Scavengereigenschaft gegenüber reaktiven Dicarbonylen zurück, die andernfalls AGEs oder deren Präkursoren formieren können. Dieser Wirkungsmechanismus beruht stark auf die nukleophile chemische Struktur des Aminoguanidin, genauer gesagt auf die Hydrazingruppe und auf die Guanidingruppe des Aminoguanidin (221). Durch diese beiden chemischen Gruppen fungiert das Aminoguanidin als Dicarbonylfänger, indem es mit den reaktiven Dicarbonylen reagiert und 3-Amino-1,2,4-Triazine bildet, vorwiegend mit α-Oxoaldehyden wie MG, 3-DG und Glyoxal (222). Aminoguanidin besitzt zwar auch die Fähigkeit als Metallchelator zu agieren (223), aber scheint diese Wirkung zu gering zu sein, um die Vorgänge nach der Amadori-Umlagerung aufzuhalten und die AGE-Formation effektiv zu blockieren (224). Somit zählt Aminoguanidin eher zur Gruppe der Carbonyl-Scavenger als zu Gruppe der Amadorine. Nur bleibt es noch zu klären, was mit diesen 3-Amino-1,2,4-Triazinen anschließend passiert. Bisher scheint dieses Produkt jener Reaktion eine hemmende Wirkung auf diverse NOS zu haben (225). Aminoguanidin blockiert bereits diverse einzelne Subtypen der NOS und besitzt zusätzlich eine hemmende Wirkung auf die Diaminoxidase (226). Diese kompetitive Enzymhemmung ist dosisabhängig und soll die AGE-inhibierenden Effekte noch verstärken. Zwar mag Aminoguanidin einen nachgewiesenen AGE-senkenden Effekt besitzen, allerdings ist die Datenlage zu einem möglichen RAGE-supprimierenden Effekt nicht ganz so klar. Erhöhte RAGE-mRNA-Levels wurden durch Aminoguanidin signifikant reduziert, was aber nicht direkt über Interaktion mit RAGE geschehen soll, sondern indirekt auf die Reduktion der AGEs zurückgeführt wurde, sodass dadurch die Hochregulation des RAGE verringert wurde (227). Bei Wang et al. (228) zeigte sich hingegen keine Veränderung der RAGE-Expression. Dies wurde aber bei venösen Homogafts am Tiermodell beschrieben, nicht am Gewebe, welches beim Diabetes mellitus stärker geschädigt wird, wie z.B. Nieren, Arterien, Herz oder auch Gehirn. Ein RAGE-supprimierender Wirkmechanismus ist daher nicht ganz ausgeschlossen.

Da Aminoguanidin über einen Wirkmechanismus verfügt, welcher in den AGE-Metabolismus eingreift, und dies somit eine neue potenzielle Therapiestrategie in der Behandlung des Diabetes mellitus wäre, sollte natürlich gezeigt werden, ob das Aminoguanidin auch in vivo bei unterschiedlichen diabetischen Folgeerkrankungen ebenso effektiv gegen die AGEs vorgehen kann. Und in der Tat, zu kaum einen weiteren AGE-Inhibitor wird man mehr Literatur finden als zum Aminoguanidin.

9.2.1.1. Renale Wirkungen

Aminoguanidin schien am Tiermodell viele Vorgänge der Nephropathie, in denen AGEs involviert sind, wirkungsvoll zu blockieren und jene Erkrankung in ihrer Progression zu verlangsamen bzw. aufzuhalten. Dabei reduzierte Aminoguanidin sowohl die funktionellen als auch die morphologischen Veränderungen. Die Albuminurie wurde an verschiedenen Tiermodellen signifikant vermindert, darunter z.B. an diabetischen hypertensiven Ratten (229). Nicht-diabetische Ratten mit Bluthochdruck wiesen eine durchschnittliche 24h-Albuminausscheidung von 28±2mg auf, diabetische hypertensive Ratten hingegen eine Harn-Ausscheidung von 106±3mg. Aminoguanidin verhinderte diesen Anstieg der Albuminausscheidung bei diabetischen hypertensiven Ratten um 75% (48±2mg). Eine Verhinderung der Albuminurie durch Aminoguanidin wurde auch bei STZ-Ratten nachgewiesen, welche auch zur teilweisen Verbesserung der glomeruläre Histologie führte (230), sowie an OLETF-Ratten (231), welches als Tiermodell für den nicht-insulinabhängigen Diabetes mellitus Typ 2 dient. Bei diesem Tiermodell bewirkte Aminoguanidin (100mg/dl in Trinkwasser) neben der Abnahme der Albuminurie (203,6±37,7 diabetische Ratten vs. 89,8±18,6 mg/24h behandelte Ratten, $p<0,05$) auch eine Abnahme der gBM (453±17 diabetische Ratten vs. 366±50nm behandelte Ratten, $p<0,05$) und der Mesangiumexpansion (21,3±1,7 diabetische Ratten vs. 16,7±0,8% behandelte Ratten, $p<0,05$). Jene behandelten OLETF-Ratten hatten auch geringere Serumwerte für AGEs (63,2±3,5 diabetische Ratten vs. 51,8±3,0U AGE/ml behandelte Ratten, $p<0,05$).

Die Auswirkungen auf die diabetische Nephropathie scheint Aminoguanidin auf verschiedene Wege zu erzielen. Zum einen, da Aminoguanidin ja als AGE-Inhibitor gilt, über die Hemmung der AGE-Bildung und Ablagerung. Wie gerade erwähnt, gingen bei OLETF-Ratten die renalen funktionellen und morphologischen Veränderungen mit einer Abnahme der Serum-AGEs einher. Bei Sprague Dawley-Ratten wurde eine Verzögerung der Albuminurie-Progression bei gleichzeitig unveränderter GFR-Erhöhung mit einer Verringerung der renalen AGE-Ablagerungen beobachtet (232). Außer über AGE-Hemmung verfügt Aminoguanidin über weitere Angriffspunkte, über welche es in den Verlauf der Glomerulosklerose eingreifen kann. Bisher wurden Nachweise erbracht, die zeigen, dass Aminoguanidin möglicherweise auch über den PKC-Weg renoprotektiv wirksam sein könnte (233) bzw. über seine NOS-Hemmung (234). Letztere dadurch, weil Aminoguanidin die iNOS- und die TNF-α-Expression hemmte, die NO_2^-- und NO_3^--Produktion reduzierte und die Proteinurie senkte. Soulis et al. (232) kamen bei ihren Ergebnissen jedoch zum Schluss, dass Aminoguanidin vorrangig über die AGE-Reduktion renoprotektiv wirkt und nicht über die NOS-Inhibierung. In welchem Ausmaß diese einzelnen Wirkmechanismen tatsächlich die Nephropathie verbessern und eventuell auch den Verlauf der anderen diabetischen Komplikationen beeinflussen, ist aber noch ziemlich ungeklärt.

Aminoguanidin erwies sich in der diabetischen Nephropathie am Tiermodell durchaus als effektiv, allerdings liegen auch Daten vor, die diese Ergebnisse relativieren bzw. nicht wiedergeben. So schien die Dauer der Aminoguanidin-Behandlung offenbar wichtiger zu sein als der Zeitpunkt der Intervention, denn eine 32-wöchige Aminoguanidin-Behandlung wirkte den renalen Veränderungen stärker entgegen als eine 16-wöchige Therapie, egal ob diese 16-wöchige Therapie in der ersten oder in der zweiten Studienhälfte gegeben wurde (235). Aminoguanidin zeigte aber nicht immer signifikante morphologische Verbesserungen (230,236), ebenso blieb der Effekt auf die Albuminurie aus (237). An Typ 1-diabetischen Pavianen (Papio hamadryas) wurden die Albuminurie und die GFR nicht ausreichend verbessert (238).Aminoguanidin schien sogar die Proteinausscheidung und die Hyperfiltration bei nicht-diabetischen Affen zu verstärken und so hatten alle mit Aminoguanidin-behandelten nicht diabetische Paviane eine milde Albuminurie entwickelt.

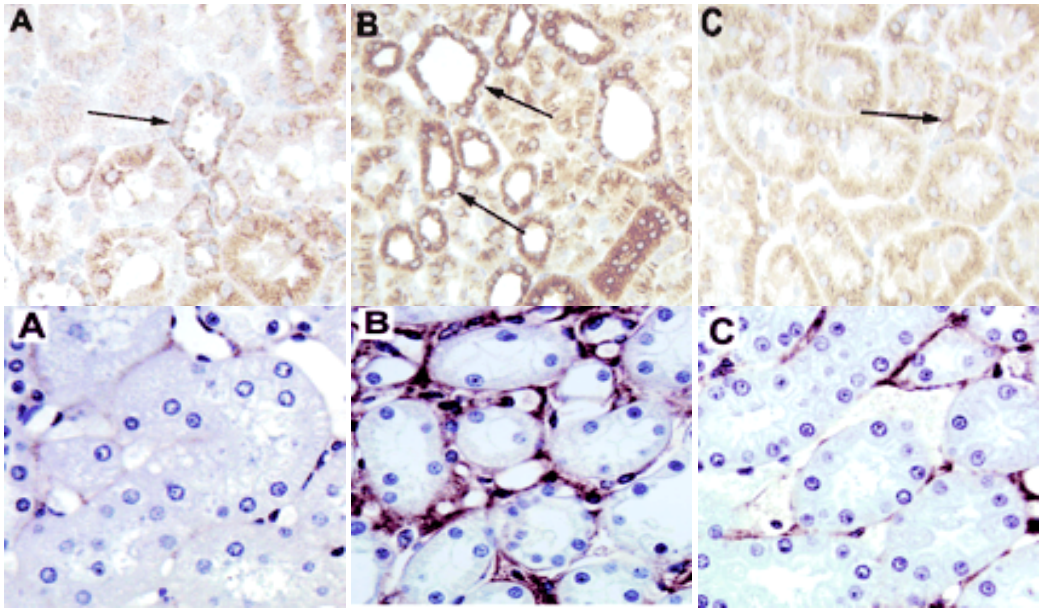

Abbildung 14: Histomorphologische Bilder der Nierenrinde.
A) Nierenrinde von gesunden Sprague-Dawley-Ratten. B) Nierenrinde von diabetischen unbehandelten Ratten. C) Niereninde von Aminoguanidin-behandelten diabetischen Ratten. Obere Reihe immunhistochemisch markiert mit Antikörper gegen AGEs, gegenmarkiert mit Hämatoxylin. Untere Reihe immunhistochemisch markiert mit Antikörper gegen Kollagen Typ IV, gegenmarkiert mit Hämatoxylin. Entnommen aus Kelly et al. (239)

Größtenteils zeigte Aminoguanidin aber am Tiermodell, dass es als möglicher Wirkstoff in der Behandlung der diabetischen Nephropathie in Frage kommen könnte. Um dies genauer festzustellen, wurden daher auch klinische Studien durchgeführt, um die mögliche Wirksamkeit auch am Menschen zu untersuchen. Eine dieser Studie untersuchte die Auswirkungen des Aminoguanidin auf die diabetische Nephropathie beim Typ 2 Diabetes mellitus, welche auch als ACTION II bezeichnet wurde (240). Die andere Studie untersuchte die Auswirkungen auf die diabetische Nephropathie beim Typ 1 Diabetes mellitus, ACTION I (241). Beide Studien waren randomisiert, doppelt-verblindet und placebokontrolliert. 690 Probanden der ACTION I wurden in drei Gruppen randomisiert, erstens in eine Placebogruppe, zweitens in eine Aminoguanidin-Gruppe mit niedriger Dosis (150mg zweimal täglich) und in eine Aminoguanidin-Gruppe mit hoher Dosis (300mg zweimal täglich). Ähnlich sah auch die ACTION II mit 599 Probanden aus, mit ebenfalls einer Placebogruppe, einer Level 1 Aminoguanidin-Gruppe (50-300mg) und einer Level 2 Aminoguanidin-Gruppe (100-600mg). Der primäre Endpunkt beider Studien war die Zeit vom Beginn der Randomisierung bis zum verdoppelten Wert des Basis-Serumkreatinin.
Die ACTION II wurde nach der halben Studiendauer allerdings wegen offensichtlicher mangelnder Wirksamkeit und den schweren Nebenwirkungen, die weiter unten näher beschrieben sind, abgebrochen, während die ACTION I bis zum Ende geführt wurde. Bei der ACTION I wurde der Zeitraum bis die doppelten Serumkreatinin-Werte der jeweiligen Basiswerte erreicht wurden zwar numerisch verlängert, zeigte aber keine statistische Signifikanz ($p=0,099$). Bei 26% der Placebo-behandelten Probanden stieg das Serum-Kreatinin um das Doppelte des Ausgangswerts während der Studiendauer (Median 2,49 Jahre) an, während beim Aminoguanidin 20% der behandelten Probanden in dieser Zeit eine Verdoppelung jenes Wertes zeigten. Die eGFR wurde durch die Aminoguanidin-Behandlung verbessert ($p=0,05$) ebenso die Proteinurie. 150mg Aminoguanidin waren bezüglich der Abnahme der Proteinurie effektiver als 300mg Aminoguanidin (durchschnittliche Reduktion der Proteinurie 35mg/24h (Placebo) vs. 732mg/24h (150mg Aminoguanidin), $p<0,001$, vs. 329mg/24h (300mg Aminoguanidin), $p=0,001$). Ebenso kam es durch die 150mg Aminoguanidin zur Abnahme der Triglyzeride ($p<0,001$) und zur Zunahme des HDL-Cholesterin ($p=0,031$), nicht aber durch 300mg Aminoguanidin. Die Risikoreduktion beider

Aminoguanidin-Gruppen betrug für die Mortalität sowie für das terminale Nierenversagen 13% und war nicht signifikant. Zudem muss man anmerken, dass über 90% der untersuchten Probanden zu irgendeinem Zeitpunkt der Studie eine ACE-Hemmer-Therapie aufwiesen. Weiterhin, und wie von den Autoren auch selbst beschrieben, ist der Serum-Kreatininwert von diversen Faktoren abhängig, darunter vor allem, Geschlecht, Alter, Ernährung und auch von Medikamenten. Daher wäre ein anderer Parameter als primärer Endpunkt wahrscheinlich besser geeignet gewesen.

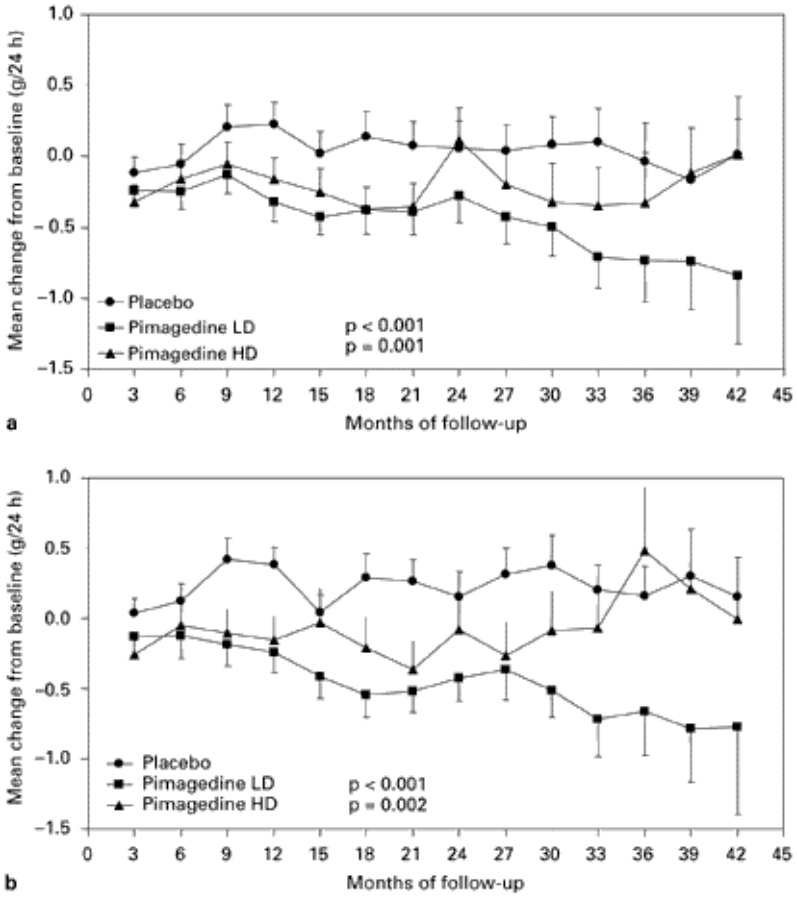

Abbildung 15: Durchschnittliche Veränderung der Proteinurie durch 150mg Aminoguanidin (Pimagedin LD) und 300mg Aminoguanidin (Pimagedin HD).
A) Intention-to-treat Population. B) Probanden mit einem Serum-Kreatinin <1,5mg/dl. Entnommen aus Bolton et al. (241)

9.2.1.2. Okluäre Wirkungen

Anfängliche Versuche Aminoguanidin bei der diabteischen Retinopathie zukünftig einsetzen zu können, erbrachten akzeptable Ergebnisse am Tiermodell. Die Entwicklung dieser Retinopathie, welche mit Mikroaneurysmen, Perizytenverlust und azellulären Kapillaren gekennzeichnet ist, konnte Aminoguanidin effektiv abschwächen. Die Bildung von Mikroaneurysmata, welche bei 37,5% der diabetischen Ratten zu finden war, wurde durch eine 75-wöchige Aminoguanidin-Therapie (25mg/kg i.p. bzw. 0,5g/l p.o.) signifikant gehemmt und kein einziges behandeltes Tier wies retinale Aneurysmen auf. Auch die anderen pathomorphologischen Veränderungen wurden durch Aminoguanidin reduziert. Die Anzahl an azellulären Kapillaren/mm² (167±27 diabetische unbehandelte Ratten vs. 33±11 diabetische behandelte Ratten) wurde ebenso signifikant vermindert wie der Perizytenverlust, welcher bereits nach 26 Wochen eine Abnahme zeigte ($p<0,05$). Die Zahl an neugebildeten retinalen Endothelzellen konnten aber nicht so effektiv reduziert werden ($p>0,05$). Diese Veränderungen gingen mit einer Abnahme der Fluoreszenz in den mit Aminoguanidin-

behandelten Retinae einher, mit dem die retinalen AGE-Ablagerungen quantifiziert wurde (242). Auch die Gabe von Aminoguanidin im Anschluss an eine 6-monatige Diabetesdauer konnte im Tiermodell diverse pathomorphologische Veränderungen signifikant reduzieren (243). Somit wäre ein Einsatz des Aminoguanidin auch in der Sekundärprävention denkbar. Aminoguanidin zeigte auch in der 5-jährigen Studie an diabetischen Hunden von Kern et al. (244), dass es effektiv die diabetische Retinopathie verhindern konnte und zu Reduzierung von azellulären Kapillaren ($p<0,001$) und Mikroaneurysmen ($p<0,001$) beitragen sowie den Perizytenverlust hemmen kann ($p<0,005$). Allerdings ist Effizienz des Aminoguanidin in der Retinopathie noch nicht vollständig geklärt, denn die anfänglichen günstigen Effekte wurden später relativiert. Es schien nämlich als ob Aminoguanidin auf die frühen Veränderungen der Retinopathie nur einen geringen Einfluss hat (245). Trotz einer Aminoguanidin-Therapie (50mg/100ml Wasser p.o.) stieg die Anzahl der azellulären Kapillaren an und blieb erst anschließend relativ konstant. Auch stellte sich erst die 56-wöchige Behandlung für den Perizytenverlust und der retinalen Basalmembrandicke als effektiv heraus, während man nach 24 Wochen noch keine Signifikanz für diese beiden Parameter fand.

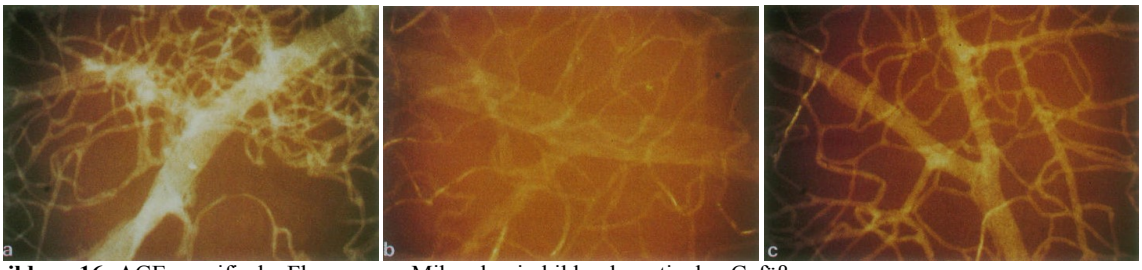

Abbildung 16: AGE-spezifische Floureszenz-Mikroskopierbilder der retinalen Gefäße.
A) Mikroskopierbilder von diabetischen unbehandelten Wistar-Ratten. B) Mikroskopierbilder von nicht-diabetischen Ratten. C) Mikroskopierbilder von Aminoguanidin-behandelten diabetischen Ratten. Entnommen aus Hammes et al. (242)

Im Rahmen der ACTION I und II war die Evaluation der Retinopathie ein sekundärer Endpunkt. Da die ACTION II frühzeitig beendet wurde, liegen diesbezüglich bisher nur Daten von der ACTION I vor. Aminoguanidin schien die Progression der Retinopathie zu verlangsamen ($p=0,03$), was mittels dem ETDRS-Score ermittelt wurde (241). Allerdings wurden jene retinalen Auswirkungen nicht genauer untersucht, weil die ACTION I primär auf die Evaluation der diabetische Nephropathie ausgelegt war.
Bezüglich der Katarakthemmung erwies sich Aminoguanidin als wenig effektiv. 25mg/kg KG Aminoguanidin täglich führte zwar zu einer Abnahme der AGE-Ablagerungen in mittel- (<350mg/dl) und schwergradig (>350mg/dl) hyperglykämischen Ratten, hielt aber die Kataraktgenese nicht auf (246). Es wurde nur eine Verzögerung bei den mittelgradig hyperglykämen Ratten beobachtet. Womöglich lag diese unzureichende Wirkung daran, dass die Ratten das Aminoguanidin i.p. bekamen. In der Studie von Yan et al. (247) bekamen Ratten das Aminoguanidin zwar als Augentropfen (1mg/ml bzw. 2mg/ml), doch auch die lokale Applikation führte nur zu einer Verzögerung der Linsentrübung. Trotz der Abnahme der glykierten Linsenproteine ($p<0,001$) wurde die Kataraktgenese nicht aufgehalten.

9.2.1.3. Neuronale Wirkungen

Zu der diabetischen Neuropathie ist die Datenlage einer Aminoguanidin-Therapie fast sogar noch kontroversieller als zu der diabetischen Retinopathie. Die Nervenleitgeschwindigkeit der motorischen Nervenfasern nahm im Vergleich zu diabetischen unbehandelten Gruppe zu ($p<0,01$), war aber immer noch signifikant schlechter im Vergleich zur Nervenleitgeschwindigkeit der nicht-diabetischen Gruppe. Morphologische Veränderungen der peripheren Nerven konnte Aminoguanidin ebenfalls unterschiedlich stark abschwächen. Während behandelte diabetische Tiere fast ähnliche Werte für die paranodale Demyelination zeigten wie die unbehandelten nicht-diabetischen Ratten, konnte Aminoguanidin den Verlust der durchschnittlichen Nervenfaserdicke zwar auch aufhalten, aber im Vergleich zu den nicht

diabetischen Tieren zeigte sich weiterhin ein signifikanter Unterschied (Abb. 17) (248). Diese verbesserte motorische Nervenleitgeschwindigkeit korrelierte zudem invers mit den AGE-Ablagerungen (249). Eine Verbesserung der Nervenleitgeschwindigkeit der sensiblen Fasern wurde durch Aminoguanidin ebenfalls erreicht, jedoch zeigte sich eine geringere Verbesserung als zu der Motorischen (250). Aminoguanidin hätte somit neuroprotektives Potenzial, auch über einen längeren Zeitraum schütze es effektiv gegen die Progression der Neuropathie (244). Allerdings müsse man auch diese Daten relativeren. Insulin reduzierte den diabetisch-induzierten Verlust der motorischen Nervenleitgeschwindigkeit stärker (83%) als Aminoguanidin (47%), ebenso erreichte die F-Wellengeschwindigkeit ein signifikantere Verbesserung durch Insulin ($p<0,01$) als durch Aminoguanidin ($p<0,05$) (251). Bei diabetischen Pavianen bewirkte eine tägliche Aminoguanidin-Behandlung (10mg/kg s.c.) keine effektive Zunahme der verlangsamten Nervenleitgeschwindigkeit und konnte auch nicht die autonome Dysfunktion signifikant verbessern (252).

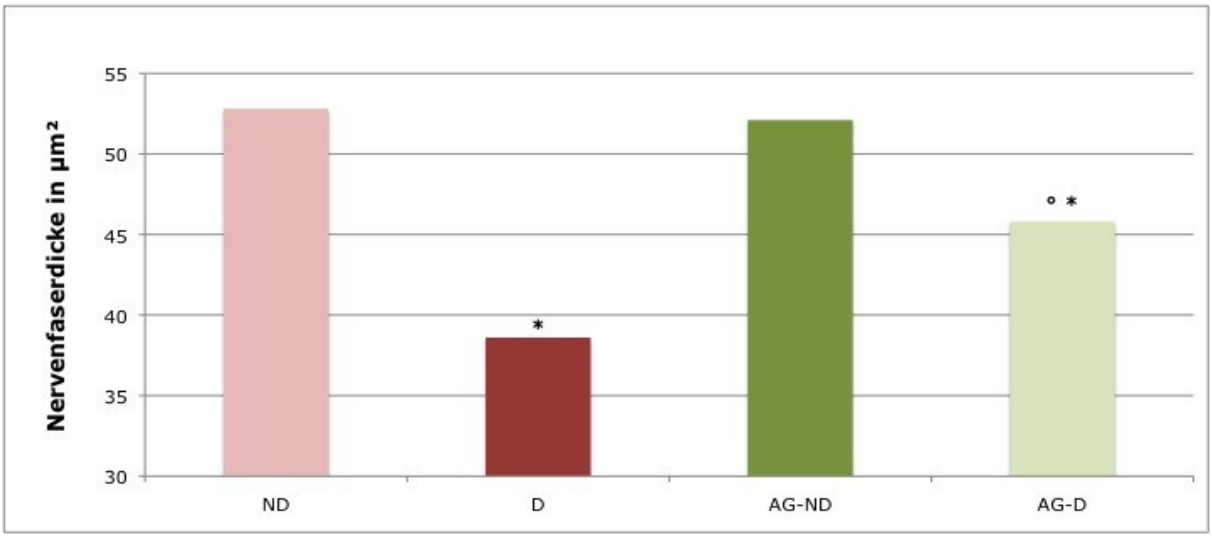

Abbildung 17: Durchschnittliche Nervenfaserdicke von Ratten.
ND=unbehandelte nicht-diabetische Ratten, D=unbehandlete diabetische Ratten, AG-ND=Aminoguanidin-behandelte nicht-diabetische, AG-D=Aminoguanidin-behandelten diabetischen. * = $p<0,01$ vs. ND- und AG-ND-Gruppe, ° = $p<0,01$ vs. D-Gruppe. Daten entnommen aus Yagihashi et al. (248)

9.2.1.4. Weitere Wirkungen

AG schien in vitro eine gewisse Pankreastoxizität zu besitzen, die Beta-Zell-Funktion zu verschlechtern und die Insulinsekretion signifikant zu verringern, während die Alpha-Zell-Funktion und die Glucagonsekretion unverändert blieben (253). Andererseits schwächte Aminoguanidin (500mg/kg täglich) in vivo an Typ 2 diabetischen Mäusen die Entwicklung des Diabetes mellitus ab, indem es die Inselzell-Degeneration hemmte und vor der Abnahme der Insulin-Spiegel bewahrte (254). Auf metabolische Parameter, wie Blutzucker oder HbA_{1c}, hatte Aminoguanidin allerdings keinen Einfluss (241,244). Ähnlich uneinig sind die Daten zum möglichen therapeutischen Nutzen bei der erektilen Dysfunktion sowie zu den kardiovaskulären diabetischen Veränderungen. Anfangs zeigte Aminoguanidin gute Ergebnisse und konnte die Potenz der behandelten diabetischen Tiere wieder annähernd an die der nicht diabetischen Tiere angleichen (255). Doch in einer weiteren Studie am gleichen Tiermodell zeigte dieselbe Dosis des Aminoguanidin (1g/l Wasser p.o.) weder einer Verbesserung der erektilen Funktion noch eine AGE-inhibierende Wirkung auf die abgelagerten penilen AGEs und auf den Serumgehalt an AGEs (256). Die Arterienversteifung, die AGE verstärken können, wurde am Typ 2 diabetischen Tiermodell durch jenes Guanidinderivat verbessert ($p<0,05$). Ebenso verbesserten sich durch die Therapie Herzparameter, welche durch den Diabetes mellitus zunächst verschlechtert wurden, wie z.B. HZV ($p<0,05$) und das Schlagvolumen ($p<0,05$) (257). Diese Effekte wurden darauf

zurückgeführt, dass Aminoguanidin die AGE-vermittelte verringerte NO-Produktion durch die AGE-Inhibition wiederherstellen könne. Allerdings ist Aminoguanidin auch ein Hemmer diverser NOS, darunter auch die eNOS, wie bereits erwähnt wurde. Denkbar wäre es somit, dass die Hemmung der NOS die positiven Auswirkungen der AGE-Inhibition annuliert und sich die Herzparameter in jener Studie über einen anderen, möglicherweisen bisher unbekannten, Mechanismus verbesserten. Bei Chang et al. überwog offenbar die AGE-Inhibition und verbesserte die Hämodynamik, bei Brooks et al. (258) hingegen die NOS-Hemmung, denn es verschlechterte sich die Endotheldysfunktion nicht nur bei diabetischen Primaten durch Aminoguanidin, sondern auch bei nicht diabetischen Pavianen. Welcher Effekt nun tatsächlich überwiegt oder ob sich beide in ihrer Wirkung eher doch neutralisieren, bleibt somit vorerst ungeklärt.

9.2.1.5. Nebenwirkungen

Bei der ACTION I Studie zeigten 46% der Probanden mit 150mg Aminoguanidin und 51% mit 300mg Aminoguanidin ernste Nebenwirkungen, während 44% der Placeboprobanden jene Nebenwirkungen zeigten (241). Bei der ACTION II äußerten sich Nebenwirkungen in Leberfunktionsstörungen, gastrointestinalen Symptomen, Grippe- und Lupus-ähnlichen Erkrankungen, sowie in einer ANCA-assoziierten Vaskulitis (240). Diese wurden bei gesunden als auch bei diabetischen Probanden gefunden und auf die chemische Ähnlichkeit des Aminoguanidin mit Hydralazin zurückgeführt. Hydralazin ist bekannt, dass es Lupus-erythematodes-ähnliche Nebenwirkungen verursachen kann. Ähnliche Nebenwirkungen wurden auch bei der ACTION I beschrieben. Hier kam es zudem zu einer leichten Änamie, welche zwar bei allen Probanden zu finden war, in der Aminoguanidin-behandelten Gruppe jedoch gehäuft auftrat. Eine gravierende Nebenwirkung war die ANCA-assoziierte Glomerulonephritis, welche in der 300mg Aminoguanidin-Gruppe bei drei Probanden auftrat und zwei von drei Patienten vorübergehend dialysepflichtig machte. Grippeähnliche Symptome oder die Leberenzymerhöhung bildeten sich komplett spontan zurück, egal ob Aminoguanidin abgesetzt wurde oder nicht.
Bei Arai et al. (259) entwickelten mehr als die Hälfte der mit Aminoguanidin (0,1% Aminoguanidin-Sulfat in Wasser) behandelten hypertensiven Ratten eine Hämaturie, ohne dass die Autoren dafür ein morphologisches Äquivalent im Glomerulus gefunden hätten. Es handelte sich dabei um eine nicht glomeruläre Hämaturie und nicht, wie es in der ACTION I und II beschrieben wurde, um eine Auto-Antikörper vermittelte Immunrekation. Zudem fanden Oturai et al. (236) in ihrer Studie ein mögliches kanzerogenes Potenzial hinsichtlich der Entstehung eines Nierenzellkarzinoms.

9.2.2. Carnosin

Carnosin ist ein Dipeptid, welches aus β-Alanin und Histidin besteht, und im menschlichen Organismus bereits physiologisch vorhanden ist. Es kommt im menschlichen Muskel und im Gehirn vor, aber auch im Fleisch von Tieren, wie z.B. vom Rind, woraus es auch als erstes extrahiert und beschrieben wurde (260). Carnosin wirkt antioxidativ indem es in vivo ROS abfangen kann, wodurch der oxidative Stress abgeschwächt wird (261). Ebenso fängt es freie Radikale der Lipidperoxidation ab (262). In der Letzteren der beiden Studien wies es auch eine Chelatbildungseigenschaft mit Eisen auf. Dass Carnosin in der Lage ist, Chelate mit freien Metallionen zu bilden und damit zu binden, welche andernfalls zur Bildung von freien Radikalen führen könnten, wurde später auch für Kupferionen beschrieben (223).

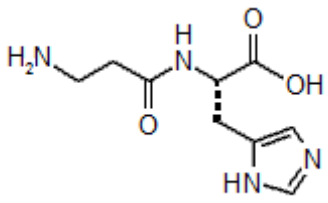

Abbildung 18: Chemsiche Struktur des Carnosin

Carnosin hat neben den „reinen antioxidativen“ Eigenschaften auch Effekte, die mehr „AGE-spezifisch“ sind. Die Anführungszeichen sind hierbei bewusst gesetzt worden, denn um eine

eindeutige Grenze ziehen zu können und zu behaupten, dass jener Mechanismen nur gegen die ROS-Bildung wirkt und ein anderer nur gegen die Entstehung/Vernetzung der AGEs, wäre nach heutigem Stand der Wissenschaft etwas zu voreilig. Dies gilt nicht nur für das Carnosin, sondern auch für andere Substanzen, welche auf ähnliche Weise wirken. Vielmehr sollte man das ‚nur' durch ein ‚eher' ersetzen. Ein Grund hierfür ist die enge Verknüpfung der AGEs und der freien Sauerstoffradikale in puncto Entstehung. AGEs können die Bildung von ROS verstärken (28). ROS wiederum vice versa die Bildung von AGEs (60). Im AGE-Metabolismus sind ROS einfach zu sehr verankert, um von zwei getrennt ablaufenden Wegen sprechen zu können.
Ein Effekt des Carnosin, welcher nun eher auf die AGEs wirkt, ist, dass das Dipeptid selbst durch Zuckermoleküle, darunter Glukose, glykiert werden kann (263). Anstatt den anderen Peptiden und Proteinen wird das Carnosin als Dipeptid glykiert und, obwohl es das Zuckermolekül gebunden hat, scheint das glykierte Carnosin keine schädlichen Auswirkungen zu haben. Jedoch war dieser Versuch in vitro und ob das glykierte Carnosin auch in vivo, v.a. am Menschen, ähnlich gut verträglich ist, bleibt abzuwarten. Weiters schützte das Carnosin Zellen vor reaktiven Carbonylen wie MG und blockierte die Vernetzung mit diversen Proteinen, darunter auch die des Alpha-Crystallins (264), weshalb es auch Bemühungen gibt das NAC als mögliches Therapeutikum gegen Katarakt einzusetzen.
Die dritte AGE-spezifische Eigenschaft des Carnosin ist, dass es die Reaktivität von glykierten Proteinen verändern kann. Bei bereits MG-modifizierten Proteinen vermag es mit der Carbonylgruppe zu reagieren, sodass dadurch Protein-Carbonyl-Carnosin-Addukte entstehen und verhindert eine weitere Vernetzung mit anderen glykierten Proteinen. Dieser Vorgang wird auch als Carnosinylation bezeichnet. Jene Carnosin-modifizierten AGEs könnten zudem auch mit RAGE nicht mehr interagieren oder aber die zelluläre Signaltransduktion verändern (265). Allerdings weiß man noch nicht, welche weiteren Vorgänge diese carnosinylierten Proteine im menschlichen Organismus anschließend erfahren. Theoretische Möglichkeiten wären die Proteolyse durch Proteosome oder auch die Ablagerung in Lipofuszinpartikeln (264).
Als Antioxidans, Metall-Chelator und Glykationshemmer, weist Carnosin viele mögliche Wirkmechanismen auf, um die AGE-Entstehung, deren Verbindung mit anderen Molekülen und konsekutiv die daraus resultierenden organischen Veränderungen zu verhindern. In vitro Studien lieferten bereits entsprechende Ergebnisse, in vivo Studien zu diabetischen Mikroangiopathien und Metabolismus, zum Katarakt und zu atherosklerotischen Läsionen.

9.2.2.1. Okuläre Wirkungen

Grauer Star tritt sowohl im Alter als auch beim Diabetes mellitus gehäuft auf. Vor allem beim Diabetes mellitus können AGEs und ROS die Kataraktgenese direkt beschleunigen (138) als auch über den Polyol-Weg darauf Einfluss nehmen (46). Da Carnosin auf beide reaktive Moleküle hemmende Effekte zeigte, gab und gibt es Bemühungen für den Einsatz des Carnosins bei Katarakt-Erkrankung. Große Bemühungen gab es für das NAC. Die acetylierte Form des Carnosin wird hierfür lokal per Augentropfen appliziert, vermag durch die Kornea und das Kammerwasser zu diffundieren, um in der Linse als Carnosin zu wirken, indem es deacetyliert wird (266). Studien, welche mit dieser lokalen Anwendung des NAC, an Menschen durchgeführt wurden, zeigten durchaus günstige Effekte auf die Linsentrübung. In eine der ersten Studien mit Menschen dazu, welche doppeltblind und placebokontrolliert war, zeigte sich durch die Gabe von 1% NAC-Augentropfen ein signifikant verbesserter Transmissionsgrad der Linse und somit eine Abnahme der Linsentrübung nach 6 Monaten (267). Dies wurde aber nur bei ca. 41,5% der untersuchten Augen erreicht. Die Sehschärfe wurde bei 90% der Augen um 7-100% verbessert, die Blendeempfindlichkeit bei 88,9% der untersuchten Augen um 27-100%. Jene Unterschiede waren zur unbehandelten Kontrollgruppe signifikant ($p<0,001$) und blieben auch nach 24-monatiger Behandlung

signifikant. Zudem wurden diese Augentropfen von den Probanden gut vertragen. Bei älteren Probanden mit einer 4-monatigen Behandlung von 1% NAC-Tropfen kam es ebenfalls zu einer Verbesserung des Visus und zur Blendeempfindlichkeit ($p<0,001$) (268). Auch in einer weiteren placebokontrollierten Studie mit 75 Probanden nahm durch die 1%-NAC Augentropfen die Blendeempfindlichkeit signifikant ab und die Sehschärfe signifikant zu (269). Vergleichbar mit den vorherigen Ergebnissen, wurden die 1% NAC-Augentropfen sehr gut vertragen und zeigten keine schwerwiegenden systemischen oder lokale Nebenwirkungen, wie z.B. Hyperämie der konjunktivalen Blutgefäße oder Zeichen einer allergischen Reaktion. Diese 1%-NAC Augentropfen, welche auch als Can-C™ bezeichnet wurden, bestanden neben 1% NAC, auch aus 1% Glyzerin, 0,3% Benzylalkohol, 0,3% Carboxymethylcellulose und 97% deionisiertem Wasser sowie Kaliumbicarbonat und Kaliumborat. Laut den Autoren können diese Augentropfen u.a. auch eingesetzt werden für das primäre Offenwinkelglaukom, Netzhautschädigungen oder für okuläre Komplikationen, die im Rahmen des Diabetes mellitus entstehen und wirken u.a. indem sie mit ROS und reaktive Carbonyle reagieren, carnosinylierte Proteine bilden und Linsenproteine vor der Glykierung bewahren. Dies gälte allerdings nur für jene NAC-Augentropfen, die speziell durch die Innovative Vision Products Inc. hergestellt wurden. Obwohl diese und auch andere Studien mit NAC vorwiegend auf ältere Patienten und nicht primär auf diabetische Patienten beruhten, schrieben Babizhayev et al. (270) dem NAC auch für den Diabetes mellitus zukünftige therapeutische Ansätze und Anwendungen zu, v.a. für die diabetischen okulären Veränderungen.
Trotz dieser scheinbar erfolgversprechenden Ergebnisse und der guten Verträglichkeit, wird NAC dennoch bisher nicht im klinischen Alltag eingesetzt. Zwar sind NAC-Augentropfen frei erwerbbar, aber eine offizielle Empfehlung als Alternativtherapie zur Kataraktoperation oder zur Prophylaxe gegen die Linsentrübung ist bisher noch ausständig. Ein Grund dafür ist nämlich die fehlende ausreichende Wirksamkeit und Sicherheit. Eine der ersten Studien am menschlichen Organismus (267) hatte im Vergleich zur Probandenanzahl eine zu niedrige Testpower mit zu hoher Dropoutrate in der 24-monatige Follow-up Gruppe, welche 45% betrug. Zusätzlich wies jene ein zu breites 95%-Konfidenzintervall auf und die verbesserte Sehschärfe korrelierte nicht mit dem objektiv festgestellten Grad der Linsentrübung (90% wiesen eine Visusverbesserung auf, aber nur 41,5% auch einen verbesserten Transmissionsgrad). Ein weiteres Manko wäre die geringe Teilnehmerzahl, die auch in den weiteren genannten klinischen Studien unter 100 Probanden lag. NAC wird vom Britain's Royal College of Ophthalmologists ebenfalls nicht für die Kataraktbehandlung empfohlen, da die Effektivität nicht ausreichend bestätigt und die Ergebnisse durch andere Studien nicht reproduziert wurden. Ebenso scheint keine ausreichende Sicherheit durch jene Kurzzeitstudien gewährleistet worden zu sein und weitere Studien müssten durchgeführt werden ehe man NAC als Medikament für den Katarakt einsetzen könnte (271).

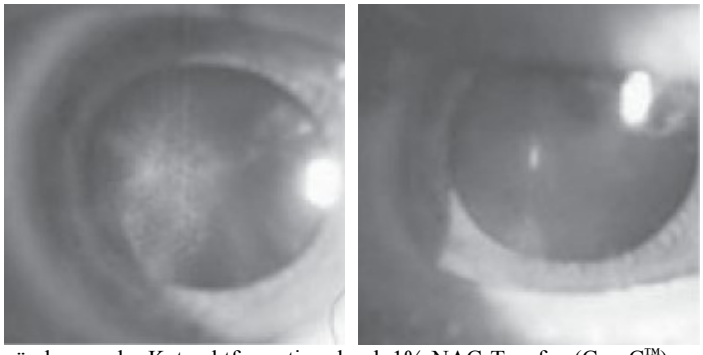

Abbildung 19a & 19b: Veränderung der Kataraktformation durch 1%-NAC-Tropfen (Can-C™) am menschlichen Auge. Linkes Bild (Abb. 19a) zeigt ein Auge eines älteren Probanden mit einer Kataraktbildung. Rechtes Bild (Abb. 19b) zeigt den Schwund dieser Kataraktformation und eine Verbesserung der Linsentrübung nach 5-monatiger Behandlung durch Can-C™-Tropfen. Entnommen aus Babizhayev et al. (269)

Überlegungen, Carnosin oder das NAC auch in der diabetischen Retinopathie als mögliches Medikament einzusetzen, gab es zwar (272), auch wurde das NAC, wie oben erwähnt, dafür empfohlen, allerdings wurden zu den möglichen Auswirkungen einer Carnosin- bzw. NAC-Therapie auf die retinalen Veränderungen bisher keine Studien an Menschen durchgeführt und die Datenlage ist auch wesentlich dünner als zur Kataraktintervention. Lediglich in vivo Studien an diabetischen Ratten liegen vor, dafür jedoch mit interessanter Erkenntnis (273). Die orale Gabe von Carnosin (1g/kg KG/Tag) konnte den retinalen Perizytenverlust sowie Gefäßuntergang signifikant verhindern, erzielte dies aber offensichtlich nicht durch eine ROS- oder AGE-Reduktion, sondern durch eine gesteigerte Hsp27-Expression, die viermal so groß war als in den nicht diabetischen unbehandelten Ratten. Nach 6 Monaten aber war die Hsp27-Expression in diabetischen unbehandelten Ratten hingegen höher als in den diabetischen therapierten Tieren. Carnosin hemmte auch die Hochregulierung des Ang-2 Proteins, nicht aber die des VEGF. Ganz im Gegenteil, denn Carnosin behandelte Ratten zeigten sogar eine vermehrte VEGF-Expression von 10% im Vergleich zu diabetischen unbehandelten Tieren. Zudem wiesen mit Carnosin p.o. behandelte Rattenaugen anfänglich keine Kataraktaffektionen auf, nach 6-monatiger Behandlung entwickelten aber 14 von 18 Augen einen grauen Star. Einen Langzeit-Effekt scheint orales Carnosin auf die Kataraktgenese nicht zu haben, eventuell aber auf die retinale Veränderung. Doch dafür bedarf es wiederum weitere Studien.

9.2.2.2. Metabolische und renale Wirkungen

Lee et al. (274) schrieben dem Carnosin anti-diabetisch wirksame Effekte auf den Metabolismus zu. An diabetischen Mäusen wurde durch Carnosin (0,5g/l Wasser) der Blutglukosespiegel reduziert, ebenfalls die Fibronektinkonzentration ($p<0,05$). In Leber und Herz abgelagerte Triglyzeride vermochte das Carnosin ebenfalls zu senken, genauso wie die MDA-, IL-6- und TNF-α-Konzentrationen ($p<0,05$ jeweils). Diese Veränderungen waren alle dosisabhängig und manche Werte erreichten erst durch die doppelte Dosis an Carnosin eine statistische Signifikanz. So auch der Insulinspiegel, der eine signifikante Steigerung erst ab einer Carnosindosis von 1g/l zur unbehandelten diabetischen Vergleichsgruppe zeigte (9,7±1,0nmol/l vs. 6,8±1,4nmol/l). In vitro konnte Carnosin am menschlichen LDL dessen Glykierung verringern ($p<0,05$) und zwar ebenfalls dosisabhängig (Tabelle 1). Histidin, das ein Bestandteil des Carnosins ist, zeigte in der Studie auch auf alle beschriebenen Parameter signifikante Veränderungen, welche allerdings für einige Werte etwas geringer waren als die des Carnosins, für andere jedoch auch höher. Sauerhöfer et al. (275) kamen in ihrer Studie zu vergleichbaren Ergebnissen. Neu war hingegen, dass auch das glykierte Hämoglobin durch Carnosin signifikant sank und dass es bei Carnosin-behandelten Mäusen zu einer Hyperplasie der Inselzellen, vorwiegend aus Beta-Zellen, im Pankreas kam. Jene Nager hatten auch eine verzögerte und mildere Manifestation des Diabetes mellitus und entwickelten eine persistierende Hyperglykämie erst ab der 17. Woche, während die diabetische Kontrollgruppe bereits zwischen 8.-10. Woche einen Diabetes mellitus bekamen. Eine parallele Untersuchung der Mäuse im Hinblick auf eine diabetische Nephropathie zeigte, dass Carnosin diese weder funktionell noch morphologisch verbessern konnte. In einer anderen Studie aber verhinderte Carnosin die morphologischen Veränderungen wie Verdickung der glomerulären Basalmembran, tubuläre Glykogenablagerungen und den Untergang von Glomeruli (276).

Substanz	Glykierung (%)
LDL	3,2±0,4
LDL+Glukose (100mM)	9,3±0,8
LDL+Glukose (100mM)+Carnosin (1µM)	7,2±0,9
LDL+Glukose (100mM)+Carnosin (2µM)	5,9±1,2

Tabelle 1: In vitro-Prozentsatz der Glykierung vom humanen LDL-Cholesterins, entnommen aus Lee et al. (274)

Dass Carnosin womöglich doch Effekte auf die Nephropathie zeigt, wurde durch genetische Studien erbracht. Wie bereits erwähnt, bestimmt die Genetik beim Diabetes mellitus sowohl beim Typ 1 als auch beim Typ 2 die Progression und die Komplikationsschwere mit. Eine dieser genetischen Abberationen, die Einfluss auf die diabetische Nephropathie nehmen kann, wäre am Genort 18q22.3-q23 (277). Darum wurden bei 135 Diabetikern mit diabetischer Nephropathie sowie bei 107 diabetischen Probanden ohne Zeichen jener Nephropathie DNA-Analysen durchgeführt, um jenes Gen an dieser Chromosomenstelle genau zu identifizieren und um dessen Einfluss zu quantifizieren (278). Auf jenem Genort befinden sich die Gene CNDP1 und CNDP2. Für das Carnosin sind diese Gene insofern relevant, weil sie für die Carnosinase 1 und 2 kodieren, also für jenes Enzym, welches Carnosin in Alanin und Histidin aufspaltet und das Carnosin somit abbaut. Von den beiden Genen ist das CNDP1 das Wichtigere, denn ein Trinukleotid-Repeat im Exon 2 des CNDP1 führt dazu, dass es im Carnosinase 1-Präkursorprotein zu einem wiederholten Einbau des Leucins in die Aminosäuresequenz kommt. Je länger dieses Leucin-Allel ist umso eher ist dies mit einer diabetischen Nephropathie vergesellschaftet. Das kürzeste Allel besteht aus 5 Leucin-Molekülen und war am seltensten mit der Nephropathie vergesellschaftet (p=0,0028, Odds ratio 2,56 [95%-Konfidenzintervall 1,36-4,84]). Die meisten Patienten, die keine diabetischen Nephropathie hatte, waren für diese Allelform auch homozygot (p=0,041, Odds ratio 5,54 [95%-Konfidenzintervall 0,98-31,45]). Dieses 5-Leucin-Allel wird auch als CNDP1 Mannheim bezeichnet, da der erste Proband, bei dem es nachgewiesen wurde aus Mannheim kam. Jene Leucin-Wiederholung korreliert nämlich mit der Enzymaktivität der Carnosinase 1 (p=0,018). Eine Homozygotie für das CNDP1 Mannheim Allel war mit der geringsten Aktivität für die Carnosinase 1 assoziiert. Der Umkehrschluss von Janssen et al. war, dass diabetische Patienten, die mehr Leucin-Wiederholungen durch diese Trinukleotid-Repeats besitzen, stärker gefährdet sind als jene mit der CNDP1 Mannheim Variante. Durch gleichzeitige in vitro Studien mit Carnosin konnten sie ihre Hypothese bekräftigen, da Carnosin die vermehrte Extrazellulärprotein-Produktion unter hyperglykämen Bedingungen von Fibronektin, Kollagen Typ VI in Podozyten und die des TGF-β2 in Mesangialzellen hemmte. Carnosin wirkte somit der Fibrosierung entgegen. Jene Ergebnisse wurden für Araber und europäische Kaukasier geliefert. Bei Amerikanern europäischer Abstammung zeigte sich ebenfalls eine Assoziation dieser CNDP1-Variante mit der Schwere der diabetischen Nephropathie, sodass jene ein signifikant niedrigeres Risiko haben eine Niereninsuffizienz aufgrund des Diabetes mellitus zu entwickeln (279). Nicht jedoch bei allen ethnischen Rassen wurde diese Korrelation nachgewiesen. Mexikanische Amerikaner wiesen jene Korrelation mit CNDP1 nicht auf, dafür mit einem anderen Genort, nämlich dem HMCN1 (280), und bei Pima-Indianern, deren US-amerikanischer Bevölkerungsteil eine überproportionale Prävalenz für Diabetes mellitus Typ 2 aufweist, wurde keine signifikante Assoziation nachgewiesen, lediglich eine solche in Familienstudien (281).

9.2.2.3. Kardiovaskuläre Wirkungen

Die Datenlage zu Carnosin bezüglich der diabetische Nephropathie ist noch recht inkonklusiv, ähnliches gilt auch für atherosklerotische Veränderungen. In vitro deutet vieles darauf hin, dass Carnosin antiatherosklerotische Effekte hat, indem es die Glykierung des LDL reduziert, welches ansonsten die Schaumzellenbildung und damit die Atherogenese fördert (274). Atherosklerotische Plaques konnten in vivo an diabetischen Mäusen aber durch Carnosingabe in ihrer Größe nicht verringert werden. Dafür wiesen sie eine Reduktion der abgelagerten Lipide auf, welche ca. 60% betrug, sowie eine Zunahme sowohl der Makrophagenanzahl um ca. 70% als auch des Kollagengehaltes um ca. 50%. Weiters hatte Carnosin in dieser Studie keine signifikanten Effekt auf den Blutglukosegehalt, das HbA_{1c} oder das Gesamt-Cholesterins, obwohl in manchen oben beschriebenen Studien signifikante Veränderungen nachgewiesen wurden. Nur Triglyzeride nahmen unter Carnosin (1,7±0,2 vs. 1,3±0,1 mmol/l,

p<0,05) ab (282). Auch in einer anderen Studie mit Apo E (-/-)-Mäusen konnte an jenen keine signifikante Veränderung des Gesamtcholesterins gefunden werden (503±38 Kontrollgruppe vs. 524±30mg/dl mit ODC-behandelten Mäusen) (283). Blutzucker oder HbA_{1c} wurden hierbei nicht gemessen. ODC führte zu einer Verkleinerung der Plaques an der Aortenklappe (p<0,05), welche ebenfalls einen geringeren Makrophagengehalt aufwies. ODC ist allerdings nicht das L-Carnosin, welches im Menschen vorkommt und bisher in den anderen Studien verwendet wurde, sondern ein Analogon davon. Dadurch wird es von der Carnosinase nicht abgebaut, sondern renal ausgeschieden. Womöglich ist das der Grund der verbesserten Wirkung auf die atherosklerotischen Veränderungen. Die in vitro Untersuchungen jener Studie wurden hingegen mit Carnosin durchgeführt, welches vor AGEs schützte, die vor allem durch die Lipidoxidation gebildet werden, wie MDA, Acrolein oder 4-HNE, indem es die Bildung jener hemmt oder mit ihnen sofort reagiert. Auch verhinderte Carnosin eine 4-HNE induzierte Apoptose bei Makrophagen und verringerte die Oxidation des LDL um ≈90%. Eine neue Wirkweise wurde für das ODC gefunden, welches zu einer vermehrten Ausscheidung an Carnosin-HNE- und Carnosin-HHE-Komplexen über den Harn führte (p<0,05). ODC wird nicht enzymatisch abgebaut, sondern einfach ausgeschieden. Auf seinem Weg bindet es anscheinend reaktive Carbonyle und macht sie somit unschädlich. Ob das ODC durch den fehlenden enzymatischen Abbau durch die Carnosinase tatsächlich besser wirksam ist als das L-Carnosin, nicht nur in Bezug auf die Atherogenese, sollte durch weitere Studien geklärt werden. Bisher verwendeten nur sehr wenige Untersuchungen das ODC.
Inwieweit genetische Veränderungen bei den makroangiopathischen Komplikationen eine Rolle spielen, wurde ebenfalls versucht zu klären. Vor koronarer Herzerkrankung und deren Folgezustände scheint das CNDP1 Mannheim Allel aber nicht schützen (284).

9.2.2.4. Weitere Wirkungen

Bei der Alzheimer-Krankheit hemmte Carnosin die Entstehung des neurotoxischen β-Amyloid-Peptides in vitro (285). Es hielt das β-Amyloid in seiner löslichen Form und verhinderte dessen Aggregation. Zusammen mit seinen weiteren antioxidativen Effekten, der Konfigurationsänderung und dadurch einer möglichen Verhinderung der Interaktion der carnosinylierten AGEs mit RAGE, könnte Carnosin den demenziellen Verlauf des Mb. Alzheimer mildern. Es bedarf jedoch hierfür weiterer Studien, vor allem großangelegte klinische Studien, um Genaueres sagen zu können.

9.2.3. Pyridoxamin

Drei chemisch verwandte Verbindungen bilden die Übergruppe des Vitamin B6. Zu jenen drei Substanzen, die ineinander vom Menschen zwar umgewandelt, aber nicht selbst synthetisiert werden können, zählt erstens ein Amin, das Pyridoxamin, zweitens ein Aldehyd, das Pyridoxal, und drittens ein Alkohol, das Pyridoxin. Alle drei Substanzen sind Derivate des Pyridins und werden in die biologisch aktive Form des Vitamin B6, Pyridoxal-5-Phosphat, umgewandelt, das als Coenzym bei diversen metabolischen Vorgängen fungiert. Es ist vor allem in der Transaminierung von Aminosäuren, wie auch bei Decarboxylierungs- und Dehydratisierungsvorgängen beteiligt (286).

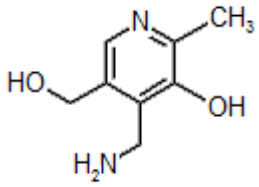

Abbildung 20: Chemsiche Struktur des Pyridoxamin

Pyridoxamin besitzt zwei wichtige Wirkmechanismen in Bezug auf AGEs. Es kann zum einen Chelatkomplexe bilden, insbesondere mit Cu^{2+} und Fe^{3+} (287). Diese Chelatbildung ist sowohl wichtig, um die Schiffsche Base bei der Transaminierung zu stabilisieren (286), als auch die Reaktionen nach dem Amadoriprodukt zu blockieren, welche durch Metallionen katalysiert werden (288). Zum anderen vermag das Pyridoxamin in die Maillardreaktion einzugreifen, indem es mit ROS und reaktiven Carbonylen reagiert. Hierbei scheint die OH-Gruppe an der 3. Position mit den reaktiven Molekülen zu reagieren und so vor deren schädlichen Auswirkungen zu schützen (289). Dies wurde auch für $O_2 \cdot^-$-Radikale

nachgewiesen (290). Pyridoxamin scheint aber vielmehr in die AGE-Entstehung durch seine Chelateigenschaft und durch Blockierung der Vorgänge, welche nach der Amadori-Umlagerung auftreten, einzugreifen als durch seine Radikalfängereigenschaft. Daher wird es auch als Amadorin bezeichnet. Bisher zählen zu den Amadorinen nur das Pyridoxamin und das BSST-4997, wovon letzteres dem Pyridoxamin chemisch ähnelt, auch Chelateigenschaften besitzt, jedoch weniger nukleophil ist und somit weniger Carbonyl-Scavenger-Eigenschaften als Pyridoxamin besitzt, dafür blockiert es aber die Umwandlung von Amadori-Produkten in AGEs stärker als das Pyridoxamin (291).
Die Wirksamkeit von Pyridoxamin auf den AGE-Stoffwechsel und auf die diabetischen Mikroangiopathien sowie auch auf die diabetische Neuropathie wurde durch präklinische und durch klinische Studien erhärtet, weshalb es sich gerade in der Phase III befindet. In den USA wurde es bereits 2009 von der FDA als pharmazeutischer Wirkstoff eingestuft und gilt dort nicht mehr als Nahrungsergänzungsmittel, weil es ein aktiver Wirkstoff des Pyridorin™ ist, welches von BioStratum Inc. entwickelt wurde (292). Daneben wurden Untersuchungen zur Pyridoxaminwirkung auch bei anderen diabetischen Komplikationen durchgeführt.

9.2.3.1. Renale Wirkungen

Anfangs zeigte das Pyridoxamin in in vivo-Studien am Tiermodell, dass es für die diabetische Nephropathie als möglicher Wirkstoff in Frage käme. Die Albuminurie wie auch die Plasmakreatininkonzentration waren bei den behandelten diabetischen Ratten signifikant niedriger ($p<0,0001$), verglichen zu den unbehandelten diabetischen Nagern. Aminoguanidin zeigte zwar auch in dieser Studie eine Verbesserung jener Parameter, allerdings mit niedriger Signifikanz ($p<0,01$ für die Kreatininkonzentration, $p<0,05$ für die Albuminurie). Morphologisch nahm nur das glomeruläre Volumen durch Pyridoxamin signifikant ab, jedoch wiesen Mesangialzellen und die gBM keine Veränderungen auf. Pyridoxamin war nicht nur in Bezug auf die renalen Veränderungen effektiver als Aminoguanidin, auch die dyslipidämischen Veränderungen konnte Pyridoxamin effektiver verbessern. Die Cholesterinerhöhung der diabetischen Tiere vermochte Pyridoxamin wieder zu normalisieren, während Aminoguanidin kaum einen Einfluss darauf hatte. Für die Triglyzeride zeigte sich auch eine stärkere Erniedrigung bei den Pyridoxamin-behandelten Ratten als bei den Aminoguanidin-behandelten Ratten. Beide Wirkstoffe konnten die Triglyzeridspiegel zur diabetischen Kontrollgruppe signifikant senken, wobei Pyridoxamin erneut effektiver war und niedrigere Werte gefunden wurden (siehe Abbildung 22). Blutzucker oder das glykierte Hämoglobin blieben jedoch unverändert. Durch Pyridoxamin blieb auch die Pentosidinkonzentration im Gewebe konstant, während das CML um 35% reduziert wurde und CEL um 50%. Hierzu wies das Pyridoxamin erneut eine höhere Signifikanz auf als das Aminoguanidin (293). Pyridoxamin erzielte bereits ein paare Jahre zuvor in einer Studie bessere Ergebnisse als Aminoguanidin (294) mit ähnlichen Resultaten zu funktionellen und morphologischen renalen Veränderungen und zur Dyslipidämie (295). In Letzterer wurden auch kardiovaskuläre Effekte beschrieben. So verhinderte Pyridoxamin einen Anstieg des systolischen Blutdrucks und konnte die Gefäßwandverdickung der Aortenwand signifikant reduzieren. Auch die Wanddicke in kardialen und renalen Arteriolen wurde durch Pyridoxamin reduziert, allerdings war der Effekt auf die renalen Arteriolen geringer.

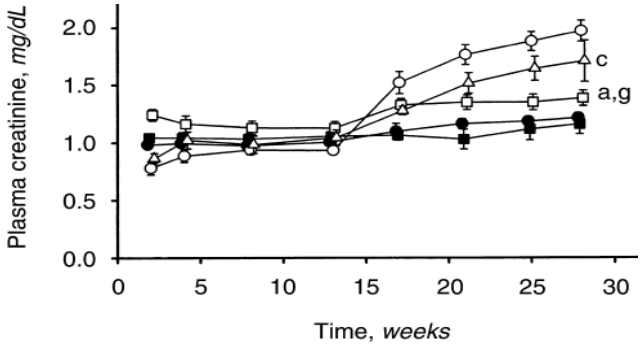

Abbildung 21: Verlauf des Plasma-Kreatinin-Wertes an Ratten.
Weiße Kreise stellen die Werte der diabetischen unbehandelten Ratten dar, weiße Dreiecke die der diabetischen Aminoguanidin-behandelten Ratten, weiße Quadrate die Werte der diabetischen Pyridoxamin-behandelten Ratten, schwarze Kreise die Werte der unbehandelten nicht-diabetische Ratten und schwarze Quadrate die Werte der nicht diabetischen Pyridoxamin-behandelten Ratten. Entnommen aus Degenhardt et al. (293)

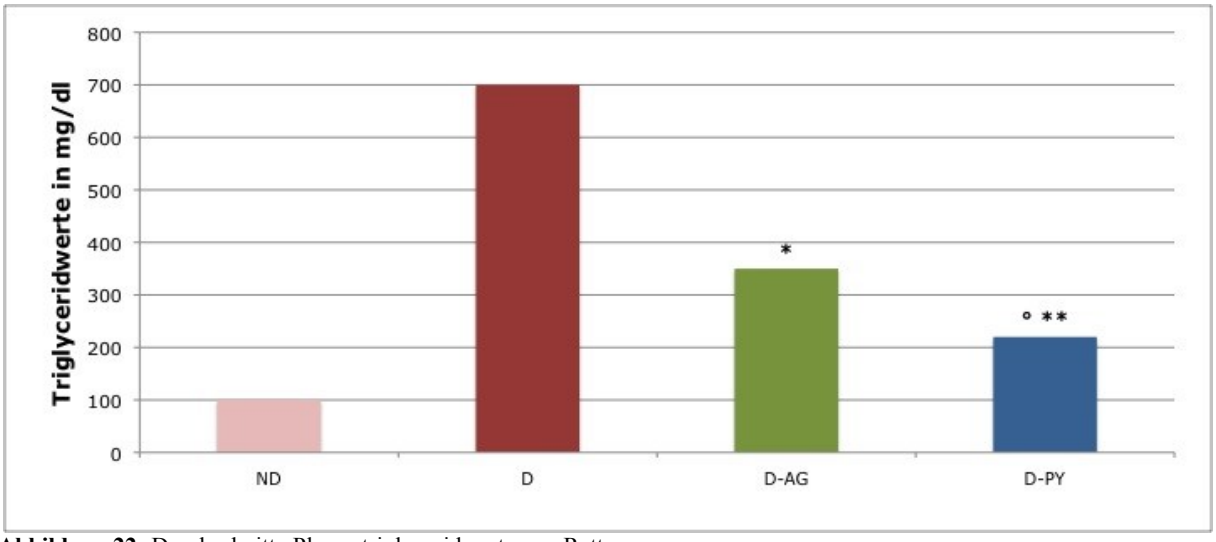

Abbildung 22: Durchschnitts-Plasmatriglyzeridwerte von Ratten.
ND=nicht diabetische Ratten, D=diabetische unbehandelte Ratten, D-AG=diabetische Aminoguanidin-behandelte Ratten, D-PY=diabetische Pyridoaxamin-behandelte Ratten. ** p< 0,0001 vs. D, * p< 0,05 vs. D, ° p<0,01 vs. D-AG. Werte entnommen aus Degenhardt et al. (293)

Nicht nur am Tiermodell, sondern auch am menschlichen Organismus wurde Pyridoxamin untersucht. Eine dieser Studien ist jene von Williams et al. (296). Hierbei wurden gleich 2 randomisierte, doppelblinde und placebokontrollierte Studien an Typ 1- und Typ 2-Diabetikern zugleich durchgeführt, die PYR-206 mit einer Pyridoxamindosis von 50mg zweimal täglich, und die PYR-205/207 mit 250mg Pyridoxamin zweimal täglich. Die Albuminurie konnte in beiden Studien nicht verbessert werden und blieb, verglichen zur Placebogruppe, konstant (-13±948 vs. 97±1051mg/24h). Hingegen nahm die Basis-Serumkreatininkonzentration durch das Pyridoxamin signifikant ab. Dies wurde in der PYR-205/207-Studie (p=0,032) erreicht, nicht aber in der PYR-206-Studie (p>0,05). Bei Typ 2-Diabetikern mit einem Basis-Serumkreatinin von ≥1,3mg/dl schien der Effekt des Pyrdioxamins größer zu sein. Die Kreatininclearance, welche auch ein besseres Maß der Filtrationsleistung der Nieren ist, blieb in beiden Studien unverändert. Am Rande sei noch erwähnt, dass Pyridoxamin die Ausscheidung des TGF-β1, CML und des CEL, signifikant reduzieren konnte.
In einer weiteren Studie zeigte Pyridoxamin nicht die Ergebnisse, welche man in den präklinischen Studien gefunden hatte (297). 307 Typ 2-Diabetiker wurden in drei Gruppen aufgeteilt und 52 Wochen lang mit Placebo, Pyridoxamin 150mg 2x täglich bzw. mit 300mg 2x täglich behandelt. Die Proteinurie blieb durch die Behandlung unverändert, auch die eGFR zeigte, bis auf eine Ausnahme, keine signifikante Veränderung. Die eine Ausnahme war, dass Patienten mit 150mg Pyridoxamin, die zur unteren Terzile der Serumkreatininkonzentration

gehörten (<1,85mg/dl), eine signifikante Verbesserung der eGFR aufwiesen (p=0,03). Zusätzlich zeigte Pyridoxamin bessere Werte des Serumkreatinins nur bei denjenigen Patienten, die ein niedriges Serumkreatinin hatten (≤2mg/dl) oder zur ersten Terzile des Serumkreatinins zählten. Jene Werte waren wiederum nur für die Gruppe der ersten Terzile des Serumkreatinins signifikant erniedrigt (p<0,05), nicht aber für die Gruppe mit einem Serumkreatinin von ≤2mg/dl (p=0,09). Allgemein betrachtet, konnte Pyridoxamin aber zu keiner funktionellen Verbesserung der diabetischen Nephropathie führen. Lediglich Patienten mit einem geringen Nierenschaden könnten von Pyridoxamin profitieren, so die Autoren. Auch wenn die Kovarianzanalyse des Behandlungseffektes zum Basis Serum-Kreatinin laut Lewis et al. einen Signifikanzwert von 0,006 aufwies, sollten diese Beobachtungen der Subgruppenanalyse mit Vorsicht betrachtet werden. Die Probandenanzahl ist nämlich gering und die Teststärke dazu ebenfalls. Daher wird auch von Lewis et al. empfohlen, zu jener Probanden-Subgruppe eine weitere Studie zu machen, um eine entsprechende Aussage treffen zu können.

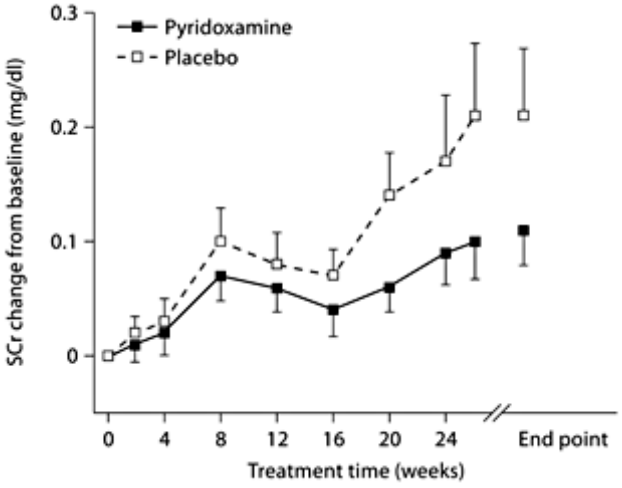

Abbildung 23: Durchschnittliche Veränderung des Serumkreatinins aller Probaden bei Williams et al. durch Pyridoxamin im Vergleich zur Placebogruppe. Entnommen aus Williams et al. (296)

9.2.3.2. Weitere Wirkungen

Während sich Pyridoxamin für die diabetische Nephropathie bereits in der Phase III der klinischen Studien befindet, gibt es bisher zur diabetischen Retinopathie lediglich präklinische Studien. Pyridoxamin wirkte der Retinopathie entgegen, indem es die Anzahl von azellulären Kapillaren reduzierte (p<0,001). In den Kapillaren konnte es auch die Lamininvermehrung verhindern und den Gehalt an CML in diabetischen Ratten auf jenen von nicht-diabetischen Ratten senken (298). In Bezug auf eine andere okuläre diabetische Komplikation, den Katarakt, hatte Pyridoxamin allerdings keine präventiven oder therapeutischen Auswirkungen. Es zeigte sich zwar eine Erniedrigung der Argpyrimidin- und Pentosidinlevel sowie eine Modulation der Enzymaktivität zweier wichtiger Enzyme im AGE-Abbau. Es wurde nämlich die Enzymaktivität der GLO-1 konstant gehalten und die der Aldose-Reduktase erhöht. Die Kataraktentwicklung wurde dadurch aber nicht aufgehalten (299). Zur Wirkung auf die diabetische Neuropathie lässt sich bisher sagen, dass Pyridoxamin zwar zur Verbesserung der Nervenfunktion durch eine zweiwöchige Behandlung bei diabetischen Ratten führte, welche aber nicht mit den gemessenen AGE-Konzentrationen konform ging. So bestanden keine Unterschiede des AGE-Gehalts im Nervengewebe zwischen den diabetischen, mit Pyridoxamin behandelten, und nicht diabetischen Ratten. Auch wurden keine AGE-Veränderungen in neuronalen Endothelzellen gemessen (300). Bessere Ergebnisse zeigte Pyridoxamin hingegen auf die kardiovaskulären Folgeerscheinungen. Neben den oben genannten Effekten auf die kardiovaskulären

Veränderungen beim Diabetes mellitus durch Alderson et al. (295), wirkte Pyridoxamin in einer weiteren Studie präventiv. Kardiale Parameter wurden durch Pyridoxamin zwar kaum verändert und so blieben das Schlagvolumen, HZV und Blutdruckwerte weitgehend konstant, während der linke Ventrikel eine signifikante Abnahme seines Gewichts zeigte, wodurch Pyridoxamin die linksventrikuläre Hypertrophie abschwächen könnte. Vaskulär gesehen verringerte Pyridoxamin allerdings die Steifigkeit der Aortenwand und milderte den diabetischen Elastizitätsverlust. Dies ging mit einer Abnahme der AGE-Ablagerungen in der Gefäßwand einher. Der Blutzuckergehalt und das glykierte Hämoglobin blieben durch Pyridoxamin unbeeinflusst (301). Da Pyridoxamin aber hauptsächlich in die AGE-Entstehung erst nach dem Amadori-Produkt eingreift, lässt sich auch der fehlende Abfall des glykierten Hämoglobins erklären. Im Fettstoffwechsel konnte Pyridoxamin, wie bereits erwähnt, die Dyslipidämie senken und auch bei Nobécourt et al. (189) konnte die MG-vermittelte Glykation des Apo A1, welche die HDL-Funktion beeinträchtigt, verringert werden.
Ein bisher eher unbekannter pathophysiologischer Weg, in dem RAGE/AGEs involviert sind, ist jener der Osteoarthritis. Bei Patienten mit dieser Erkrankung wurde weiters ein Zusammenhang zwischen der Schwere der Osteoarthritis und der Pentosidinkonzentration in der Haut und im Urin festgestellt (148). Dieser Zusammenhang könnte durch Garg et al. (302) bestärkt werden. Die Kombination aus Benfotiamin 50mg + Pyridoxamin 50mg + Methylcobalamin 500µg erwies sich als effektiv in Bezug auf Verminderung der Entzündung, des Schmerzes und vermehrter Mobilität der Patienten. Das CRP ging zurück ($p<0,01$), ebenso zeigten sich bei den Probanden niedrigere Werte für den erhobenen Schmerz ($p=0,003$), des Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis Index ($p=0,013$) und des Lequesne Index ($p=0,05$). Die Gehzeit beim 20-Meter-Geh-Test blieb aber zur Placebogruppe unverändert und zeigte keine Abnahme ($-5,0\pm0,92$ vs. $-5,0\pm1,39$s, $p=1,00$). Die Gehfähigkeit wurde somit nicht verbessert und man kann leider nicht sagen, ob eher das Pyridoxamin oder doch eher das Benfotiamin zu diesen Verbesserungen führten oder ob nur die Kombination aus beiden effektiv ist. Man müsse die Vorgänge der RAGE/AGE-Achse in der Osteoarthritis durch weitere Studien vorerst noch genauer ergründen, ebenso Therapieoptionen zu jener Erkrankung, welche die AGE/RAGE-Achse miteinschließt.

9.2.3.3. Nebenwirkungen

Nebenwirkungen wurden zwar in allen oben genannten Studien beschrieben, dennoch wurde Pyridoxamin als gut verträglich und sicher eingestuft. In der Studie von Williams et al. (296) wurden bei 26,2% der mit Pyridoxamin-behandelten (50mg 2x täglich) Patienten leichtgradige therapiebedingte Nebenwirkungen gefunden, in der vergleichbaren Placebogruppe hingegen gaben 33,3% der Probanden jene an. Schwergradige Nebenwirkungen traten bei 10,8% der behandelten Probanden auf, wovon aber keine als therapiebedingt galt. Hingegen stieg die Zahl der leichtgradig therapiebedingten Nebenwirkungen in der mit 250mg, zweimal täglich, therapierten Gruppe auf 35,1% an, ebenso die der schwergradigen therapiebedingten Nebenwirkungen (21,1%). Letztere wies fast sogar einen signifikanten Unterschied zur Placebogruppe auf ($p=0,053$). In der Placebogruppe gab es keinen Todesfall eines Probanden, während vier Probanden, die mit Pyridoxamin behandelten wurden, starben. Signifikant war der Mortalitätsunterschied zwar nicht, aber die Todesfälle wurden dennoch untersucht und, ausgenommen eines, als nicht mit der Pyridoxamin-Behandlung im Zusammenhang bringend angesehen. Als die häufigsten schwerwiegenderen Nebenwirkungen wurden nicht näher beschriebene kardiovaskuläre Ereignisse sowie Infektionen erwähnt. Auch diese stünden laut den Untersuchern nicht mit dem Pyridoxamin in Zusammenhang, da viele Patienten bereits präexistierende Erkrankungen und eine Vormedikation aufwiesen und weil keine Nebenwirkung spezifisch vorkam. Pyridoxamin hatte zudem keinen Einfluss auf die QT-Zeit. In der Studie zu Lewis et al. (297) gab es ebenso keine signifikanten Unterschiede zu den Nebenwirkungen der mit

Pyridoxamin-behandelten Patienten zur Placebogruppe. Todesfälle traten jedoch auf. Sechs Probanden starben in den mit Pyridoxamin-behandelten Gruppen, zwei in der Placebogruppe. Jene Todesfälle wurden aber ebenfalls nicht dem Pyridoxamin zugerechnet.
Andere mögliche Nebenwirkungen könnten sich in einem exzessiven Medikamentenkonsum des Pyridoxamin mit einer Vitamin B6-Hypervitaminose zeigen. Jene äußert sich mit neurologischen Störungen in Form von peripherer sensorischer Neuropathie und Photosensitivität. Solche Nebenwirkungen wurden zwar in den Studien nicht beschrieben, wären aber aufgrund der Umwandlung des Pyridoxamins in das aktive Pyridoxal-5-Phosphat mit anschießender Hypervitaminose eine logische Schlussfolgerung.

9.2.4. Benfotiamin (milgamma® protekt)

Benfotiamin ist ein Derivat des Vitamin B1 (Thiamin) und zugleich das Prodrug dessen, indem es im Körper in das Thiamin umgewandelt wird. Es wird daher vor allem zur Behandlung einer Vitamin B1-Hypovitaminose eingesetzt. Im Gegensatz zu Thiamin ist Benfotiamin lipophil, besitzt eine höhere Bioverfügbarkeit im Körper als Thiaminmononitrat und weist auch eine höhere Plasmakonzentration auf (303). Benfotiamin wird in manchen Ländern als Medikament, in anderen Ländern als Nahrungsergänzungsmittel vermarktet und besitzt auch beim Diabetes mellitus einen therapeutischen Stellenwert. Das Prodrug ist in der Lage diverse Wege, welche in der Pathogenese des Diabetes mellitus eine wichtige Rolle einnehmen, zu blockieren. Konkret sind dies der AGE-Weg, der PKC-Weg, der Polyol-Weg sowie der Hexosamin-Weg. Beim Diabetes mellitus wird wegen der Hyperglykämie vermehrt Glukose über diese Wege verstoffwechselt und zu anderen Monosacchariden, wie Fruktose-6-Phosphat und Glyzeraldehyd-3-Phosphat, umgewandelt. Solche entstandenen Zuckermoleküle können über die Transaldolase und Transketolase, wovon letztere Thiamin-abhängig ist, weiter in das Ribulose-5-Phosphat im reduktiven Pentosephosphatweg umgewandelt werden. Somit werden die schädlichen Auswirkungen vermieden. Benfotiamin greift nun in diese Wege ein, indem es die Transketolase aktiviert und somit vermehrt diese entstandenen Metabolite dem AGE-, Hexosamin, Polyol-, und PKC-Weg entzieht (304,305). Dadurch greift Benfotiamin besonders frühzeitig in die AGE-Bildung ein und ist in der Lage Plasma-AGEs wie auch abgelagerte AGEs signifikant zu reduzieren (306,307). Ebenso wurde die RAGE-Expression verringert (308). Dies geschieht aber wahrscheinlich indirekt, indem Benfotiamin die AGE-Konzentration vermindert und so zur reduzierten RAGE-Expression führt. Allerdings gibt es auch Studien, darunter ebenfalls klinische Daten, die zeigen, dass das Thiamin-Provitamin abgelagerte AGEs sowie Serum-/Plasma-AGEs (309,310) nur unzureichend senken konnte. Eine Verringerung des HbA_{1c} zeigte sich unter Benfotiamintherapie weder beim Tier (311) noch beim Menschen (312). Dies mag damit zusammenhängen, dass Benfotiamin nicht die Hyperglykämie reduzieren konnte und somit immer noch genügend Glukose für die Reaktion mit der Aminosäure des Proteins vorhanden ist, woraus sich die Schiffsche Base und anschließend das Amadori-Produkt bilden.

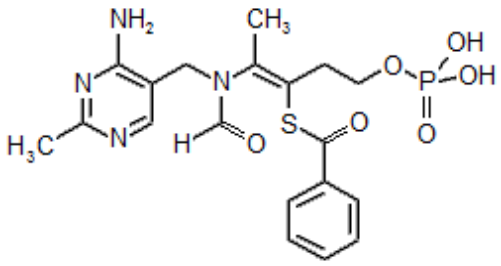

Abbildung 24: Chemsiche Struktur des Benfotiamin

9.2.4.1. Neuronale Wirkungen

Benfotiamin wird bereits wegen seiner möglichen neuroprotektiven Wirkung, je nach Land, als Medikament oder als Nahrungsergänzungsmittel vertrieben. Im deutschsprachigen Raum wird es als mil*gamma*® protekt vermarktet, welches in der Therapie der diabetischen Neuropathie verwendet wird. Zu jener Komplikation gibt es auch eine, im Vergleich zu anderen AGE-Inhibitoren, recht hohe Anzahl an klinischen Daten. Die Ergebnisse einer Benfotiamintherapie waren eine Verbesserung der Nervenleitgeschwindigkeit ($p=0,006$)

(313), der Vibrationsempfindung und des neuropathischen Schmerzes (p<0,01 jeweils) (314). Allerdings war die Probandenanzahl bei diesen zwei Studien gering und die Patienten bekamen zusätzlich ein Vitamin B6 und/oder ein Vitamin B12, was die Interpretation der Daten erschwert. In der BEDIP-Studie (312), welche an Typ 1 und 2 Diabetikern mit einer Polyneuropathie-Dauer von kürzer als zwei Jahren durchgeführt wurde, wurde ebenfalls eine Verbesserung der Neuropathie erreicht (p=0,0287), welche mittels eines bestimmten Neuropathie-Score gemessen wurde. Der Stimmgabeltest gab aber keine signifikante Verbesserung durch Benfotiamin wider. Die BEDIP-Studie enthielt ebenfalls eine geringe Teilnehmeranzahl (n=41) und kurze Studiendauer (3 Wochen). Zudem wurden nur solche Patienten miteinbezogen, die eine kurze Polyneuropathie-Anamnese aufwiesen. Patienten, bei denen die diabetische Polyneuropathie länger als 2 Jahre existierte, wurden ausgeschlossen. Ein ähnliches Outcome erzielte man bei der BENDIP-Studie (315). Der primäre Endpunkt wurde erreicht und der Neuropathy Symptom Score verbessert (p=0,033). 600mg Benfotiamin waren außerdem effektiver als 300mg. Sekundäre Endpunkte, wie der Stimmgabeltest bzw. die Vibrationsempfindung, der Neuropathy Disability Score oder der Total Symptom Score zeigten hingegen keine statistische Signifikanz. Die BENDIP-Studie enthielt 181 diabetische Probanden und schloss Patienten mit einer zusätzlichen Medikamententherapie und anderen Hilfsstoffen gegen neuropathische Beschwerden aus, darunter auch jene die Vitamin B, Vitamin E oder α-Liponsäure einnahmen. Allerdings war die Polyneuropathiedauer von länger als 2 Jahren ebenfalls ein Ausschlusskriterium. In der Studie von Fraser et al. (316) erwiesen sich 300mg Benfotiamin pro Tag über 24 Monate als nicht neuroprotektiv im Vergleich zur Placebogruppe. Außerdem kann man in keiner der genannten Studien zur Polyneuropathie genau sagen, wie effektiv Benfotiamin gegen die AGEs in der diabetischen Neuropathie vorgeht, da dazu keine Parameter gemessen wurden.

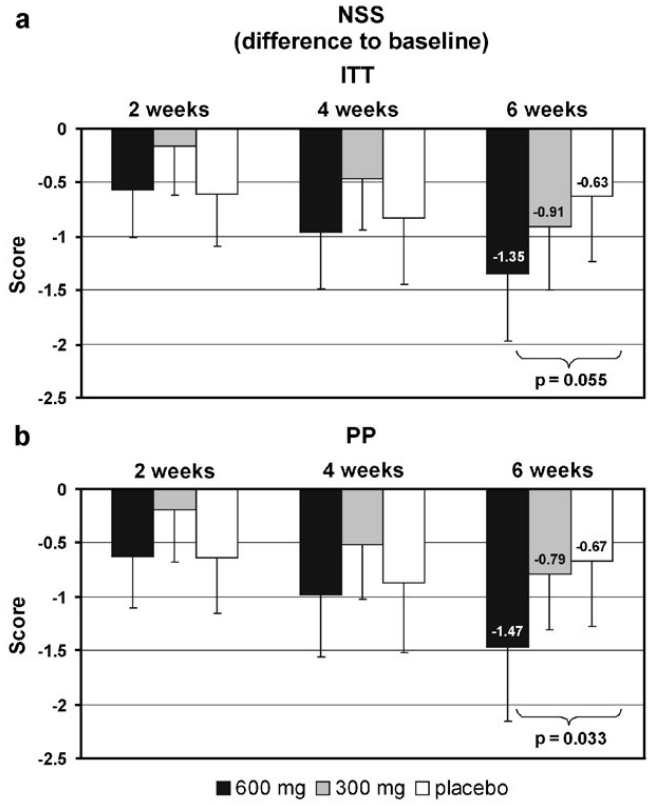

Abbildung 25a & 25b: Durchschnittliche Reduktion des Neuropathy Symptom Score (NSS) durch 600mg bzw. 300mg Benfotiamin sowie durch Placebo.
A) Daten der Intention-to-treat-Population, B) Daten der Per-Protocol-Population

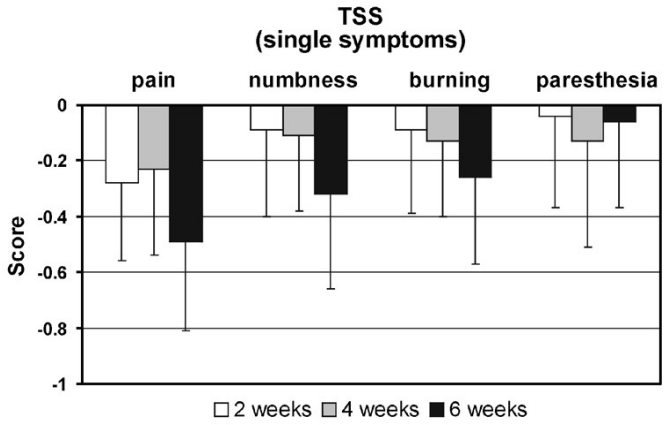

Abbildung 26: Durchschnittliche Reduktion einzelner Symptome (Schmerz, Taubheit, Brennen, Parästhesie) des Total Symptom Score (TSS) in der Intention-to-treat-Population durch 600mg Benfotiamin täglich.
Entnommen aus Stracke et al. (315)

9.2.4.2. Weitere Wirkungen

Zu weiteren diabetischen Komplikationen liegen Ergebnisse bezüglich AGEs vor und Benfotiamin erwies sich durchaus als potenzielles Therapeutikum, zumindest präklinisch. So z.B. auf die diabetische Nephropathie. Diese protektiven Effekte zeigte Benfotiamin durch eine 70-80%-ige Verbesserung der Mikroalbuminurie im Vergleich zur diabetischen unbehandelten Gruppe ($p<0,01$), der Proteinurie und der Hyperfiltration (311). Allerdings konnten diese Ergebnisse am Menschen nicht wiedergegeben werden. Bei Alkhalaf et al. (317) ging die Albuminausscheidung zwar zurück, jedoch ohne Signifikanz. Sekundäre Endpunkte wurden durch Benfotiamin (900mg/Tag) ebenfalls nicht signifikant verbessert, so z.B. der 24-Stunden Albumin-Kreatinin-Quotient. In einer weiteren Studie von Alkhalaf et al. (309) konnte eine Benfotiaminbehandlung (900mg/Tag) zu keiner Reduktion der renalen Ausscheidung von diversen AGEs führen.
Zur diabtetischen Retinopathie existieren Daten ebenfalls nur auf präklinischer Basis. In vitro bewahrte Benfotiamin menschliche retinale Perizyten signifikant vor der Apoptose durch hohe Glukosewerte (318). In vivo verbesserte es die diabetischen Retinopathie, die über den Gehalt an azellulären Kapillarsegmenten gemessen wurde (304). Benfotiamin-behandelte Ratten wiesen dabei ähnliche Werte, wie nicht diabetische Ratten, auf (Anzahl an azellulären Kapillaren pro mm²: 72,50±0,44 diabetische Tiere vs. 29,64±1,29 Benfotiamin vs. 22,67±3 nicht diabetische Tiere). Das Vitamin B1-Prodrug normalisierte zudem den retinalen AGE-Gehalt und die PKC-Aktivität, reduzierte den Gehalt des Uridindiphosphat-N-Acetylglucosamin, ein Marker für die Aktivität des Hexosamin-Weges, und den des NF- κB.
Eine weitere okluäre Komplikation, in der Benfotiamin möglicherweise günstige Effekte erzielen könnte, wäre der Katarakt. Studien dazu fehlen bislang, aber da Benfotiamin die Aktivierung des Polyol-Weges, der in der Katarktgenese eine Rolle spielt, regulieren und die Sorbitmenge dadurch reduzieren kann (305), wäre dies ein möglicher Ansatz für zukünftige Forschung.
Kardiovaskulär zeigte Benfotiamin in vitro, dass es Endothelzellen vor den Auswirkungen der AGEs bewahren kann, indem es die hyperglykäme AGE-Bildung verminderte ($p=0,03$) (319). In vivo an gesunden Rauchern verbesserte eine Vorbehandlung an Benfotiamin ebenfalls die endotheliale Dysfunktion ($p<0,05$), welche mittels der flow-mediated Vasodilatation und dem s-VCAM gemessen wurde (320). Bei Typ 2 Diabetikern allerdings blieb ein Effekt auf die flow-mediated Vasodilatation (321) sowie auf Plasma-Marker der Endotheldysfunktion, wie s-VCAM, s-ICAM und s-E-Selectin aber aus (309). Man muss anmerken, dass diese klinischen Studien allesamt eine kleine Teilnehmerzahl und kurze Dauer (<12 Wochen) aufwiesen. Zudem ist die flow-mediated Vasodilatation ein mit einigen Messfehlern behafteter Parameter und kann aufgrund von physiologischen und technischen Faktoren

variieren (322). Daher sind weitere Studien zur Untersuchung des Einflusses von Benfotiamin auf die Gefäßfunktion notwendig. Die diabetische Kardiomyopathie verbesserte Benfotiamin ebenfalls, jedoch nicht am Menschen sondern an STZ-Ratten, indem es diverse pathologische und biochemische Veränderungen der Kardiomyozyten aufgrund des Diabetes mellitus abschwächte (323). Es schien jedoch dabei keinen AGE-senkenden Effekt, sondern eher einen reduzierenden Effekt auf den oxidativen Stress zu besitzen.

9.2.5. Weitere AGE-Inhibitoren

Jene vier oben genannten AGE-Inhibitoren sind von allen Wirkstoffen dieser Substanzklasse die bekanntesten, weshalb es nicht verwunderlich ist, dass zu Aminoguanidin, Carnosin, Pyridoxamin und Benfotiamin recht viele Daten vorliegen. Es gibt allerdings noch weitere AGE-Inhibitoren, die keinesfalls ungenannt werden lassen sollen, auch wenn jene nachfolgende Wirskstoffe zu den „Großen Vier“ eher unbekannt sind.

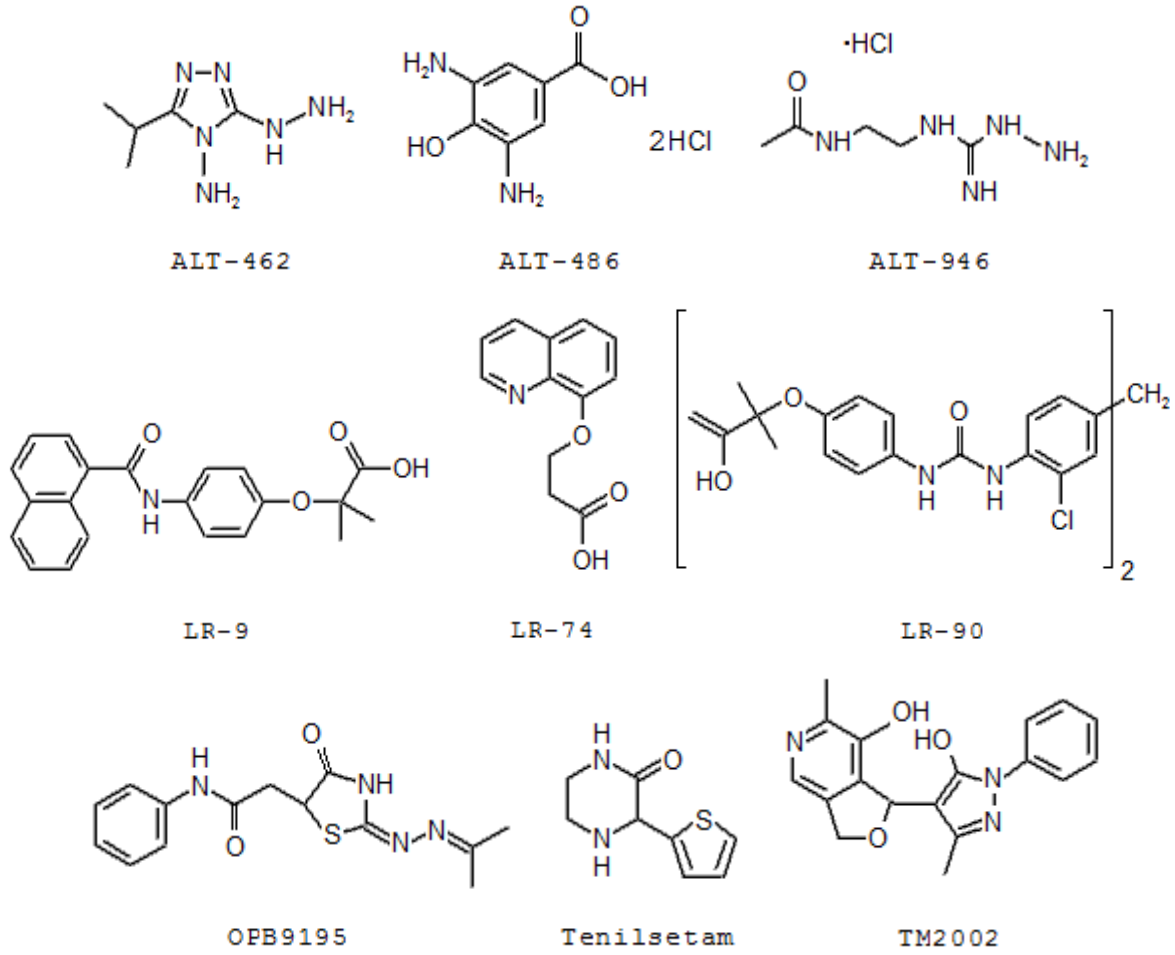

Abbildung 27: Chemische Strukturformeln weiterer AGE-Inhibitoren

9.2.5.1. ALT-462, ALT-486, ALT-946

Alle drei Wirkstoffe wurden, wie das Alagebrium, von der Alteon Corp. entwickelt. ALT-462 und ALT-486 vor dem Alagebrium, ALT-946 danach (324). Alle drei Substanzen unterscheiden sich vom Alagebrium zum einen dadurch, dass sie zu den AGE-Inhibitoren zählen, zum anderen dadurch, und soviel sei vorweg genommen, dass keine Studien am Menschen bisher vorliegen.

Zum ALT-462 (4-Amino-3-Hydrazino-5-Isopropyl 4H-1,2,4-Triazol) und zum ALT-486 (3,5-Diamino-4-Hydroxybenzoesäure Dihydrochlorid) lässt sich sagen, dass jene bessere AGE-Inhibitoren sein sollen als der Prototyp Aminoguanidin. Das ALT-462 soll fünffach, das ALT-486 20-fach effektiver AGE-Vernetzungen inhibieren (325). Wie diese Blockierung

genau funktionieren soll, ist unklar. Von den Autoren wird aber vermutet, dass sie wahrscheinlich nicht als Carbonyl-Scavenger agieren. In einer Studie wurde gezeigt, dass beide Wirksubstanzen die Löslichkeit des Kollagens von diabetischen Rattenschwanzsehnen erhöhen konnten. Somit sind beide in der Lage die AGE-Vernetzung mit Kollagen zu hemmen, zumindest bei Ratten. Wie das ALT-462 oder ALT-486 auf Menschen wirkt oder welche anderen Effekte die beiden AGE-Inhibitoren auf diabetische Folgeerkrankungen haben könnten, bleibt ungewiss. Neben jener Studie, gibt es lediglich eine in vitro-Studie zu den beiden Substanzen, die ebenfalls nur zeigte, dass ALT-462 und ALT-486 potentere AGE-Inhibitoren sind als das Aminoguanidin (326). Was dies für den diabetischen Organismus bedeuten könnte, ist immer noch unbekannt. Da beide die Kollagenvernetzung hemmen können, könnten beide Wirkstoffe möglicherweise die Gefäßelastizität verbessern. Doch fehlen dazu bisher Studien, die diese Vermutung stützen oder widerlegen.
Zum dritten AGE-Inhibitor, dem ALT-946 (N-(2-Acetamidoethyl)-Hydrozincarboximidamid Hydrochlorid), gibt es mehr Daten bezüglich seiner Wirkung, obwohl man den genauen Wirkmechanismus auch hier nicht weiß. Neben seiner blockierenden Wirkung auf die AGE-Vernetzungen, besitzt es auch eine schwache NO-Synthase-Hemmung, die jedoch geringer ist als die des Aminoguanidin (327). Dafür war die AGE-inhibierende Wirkung stärker als die des Aminoguanidin, sowohl in vitro als auch bei diabetischen Ratten. Während bei STZ-diabetischen Ratten nur 0,03mg/kg des ALT-946 ausreichten um die IgG-Vernetzung an die Erythrozytenzellmembran auf Normalwerte zu senken, schaffte Aminoguanidin dies erst bei einer Dosis von 10mg/kg. Obwohl es somit effektiver sein sollte, schaffte das ALT-946 nicht signifikant besser zu sein als das Aminoguanidin bei der diabetischen Nephropathie. Die GFR war bei beiden behandelten Gruppen signifikant niedriger als in der unbehandelten diabetischen Gruppe, differiert aber nur unwesentlich zwischen Aminoguanidin und ALT-946 (3,6±0,2ml/min für Aminoguanidin vs. 3,4±0,3ml/min für ALT-946). Ähnliches zeigte sich für die Albuminurie, die bei beiden therapierten Gruppen nach 32-wöchiger Behandlung niedrigere Werte aufwies ($p<0,05$). Die renale Veränderung ging auch bei beiden Gruppen mit einer niedrigeren glomerulären AGE-Ablagerung einher ($p<0,01$). Obwohl ALT-946 bereits in niedriger Dosis effektiv AGE-Vernetzungen blockieren kann, wies es bei gleicher Dosierung wie das Aminoguanidin, nämlich 1g/l Trinkwasser, die gleichen Effekte auf. Wilkinson-Berka et al. (237) wiesen hingegen Unterschiede zwischen Aminoguanidin und ALT-946 nach. Die Albuminurie nahm bei den Ren-2-Ratten lediglich durch das ALT-946 ab ($p<0,01$, verglichen zum Aminoguanidin). Die GFR blieb durch beide Wirkstoffe bei jenen Ratten unverändert. Es wurden auch morphologische Wirkungen zum ALT-946 beschrieben. Im Vergleich zu unbehandelten Ratten wiesen die ALT-946-therapierten Tiere verbesserte glomeruläre, tubuläre und medulläre Histologien auf. Der systolische Blutdruck blieb in beiden Studien durch das ALT-946 unverändert, das HbA_{1c} und der Blutzucker bei Forbes et al. (327) ebenfalls. In beiden Studien hatte ALT-946 somit nierenprotektive Effekte, allerdings waren die Ergebnisse unterschiedlich. In der einen kam es zur GFR-Verbesserung, in der anderen nicht, aber in beiden wurde die Albuminurie verbessert.

9.2.5.2. OPB-9195

OPB-9195 (2-Isopropylidenehydrazono-4-oxo-Thiazolidin-5-yl-Acetanilid) wurde als Insulin-Sensitizer von Otsuka Pharmaceuticals entwickelt. Es zählt zu den Insulin-Sensitizer, einer Wirkstoffgruppe, die bereits zur Behandlung des Diabetes mellitus verwendet wird und besitzt ein glykationshemmende Wirkung. Zwar ist der genaue Wirkmechanismus auf die AGEs nicht eindeutig geklärt, es wird aber vermutet, dass es mit Dicarbonylen reagiert, sie dadurch unschädlich macht und somit die Bildung von AGEs, wie CML, Pentosidin und 4-HNE verhindert (328). Neben seiner Carbonyl-Scavenger-Eigenschaft wurden für die Substanz auch Chelat-Eigenschaften nachgewiesen (223). Dass OPB-9195 RAGE oder

sRAGE in irgendeiner Art beeinflusst, wie es manch bekanntere Insulin-Sensitizer machen, ist bisher nicht gefunden worden.
Als einer der ersten zeigten Nakamura et al. (329), dass OPB-9195 hemmende Effekte auf die AGE-Akkumulation aufwies. Dabei konnte die diabetische Nephropathie in ihrer Progression verlangsamt werden, was mit einer signifikant reduzierten Albuminurie und einer Reduktion der sklerotischen Glomeruli einherging. Und das obwohl jene Ratten eine persistierende Hyperglykämie in der 56-wöchigen Zeit aufwiesen. Diese Erkenntnis wurde von den Autoren insofern als klinisch relevant beschrieben, da einige diabetische Patienten einen schlecht eingestellten Blutzucker und einen hyperglykämen Metabolismus aufweisen. Zudem scheint das OPB-9195 den Blutzucker nicht zu senken, obwohl es zu den Insulin-Sensitizer gehört. In einem gleichen Tiermodell hatte OPB-9195 ähnliche renoprotektive Effekte und schützte vor den sklerotischen Läsionen indem es die CML-Ablagerungen reduzierte. Auch das Mesangiumvolumen blieb unter dem OPB-9195 konstant (330). Der Wirkstoff führte zudem zu einer Suppression diverser Wachstumsfaktoren, darunter des VEGF, Kollagen Typ IV und TGF-β (331). Dadurch könnte es der extrazellulären Bindegewebsablagerung und die Glomerulosklerose vorbeugen.
Außer auf die diabetische Nephropathie zeigte das OPB-9195 auch präventive Effekte auf die Gefäße und auf die diabetische Neuropathie. An der experimentalen Gefäßverdickung, die mittels traumatischer Gefäßverletzung verursacht wurde, reduzierte jener Insulin-Sensitizer die intimale Gefäßverdickung ($p<0,05$) (332). Bezüglich der Neuropathie wiesen die peripheren Nerven von mit OPB-9195-behandelten diabetischen Ratten eine signifikante Verbesserung der Nervenleitgeschwindigkeit sowie auch geringere morphologische Veränderungen auf. Die morphologischen Veränderungen, wie paranodale Demyelination oder Wallersche Degenerationen, waren aber nicht signifikant (333).

9.2.5.3. LR-9, LR-74, LR-90

All diese Wirkstoffe sind aromatische Verbindungen und relativ neue AGE-Inhibitoren. Neben dem LR-9 (4-(2-Naphtylcarboxamido)-Phenoxyisobuttersäure), dem LR-74 (2-(8-quinolinoxy)-Propionsäure) und dem LR-90 (Methylene-bis-[4,4′-(2-Chlorphenylureido)-Phenoxyisobuttersäure]) gibt es noch weitere Substanzen mit dem Kürzel „LR-“, so z.B. das LR-33 oder LR-102. Jene Wirkstoffgruppe mit dem Kürzel „LR-“ besitzt aber nicht nur AGE-inhibierende Wirkung, sondern manche von ihnen, wie z.B. das LR-20 oder LR-99, sogar eine zusätzliche AGE-Cross-link Breaker-Eigenschaft (334). Es gibt zwar eine Reihe von diesen „LR-“-Wirkstoffen, aber nur zu ein paar wenigen auch präklinische in vivo Studien. Daher werden nachfolgend auch nur LR-9, LR-74 und LR-90 beschrieben.
Diese drei Wirkstoffe besitzen ein glykationshemmendes Potenzial, welches in vitro stärker und effektiver war als das des Aminoguanidin bzw. des Pyridoxamin, und die AGE-Inhibition soll vorwiegend über die Blockierung der post-Amadori-Vorgänge geschehen (334). Dieses Potenzial wirkte sich für alle drei Wirkstoffe auch günstig auf den Verlauf der diabetischen Nephropathie und Dyslipidämie aus. LR-90 erwies sich dabei sowohl im Diabetes mellitus Typ 1-Tiermodell an STZ-induzierten diabetischen Ratten als auch am Diabetes mellitus Typ 2-Tiermodell an diabetischen Zucker-Ratten effektiv. Bei den STZ-induzierten diabetischen Ratten sank das erhöhte Serumkreatinin um 40%, während der Albumin/Kreatinin-Quotient ebenfalls einen signifikant niedrigeren Wert in der behandelten Gruppe zur diabetischen unbehandelten Gruppe aufwies ($p<0,05$). Morphologische Veränderungen wurden durch das LR-90 genauso reduziert wie die renalen AGE-Ablagerungen und der AGE-Gehalt im Serum und LR-90 zeigte zudem eine stärkere Metall-Chelator-Eigenschaft als Aminoguanidin und Pyridoxamin. Letzteres würde zur stärkeren AGE-Inhibition passen, ebenso die Erkenntnis, dass der Blutzucker und das glykierte Hämoglobin keine Abnahme zeigten (335). Auch bei den Zucker-Ratten konnte es die Albuminurie ($p<0,05$) und Proteinurie ($p<0,01$) reduzieren und die morphologischen Veränderungen, wie die sklerotisch-veränderte Glomeruli oder die

Kollagenablagerung, in den Nieren verringern. Profibrotische Proteine wurden ebenfalls unter der LR-90-Therapie signifikant weniger produziert. Zudem wies das LR-90 antiinflammatorische Effekte auf, denn es konnte die MAP-K und das NF-κB signifikant reduzieren. All diese Effekte erwiesen sich somit präventiv auf die diabetische Nephroathie, und LR-90 zeigte zusätzlich lipidsenkende Wirkungen, indem es die Hypertriglyzeridämie ($p<0,05$) und Hypercholesterinämie senken konnte ($p<0,05$) (336).

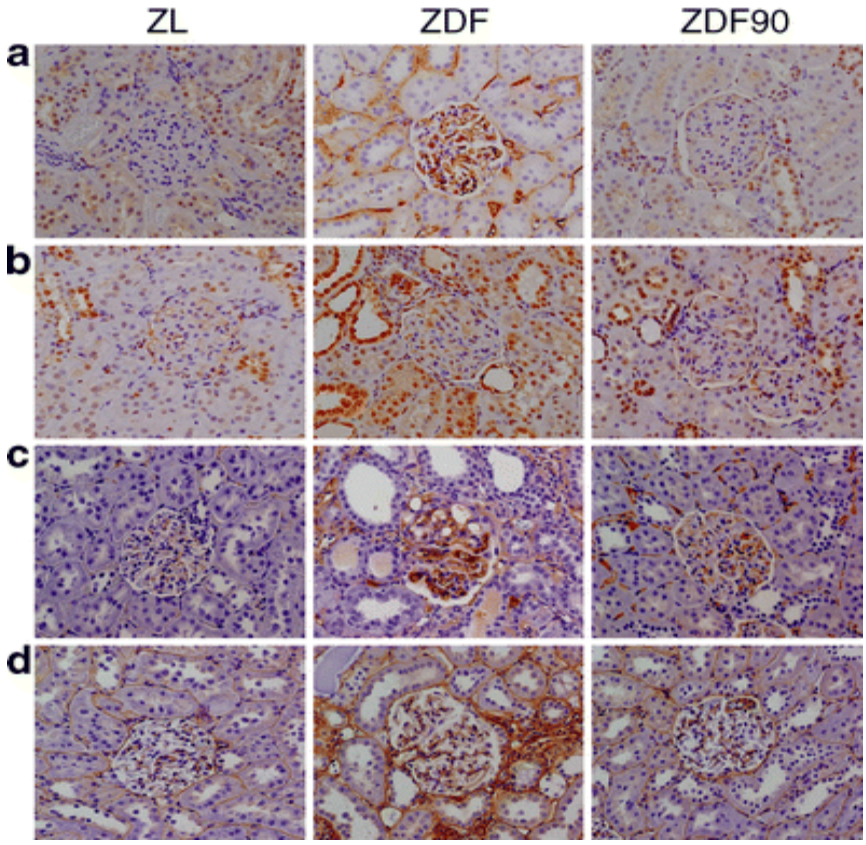

Abbildung 28: Immunhistochemische Markierungen für diverse Gewebsproteine bei Zucker lean-Ratten (ZL), unbehandelten diabtetischen Zucker-Ratten (ZDF) und mit LR-90 behandelten (50mg/l Trinkwasser) diabetischen Zucker-Ratten (ZDF90)
A) TGF-β1, B) CTGF, C) Fibronectin, D) Kollagen Typ IV. Entnommen aus Figarola et al. (336)

LR-9 und LR-74 erwiesen sich bei Figarola et al. (337) ebenfalls als mögliche therapeutische Kandidaten der Nephropathie und der Dyslipidämie im Rahmen des Diabetes mellitus. Beide Substanzen erniedrigten das Serumkreatinin (3,13±0,38mg/dl diabetische unbehandelte Ratten vs. 1,79±0,39mg/dl LR-9 behandelte Ratten vs. 1,64±0,44mg/dl LR-74 behandelte Ratten) und die Albuminausscheidung (32,8±3,6mg/24h diabetische unbehandelte Ratten vs. 18,0±3,7mg/24h LR-9 behandelte Ratten vs. 14,3±3,7mg/24h LR-74 behandelte Ratten) signifikant. LR-9 und LR-74 führten daneben auch zu einer verringerten renalen AGE-Akkumulation sowie zu einer signifikanten Senkung der erhöhten Plasmawerte für Triglyzeride und Cholesterin. LR-74 erzielte auch hierbei niedrigere Werte als das LR-9. Wie viele andere AGE-Inhibitoren beeinflussten auch diese zwei Substanzen weder den Blutzucker noch das HbA_{1c}.
Weitere therapeutische Ansätze zum LR-9 oder LR-74 gibt es bislang nicht, dafür aber gibt es weitere präklinische Studien zum LR-90. So verhinderte es dosisabhängig die Apoptose in humanen Endothelzellen ($p<0,05$) und blockierte diverse AGE-assoziierte intrazelluläre Vorgänge, wie ROS-Bildung oder die MAP-K-Aktivierung (338). Protektive Effekte auf die Gefäße hatte es auch in vivo, sodass es hierbei zur einer Erhöhung der Aortencompliance um 17% ($p<0,05$) führte und den peripheren Widerstand wieder zu senken vermochte ($p<0,05$). Hämodynamische Parameter, wie die Herzfrequenz oder das Schlagvolumen wurden ebenso

signifikant verbessert, aber der Blutdruck blieb durch die Behandlung unverändert. Die Effekte auf die Gefäße gingen mit einer Reduzierung des AGE- und des Kollagengehalts in der Tunica media einher und mit einer Downregulation des RAGE um 60% ($p<0,01$) (339). Zusätzlich zu seinen renalen und kardiovaskulären Wirkungen konnte das LR-90 auch die Entwicklung der diabetischen Retinopathie am Tiermodell abschwächen. Es verminderte die Anzahl der azellulären Kapillaren signifikant und schütze vor dem Perizytenverlust ($p<0,001$) (340).

9.2.5.4. Tenilsetam

Dieser Wirkstoff, 3-(2-Thienyl)-2-Piperazin-2-on, wird zu den Nootropika gezählt und weist antidementive Eigenschaften auf. Tenilsetam wird zwar zu den neuroprotektiven Medikamenten gezählt, weil es aber als AGE-Inhibitor agiert und es neben dem Mb. Alzheimer auch bei weiteren diabetischen Komplikationen günstige Wirkungen in Tiermodellen aufwies, sollte es dennoch kurz erwähnt werden. Da Tenilsetam als Antidementivum gilt, wurden damit vorwiegend neuropsychiatrische Studien durchgeführt, die insbesondere die Alzheimer-Krankheit mit einschließen. Tenilsetam scheint zu wirken, indem es kovalent an die reaktiven Carbonylreste bindet, sodass die Vernetzung zu größeren AGEs bzw. mit Extrazelluärproteinen verhindert wird. Man kann es somit zu den Carbonyl-Scavanger zählen, der keine zusätzlichen antioxidativen Eigenschaften hat oder als Radikal-Scavenger fungiert (341). Aufgrund dieses Wirkmechanismus ist das Tenilsetam in der Lage die Entstehung des β-Amyloids in seine polymere Form signifikant zu verhindern und so die neurotoxische Wirkung des β-Amyloids aufzuheben (285). Deshalb wird es vornehmlich als Therapeutikum für den Mb. Alzheimer in Erwägung gezogen. Bei Webster et al. (342) konnte Tenilsetam auch die neurotoxischen Effekte, in diesem Fall die des MGs, signifikant reduzieren. Bereits 1989 wurden mit Tenilsetam Studien am Menschen durchgeführt, um die Wirkung auf den demenziellen Verlauf zu beobachten. Kognititve Fähigkeiten, die Reaktionszeit und das Gedächtnis verbesserten sich innerhalb von drei Monaten durch das Tenilsetam (150mg/Tag) langsam, aber signifikant (343). Eine Tenilsetamtherapie führte auch zur Verbesserungen der Psychomotorik, Wahrnehmung und Aufmerksamkeit und ging mit vergrößerten N2-P300- sowie N1-P2-Amplituden im EEG einher. Das Spontan-EEG blieb durch das Tenilsetam hingegen unverändert, ebenso zeigten sich keine psychologischen Veränderungen, Veränderungen auf das autonome Nervensystem der Probanden und die Reaktionszeit wurde bei jenen nicht verbessert (344). Insgesamt betrachtet waren die Ergebnisse dazu jedoch zu wenig aussagekräftig, auch war die Probandenanzahl zu klein. Zudem gibt es keine Studien zur Verträglichkeit oder gar zu den Langzeiteffekten des Tenilsetam.

Die Anzahl an Untersuchungen zum Tenilsetam auf andere AGE-assoziierte Erkrankungen, v.a. zu den diabetischen Komplikationen, ist wesentlich geringer. Nichtsdestotrotz wurden welche durchgeführt. Die Kataraktgenese konnte durch Tenilsetam reduziert werden. 5 von 8 unbehandelten diabetischen Ratten wiesen Zeichen einer Linsentrübung auf, wohingegen nur 1 von 9 mit Tenilsetam-behandelte Ratten einen Grauen Star entwickelte. In Aorta und Nierenrinde abgelagerte AGEs zeigten bei den behandelten Ratten durch Tenilsetam eine signifikante Abnahme. Blutzuckerspiegel oder HbA_{1c}-Wert blieben hingegen unbeeinflusst (345). Gleiche Ergebnisse zu den metabolischen Parametern zeigten sich auch bei Hoffmann et al. (346). Dafür konnte Tenilsetam aber an diabetischen Ratten die im Vergleich zur Kontrollgruppe 3,7-fache Vermehrung an retinalen azellulären und verschlossenen Kapillaren um 70% senken ($p<0,001$). Diese Verhinderung der Endothelzellproliferation wurde aber nur für niedrige Tenilsetam-Dosen erreicht, in hoher Dosis führte der AGE-Inhibitor zur Apoptose. Die VEGF-Expression stieg zudem unter dem Tenilsetam um das Doppelte an und der retinale Perizytenverlust konnte nicht signifikant verhindert werden.

9.2.5.5. TM2002

TM2002 (1-(5-Hydroxy-3-Methyl-1-Phenyl-1H-Pyrazol-4-yl)-6-Methyl-1,3-Dihydro-Furo-[3,4-c]-Pyridine-7-ol) kann über eine Reaktion zwischen Pyridoxal und Edaravone synthetisiert werden und ist ein Edaravone-Derivat (347). Es erwies sich als potenter AGE-Inhibitor, der kein Carbonyl-Scavenger ist, sondern eher über seine Metall-Chelat-Eigenschaft wirkt. Dadurch reduziert es den oxidativen Stress und die AGE-Bildung. TM2002 hemmte die Pentosidin- (IC50<0,5mM) und CML-Bildung (IC50 1,41mM) stärker als Aminoguanidin (IC50 9,84mM Pentosidin, IC50 1,76mM CML) oder Pyridoxamin (IC50 5,27mM Pentosidin, IC50 5,09mM CML) und konnte MG signifikant reduzieren, nicht aber Glyoxal und 3-DG. Die Autoren nahmen an, dass TM2002 über einen vergleichbaren Mechanismus verfügt wie AT_1-Antagonisten, denn AT_1-Antagonisten bewirken ihre glykationshemmende Wirkung ebenfalls über Chelateigenschaften (348). Bei Izuhara et al. (347) zeigte es signifikant verbesserte renale histologische Veränderungen und Werte des Blood urea nitrogen sowie eine Abnahme Intimadicke und der Angiotensin II-vermittelten kardialen Fibrose, wobei letztere nur durch die 400mg/kg/Tag Signifikanz erreichte. Bei Guo et al. (349) verbesserte TM2002 die Methylgloxal-induzierte Insulinresistenz an Sprague Dawley-Ratten.
Klinische Studien zum TM2002 fehlen bislang, ebenso wie präklinische Studien bei Diabetes mellitus Typ 1 oder 2.

9.3. RAGE-Antagonisten/RAGE-Blocker

RAGE-Antagonisten sind eine ziemlich neue und unbekannte Wirkstoffgruppe, welche in den letzten Jahren zunehmend wissenschaftliches Interesse erlangte, was sehr wahrscheinlich auf die neuen Forschungserkenntnisse bezüglich des RAGE zurückzuführen ist. Die bisher bekanntesten Vertreter dieser Wirkstoffgruppe sind der sRAGE und die RAGE-Inhibitoren. Daneben gibt es auch RAGE-Antikörper. Alle drei sollen die Wege und Auswirkungen, welche durch RAGE vermittelt werden, blockieren. Dies geschieht aber nicht auf den gleichen Wirkmechanismus.

9.3.1. sRAGE

Beim sRAGE handelt es sich um eine posttranskriptionelle Modifikation des RAGE, welcher auch gentechnologisch mittels Baculoviren hergestellt werden kann. Wie zuvor bereits erwähnt, gibt es bereits Überlegungen sRAGE auch als möglichen Diagnostikparameter zu verwenden. Zwar wird sRAGE, momentan, zu den RAGE-Antagonisten gerechnet, aber sein Wirkmechanismus entspricht nicht dem eines „typische“ Rezeptorantagonisten, wie z.B. eines AT_1-Antagonisten. sRAGE besteht nur aus den drei extrazellulären Dömanen des RAGE und besitzt die Möglichkeit die Liganden des RAGE, darunter AGEs, zu binden ohne aber die Signaltransduktion in Gang zu setzen (37). Somit blockiert es RAGE für seine aktivierenden Bindungspartner.
Insbesondere zu den vaskulären Komplikationen gibt es bereits erste Daten. sRAGE war in der Lage bei STZ-Ratten die Hyperpermeablität an Gefäßen, darunter der Niere, des Darmes und des Gehirns zu reduzieren ($p<0,05$) (350). Bei diabetischen Apo E (-/-)-Mäusen wirkte es zudem antiatherosklerotisch indem es die Plaquegröße verkleinerte und die Plaqueanzahl reduzierte. Dies hing von der Dosis des applizierten sRAGE ab. Nicht nur makrologisch nahmen die atherosklerotischen Läsionen ab, auch mikrologisch wiesen die Plaques eine Abnahme der Phagozyten und der glatten Muskelzellen auf. Auch bei nicht diabetischen Apo E (-/-)-Mäusen verkleinerte sRAGE die Plaquegröße dosisabhängig signifikant. Eine Veränderung des HbA_{1c} oder der Blutfette wurde nicht beobachtet (351). Ähnliche Ergebnisse zeigten Bucciarelli et al. (352). Die Plaquefläche nahm um mehr als das Vierfache ab (59071±6645 sRAGE vs. 250870±13056μm^2 diabetische unbehandelte Ratten, $p<0,00001$). Auch nahm der Schweregrad der formierten Plaques signifikant ab sowie die mikrologischen

Veränderungen. Zusätzlich wurden durch die sRAGE-Gabe Werte des VCAM-1 halbiert, die des MCP-1 auf ein Drittel, die Werte des Tissue Factors auf ein Fünftel gesenkt. Bei nicht diabetischen Ratten führte das sRAGE, im Vergleich zu den Ergebnissen von Park et al., hingegen zu einer signifikanten Reduktion der Plaquegröße (p=0,03). Eine weitere vaskuläre Auswirkung des sRAGE war die effektive Verhinderung einer Neointimabildung (353).

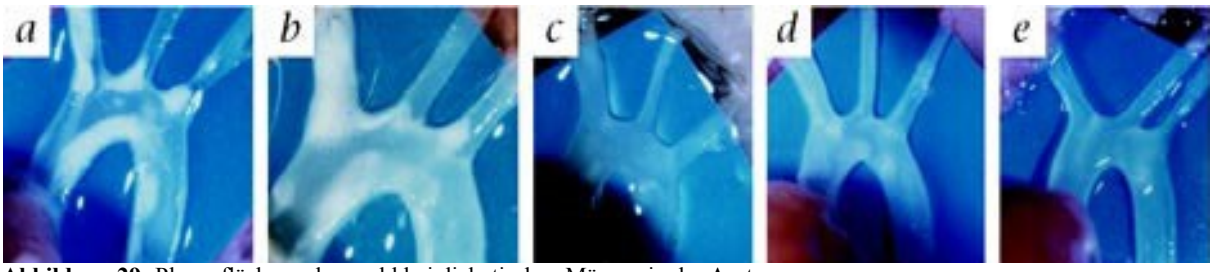

Abbildung 29: Plaquefläche und -anzahl bei diabetischen Mäusen in der Aorta.
A) Diabetische Mäuse, welche mit 80µg Maus-Albumin, B) welche mit 3µg sRAGE, C) welche mit 20µg sRAGE, D) welche mit 40µg täglich behandelt wurden. E) Nicht diabetische Mäuse, die mit 40µg Mausalbumin behandelt wurden. Entnommen aus Park et al. (351)

Außer kardiovaskulären Studien gibt es Untersuchungen zu den Auswirkungen des sRAGE auf die diabetische Nephropathie, den Mb. Alzheimer und der Wundheilung. Während sRAGE als Therapeutikum sich bei der Alzheimer-Demenz noch in der Anfangsphase befindet, liegen zu den renalen diabetischen Veränderungen zumindest Daten an Tieren vor. Es reduzierte die Albuminurie und erhöhte die Kreatininclearance signifikant. Zudem wurden auch proinflammatorische Proteine durch sRAGE vermindert, wie das TGF-β1 ($p<0,01$), genauso wie histopathologische Veränderungen, wie die Glomerulushypertrophie ($p<0,0001$) oder die Verbreiterung der glomerulären Basalmembran ($p<0,05$). Auch wiesen sRAGE-behandelte Mäuse eine Abnahme der Hyperglykämie auf, welche aber nicht groß genug war, um von einer signifikanten Senkung zu sprechen (354). In Bezug auf die Wundheilung erzielte die sRAGE-Gabe einen signifikant beschleunigten Wundverschluss. Nach 2 Wochen war die Wunde zu 47,9±3,6% verheilt, während diabetische Mäuse ohne sRAGE einen Wundverschluss von 34,8±1,9% aufwiesen. Nach 5 Wochen war die Wunde bei den Albumin-behandelten Mäusen immer noch nicht verheilt, die der sRAGE-therapierten Tiere hingegen schon. Auch die Wundqualität wurde durch sRAGE verbessert und jene behandelten Tiere wiesen mehr Granulationsgewebe auf (355).

9.3.2. RAGE-Inhibitoren

Die Firma TransTech Pharma, LLC. hat zwei Substanzen entwickelt, wovon beide die präklinische Phase absolviert haben. Diese zwei Wirksubstanzen sind zum einen das TTP488, das mittlerweile auch unter dem Namen PF-04494700 bekannt ist, und das TTP4000. TTP488 blockiert die Bindung der Liganden am RAGE, TTP4000 hingegen bindet an die RAGE-Liganden, welche somit nicht mehr am Rezeptor binden können. Der Wirkmechanismus des TTP4000 lässt sich durch seinen chemischen Aufbau erklären. TTP4000 ist nämlich eine Kombination aus einem Immunglobuin G und der Bindungsdomäne des RAGE. Im Vergleich zum TTP488 ist das TTP4000 auch ein wesentlich größeres Molekül (356). Es gibt auch weitere Wirksubstanzen, die als mögliche RAGE-Antagonisten in Betracht gezogen wurden. Darunter befinden sich Derivate des Thiazol (357) und des 2-Aminopyrimidin (358). Für ein Peptid mit RAGE-antagonistischen Eigenschaften (Elkvlmekel) wurde präklinisch gezeigt, dass es die Karzinogenese des duktalen Pankreasadenokarzinoms in vitro hemmen kann. RAGE schien die Karzinogenese hierbei über die Bindung seiner weiteren Liganden S100P und HMGB-1 zu verstärken. An Mäusen konnte jenes Peptid auch das Gliomwachstum und die Metastasierung signifikant hemmen (359).

9.3.2.1. TTP488/PF-04494700

Zu diesem RAGE-Antagonist liegen bereits klinische Daten vor. Es gilt primär als Antidementivum in der Behandlung des Mb. Alzheimer, welches p.o. zugeführt werden kann. In ersten klinischen Studien erwies sich das TPP488 als durchaus mögliches Therapeutikum gegen Alzheimer. Verglichen zur Placebogruppe traten schwerwiegende Nebenwirkungen nicht gehäuft auf. Jene die auftraten, wurden von den Untersuchern wiederum nicht dem Wirkstoff zugeschrieben. Bei der Hochdosistherapie wurde am häufigsten eine Nasopharyngitis beobachtet, bei der Niedrigdosistherpie Stürze. Eine Verbesserung der kognitiven Funktion, welche mittels Evaluierungstest, wie dem Mini Mental Status Test und Clinical Dementia Rating, gemessen wurde, wurde allerdings nicht beobachtet (360). In der Studie von Galasko et al. (361) ging die Hochdosistherapie (60mg für 6 Tage gefolgt von 20mg täglich) allerdings mit einer gehäuften Anzahl an Stürzen, Verwirrung und einer Verschlechterung des Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale einher, sodass die Hochdosistherapie nach 6 Monaten beendet werden musste. Die Gruppe mit der Niedrigdosistherapie (15mg in den ersten 6 Tagen gefolgt von 5mg täglich) überdauerte zwar die angesetzten 18 Monate, da keine Sicherheitsbedenken geäußert wurden. Allerdings war die Teststärke schlussendlich zu gering und die Drop-out-Rate zu hoch. Eine Post-Futility-Analyse zeigte, dass die Niedrigdosistherapie mit TTP488 die kognitive Funktion der Probanden verbessern konnte, welche man aber aufgrund der geringen Teststärke nicht verwerten kann. Zudem scheint die Evaluierung der kognitiven Funktion mittels dem Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale mit einigen falschen Resultaten behaftet zu sein, sodass ein anderer Test besser zur Evaluierung geeignet wäre (362). Burstein et al. (363) untersuchten jene Ergebnisse der Niedrigdosistherapie genauer und kamen zum Schluss, dass der Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale, verglichen zur Placebogruppe, eine signifikante Verbesserung erzielte (p=0,024 für die Gruppe mit milder kognitiver Beeinträchtigung). Der Clinical Dementia Rating-Score erreichte für die Gruppe knapp nicht die Signifikanz (p=0,053) und auch für alle anderen Parameter wurden keine signifikanten Veränderungen beobachtet.

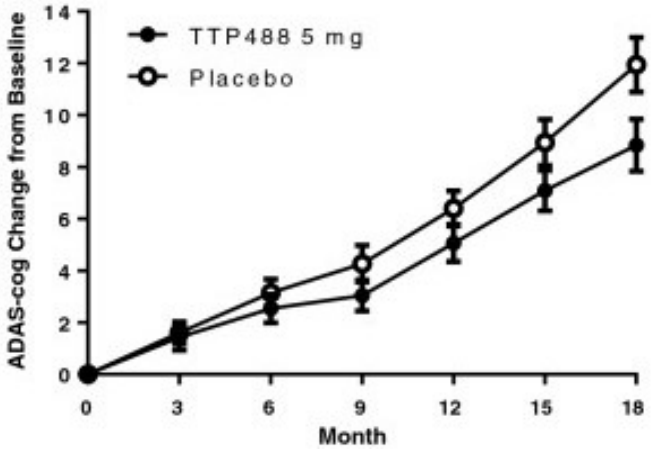

Abbildung 30: Post-Futility-Analyse der Durchschnittsveränderung des Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive subscale (ADAS-cog) vom Anfang über die 18-monatige Studiendauer durch TTP488 (unter Einbezug aller Daten). Behandlung-Placebo-Unterschied nach 18 Monaten = 3,1, p<0,008. Entnommen aus Burstein et al. (363)

9.3.2.2. TTP4000

Auch für das TTP4000 gibt es Versuche es als mögliches Medikament gegen Alzheimer auf den Markt zu bringen. In Tierversuchen zeigte es bereits, dass es die β-Amyloid-Anzahl signifikant verringern konnte, ebenso führte es zu einer Reduktion der senilen Plaques und der erhöhten Zytokine (364). Behandelte Mäuse zeigten beim Morris-Wasserlabyrinth auch ein besseres Testergebnis. In einer anderen Studie wurden die Retinopathie sowie die Allodynie verbessert. Hierzu wurde von Li et al. (365) auch ein fusioniertes Molekül aus Immunglobulin

G und der RAGE-Bindungsdomäne verwendet. Zwar wurde nicht ausdrücklich das TTP4000 in jener Studie genannt, aufgrund der Ähnlichkeit der chemischen Struktur jenes verwendeten Wirkstoffes, handelt es sich zumindest um ein TTP4000-ähnliches Molekül, wenn nicht sogar um das TTP4000. Derzeit befindet sich das TTP4000 in einer doppelblinden, randomisierten und placebokontrollierten Phase I-Studie. Hierbei werden die pharmakokinetischen Eigenschaften und die Verträglichkeit an Alzheimer-Patienten mit leichter kognitiver Einschränkung geprüft (366).

9.3.3. RAGE-Antikörper

Dabei handelt sich um monoklonale und polyklonale Antikörper meist vom Immunglobulin G-Typ von Hasen. Oft werden sie als Vergleichssubstanzen in Studien eingesetzt (367,368), allerdings liegen auch Untersuchungen zu ihren jeweiligen Effekten auf diverse Komplikationen vor. An Apo E (-/-)-Mäusen führte die Behandlung des RAGE-Antikörpers zu einer effektiven Reduktion der atherogenen Plaques ($p<0,001$). Es wurde aber weder die aortale RAGE mRNA-Expression signifikant reduziert, noch die Expression vaskulärer entzündlicher Proteine, wie IL-6, ICAM-1 oder TNF-α. Wie der antiatherogene Effekt zustande kommt, bleibt vorerst zukünftiger Forschung vorbehalten. Von den Autoren wurde eine Reduktion des systemischen oxidativen Stresses angenommen (369). Auch wie die renalen und neuronalen Effekte des RAGE-Antikörpers zustande kommen, ist noch nicht ganz geklärt. Bei Jensen et al. (370) bewirkte der Antikörper keine Reduktion der CTGF-, TGF-β- und der VEGF-mRNA in STZ-Mäusen und sorgte für eine Dickezunahme der gBM in gesunden Mäusen. Allerdings zeigte sich eine Verbesserung der funktionellen und morphologischen renalen Parameter in diabetischen Tieren. Kreatininclearance ($p<0,003$), Albuminurie ($p<0,003$) und das Nierengewicht ($p<0,002$) sanken durch den RAGE-Antikörper. Bei Rong et al. (371) verbesserte sich durch einen RAGE-Antikörper die Nervenleitgeschwindigkeit signifikant. Wie der genaue Mechanismus dabei ist, bleibt aber auch hierzu ungeklärt, da molekulare Parameter des RAGE-Weges nicht gemessen wurden. Es scheint aber, dass RAGE-Antikörper doch auch zu Veränderungen auf molekularer Ebene führen und so die pathologischen Vorgänge hemmen. So konnte ein RAGE-Antikörper die AGE-induzierte Downregulierung der Bcl-2 und Bcl-xL-Proteine aufheben ($p<0,01$) und die Apoptose der Beta-Zellen hemmen ($p<0,0005$). Allerdings schaffte der Antikörper es nicht die Insulin-Sekretion wiederherzustellen (372).

9.4. Bereits verwendete Medikamente mit Anti-AGE-Wirkung

AGE-Cross-link Breaker, AGE-Inhibitoren sowie RAGE-Antagonisten sind vorwiegend neuartige Substanzen mit primärem Ziel, eine AGE-Reduktion zu erreichen oder eine RAGE-Interaktion zu verhindern. Fast alle dieser Wirkstoffe befinden sich derzeit noch in prä-/klinischer Erprobung, mit Ausnahme des Benfotiamin. Es gibt aber auch bereits verwendete Medikamente, die auf die AGE/RAGE-Achse Einfluss nehmen können, obwohl ihr primärer Wirkmechanismus ein anderer ist. Zu jenen zählen diverse Medikamente, wovon viele bereits in der Behandlung des Diabetes mellitus eingesetzt werden, wie Antidiabetika, Antihypertensiva oder HMG-CoA-Reduktasehemmer (Statine).

9.4.1. Insulin-Sensitizer

Die Wirkstoffgruppe zählt zu den Antidiabetika und wird zur Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 eingesetzt. Es handelt sich um Thiazolidin-Derivate, die die Empfindlichkeit der Zellen für Insulin sowie die Insulinwirkung erhöhen. Dies geschieht durch die Aktivierung des γ-Subtyps der Peroxisome-Proliferator-Activated Receptors, wodurch Fettsäuren und Glukose vermehrt in die Zelle aufgenommen und metabolisiert werden und somit der Blutzucker normalisiert werden soll. Die zwei bekanntesten Vertreter sind das Rosiglitazon und das Pioglitazon. Weiters zählen zu dieser Wirkstoffgruppe das Troglitazon (Rezulin®) und das

OPB-9195, das ein recht unbekannter Vertreter ist, der bisher nicht in der Behandlung verwendet wird und auf den bereits oben genauer eingegangen wurde. Zu weiteren Insulin-Sensitizer, wie z.B. das Rivoglitazon oder Ciglitazon, fehlen bisher Studien bezüglich einer AGE-Inhibition und da sie in der Behandlung des Diabetes mellitus auch (noch) nicht Verwendung finden, werden sie nur der Vollständigkeit halber erwähnt. Für Pio-, Rosi- und Troglitazon wurde aber ein glykationshemmender Effekt nachgewiesen.
Erste Ergebnisse einer solchen Antiglykation wiesen Rahbar et al. (373) nach. Pioglitazon hatte nur schwache Effekte in der frühen Maillardreaktion, konnte aber die Vorgänge der späteren Maillardreaktion, sowie die AGE-Bildung und -Vernetzung, dosisabhängig, stärker hemmen. Der genaue Mechanismus dieses glykationshemmenden Effektes ist aber noch nicht ganz geklärt. Die Autoren sprachen dem Pioglitazon eine mögliche Carbonyl-Scavenger-Eigenschaft zu. Pioglitazon konnte die in vitro-Effekte auch am Menschen wiedergeben, und so führte eine 6-monatige Behandlung zur signifikanten Reduktion der Serum-Pentosidinkonzentration (374). Eine weitere Möglichkeit die Auswirkungen der AGEs abzuschwächen, ist die modulierende Wirkung auf den Rezeptor der AGEs. Diese modulierende Wirkung des Pioglitazon besteht erstens aus einer Reduktion der RAGE-Expression (375) und zweitens aus einer Erhöhung der sRAGE-Konzentration (376). Letzteres wurde ebenfalls am menschlichen diabetischen Organismus in vivo nachgewiesen, war jedoch nur für das Pioglitazon signifikant. Rosiglitazon führte hierbei auch zum sRAGE-Anstieg, der aber schwächer war als jener vom Pioglitazon. Warum der Anstieg für das Pioglitazon stärker war, konnte von den Autoren nicht genau erklärt werden, wurde aber auf die PPAR-α Kreuzreaktivität zurückgeführt. Rosiglitazon reduzierte dafür bei Marx et al. (375) die RAGE-Expression in ähnlichem Ausmaß. Im Gegensatz zu diesen zwei Insulin-Sensitizer mit nachgewiesener AGE-inhibierender Wirkung scheint die Datenlage zum Troglitazon uneinig zu sein. Zum einen gibt es Daten, die zeigen, dass Troglitazon die GLO-1 und -2 Enzymaktivität signifikant reduzieren kann, wodurch sich die AGE-Menge erhöht (377,378). Zum anderen erwies es sich hingegen als Schutz vor den hyperglykämischen Auswirkungen auf Zellebene (379). Es verminderte die RAGE-Expression, IL-6- und TNF-α-Produktion und verhinderte die Apoptose der Mesangiumzellen. Ob Troglitazon nun AGE-fördernd oder doch AGE-hemmend wirkt, bleibt vorerst ungeklärt. Da Troglitazon aufgrund seiner hepatotoxischen Nebenwirkung (380) komplett vom Markt genommen wurde, somit keine zukünftige klinische Relevanz mehr besitzt und nur für Forschungszwecke verwendet wird, möchte ich im Folgenden nur auf die Wirkungen des Pioglitazon und Rosiglitazon eingehen, wovon letzteres nur noch in den USA erhältlich ist, in Europa und in anderen Ländern hingegen aufgrund eines fraglich erhöhten kardiovaskulären Risikos vom Markt genommen wurde (381). Auch Pioglitazon ist aufgrund von Daten, die einen Zusammenhang mit erhöhtem Risiko für Blasenkrebs andeuten (382), momentan in Verruf geraten.
Zum Pioglitazon und Rosiglitazon gibt es im Übrigen weitere Ansätze, wie jene die AGE/RAGE-Achse beeinflussen können. Tabelle 2 gibt hierbei eine Übersicht, wie Insulin-Sensitizer die Effekte der AGEs reduzieren könnten.

Pioglitazon	Rosiglitazon	Troglitazon
RAGE-Reduktion (375)	RAGE-Reduktion(375)	RAGE-Reduktion (379)
sRAGE-Erhöhung (376)	sRAGE-Erhöhung (376,383) (war aber nicht signifikant)	
Carbonyl-Scavenger (373)	Angiotensin-II-Reduktion (384)	
Eingriff in den Glutathionperoxidaseweg (385)	Akt/eNOS-Hochregulierung (367)	

Tabelle 2: Mögliche Wirkweisen diverser Insulin-Sensitizer zur AGE-Hemmung und RAGE-Blockierung

9.4.1.1. Pioglitazon (Actos®)

AGEs sind in einer Reihe von diabetischen Pathologien involviert, darunter auch in der Beta-Zellen-Schädigung des Pankreas (140). Diese destruierenden Vorgänge konnte Pioglitazon in vitro (386) blockieren, gleichzeitig den Glutathiongehalt erhöhen ($p<0,001$) und so den Untergang der Beta-Zellen verhindern ($p<0,01$). Wie genau dieser Zelluntergang verhindert wurde, bleibt aber dennoch unklar. Laut Puddu et al. werden unterschiedliche Wege angenommen, die zur Zellapoptose führen. Da Pioglitazon sowohl die oxidativen Auswirkungen reduzierte, in dem es den Glutathiongehalt erhöhte, als auch die AGE-induzierte RAGE-Expression reduzierte ($p<0,05$), scheinen all diese Effekte im Gesamten den Beta-Zell-Untergang zu verringern. Man könnte nun annehmen, dass durch diese Blockierung der Beta-Zellapoptose auch der Insulingehalt signifikant erhöht wurde, was aber nicht der Fall war. Es zeigte sich eine leichte Zunahme. Nur die Insulinsekretion bei niedriger Glukosekonzentration erreichte Signifikanz.

Bezüglich den vaskulären therapeutischen Effekten des Pioglitazon beruht die Datenlage ebenfalls meistens auf in vitro-Studien. Ein anti-proliferativer Effekt auf glatte Gefäßmuskelzellen, der mit einer ROS-Hemmung verbunden war, wurde bei Yuan et al. gefunden (387). Hierbei handelte es sich aber um glatte Gefäßmuskelzellen von Ratten, nicht vom Menschen. Bei Hasen führte Pioglitazon zur signifikanten Verlangsamung in der Progression der Aortenklappenverkalkung. Diese entzündlichen Veränderungen wurden hierbei wahrscheinlich durch die RAGE-Downregulation bewirkt, welche in vitro nachgewiesen wurde, so Li et al. (388). Pioglitazon zeigte in diversen klinischen Studien ebenfalls AGE-senkende Effekte sowie eine Erhöhung des s-RAGE, aber leider wurden dazu kaum funktionelle Auswirkungen dieser AGE-Reduktion bzw. s-RAGE-Erhöhung verglichen oder Korrelationen dieser veränderten Laborparameter untersucht (374,389). Oz Gul et al. (376) fanden zwar eine Korrelation zwischen der s-RAGE-Erhöhung und der Triglyzeridsenkung in der mit Pioglitazon-behandelten Gruppe ($n=19$, $R=-0,476$, $p<0,05$), allerdings handelt es sich eben nur um eine Korrelation. Eine Kausalität diesbezüglich ist nicht bewiesen worden und somit sehr fraglich. Koyama et al. (390) fanden bei ihren mit Pioglitazon behandelten Probanden ebenfalls einen signifikanten Anstieg des s-RAGE (629,9±57,8 0-wöchiger Behandlung vs. 796,4±78,6pg/ml 24-wöchiger Behandlung) und zusätzlich des es-RAGE (0,289±0,035ng/ml 0-wöchiger Behandlung vs. 0,381±0,043ng/ml 24-wöchiger Behandlung). Sie sprachen dem Insulin-Sensitizer günstige Effekte auf die kardiovaskulären Veränderungen zu, meinten aber auch gleichzeitig, dass die Effekte des Pioglitazon auf RAGE nicht zwingend notwendig wären, um die Funktion als Insulin-Sensitizer auszuüben und um eine Normoglykämie herstellen zu können. Leider wurden in dieser Studie Regressionsanalysen nur zur allgemeinen Dyslipidämie, nicht aber im speziellen zur Triglyzeridkonzentration durchgeführt. In der Studie von Park et al. (351) an Mäusen wurde die Triglyzeridkonzentration durch sRAGE jedenfalls nicht effektiv reduziert ($p=0,49$). Weitere Untersuchungen sind daher nötig, um in Zukunft eventuell von Kausalität sprechen zu können, mitunter auch solche mit einer größeren Teilnehmerzahl und längerer Behandlungsdauer.

Am Tiermodell schien Pioglitazon zudem die morphologischen renalen Veränderungen des Diabetes mellitus aufzuhalten (391) und die Gedächtnisfunktion durch erniedrigte Level für das β-Amyloid im Gehirn zu verbessern (392). Die reduzierten β-Amyloidablagerungen sollen durch eine PPARγ-Aktivierung zustande kommen, nicht durch Eingriff am RAGE, obwohl für jenen eine Downregulation gefunden wurde. Auch bei diabetischen Typ 2 Ratten konnte ein Verbesserung der Gedächtnis- und Lernfunktion mit Pioglitazon erzielt werden, allerdings nahmen Jiang et al. (393) an, dass dies mitunter auf die Reduktion der RAGE zurückzuführen ist.

9.4.1.2. Rosiglitazon (Avandia®)

Rosiglitazon senkte in vitro die NF-κB-Aktivierung durch Reduzierung des Angiotensin-II und der AGEs in renalen Tubuluszellen (384) und führte in vivo zu einer signifikanten Verbesserung der Proteinurie, die mit einer Reduktion der renalen Extrazellularablagerung einherging. Auch morphologische Veränderungen, wie die gBM-Verdickung oder verschmolzene Podozytenfüßchen konnten durch das Rosiglitazon hintangehalten werden (394). Allerdings sind weitere renale Daten bezüglich der AGE-Hemmung noch ausständig. Mehr Daten liegen hingegen zu den kardiovaskulären Auswirkungen der AGEs vor. Hierbei wirkte Rosiglitazon antihypertensiv bei diabetischen Ratten und senkte sowohl den diastolischen als auch systolischen Blutdruck, was durch eine Normalisierung der diabetisch-veränderten vaskulären Regulationsvorgänge erreicht wurde (395). Der Insulin-Sensitizer schien das Gleichgewicht zwischen Gefäßkontraktion und -dilatation wieder in Richtung Dilatation zu verschieben, in dem er die NO-Hemmung aufhob und das intrazelluläre Ca^{2+} senkte. Dass Rosiglitazon die Endothelfunktion verbesserte, wurde bereits in vitro gezeigt (367). Hier allerdings durch eine Hochregulation der endothelialen NO-Synthase. Auf eine RAGE-Downregulation wurde die signifikante Verbesserung der vaskulären Situation in der experimentellen Gefäßschädigung zurückgeführt. Diese Verbesserung zeigte sich in einer Hemmung der vaskulären glatten Muskelzellen und der Neointimabildung (396). Ebenfalls auf eine RAGE-Downregulation wurden die morphologischen Verbesserungen der diabetischen Kardiomyopathie zurückgeführt. Die myokardiale Fibrosierung nahm bei den therapierten Ratten signifikant ab, was mit einer verbesserten linksventrikulären diastolischen Funktion verbunden war (397). Interessanterweise sank zwar der Blutzuckergehalt durch Rosiglitazon in allen drei erwähnten in vivo-Studien zu den kardiovaskulären Veränderungen, erreichten aber in keiner Studie die Werte der nicht diabetischen Kontrollgruppe. Die Abnahme der AGE-Konzentration war allerdings signifikant (395).

9.4.2. Biguanide

Eine weitere Gruppe der Antidiabetika stellen die Biguanide dar. Substanzen dieser Klasse sind das Metformin, das Buformin und das Phenformin. Der Hauptmechanismus der antidiabetischen Wirkung beruht auf einer Hemmung der hepatischen Gluconeogenese (398), was auch gleichzeitig die Ursache für die schwerste Nebenwirkung der Biguanide ist, nämlich die Laktatazidose, da das Laktat nicht mehr von der Leber in Glukose umgewandelt werden kann. Das Risiko dieser gravierenden Nebenwirkung scheint bei Metformin geringer zu sein, was auch in einer Cochrane Metaanalyse bestätigt wurde (399). Buformin und Phenformin wurden hingegen deswegen bereits vom Markt genommen (400,401). Nur mehr das Metformin ist weiterhin erhältlich, welches in der Therapie des Typ 2 Diabetes mellitus häufig erste Wahl ist, insbesondere bei übergewichtigen Patienten. Wie diese hepatische Gluconeogenese-Hemmung auf molekularer Ebene abläuft, ist aber noch nicht ganz geklärt. Weitere antidiabetische Wirkungen erzielt Metformin, indem es sowohl die periphere Glukoseaufnahme als auch die Insulinsensitivität steigert und zugleich die insulinbedingte Blockierung der Fettsäureoxidation vermindert (402).

9.4.2.1. Metformin

Neben den genannten antidiabetischen Wirkungen, besitzt Metformin auch eine Anti-AGE-Wirkung, die nicht nur im Reagenzglas oder bei Tieren, sondern ebenso im menschlichen diabetischen Organismus gefunden wurde (403). Jene AGE-inhibierende Wirkung passiert durch die Reaktion der Guanidingruppe mit der Carbonylgruppe des AGE bzw. des Präkursor (404). Metformin gehört somit zu Gruppe der Carbonyl-Scavenger und besitzt einen ähnlichen Wirkmechanismus wie das Aminoguanidin. Diese Reaktion wurde insbesondere zwischen dem Guanidin des Metformin und dem Carbonyl des MG nachgewiesen, sodass als Produkt das Triazepinon entsteht, welches aber inaktiv ist und keine AGEs formieren kann. Auch für andere AGE-Vorläufer und AGEs wird eine solche Reaktionsweise angenommen

(405). Doch das scheint nicht die einzige Wirkung zu sein. Es gibt Daten, die eine zusätzliche RAGE-Downregulation mit einer Blockierung vieler damit verbundenen inflammatorischen und profibrotischen Moleküle beschreiben (406,407). Durch diese RAGE-Antagonisierung wird auch der AGE-induzierte oxidative Stress reduziert.
Aufgrund des Eingriffs in die AGE/RAGE-Achse wird eine Vielzahl der dadurch ausgelösten pathologischen Vorgänge blockiert. Entzündungsmarker, wie TNF-α und IL-6, wurden durch Metformin ebenso reduziert, wie der Gehalt an Marker der endothelialen Dysfunktion, z.B. ICAM-1 und VCAM-1 (408). Dadurch sowie durch Eingriff in den Cholesterinhaushalt, könnte Metformin die atherogenen Effekte der AGEs aufheben. Durch Metformin verbesserte sich zudem der reverse Cholesterintransport, indem Apo A1 signifikant weniger durch MG glykiert wird (189). Auch eine direkte HDL-Glykierung kann den Rücktransport des Cholesterins beeinträchtigen (p=0,0082), der durch Metformin dosisabhängig allerdings wieder normalisiert wurde (p<0,0001) (409). Ob jener Effekt auch am Menschen erzielt wird, ist allerdings unklar. Bisher konnte Metformin beim Menschen den AGE-Gehalt im Apolipoprotein B100 von LDL-Partikel signifikant vermindern (410) und so sein antiatherogenes Potenzial zeigen.
Nicht nur auf die atherogenen Effekte der AGEs erwies sich Metformin als positiv, auch auf drei weitere diabetische Komplikationen zeigte das Biguanid glykationshemmende und RAGE-antagonisierende Wirkung. Erstens verminderte es den Gehalt der an Kollagen angelagerten AGEs im Myokard und senkte den linksventrikulären enddiastolischen Druck (411). Zweitens scheint Metformin die renalen Schädigungen durch eine signifikante RAGE-Downregulation mit nachfolgender Reduktion der Genexpression für diverse profibrotische und inflammatorische Moleküle abzuwehren (406). Und drittens verbesserte es die diabetische Neuropathie. Abgelagerte AGEs im Nervus ischiadicus wurden um bis zu 42% reduziert (p<0,05) während die Nervenleitgeschwindigkeit im Nerv der diabetischen Tiere um bis zu 46% zunahm (p<0,01) (412). Zu jenen Effekten fehlen jedoch bisher Daten am Menschen. Nicht unerwähnt bleiben sollte die Studie von Diamanti-Kandarakis et al. (413) PCOS. Jene Erkrankung geht nämlich oft mit einer diabetischen Stoffwechsellage einher und Metformin wird in der Behandlung des PCOS ebenfalls gegeben. In dieser Studie zeigte sich, dass PCOS-Patientinnen erhöhte Serum-AGE-Level besaßen (p<0,001), welche durch Metformin gesenkt wurden (p=0,05). Die Werte der Serum-AGEs korrelierten zudem positiv mit denen des Plasma-Testosterons (r=0,434, p=0,044), sodass AGEs eventuell auch die Hyperandrogenämie beeinflussen und somit auch bei anderen Erkrankungen, eine womöglich wichtige pathophysiologische Rolle einnehmen.

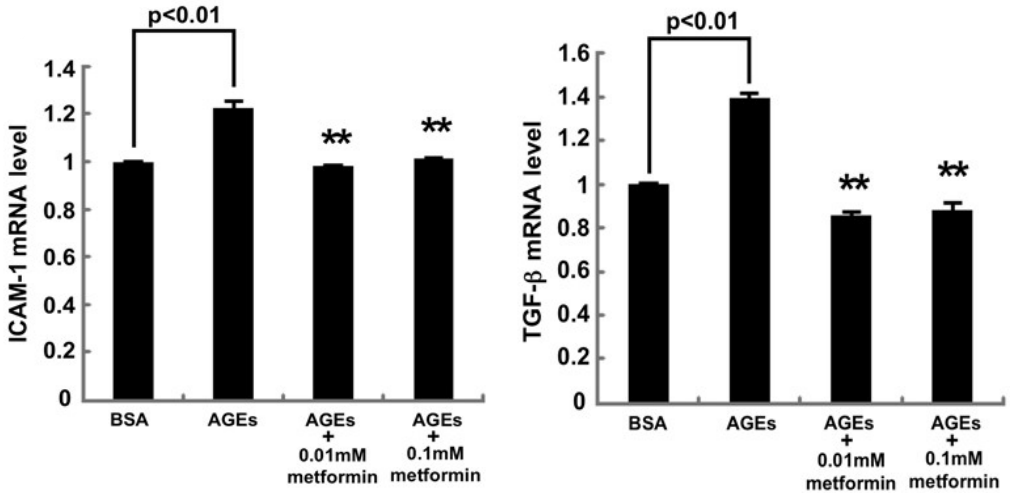

Abbildung 31: Veränderungen auf die ICAM-1 und die TGF-β Genexpression in renalen Tubuluszellen durch Metformin. ** = p<0,01, verglichen zum Wert der alleinigen Gabe an AGEs, an. BSA=bovines Serumalbumin. Entnommen aus Ishibashi et al. (406)

9.4.2.2. Buformin (Silubin®) & Phenformin

Zu den anderen Biguaniden liegen kaum bzw. gar keine Studien bezüglich einer AGE oder RAGE-Blockierung vor. Zum Phenformin gibt es keine Daten dazu, was wahrscheinlich auch daran liegt, dass es zu einer Zeit vom Markt genommen wurde, als die ersten Studien zu den AGEs veröffentlicht wurde. Zum Buformin ist die Datenmenge aber ebenfalls nicht allzu groß. Lediglich Kiho et al. (414) wiesen in vitro für Buformin eine stärkere AGE-inhibitiorische Eigenschaft als für Metformin nach, welche aber schwächer war als die des Aminoguainidin. Diese Wirkung beruht ebenfalls, wie die des Metformin, auf einer Carbonyl-Scavenger-Eigenschaft.

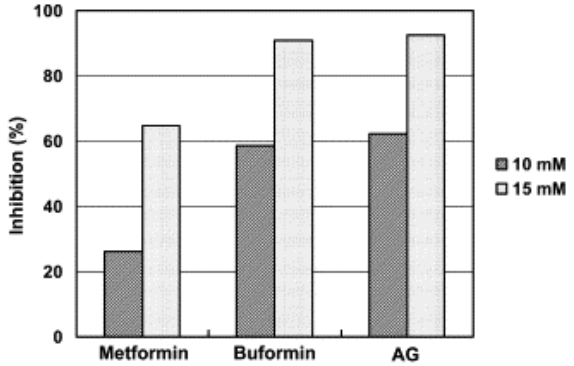

Abbildung 32: AGE-Inhibierung durch Metformin, Buformin und Aminoguanidin. Entnommen aus Kiho et al. (414)

9.4.3. Weitere Antidiabetika

Neben den Biguaniden und den Insulin-Sensitizer gibt es noch weitere Wirkstoffklassen der Antidiabetika, von denen es Vertreter gibt, die die AGE/RAGE-Achse beeinflussen. So z.B. die Alpha-Glucosidase-Hemmer, welche das Enzym Alpha-Glucosidase hemmen, das von großmolekularen Zuckermolekülen endständige 1,4-verbundene α-D-Glukosereste abspaltet, die anschließend vom Dünndarm aufgenommen und in weiterer Folge den Blutzuckerspiegel erhöhen würden. Die Inkretin-Mimetika oder auch GLP-1 Agonisten sind Analoga der körpereigenen Inkretine, GLP-1 und GIP, und haben eine zum GLP-1 vergleichbare Wirkung, die sich in einer Förderung der Insulinbildung und -sekretion und gleichzeitigen Hemmung der Glucagon-Freisetzung zeigt. Die gleichen Wirkungen zeigen auch die DDP-4 Inhibitoren, indem jene das Enzym DDP 4 reversibel und kompetitiv hemmen, welches das GLP-1 abbaut. Da somit vermehrt GLP-1 vorhanden ist, erzielt diese Substanzgruppe indirekt über den Inkretin-Effekt ihre antidiabetischen Wirkungen. Sulfonylharnstoffe werden bereits seit längerem in der Therapie des Diabetes mellitus eingesetzt. Sie besitzen eine insulinotrope Wirkung, indem sie Kaliumkanäle der Beta-Zellen blockieren, wodurch vermehrt Insulin ausgeschüttet wird. Glinide, die auch Sulfonylharnstoffanaloga genannt werden, wirken über den gleichen Mechanismus.

9.4.3.1. Acarbose (Glucobay®, Precose®)

Es handelt sich bei jenem Wirkstoff um einen Alpha-Glucosidase-Hemmer, der selbst ein Zuckermolekül ist, besser gesagt um ein Pseudotetrasaccharid. Durch die Acarbose erfolgt eine verzögerte und verminderte Aufnahme der Glukose aus dem Dünndarm, sodass der postprandiale Blutzuckeranstieg abgeschwächt wird, ebenso wie die nachfolgende Insulinausschüttung. Acarbose kann nicht nur den Blutzuckerspiegel senken, sondern auch zur Reduktion des HbA_{1c} führen (415). Auch in Geweben, wie an der glomerulären Basalmembran (416), an Haut und Rattenschwanzkollagen (417), sowie an anderen Molekülen, wie dem LDL (418), konnte der Grad der Glykation signifikant reduziert werden. Beim Diabetiker erwies es sich als AGE-Inhibitor und zeigte eine Reduktion des Serumgehalts an AGEs ($p<0,05$) (419).

9.4.3.2. Exenatid (BYETTA®)

Beim Exenatid handelt sich um ein synthetisch hergestelltes Polypeptid aus 39 Aminosäuren, welches dem Exendin-4, mit Ausnahme einer Amidgruppe, chemisch entspricht. Das Exendin-4 wurde erstmals 1992 aus dem Speichel der Glia-Krustenechse (Heloderma suspectum) isoliert und 13 Jahre später wurde sein synthetisches Pendant auf dem Markt gebracht. Seine Anti-AGE-Wirkung scheint Exenatid durch Downregulation der AGE-induzierten RAGE-Genexpression sowie durch eine Suppression der AGE-induzierten ROS-Bildung zu erreichen. Dies hat sowohl funktionelle als auch morphologische Konsequenzen auf die diabetische Nephropathie. Die Albuminurie wurde ebenso reduziert, wie die glomeruläre Hypertrophie und die Makrophageninfiltration ($p<0,01$ jeweils). Der Grad der fibrotischen Umbauvorgänge in den diabetischen Nieren sank ebenfalls($p<0,01$). Für fast all jene Resultate erzielte die höhere Dosis des Exendin-4 bessere Ergebnisse. Nur die Makrophageninfiltration und die sklerotischen Veränderungen zeigten durch die hohe Dosis keine besseren Werten (420). Anzumerken ist hierzu, dass kein echtes Exenatid verwendet wurde. Aufgrund der gleichen Wirkung und der nahezu identen chemischen Formel der beiden Polypeptide vermag aber Exenatid wahrscheinlich die gleichen Effekte vorzuweisen. Ein weiterer möglicher Angriffspunkt der GLP-1-Agonisten könnte sich beim Mb. Alzheimer ergeben. GLP-1 konnte in vitro die AGE-induzierte Tau-Phosphorylation senken (421), allerdings liegen bisher keine Ergebnisse zum Exenatid oder zum Liraglutid, einem weiteren GLP-1-Agonisten, vor. Zum Liraglutid gibt es im Allgemeinen bisher keinen beschriebenen AGE-inhibierenden Effekt, was allerdings eher auf die fehlende Studienlage zurückzuführen ist.

9.4.3.3. Linagliptin (Trajenta®), Sitagliptin (Januvia®), Vildagliptin (Galvus®), Alogliptin (Vipidia®)

Alle vier genannten Wirkstoffe gehören zu den DDP-4-Inhibitoren und verhindern den Abbau des GLP-1. Dadurch ist mehr GLP-1 vorhanden und der Inkretin-Effekt kommt stärker zum Tragen. Sitagliptin scheint ebenfalls durch eine GLP-1-Erhöhung glykationshemmend zu wirken, und zwar ähnlich wie das Exendin-4. Nämlich über eine Downregulation des RAGE und konsekutiver Blockierung der ROS-Bildung (422). Vor allem die Kombinationsgabe aus GLP-1 und Sitagliptin erzielte bessere Werte. Über den gleichen Wirkmechanismus scheinen auch Linagliptin und Vildagliptin zu verfügen. An Ratten wurde durch das Linagliptin ebenfalls die RAGE-Genexpression signifikant reduziert, welche auch mit reduzierten renalen AGE-Ablagerungen und mit einer signifikant verbesserten Albuminausscheidung einherging. Vildagliptin erwies sich hingegen günstig auf die vaskulären Veränderungen der AGE/RAGE-Achse und führte zur signifikanten Blockierung der diabetisch-erhöhten Werte für AGEs, der RAGE-Expression, des oxidativen Stress als auch zur Reduzierung des TGF-β (423). Somit kann es der Gefäßsteifigkeit entgegenwirken. Klinisch relevanter war hingegen die Studie von Sakata et al. (424) mit dem Alogliptin. Die Alogliptin-Monotherapie senkte den Blutzucker ($p=0,03$), das HbA_{1c} ($p=0,004$) und das Glycoalbumin ($p<0,001$), hatte aber weder einen AGE-senkenden Effekt ($p=0,8$) noch wies sie signifikante Veränderungen für das sRAGE ($p=0,3$) auf, obwohl für letzteres niedrigere Werte festgestellt wurden. Die Kombination von Alogliptin mit anderen Medikamenten, die typisch in der Therapie des Diabetes mellitus sind, wie Statine, Antihypertensiva oder andere Antidiabetika, erreichte für das sRAGE eine signifikante Abnahme ($p=0,02$) sowie eine Verbesserung des Albumin/Kreatinin-Quotienten (31,6mg/g·Cr ohne Alogliptin vs. 26,5mg/g·Cr mit Alogliptin, $p=0,04$) und der Albuminurie. Diese sRAGE-Reduktion korrelierte hierbei positiv mit der des HbA_{1c} ($r=0,29$, $p<0,05$) und sie scheint durch das Alogliptin erzielt worden zu sein, indem die postprandiale Glukoseschwankung verbessert wurde, so die Autoren.

Bei den Ergebnissen der DDP-4-Inhibitoren ist es insofern interessant, dass es von vielen DDP-4-Inhibitoren zwar in vitro-Studien und Experimente an Tieren bezüglich der

antiglykämischen Wirkung gibt, aber bisher keine klinischen Ergebnisse, mit Ausnahme zum Alogliptin. Zum Alogliptin hingegen gibt es welche, dafür ist nichts über jenen DDP-4-Inhibitor präklinisch bekannt. Es scheint aber, dass die DDP-4-Inhibitoren am Menschen nicht die erhofften Wirkungen bezüglich AGE/RAGE-Blockade zeigen. Die Monotherapie mit Alogliptin schien die AGE/RAGE-Achse unzureichend zu beeinflussen. Nur die Kombinationstherapie schaffte dies, aber nicht für den AGE-Gehalt, und viele der gegebenen Medikamente scheinen selbst eine Anti-AGE-Wirkung zu besitzen. Auch enthielt die Studie von Sakata et al. keine Placebogruppe und zudem nur eine geringe Teilnehmerzahl. Es stellt sich daher Frage, ob ein Anti-AGE-Wirkstoff ausreicht oder doch eher mehrere, um die AGEs/RAGE effektiv zu senken.

9.4.3.4. Glimepirid (Amaryl®), Gliclazid (Diamicron®), Gliquidon (Glurenorm®)

Glimepirid ist ein Sulfonylharnstoff der 3. Generation, das Gliclazid und das Gliquidon Sulfonylharnstoffe der 2. Generation. Glimepirid hatte im menschlichen Organismus ähnliche Effekte auf RAGE und serologische Parameter wie das Pioglitazon, jedoch waren diese Effekte geringer ausgeprägt als die des Pioglitazons (390). Vor allem bezüglich der RAGE-Modulation zeigte die 24-wöchige Pioglitazongabe bessere Werte als die 24-wöchige Gabe des Glimepirid. Z.B. war der Anstieg der Plasma-esRAGE-Konzentration stärker, ebenso war die Reduktion der RAGE-Expression auf mononukleären Zellen größer ($p<0,01$ jeweils).
Gliclazid scheint in der diabetischen Retinopathie günstige Effekte aufzuweisen, vermochte diverse AGE-vermittelte molekulare Vorgänge und Schlüsselproteine effektiv zu hemmen, so z.B. die NF-κB-Aktivierung und die VEGF-Expression ($p<0,05$). Es hemmte auch die Proliferation der bovinen retinalen Endothelzellen signifikant und somit einen wichtigen Vorgang in der späten diabetischen Retinopathie (425). Zusammen mit seinem möglichen antiatherogenen Effekt, der sich in einer Verringerung des ox-LDL und einer Abschwächung der Monozytenadhäsion in den Endothelzellen zeigte (426), und seinem zusätzlichen blutzuckersenkenden Effekt, wäre das Gliclazid in der Lage, die diabetische Retinopathie an mehreren Angriffspunkten positiv zu beeinflussen. Gliquidon wäre in der Lage, die andere diabetische Mikroangiopathie durch mehrere Angriffspunkte abzuschwächen. Dieser Sulfonylharnstoff konnte nicht nur die RAGE-Expression, die Albuminurie und die glomerulären histologischen Schäden signifikant reduzieren, sondern die PKC-β-Expression nahm durch Gliquidon ebenfalls ab (427).

9.4.3.5. Repaglinid (Prandin®), Nateglinid (Starlix®)

Beide Wirksubstanzen gehören den Sulfonylharnstoff-Analoga an. Nateglinid erwies sich als alleiniges Anti-AGE-Therapeutikum nur teilweise effektiv und konnte lediglich den Gehalt der Glyceralaldehyd-abstammenden AGEs signifikant senken (428). Auch in einer anderen Studie konnte es alleinig nicht den Serum-AGE-Gehalt oder die RAGE-Expression reduzieren (429). Repaglinid vermochte hingegen den Gehalt an 3-DG um 20,8% zu senken ($p<0,001$) (430). Diese Reduktion war auch positiv assoziiert mit den Veränderungen für Marker der endothelialen Dysfunktion, z.B. für ΔPAI-1 (19,1%, $p=0,034$) oder ΔVCAM-1 (20,5%, $p=0,034$), und für Blutzuckerkontrollwerte, wie ΔNüchternplasmaglukose (22,7%, $p<0,001$) oder ΔHbA_{1c} (17,2%, $p<0,001$). Inflammatorische Marker waren mit der Reduktion des 3-DG aber nicht assoziiert. In dieser Studie wurden aber nur Probanden mit einem BMI<27kg/m^2 aufgenommen. Viele Diabetiker besitzen aber einen größeren BMI und die Veränderungen diverser Parameter wurden nicht zwischen Metformin und der Repaglinid-Behandlung differenziert. Zwar erzielten beide Medikamente eine Reduktion für das 3-DG (-19,3% Metformin vs. -20,8% Repaglinid), aber man kann nicht sagen, ob eine der beiden Therapien eine stärkere Veränderungen eines Parameters erzielte.

9.4.4. AT_1-Antagonisten/ACE-Hemmer

Diese zwei Wirkstoffgruppen wirken antihypertensiv und werden bei einer Reihe von kardiovaskulären Erkrankungen eingesetzt. So gelten die ACE-Hemmer, welche das Angiotensin Converting Enyzme (ACE) hemmen, häufig als Therapie der Wahl bei der Hypertonie oder auch bei der Herzinsuffizienz. Ein weiterer Einsatzbereich wäre die diabetische Nephropathie. AT_1-Antagonisten besitzen die gleichen Indikationen wie die ACE-Hemmer. Sie werden häufig dann eingesetzt, wenn es zu Nebenwirkungen der ACE-Hemmer gekommen ist, wovon die meisten Bradykinin-vermittelt sind, da der Bradykininabbau ebenfalls über das ACE geschieht. AT_1-Antagonisten besitzen solche Nebenwirkungen kaum, da sie über einen kompetitiven Antagonismus am Subtyp 1 des Angiotensin-II-Rezeptors wirken und nicht über eine ACE-Hemmung. Durch die Blockierung der AT_1-Rezeptoren werden die Effekte des Angiotensin II aufgehoben. Das RAAS spielt vor allem in der Pathophysiologie der diabetischen Nephropathie eine entscheidende Rolle. Daher ist es nicht verwunderlich, dass beide Wirkstoffklassen auch bei jener eingesetzt werden. Der AGE/RAGE-Weg trägt ebenfalls zur diabetischen Nephropathie bei und in letzter Zeit sind vermehrt Überlegungen aufgekommen, dass Angiotensin die AGE/RAGE-Achse beeinflusst und umgekehrt.

ACE-Hemmer als auch die AT_1-Antagonisten scheinen über Metallchelation und Blockierung diverser oxidativer Vorgänge in der frühen und späten Maillardreaktion zu agieren (348). Jene AGE-inhibierende Eigenschaft war dosisabhängig und wurde für Temocaprilat, Enalaprilat, Captopril und Perindoprilat bzw. für Olmesartan, Candesartan, Irbesartan, Losartan, Telmisartan und Valsartan beschrieben. Nicht jeder Wirkstoff wirkte aber gleich gut und so gab es Unterschiede, z.B. hatte Perindoprilat schwächere Inhibitioneigenschaften als Temocaprilat und auch Valsartan hatte eine stärkere Wirkstärke als Losartan (siehe Tab. 3). Auch Vasopeptidase-Inhibitoren, welche potenzielle Antihypertensiva und eine zukünftige Alternative zu den ACE-Hemmern und AT_1-Antagonisten sein sollen, scheinen über eine Metallchelation AGE-inhibierende Eigenschaften zu besitzen (431). AT_1-Antagonisten konnten auch im menschlichen Organismus den Gehalt an AGEs senken, so z.B. Valsartan für die Serum-AGEs (2,71±0,62U/l Baseline vs. 2,23±0,36U/l nach 6 monatiger Therapie vs. 2,29±0,28U/L nach 12 Monaten, $p=0,021$) (432) oder Candesartan, welches zu einer verminderten Ausscheidung von Pyrallin ($p<0,05$) und Pentosidin ($p<0,05$) führte (433). Inwieweit die Serumwerte jener AGEs beeinflusst wurden, blieb aber unklar. Die Studienteilnehmeranzahl war bei beiden gering, auch wurden diese Werte für nur zwei AT_1-Antagonisten nachgewiesen. AT_1-Antagonisten scheinen aber eine unterschiedlich starke AGE-Inhibition zu besitzen, wie oben erwähnt. In einer placebokontrollierten, doppelblinden, mulitzentrischen Studie mit längerer Studiendauer und größerer Teilnehmerzahl konnte nämlich diese Signifikanz nicht nachgewiesen werden, zumindest nicht für das Irbesartan (434). Weitere klinische Studien dazu, vor allem mit unterschiedlichen AT_1-Antagonisten, wären aussagekräftiger, um den genauen Effekt der AT_1-Antagonisten auf die AGE-Konzentrationen zu beschreiben.

ACE-Hemmer	IC50-Wert (mM)	AT_1-Antagonist	IC50-Wert (mM)
Captopril	9,15	Candesartan	1,65
Enalaprilat	4,47	Losartan	6,29
Perindoprilat	14,80	Olmesartan	1,72
Temocaprilat	2,43	Valsartan	1,58

Tabelle 3: IC50-Werte der Pentosidinbildung von verschiedenen ACE-Hemmern und AT_1-Antagonisten während der Inkubation mit bovinem Serumalbumin und Arabinose. Entnommen aus Miyata et al. (348)

Die AT_1-Antagonisten besitzen aber nicht nur rein AGE-inhibierende Wirkungen, sondern auch RAGE-antagonisierende Eigenschaften (93). Wie die Downregulation der RAGE-Expression genau passiert, ist für die meisten AT_1-Antagonisten jedoch noch unklar. Für

Telmisartan und Losartan wurde eine RAGE-Downregulation über eine PPARγ-Aktivierung gefunden (435,436). Captopril, Ramipril und Perindopril wiesen ebenfalls eine RAGE-modulierende Wirkung auf. Captopril verringerte die RAGE-Expression (437), während Perindopril die sRAGE-Plasmakonzentration bei Typ 1-Diabetikern signifikant erhöhte, Ramipril jene bei STZ-Ratten (94). Den Gehalt an niedermolekularen AGEs (nicht näher von Forbes et al. beschrieben) konnten Perindopril und Ramipril ebenfalls senken und bei den mit Perindopril-therapierten Probanden bestand auch eine inverse Korrelation zwischen den AGE-Gehalt im Plasma und dem Plasma-sRAGE ($r=0,52$, $p=0,047$). Ramipril erwies sich aber nicht immer als effektiver AGE-Inhibitor (431,438). Für Benazepril wurden AGE-inhibierende und RAGE-modulierende Wirkungen beschrieben (439).
Bei den bisher zitierten Studien bezüglich ACE-Hemmer und AT_1-Antagonisten ging die Reduktion der AGEs bzw. des RAGE mit einer Reduktion diverser proinflammatorischer Proteine einher bzw. mit einer ROS-Suppression, sofern jene Parameter gemessen wurden. Auch retinale VEGF-Levels konnte eine Behandlung mit AT_1-Antagonisten senken (440) Leider gibt es keine klinischen Daten bislang inwiefern sich eine AGE/RAGE-Suppression auf die Funktion oder Morphologie des Organs auswirkt. Diese antiflammatorischen und antioxidativen Effekte erwiesen sich bisher nur in präklinischen Studien auch funktionell günstig, vor allem in der diabetischen Nephropathie. So führte Perindopril zu einer Abnahme der Albuminurie ($p<0,001$) und konnte auch die glomerulären und tubulointerstitiellen Veränderungen effektiv aufhalten ($p<0,01$). Diese Veränderungen gingen zum einen mit einer signifikanten Reduktion der Serum-AGEs und der abgelagerten renalen AGEs einher, zum anderen war die Kombinationstherapie aus Perindopril und Aminoguanidin teilweise sogar noch effektiver als die Monotherapie der beiden Medikamente. Die Albuminurie sank durch Kombinationstherapie auf ähnliche Werte wie in der gesunden Kontrollgruppe ab und erzielte zu den beiden Monotherapien signifikant bessere Werte (441). Ähnliche Wirkungen wurden auch mit dem Valsartan gezeigt (442). Ein weiterer Angriffspunkt der AT_1-Antagonisten, welcher über den Eingriff in die AGE/RAGE-Achse geschieht, soll die Atherosklerose und die Gefäßversteifung sein, vor allem, wenn jene mit Diabetes mellitus verbunden ist. Über einen bisher noch nicht genau bekannten Mechanismus scheinen sich Angiotensin-II-Rezeptoren vom Subtyp 1 und RAGE gegenseitig zu beeinflussen. Ihara et al. (443) stützen sich hierbei auf die Erkenntnis, dass Angiotensin II die RAGE-Expression in glatten Muskelzellen in vitro und in atheromatösen Plaques in vivo stimulierte, und dass AT_1-Antagonisten sowie die AT-R1-Defizienz bei diabetischen Apo E (-/-)-Mäusen die Hochregulierung des RAGE verhinderten. Dadurch wurden atheromatöse Plaques reduziert ($p<0,01$). Zellen, welche positiv für AT-R1 waren, waren in der Mehrzahl der Fälle auch positiv für RAGE. Zellen, welche aber mit AT_1-Antagonisten behandelt wurden, wiesen diese Doppel-Expression nicht auf. Diese antiatherosklerotischen Effekte zeigte auch Candesartan. Es konnte die Plaques ebenfalls reduzieren ($p<0,01$), hemmte die Makrophageneinwanderung in die Plaques ($p<0,05$) und senkte den Gehalt an in Plaques abgelagerten CML und in Plaques exprimierten RAGE ($p<0,01$ jeweils). CML-Gehalt und RAGE-Expressionen der Arterienwand blieben aber unbeeinflusst (444).
ACE-Hemmer und AT_1-Antagonisten scheinen somit nachweislich AGEs und RAGE am Tiermodell zu reduzieren und deren schädliche Auswirkungen zu blockieren. Es stellt sich aber weiterhin die Frage, inwiefern dies mit der Angiotensin-II-Blockade zusammenhängt. Miyata et al. (348) meinten, dass die AGE-inhibierende Wirkung der ACE-Hemmer und der AT_1-Antagonisten Angiotensin-II-unabhängig seien, da jene Effekte in vitro in einem zellenlosen System gezeigt wurden. Es gibt hingegen, wie eingangs bereits erwähnt, aber diverse Überlegungen, wie das RAAS die AGE/RAGE-Achse beeinflusst und vice versa. An diversen Tiermodellen, darunter sowohl an diabetischen (443,445) als auch an nicht diabetischen Tiermodellen (439), wurde angenommen, dass das RAAS die AGE/RAGE-Achse sehr wohl beeinflusst, allerdings bliebe immer noch das Wie zu klären. Bei Thomas et

al. (446) wiesen Ratten, welche AGE-modifizierten Rattenalbumin infundiert bekamen, signifikant erhöhte Werte für Renin, ACE, Angiotensinogen und für den Angiotensin-Rezeptor Subtyp 1 auf ($p<0,01$ jeweils). Daneben zeigten jene Tiere eine glomeruläre Hypertrophie und die GFR nahm ab ($p<0,05$), nicht aber die Albuminexkretionsrate. Bekamen die Nagetiere Angiontensin II infundiert, so erhöhte sich ihre Anzahl an abgelagerten renalen AGEs und an Serum-AGEs ($p<0,01$ jeweils) und zeigte eine signifikante Zunahme der Albuminurie. Eine Valsartantherapie konnte die meisten Effekte der AGE-modifizierten Rattenalbumins reduzieren, eine Pyrdioxamintherapie erwies sich ebenfalls als effektiv gegen die Auswirkungen des infundierten Angiotensin II, außer auf die Albuminurie. Die genauen Vorgänge, die sich hinter dieser gegenseitigen Beeinflussung verbergen, konnten aber auch Thomas et al. nicht genau erklären, und bleiben derzeitig auch dem Rest der Wissenschaft verborgen.

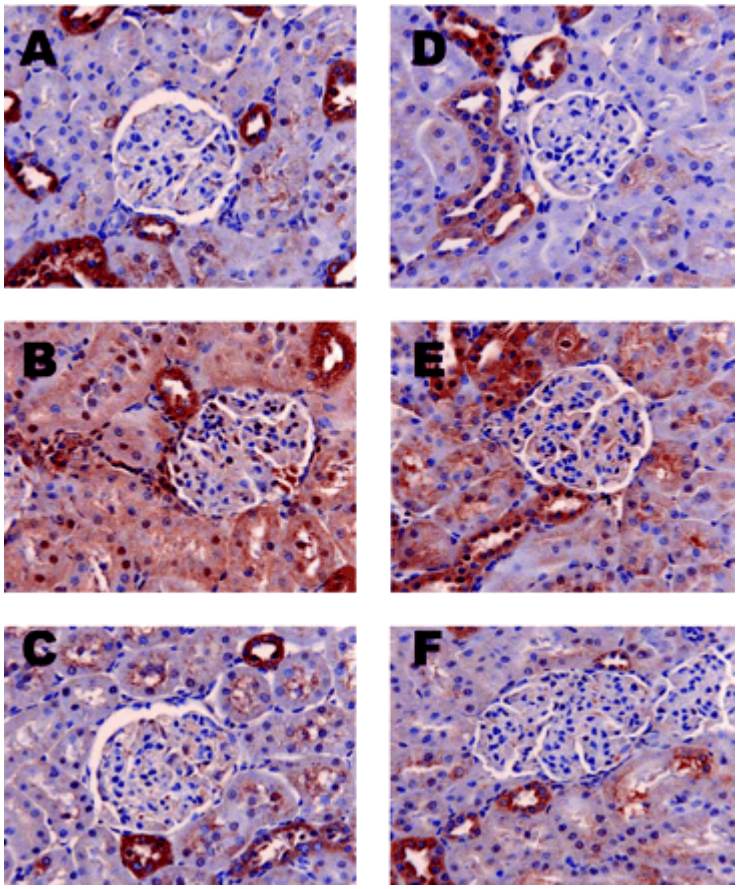

Abbildung 33: Immunhistochemische Markierungen für renale AGE-Ablagerungen in Ratten.
A) Ratten, die Ratten-Serumalbumin, B) Ratten-Serumalbumin + AGEs, C) Ratten-Serumalbumin + AGEs + Valsartan (30mg/kg), D) 0,15mol/l Natriumchlorid + 1mmol/l Essigsäure, E) Angiotensin II und F) Angiotensin II + Pyridoxamin (1g/l Trinkwasser) infundiert bekamen. Entnommen aus Thomas et al. (446)

9.4.5. Calciumantagonisten

In der Behandlung von KHK und Hypertonie sind die Calciumantagonisten eine wichtige Substanzgruppe. Auch beim Diabetes mellitus können sie eingesetzt werden, da viele diabetische Patienten häufig einen Hypertonus oder eine KHK zusätzlich aufweisen. Die Gruppe der Calciumantagonisten kann man in drei Subgruppem teilen. Erstens die 1,4-Dihydropyridingruppe, zu jener das Nifedipin gehört, zweitens die Phenylalkylamingruppe, wie z.B. das Verapamil, und drittens die Benzothiazepingruppe, wovon das Diltiazem ein Vertreter ist.

Alle Kalziumantagonisten binden an bestimmte Kalziumkanäle, blockieren so den Calciumionen-Einstrom in die Zelle und blockieren die Muskelkontraktion. Je nach Calciumkanaltyp bewirken die Calciumantagonisten an den Gefäßen eine Vasodilatation oder

am Herzen eine negativ inotrope und negativ chronotrope Wirkung. Für den Diabetes mellitus ist aber nicht nur ihre antihypertensive Wirkung nützlich, auch scheinen manche Calciumantagonisten antioxidative und glykationshemmende Wirkungen zu besitzen. Solche nachgewiesenen Wirkungen wurden unter anderem für Lacidipin, Amlodipin, Nifedipin, Isradipin, Dilitiazem und Semotiadil beschrieben, doch alle genannten zeigten keine signifikante Hemmung in der frühen Phase der Maillardreaktion (447). Wie diese Calciumantagonisten ihre AGE-Inhibition bewerkstelligen, bleibt für die meisten genannten Wirkstoffe momentan ungeklärt, da bisher nur zum Amlodipin, Nifedipin sowie zum Azelnidipin weitere Studien in Richtung AGEs unternommen wurden.

9.4.5.1. Amlodipin (Norvasc®), Azelnidipin (Calblock®), Nifedipin (Adalat®)

Ob Amlodipin alleinig ausreicht um eine antiglykämische Wirkung zu erzielen, ist bisher sehr fraglich. Als Monotherapie erreichte das Amlodipin zwar eine signifikante Reduktion der AGE-Ablagerungen, die Ergebnisse der Kombinationstherapie mit einem Statin zeigten dafür aber eine stärkere Signifikanz (448,449). Klinische Studien gaben die AGE-inhibierende aber nicht wider. Die CML- und Pentosidin-Konzentration nahmen sogar zu unter der Amlodipintherapie (siehe Tabelle 4) (450). Auch auf sRAGE zeigte Amlodipin nach einer 6-monatiger Follow-up Phase keinen Effekt (2012,7±269,4 vs. 2010,7±280,9pg/ml). Eine funktionelle Verbesserung bezüglich Proteinurie blieb auch aus (1,01±0,16 vs. 1,01±0,16g/dl) (451). Und das, obwohl alle der Amlodipin-therapierten Probanden eine Vorbehandlung mit AT_1-Antagonisten und mehr als die Hälfte eine zusätzliche Medikation von Diuretika, α_1-Blockern oder Statinen aufwiesen. Zwar war die Probandenanzahl in der Studie von Nakamura et al. gering (n=30) und enthielt keine Placebogruppe, jene in der Studie von Busch et al. war aber bereits größer (n=196) und enthielt eine Placebogruppe, aber konnte ebenso wenig antiglykämische Effekte des Amlodipin zeigen.

	Amlodipin	**Placebo**
CML Baseline	1584± 876	1655± 963
CML Follow-up (23,4 Monate)	1932±1097	2007±1286
Pentosidin Baseline	157± 122	142± 96
Pentosidin Follow-up (23,4 Monate)	256± 33	215± 283

Tabelle 4: CML- und Pentosidinwerte in pmol/ml entnommen aus Busch et al. (450)

Ein anderer Calciumantagonist, nämlich Azelnidipin erzielte dafür besser Ergebnisse am Menschen (451). Es reduzierte sRAGE (1967,3±357,0 Baseline vs. 1434,0±277,6pg/ml 6 Monate Follow-up, $p<0,01$) und die AGE-Konzentration im Blut (14,1±2,4 vs. 10,8±2,1U/ml, $p<0,01$). Diese Parameter blieben in der Amlodipin-Gruppe unverändert (sRAGE: 2012,7±269,4 Baseline vs. 2010,7±280,9pg/ml 6 Monate Follow-up. AGE-Konzentration: 14,4±2,1 vs. 14,3±2,1U/ml). Die Proteinurie wurde ebenfalls bei jenen Patienten verbessert ($p<0,01$) und es zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem Grad der Proteinurie und der Menge an AGEs bzw. sRAGE-Werten. Da aber alle Probanden mit ARBs vortherapiert wurden und die Mehrheit eine zusätzliche antihypertensive Behandlung bekamen, bleibt der genaue antiglykämische Effekt des Azelnidpin ausständig. Auch ist die genaue Wirkung auf die AGE/RAGE-Achse nicht bekannt, vermutet wird eine antioxidative Wirkung, sodass dadurch in die AGE/RAGE-Achse eingegriffen wird.

Exaktere Daten zur Anti-AGE-Wirkung liegen dafür zum Nifedipin vor. Nifedipin scheint die AGE/RAGE-Achse nicht bzw. nur kaum über eine AGE-inhibierende Wirkung zu beeinflussen. In der Studie von Miyata et al. (348) konnte es Pentosidin und CML von allen untersuchten Medikamenten, darunter Aminoguanidin, Olmesartan und OPB-9195, am schwächsten blockieren. Seine Anti-AGE-Wirkung scheint Nifedipin vielmehr über die Blockierung der RAGE-Genexpression zu erzielen. Dies geschieht anscheinend entweder

über eine verminderte ROS-Bildung (452) oder über eine gesteigerte Transkription des PPARγ (453). In letztgenannter Studie wurde die ROS-Bildung ebenfalls signifikant supprimiert, was allerdings auch auf die PPARγ-Modulation zurückgeführt wurde. Jene PPARγ-modulierende Eigenschaft scheint die AGE/RAGE-vermittelten inflammatorischen Vorgänge zu drosseln. Jedenfalls zeigten sich reduzierte VCAM-1 mRNA-Werte ($p<0,01$) sowie eine verminderte MCP-1-Produktion ($p<0,01$). In einer weiteren Studie von Matsui et al. (454) wurde zudem die NF-κB-Aktivierung abgeschwächt ($p<0,01$) und die mRNA-Werte für ICAM-1 und TGF-β nahmen ebenso ab ($p<0,01$ jeweils). Diese Ergebnisse führte man wiederum auf die PPARγ-Modulation zurück. Denkbar wäre auch, dass die RAGE-Downregulation des Nifedipin möglicherweise über einen Synergismus der PPARγ-Modulation und ROS-Hemmung stattfindet, anstatt über PPARγ-Modulation mit konsekutiver ROS-Suppression.

9.4.6. Statine

Statine werden aufgrund ihrer antiatherosklerotischen Wirkung nicht nur in der Diabetes mellitus-Therapie gerne eingesetzt. Jene Wirkung kommt durch Inhibition der HMG-CoA zustande, wodurch die endogene Cholesterinsynthese gehemmt wird und die Zellen vermehrt LDL-Cholesterin über LDL-Rezeptoren aus dem Blut aufnehmen. Dadurch wird die LDL-Konzentration gesenkt, ebenso die Triglyzerid-Konzentration, während die HDL-Cholesterin-Werte erhöht werden. Statine sind somit Lipidsenker und besitzen zusätzlich noch eine Plaque-stabilisierende Wirkung (455). Jene Plaque-Stabilisation soll, zumindest bis zu einem gewissen Grad, über einen Eingriff in die AGE/RAGE-Achse geschehen.
Dieser Eingriff geschieht sowohl über eine RAGE-Modulation als auch über eine Verminderung der AGEs. Die RAGE-Modulation besteht hieraus zum einen aus einer Reduktion des RAGE in den atherosklerotischen Plaques, zum anderen aus der Erhöhung des sRAGE. Die RAGE-Downregulation scheint direkt über eine Verminderung der AGEs zu passieren, sodass die Selbsthochregulierung nach Bindung an den RAGE ausbleibt (456). Damit verbunden wurde auch NF-κB-Aktivierung in den atherosklerotischen Plaques durch die Statintherapie signifikant abgeschwächt und es bestand ein inverser Zusammenhang zwischen dem RAGE-Gehalt und dem Prokollagengehalt ($r=-0,41$, $p<0,0001$) bzw. dem Kollagengehalt der Plaques. Die RAGE-Downregulation scheint hauptsächlich nur lokal in den atheromatösen Läsionen stattzufinden und zu einem wesentlichen geringeren Anteil in der umgebenden Gefäßwand (444). Indem RAGE weniger exprimiert wird, werden auch diverse proinflammatorische Moleküle zu einem geringeren Ausmaß transkribiert und produziert, darunter viele, die in der Atherogenese wichtig sind. Der andere Vorgang der RAGE-Modulation wäre die Erhöhung des sRAGE. Bei Patienten, welche eine Hypercholesterinämie besitzen, sind die Werte des sRAGE bereits niedriger als bei Patienten mit einer Normocholesterinämie (457). Allerdings waren die Plasma-sRAGE-Werte für Statin-behandelte Patienten wiederum signifikant höher als für unbehandelte hypercholesterinämische Probanden ($p=0,037$). sRAGE-Werte wiesen auch eine inverse Korrelation für die LDL-Werte ($r=-0,36$, $p=0,005$) und für Totalcholesterin auf ($r=-0,326$, $p=0,011$). Nicht alle Statine scheinen aber gleich gut auf sRAGE zu wirken, denn Pravastatin führte zu keiner signifikanten Reduktion des sRAGE (735 [441-948] vs. 835 [512-868] pg/ml, +1,4±11,7%, $p=0,8$), während für Atorvastatin sehr signifikante Unterschiede gefunden wurden (843 [618-1033] vs. 1026 [952-1255] pg/ml, +41,2±43,6%, $p=0,005$). Jedoch war die Probandenanzahl bei Santilli et al. wiederum recht klein. Atorvastatin scheint aber nicht nur sRAGE, sondern auch einen Subtyp esRAGE zu erhöhen ($p<0,01$), dessen Erhöhung ebenfalls zu einer Verminderung des Serum-LDL führen kann ($r=-0,36$, $p=0,001$) (458). Außer Atorvastatin scheint noch Lovastatin eine sRAGE-Erhöhung zu bewirken, nicht aber ein Erhöhung des esRAGE (459).

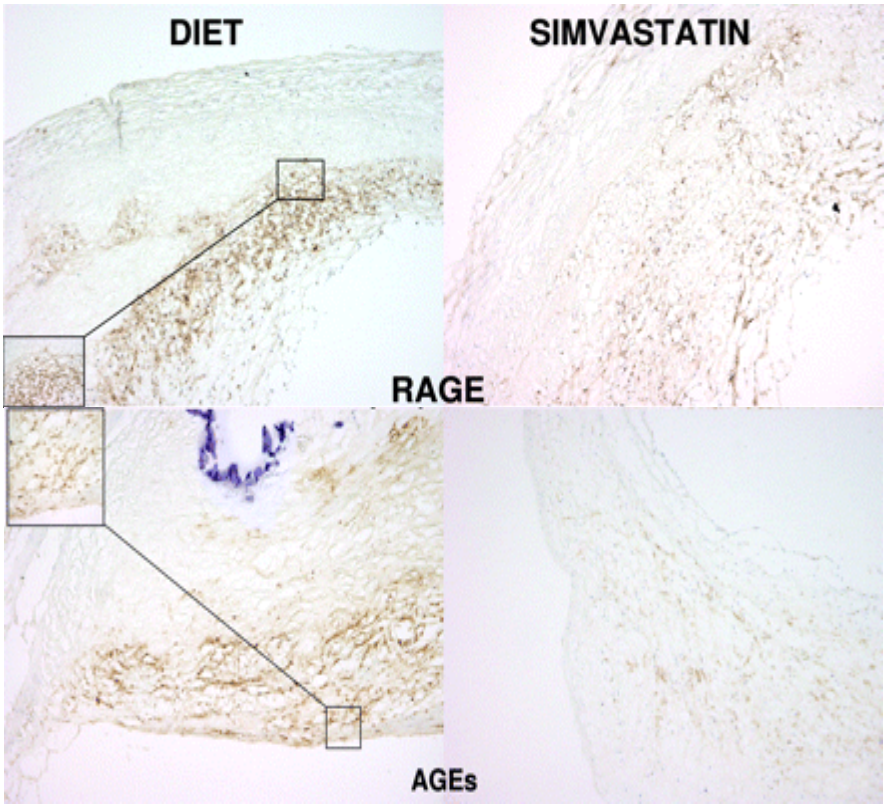

Abbildung 34: Immunhistochemische Markierungen für RAGE und AGEs in atheromatösen Plaques von menschlichen Probanden, die entweder eine diätetische Therapie oder eine Kombination aus diätetischer und Simvastatin-Therapie (40mg täglich) über vier Monate bekamen.
Der eingezeichnete Rahmen gibt eine 40-fache Vergrößerung wieder, die eine RAGE- und AGE-Lokalisation bevorzugt in Makrophagen zeigt. Entnommen aus Cuccurullo et al. (456)

Die RAGE-Downregulation scheint, wie oben erwähnt, über eine AGE-Reduktion zu geschehen und Statine scheinen tatsächlich auch die AGE-Werte im Blut zu senken, was auch am Menschen gezeigt wurde (75,460). Wie dies genau geschieht, bleibt aber auch hier weiterhin ungeklärt. Scharnagl et al. (461) meinten, dass die AGE-Reduktion durch einen cholesterinsenkenden Effekt verursacht wird, Jinnouchi et al. (460) hingegen meinten, dass dies unabhängig zur Cholesterinsenkung sei, dafür eine bisher unbekannte antioxidative Eigenschaft der Statine möglich wäre. Dies könnte insofern plausibel sein, da Statine auch einen Parameter der Oxidation, das 8-Iso-Prostaglandin $F_{2\alpha}$, signifikant senken konnten (457). Erhöhte AGE-Werte scheinen mit einer Plaqueprogression einherzugehen (Odds Ratio 1,21 [95% Konfidenzintervall 1,01-1,48], p=0,044) und Patienten, die eine Plaqueregression zeigten, wiesen niedrige AGE-Basiswerte auf als Patienten mit einer Plaqueprogression (8,4±2,2 vs. 9,4±1,9U/ml, p=0,032) (75). Diese AGE-abhängige Plaqueregression infolge der Statintherapie geschieht aber langsam, denn die signifikante Serum-AGE-Reduktion zeigte keine Korrelation (r=-0,07, p=0,3) zu den Veränderungen der Plaquevolumina während der 8- bis 12-monatigen Studie von Fukushima et al. Die Autoren nahmen daher an, dass eine kurzzeitige Statintherapie nur wenig gegen die atherogenen Effekte der AGEs ausrichten kann. Ob dies tatsächlich der Fall ist, müsste aber in einer länger dauernden Studie geklärt werden. Auch die Tatsache, dass manche Statine, so z.B. das Cerivastatin oder Pravastatin auch AGE-inhibierende und RAGE-modulierende Effekte (462,463) auf die diabetische Retinopathie und Nephropathie besitzen sollen, gälte in weiteren Studien genauer abzuklären.

9.4.7. Weitere Medikamente

9.4.7.1. Acetylsalicylsäure (Aspirin®)

Acetylsalicylsäure gehört zu den ältesten und zugleich bekanntesten Wirkstoffen überhaupt. Es zählt zu den nicht-steroidalen Antirheumatika und wirkt als irreversibler Cyclooxygenase-1- und in höheren Dosen auch als Cyclooxygenase-2-Hemmer. Erste Überlegungen bezüglich einer antiglykämischen Wirkung stammen bereits aus den 80er Jahren. So schütze Aspirin die Linsenproteine vor der Anlagerung durch Galaktose und hemmte dadurch die Kataraktgenese (464). Hierbei scheint die Glutathionreduktase einen wichtigen Stellenwert zu besitzen. Jenes Enzym übernimmt im Polyolweg eine wichtige Abbaufunktion und kann durch eine vermehrte Glykierung in seiner Funktion gehemmt werden (465). Jene daraus resultierende Verminderung des Glutathions konnte durch Aspirin abgeschwächt werden (466). Ein weiterer möglicher Wirkmechanismus wäre über die Acetylierung von Proteinen, wodurch die Blockierung der AGE-Bildung bewirkt werden soll (467). Aspirin scheint nicht nur einen glykationshemmenden Effekt in vitro zu haben, sondern auch am Menschen (468), doch bleibt der genaue Wirkmechanismus dennoch weiterhin ungeklärt. Auch bleibt unklar, ob Aspirin tatsächlich effektiv in die Kataraktgenese eingreifen kann, denn die Ergebnisse diesbezüglich sind widersprüchlich. Am Tiermodell wurde eine Hemmung der Kataraktgenese beschrieben (466), ebenso am Menschen (469), doch letztere Studie war wiederum nicht spezifisch für den Diabetes mellitus ausgelegt. Andere Studien, die eine effektive Wirkung des Aspirin auf den Katarakt nachweisen konnten, sind meist in vivo-Studien an diabetischen Ratten. Mit Aspirintropfen (0,05%) behandelte diabetische Ratten zeigten ein späteres Auftreten einer Linsentrübung und eine langsamere Progression, doch nach acht Wochen wiesen jene behandelten Rattenlinsen den gleichen Trübungsgrad auf, wie die der unbehandelten diabetischen Ratten (470). Die Kombination aus Aspirin- und Carnosintropfen erwies sich als effektiver als Aspirin allein, doch auch für Carnosin gibt es keine offizielle Empfehlung für die Katarakttherapie. Es gibt auch klinische Studien, die keinen oder nur einen geringen Nutzen einer Aspirintherapie beim Katarakt aufzeigen, darunter auch bei diabetischen Patienten (471,472). Darüber hinaus könnte Aspirin als möglicher Schutz vor der diabetischen Retinopathie dienen, denn es hemmte die retinalen Veränderungen im Tiermodell signifikant, ohne aber die AGEs signifikant zu reduzieren (244). Jedoch wurden nur extraokuläre AGE-Ablagerungen gemessen, keine intraokuläre bzw. retinale Ablagerungen.

9.4.7.2. Pentoxifyllin

Pentoxifyllin ist ein Xanthinderivat, welches bereits in der pAVK und deren trophische Läsionen eingesetzt wird. Es besitzt neben einer rheologischen auch eine antiinflammatorische Wirkung, darunter eine TNF-α-Blockierung (473). Die TNF-α-Blockierung scheint durch Pentoxifyllin über Hemmung der AGE-induzierten TNF-α-Blockierung zu geschehen (474). Wu et al. (475) gehen ebenfalls davon aus, dass die AGE/RAGE-Blockierung durch Pentoxifyllin zur TNF-α-Verminderung führt. Dass Pentoxifyllin zumindest die AGE-Bildung und -Vernetzung tatsächlich hemmen kann, wurde bereits recht früh gezeigt (373). Nur über welchen Mechanismus ist bisher unklar und auch ob es am Menschen reproduzierbare Ergebnisse vorweisen kann.

9.4.7.3. Sevelamer

Sevelamer, ein Phosphatbinder, scheint einen neuen Wirkmechanismus im Vergleich zu den anderen beschriebenen Medikamenten zu besitzen. Die AGE-Reduktion soll über eine Blockierung der intestinalen Resorption der mit der Nahrung aufgenommenen AGEs passieren, so Vlassara et al. (476). In deren Studie erwies sich das Sevelamer nicht nur effektiv gegen CML und MG ($p<0,05$ jeweils), sondern auch auf das HbA_{1c}, Blutfette und auf proinflammatorische Marker wie das TNF-α ($p<0,05$ jeweils). Allerdings wies jene Studie nur

eine kurze Studiendauer von zwei Monaten und eine geringe Probandenanzahl von nur 20 Personen auf. Zudem hatten die meisten eine antidiabetische oder antihypertensive Begleittherapie, darunter mit Medikamenten, die ebenfalls eine glykationshemmende Wirkung haben, wie z.B. Metformin, Pioglitazon oder Aspirin.

9.4.7.4. N-Acetyl-Cystein

N-Acetyl-Cystein wird primär als Mukolytikum und als Antidot verwendet. Auf den ersten Blick mag jenes nicht viel mit AGE/RAGE zu tun haben, ebenso wenig mit Diabetes mellitus. Doch N-Acetyl-Cystein kann auch in die Aminosäure Cystein umgewandelt werden, welche wiederum in das Glutathion überführt werden kann und somit antioxidative Effekte besitzt. Aufgrund jenes Wirkmechanismus wird N-Acetyl-Cystein auch bei einer Paracetamolvergiftung eingesetzt (477). Daneben besitzt die Thiolgruppe des N-Acetyl-Cystein antioxidative Eigenschaften und wahrscheinlich über jene kann N-Acetyl-Cystein auch seine glykationshemmende Wirkungen ausüben (478). Die AGE-inhibierende Eigenschaft war zwar signifikant, doch scheint N-Acetyl-Cystein ein eher schwächerer AGE-Hemmer zu sein.

9.4.7.5. α-Liponsäure

α-Liponsäure gilt als Coenyzm, welches bei oxidativen Carboxylierungen wichtig ist. Es kommt zwar auch in manchen Lebensmitteln vor, vor allem im Fleisch, da es aber auch als Medikament vertrieben wird, soll es hier besprochen werden. α-Liponsäure wird wegen seiner antioxidativen Fähigkeiten zur Behandlung der diabetischen Neuropathie verwendet bzw. von Patienten genommen, da es in manchen Ländern auch als frei erwerbbares Nahrungsergänzungsmittel gilt. Die α-Liponsäure mag zwar AGE-senkend sein, man weiß aber den genauen Wirkmechanismus noch nicht ganz. Sie besitzt jedenfalls ROS-Scavenger-Eigenschaften und kann den Gehalt an Vitamin C, E und GSH erhöhen, indem es diese Stoffe wieder in ihre aktive Form zurückführt (479). In klinischen Studien wurde eine neuroprotektive Wirkung ebenfalls nachgewiesen, darunter in den drei ALADIN-Studien, welche randomisiert, doppelblind, placebokontrolliert waren, ebenso wie die DEKAN-Studie. Bei letzterer wurden Auswirkungen einer α-Liponsäure-Therapie (800mg p.o.) bei diabetischen Patienten mit kardialer autonomer Neuropathie beschrieben. Hierbei wurden diverse Parameter der Herzfrequenzvariabilität durch α-Liponsäure nach 4 Monaten verbessert ($p<0,05$) (480). Die α-Liponsäure-Therapie wurde auch gut vertragen. Die ALADIN-Studie (481) zeigte an 328 Probanden, dass eine i.v. Gabe von 1200mg bzw. 600mg α-Liponsäure neuropathische Beschwerden im Fuß, wie Brennen, Schmerz, Taubheit und Parästhesien, die mittels Symptomenscores bewertet wurden, zu Placebogruppe signifikant verbesserte (1200mg α-Liponsäure vs. Placebo $p=0,003$; 600mg α-Liponsäure vs. Placebo $p<0,001$). Auch hier wurde die α-Liponsäure von den Patienten gut vertragen. Die ALADIN II-Studie, die an Typ 1 und 2 Diabetiker ($n=65$) über 2 Jahre durchgeführt wurde und als Parameter auch neurophysiologische Untersuchungsmethoden beinhaltete, wie z.B. die sensorische und motorische Nervenleitgeschwindigkeit, zeigte Verbesserungen der beiden Nervenleitgeschwindigkeiten ($p<0,05$) sowie des sensiblen Nervenaktionspotenzial des Nervus suralis ($p<0,05$) durch eine α-Liponsäure-Therapie mit 1200mg bzw. 600mg (482). Die ALADIN III-Studie (483) gab aber die günstigen Ergebnisse nicht wieder. Hier wurden die Probanden ($n=509$) in drei Gruppen aufgeteilt, die entweder nur Placebo bekamen oder für 3 Wochen 600mg α-Liponsäure i.v. täglich gefolgt von 6 Monaten 1800mg α-Liponsäure p.o. täglich oder eine 3-wöchige 600mg α-Liponsäure-Infusion täglich mit anschließender 6-monatiger p.o. Placebo-Behandlung. Eine 3-wöchige Infusionsbehandlung verbesserte zwar die Werte des Total Symptom Score, allerdings nur jene, die in einer Post-hoc-Analyse mittels der Area under the curve ermittelt wurden. Die nachfolgende 6-monatige Behandlung verbesserte neuropathischen Beschwerden, wie Taubheit, Brennen und Schmerzen, zur Placebogruppe nicht signifikant. Der Neuropathy Impairment Score schien eine leichte

Verbesserung in der Gruppe, die eine 3-wöchige Infusion mit anschließender 6-monatiger oralen α-Liponsäure-Behandlung bekamen, zu erzielen, welche aber knapp nicht die Signifikanz erreichte (p=0,09). Die Autoren führten diese Resultate auf die Schwankungen bei der Syptomenscore-Erhebung zurück und schlugen daher vor, dass Langzeitstudien, die weniger Augenmerk auf solche Scores legen, nötig sind, um die Effizienz der α-Liponsäure auf die diabetische Neuropathie besser zu beurteilen.
Studien, die zusätzliche Veränderungen auf die AGEs nachwiesen konnten, liegen hingegen zu anderen Vorgängen vor. So z.B. führte eine Zugabe von α-Liponsäure in vitro zu einer Reduktion der AGE-vermittelten NF-κB-Aktivierung, womit in weiterer Folge die Expression des Endothelin-1 und Tissue factors gehemmt wurde. Die Endothelfunktion wurde weiterhin verbessert, da α-Liponsäure die AGE-vermittelte Verringerung an Glutathion und Vitamin C verhindern konnte (484). Bei Ratten, welche eine 10%-Glukoselösung über 4 Wochen bekamen, erzielte α-Liponsäure eine Reduktion des Blutdrucks mit gleichzeitiger Abnahme der abgelagerten AGEs in der Aorta. Auch metabolische Veränderungen konnten in der Studie von Midaoui et al. (485) verbessert werden, so z.B. die Hyperinsulinämie und die Insulinresistenz. An Zucker-Ratten konnte die Insulinresistenz hingegen nur in Kombination mit Pyridoxamin signifikant verbessert werden, aber nicht alleinig (486). An Diabetikern erwies sich hingegen die Kombination aus Liponsäure (800mg) und Pyridoxin (80mg) als renoprotektiv mit Verbesserung der Albuminurie und senkte die Serum-Werte für MDA, CML und Pentosidin ($p<0,05$) (487). Vergleichbare weitere Daten oder klinische mit alleiniger Gabe von α-Liponsäure liegen aber nicht vor.

9.5. Ernährung & Phytotherapie

Außer den bisher beschriebenen Wirkstoffen und Medikamenten, gibt es noch weitere Therapieoptionen, die in der Lage sind die AGE-Menge im Körper zu senken. Dazu zählen die Ernährung sowie Ansätze aus der Phytopharmazie.

9.5.1. Ernährung

Dass die Ernährung für den Diabetiker einen entscheidenden Faktor darstellt und wichtigen Einfluss in der Primär- wie auch Sekundär- und Tertiärprävention hat, ist unbestritten. Auch in puncto Beeinflussbarkeit auf die AGE-Konzentration liegen Daten vor, die einen Zusammenhang zwischen den diabetischen Komplikationen und einer AGE-armen Ernährung zeigen konnten. Wie anfangs erwähnt, besitzen protein- und fettreiche Lebensmittel eine große Menge an AGEs und auch die Zubereitungsart ist von enormer Bedeutung. Lebensmittel mit viel Fett besaßen in der Studie von Goldberg et al. (488) durchschnittlich 100±19kU AGEs pro Gramm des Lebensmittels, während kohlenhydratreiche Nahrungsmittel nur 3,4±1,8kU AGEs/g hatten. Fleisch rangierte zwischen den beiden mit 43±7kU/g. Gegrillte und frittierte Lebensmittel wiesen zudem eine höhere Anzahl an AGEs als die gekochte Zubereitungsart. Bei Koschinsky et al. (489) wurde auch eine proportionale Korrelation zwischen der AGE-reichen Ernährung und einer Erhöhung der Serum-AGE-Werte gefunden ($r=0,8$, $p<0,05$). Der Uringehalt an AGEs nahm ebenfalls durch die AGE-reiche Ernährung zu und eine weitere Erkenntnis dieser Studie war, dass die Erhöhung der Serum-AGE-Werte bei Diabetikern mit einer Nephropathie erst verzögert sank. Während bei gesunden Probanden die Serum-AGEs nach ca. 18-20 Stunden wieder normale Werte aufwiesen, hatten Diabetiker mit einer schweren Nierenfunktionseinschränkung nach 48 Stunden immer noch erhöhte AGE-Werte im Serum. Ca. 10% der über die Nahrung aufgenommen AGEs werden über den Darm absorbiert, wovon ca. 2/3 im Gewebe abgelagert und pathologische Vorgänge aktivieren können.
Um die Auswirkungen am Menschen zu untersuchen wurden deswegen auch Studien mit AGE-reicher Ernährung durchgeführt. So ging eine AGE-reiche Kost bei Negrean et al. (490) im Vergleich zu einer AGE-armen Kost mit einer 1,5-fachen Verschlechterung der

makrovaskulären Funktion einher, welche über die flussvermittelte Vasodilatation gemessen wurde, während die mikrovaskuläre Funktion mit einer dreifachen Verschlechterung einher ging, welche mittels Laser-Doppler-Technik und der reaktiven Hyperämie gemessen wurde. Zugleich stiegen Marker der endothelialen Dysfunktion in der Gruppe mit AGE-reicher Ernährung signifikant an, so z.B. für E-Selectin, VCAM-1 und ICAM-1. Die makrovaskuläre Funktion wurde auch in einer weiteren Studie, hier durch ein AGE-modifiziertes β-Lactoglobulin-Getränk, verschlechtert. Die Dysfunktion der kleinen Gefäße blieb aber unverändert (491). Diese zwei klinischen Studien wurden an Typ 2 Diabetikern geführt. In einer weiteren klinischen Studie mit gesunden Probanden hatte eine AGE-arme Ernährung hingegen keine Vorteile zu einer AGE-reichen Kost und konnte die Gefäßsituation nicht signifikant verbessern bzw. Marker der Endotheldysfunktion senken (492). In dieser Studie führten die Autoren jedoch an, dass der AGE-Gehalt der Nahrungsmittel nicht mit der Goldstandard-Methode, der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, gemessen wurde, sodass dies eine Limitierung darstelle.
Auch zu weiteren Komplikationen des Diabetes mellitus liegen klinische Daten zur AGE-armen Ernährung vor. Die Insulinresistenz, die den Hauptfaktor in der Entstehung des Typ 2 Diabetes mellitus darstellt, konnte bei Uribarri et al. (493) durch eine AGE-arme Kost (<10000kU/Tag) reduziert werden (HOMA-Index der diabetischen Patienten vor der Ernährung 5,3±0,4 vs. HOMA-Index nach der 4-monatigen AGE-armen Kost 3,4±0,6, p=0,023). Auch wurden die Werte für das Plasma-Insulin verbessert (p=0,001). Diabetiker mit einer Standard-AGE-Ernährung (>20000kU/Tag) wiesen hingegen einen erhöhten HOMA-Index auf (4,5±1,2 vs. 6,2±0,5 nach der Ernährung, p=0,393) sowie erhöhte Insulinspiegel, welche aber ebenfalls nicht signifikant erhöht waren. Eine Reduktion des HbA_{1c} oder des Blutzuckers wurde durch die AGE-arme Ernährung nicht erreicht. Bei Gesunden blieben alle eben beschriebenen Parameter durch eine AGE-arme bzw. Standard-AGE-Ernährung ebenfalls recht konstant und zeigten keine signifikanten Unterschiede.
Weiterhin liegen Daten mit einzelnen Lebensmitteln vor, für die eine AGE-senkende Wirkung aufgrund der darin enthaltenen Substanzen beschrieben wurde sowie für solche Nahrungsmittel, bei denen der AGE-Gehalt gemessen wurde. Tabelle 5 gibt eine kleine Übersicht, die zeigt, welche Nahrungsmittel die AGE-Menge verändern können. Tabelle 6 zeigt den AGE-Gehalt einzelner Lebensmittel.

Abbildung 35: Auswahl an Obst-, Gemüse und Gewürzsorten für die eine AGE-inhibierende Wirkung beschrieben wurde.

Tabelle 5: Nahrungsmittel, für die glykationshemmende Effekte beschrieben wurden

Nahrungsmittel	Studienmodell	Effekt
Bing-Kirsche (Kultivar der *Prunus avium*)	Klinische Studie	RAGE, PAI-1, CRP & Endothelin-1 ↓ (494)
Sojabohne	Klinische Studie	Oxidativ veränderte Proteine bei Frauen ↓, nicht aber bei Männern, bei Männern Lipidperoxidation ↑, AGE-Fluoreszenz unverändert (495)
Grüner Tee	In vitro, klinische Studie	AGE-Fluoreszenz ↓, Proteincarbonyle ↓ (496) sRAGE und cRAGE ↑, esRAGE ↓ (497)
Rooibos Tee	In vivo an STZ-Ratten	AGE-Plasma-Werte ↓ (498)
Zwiebel Sternanis Gewürznelken Rosmarin Oregano	In vitro	Allgemein glykationshemmend und antioxidativ (499)
Knoblauch	In vitro und in vivo an STZ-Ratten	LDL-Oxidation und -Glykation ↓ (500) Blutzucker und HbA_{1c} ↓, Vorgänge der frühen Maillardreaktion ↓, Verbesserung der diabetischen Nephropathie (501)
Ingwer	In vitro	AGE-Inhibierung, antioxidativ wirksam (502)
Zimt	In vitro und in vivo an STZ-Ratten	Apo A1-Glykation ↓ (503) AGE-Ablagerung & RAGE-Expression in der Niere ↓, Albuminurie ↓ (504)
Tomate	In vitro	AGEs ↓ (505)
Nashi-Birne	In vitro	Allgemein glykationshemmend und antioxidativ (499)
Granatapfel	In vitro	Allgemeine AGE-Inhibition durch Carbonyl-Scavenger-Eigenschaft (506)
Cranberry	In vitro	Glykationshemmend und HbA_{1c} ↓ (507)
Apfel Orange Zitrone	In vitro	AGE-Fluoreszenz ↓, keine Reduktion der Proteincarbonyle (496)

Tabelle 6: Lebensmittel und ihre AGE-Last (basierend auf dem CML-Gehalt der einzelnen Lebensmittel). Entnommen aus Uribarri et al. (62)

Nahrungsmittelprodukt	AGE kU/100g	Nahrungsmittelprodukt	AGE kU/100g
Rindfleisch, roh	707	Eidotter	1193
Rindfleisch, gebraten	6071	Spiegelei	2749
Rindfleisch, gedünstet (mittel)	2443	Vollmilch, 4% Fett	5
Hühnerbrust, roh, ohne Haut	769	Milch, laktose- und fettfrei (von Mc Neil Nutritionals)	10
Hühnerfleisch, gekocht (1h)	1123	Kakao, vorbereitet (von ConAgra Foods)	262
Hühnerkeule, gebraten	4650	Orangensaft, frisch gepresst	0
Putenhackfleisch, roh	4957	Orangensaft	6
Putenbrust, gebraten	4669	Apfelsaft	2
Speck, vom Schwein, 5 Minuten gebraten ohne Öl	91577	Hühnersuppe	1,2
Schinken, geräuchert	2349	Wein, Grauburgunder (von Cavit Collection)	32,8
Schweinekotelett, in Balsamico-Essig mariniert	1188	Wein, Spätburgunder (von Cavit Collection)	11,2
Leberwurst (von Boar's Head)	633	Budweiser Bier (von Anheuser-Busch)	1,2
Kalbfleisch, gedünstet	2858	Coca Cola, klassisch (von The Coca Cola Company)	2,8
Lammkeule, roh	826	Coca Cola light (von Coca Cola Company)	1,2
Lammkeule, 30 Minuten gekocht	1218	Pepsi (von PepsiCo)	2,4
Lachs, roh	528	Pepsi light (von PepsiCo)	2,8
Lachsfilet, in der Mikrowelle aufgewärmt	912	Sprite (von The Coca Cola Company)	1,6
Lachsfilet, gegrillt	3347	Kaffee, gefiltert	1,6
Shrimps, roh mariniert	1003	Kaffee mit Zucker	7,6
Shrimps, paniert, frittiert (von einem Schnellimbiss)	4328	Kaffee mit Milch	6,8
Forelle, roh	783	Tee, Apfel (von RC Bigelow)	0,4
Forelle, gebacken 25 Minuten	2138	Vodka, Smirnoff 40% (von Diageo)	0
Tunfisch, frisch, gebacken, 25 Minuten	919	Whiskey, Dewar's White Label, 40% (von Dewar's)	0,4
Tunfisch, gegrillt, mit Sojasoße, 10 Minuten	5113	Avocado	1577
Big Mac (von Mc Donald's)	7801	Kartoffel, gekocht 25 Minuten	17
Cheeseburger (von Mc Donald's	3402	Apfel (Sorte McIntosh)	13
Pommes Frittes (von Mc Donald's)	1522	Banane	9

Pommes Frittes, hausgemacht	694	Gurke	31
Macaroni und Käse (von der Mount Sinai Hospital Cafeteria)	2728	Tomate	23
Tofu, roh	788	Karotte (aus der Dose)	10
Pasta, 8 Minuten gekocht	112	Zwiebel	36
Pasta, 12 Minuten gekocht	242	Feige, getrocknet	2663
Pizza, mit dünner Rinde	6825	Rosine	120
Sandwich, getoastet mit Käse	4333	Kidneybohnen, rot, roh	116
Pudding, mit Magermilch und Schokolade	1	Cashew-Nüsse, geröstet	9807
Joghurt, Vanille (von Danone)	3	Erdnüsse, geröstet, ungesalzen (von Planters)	6447
Popcorn, in der Mikrowelle zubereitet, fettfrei und kein Fett hinzugefügt (von General Mills)	33	Butter (von der Mount Sinai Hospital Cafeteria)	26480
Kartoffelchips (von Frito Lay)	2883	Margarine	17520
Snickers-Riegel (Nestlé)	263	Olivenöl	11900
Oreo-Kekse (von Nabisco)	1770	Sesamöl (von Asian Gourmet)	21680
Pfannkuchen, hausgemacht	973	Maiskeimöl	2400
Croissant, Butter (von Starbucks)	1113	American Cheese, weniger Fett (von Kraft)	4040
Donut, Schokoladenglasur, mit Creme gefüllt (von Krsipy Kreme)	1803	Parmesan, gerieben (von Kraft)	16900
Honig	7	Emmentalerkäse (Nordamerikanische Variante), (von der Mount Sinai Hospital Cafeteria)	4470
Mayonnaise	9400	Reis, weiß, 10 Minuten gekocht	9
Mayonnaise-Imitat (von Diet Source, Novartis Nutrition Group)	200	Kornflakes (von Kellogg's)	233
Ketchup	13,33	Haferflocken, getrocknet (von Quaker Oats)	13
Senf	0	100%-Vollkornbrot (von Wonder)	53
Sojasauce	60	Vollkornbrot, geschnitten (von Rockland Bakery)	103
Eiweiß	43	Weißbrot, geschnitten (von Rockland Bakery)	83

Für einige Stoffe, die in Nahrungsmitteln enthalten sind, wurde eine Anti-AGE-Wirkung beschrieben. Daneben gibt es weitere natürliche Substanzen, die ebenfalls eine glykationshemmende Wirkung besitzen. Zu jenen gehören Polyphenole, Vitamine und Aminosäuren.

9.5.1.1. Polyphenole

Polyphenole sind hauptsächlich sekundäre Pflanzenstoffe und kommen, je nach Pflanze, in den Blättern, Früchten oder in der Rinde vor. Man kann Polyphenole aber auch synthetisch herstellen. Wie der Name schon sagt, bestehen Polyphenole aus mehreren Phenolringen und sind aromatische Verbindungen. Die Gruppe der Polyphenole umfasst mehrere tausende einzelne Substanzen. Den Pflanzen dienen sie als Signal- oder Farbstoffe sowie auch als Phytoalexin. Der Mensch profitiert, neben der Funktion als Geschmackstoff, vor allem von ihren antioxidativen Eigenschaften. Diverse Früchte, Teesorten und Gewürze sind bekannt dafür, dass sie Polyphenole enthalten. Diese und andere Pflanzenteile bzw. -zubereitungen werden, vor allem im asiatischen Bereich, gerne alternativtherapeutisch für unterschiedliche Krankheiten genutzt. Polyphenole und Gemische daraus werden zudem auch als Nahrungsergänzungsmittel verkauft, da sie gesundheitsfördernde Effekte besitzen sollen. Für einige Polyphenole wurde auch ein AGE-senkender Effekt nachgewiesen. Dieser geschieht auf unterschiedliche Art. Manche Polyphenole, wie Theaflavine und das Epigallocatechingallat sind Carbonyl-Scavenger (508), ebenso wie das Phloretin oder das Phlorizin (509). Andere Polyphenole, wie Quercetin, Myricetin, Procyanidine oder Rutin sollen chelatische Eigenschaften besitzen (510), während wiederum andere Polyphenole, wie Apigenin und Diosmentin (511), hingegen als Radikalfänger vor ROS wirken sollen. Für Resveratrol ist die genaue Wirkweise unklar. Da es aber ein Stilbenoid ist, vermag es unter Umständen als Carbonyl-Scavenger zu wirken, genauso wie das 2,3,5,4‘-Tetrahydroxystilben-2-O-β-D-Glucosid, welches ebenfalls zu den Stilbenoiden gehört (512).
Polyphenolen wird eine antiatherogene Wirkung nachgesagt, welche am Menschen sogar klinisch validiert wurde (513). Dieser Effekt könnte, zumindest teilweise, auch durch die AGE-Inhibition vermittelt werden. In vitro zeigten Polyphenole aus Grüntee, dass sie die AGE-induzierte Proliferation von glatten Muskelzellen reduzieren (514). Ähnliche Resultate liegen auch für das Procyanidin B2 in vitro (515) und Resveratrol in vivo vor (516). In letzterer Studie nahmen nicht nur die Mediadicke und der Kollagengehalt durch Resveratrol ab ($p<0,05$), sondern auch der Gehalt an abgelagerten AGEs bzw. an Plasma-MDA ($p<0,05$ jeweils) sowie die Menge an RAGE und NF-κB ($p<0,05$ jeweils). Resveratrol schien zudem die Dyslipidämie und die Hyperglykämie signifikant zu verbessern und antihypertensive Wirkung zu besitzen (178,3±5,2mmHg systol. RR diabetische Ratten vs. 152,3±9,8mmHg systol. RR behandelte diabetische Ratten, $p<0,05$). Lipid- und blutzuckersenkende Wirkung zeigte Resveratrol auch am Typ 2-diabetischen Tiermodell (517). Die blutzuckersenkenden Effekte soll jenes Stilbenoid über eine vermehrte Glukose-Aufnahme, welches über den GLUT4-Rezeptor geschieht, bewirken sowie, indem es die Beta-Zellen des Pankreas vor AGE-induzierten oxidativen Stress und nachfolgender Apoptose schützt. Ein weiterer antiatherogener Vorgang wurde für Quercetin, Rutin und ein paar andere Polyphenole beschrieben, indem diese in vitro LDL vor dessen Glykation und Oxidation schützte (518).
Weitere günstige Auswirkungen zeigten Polyphenole in der diabetischen Nephropathie am Tiermodell. Flavonglykoside schienen sich günstig auf die Proteinurie und auf den Albumin/Kreatininquotienten auszuwirken und den Podozytenverlust in vitro signifikant abzuschwächen (519). Sie sorgten aber für keinen Rückgang der CML-Serumwerte oder der Plasmaglukose. Epigallocatechingallat-Gabe senkte hingegen die erhöhten Werte für Blutzucker sowie abgelagerte renale AGEs dosisabhängig signifikant, allerdings blieben jene Werte, verglichen zur nicht diabetischen Gruppe, weiterhin erhöht ($p<0,001$ vs. normale Ratten). Nierenparameter, wie das Serum-Kreatinin und die Proteinurie, zeigten durch die

Höchstdosis Epigallocatechingallat eine Reduktion ($p<0,001$ vs. diabetische Ratten), jedoch nur die Proteinurie war, verglichen zur nicht diabetischen Gruppe, durch die Höchstdosis nicht mehr signifikant erhöht (520). Renoprotektive Effekte fand man auch für das Procyanidin B2 präklinisch (504). Darüber hinaus liegen Ergebnisse vor, die zeigen, dass sich Polyphenole auch günstig auf den grauen Star (521), auf den Morbus Alzheimer (522) sowie auf die Osteoarthritis auswirken (523).

9.5.1.2. Vitamin C und E

Vitamin C, Ascorbinsäure, ist ein wasserlösliches Vitamin, welches für seine antioxidativen Wirkungen bekannt ist. Ebenfalls als ein Antioxidans, allerdings als ein fettlösliches, gilt das Vitamin E, zu dem Tocopherole und Tocotrienole zählen. Vitamin C scheint wahrscheinlich als Reduktionsmittel glykationshemmend zu wirken, jedoch liegen Studien dazu nicht vor. Vitamin E fungiert als Radikalfänger der ROS. Da Vitamin E fettlöslich ist, wäre es zudem möglich, dass Vitamin E effektiver vor AGEs und deren Präkursoren schützt, welche vorwiegend über die Lipidperoxidation entstehen. Die MDA-Entstehung konnte jedenfalls durch Vitamin E effektiv blockiert werden (524).
Ascorbinsäure konnte in vitro menschliche Perizyten vor der hyperglykämen Apoptose bewahren, welche in jener Studie RAGE-vermittelt geschah. Die Aktivierung des RAGE führte hierbei u.a. auch zum Mangel an intrazellulären Ascorbat und GSH und damit zur Erhöhung des oxidativen Stresses, welcher den Zelluntergang verstärkte. Eine Zugabe von Ascorbinsäure konnte jedenfalls die RAGE-vermittelte Apoptose signifikant hemmen (525). Hingegen förderte Vitamin C wiederum die AGE-Bildung in vitro und erhöhte den Gehalt an reaktiven Carbonylen, Pentosidin und CML (526). Vitamin E zeigte an in vitro Studien, dass es vor den AGE-vermittelten Vorgängen schützen kann, aber nicht bei allen. Auf die Endothelzellen wirkte Vitamin E antiproliferativ ($p<0,05$) (527) und in der Studie von Mamputu et al. (425) hemmte es bei bovinen retinalen Endothelzellen die AGE-induzierte erhöhten VEGF-Expression signifikant. In vivo an Goto-Kakizaki-Ratten reduzierte eine Kombinationstherapie aus Vitamin C und E die azellulären Kapillaren (3,3±0,4/mm² Retina vs. 6,4±0,5/mm² Retina, $p<0,05$). Diese Vitaminkombination bewirkte auch eine Reduktion der AGE-Ablagerungen in der Retina und in den retinalen Blutgefäßen, hatte aber auf die Perizytendegeneration keine Auswirkungen (528). Hier wäre es interessant zu wissen, ob die einzelnen Vitamine ähnlich gute morphologische Veränderungen bewirken können anstatt der Kombination. Neuronal betrachtet schützte Vitamin E hingegen nicht effektiv vor der Neuritendegeneration (529), dafür wirkte es antiatherosklerotisch, indem es, trotz Erhöhung des LDL, die Oxidierbarkeit des LDL senkte (530). Allerdings beeinflusste eine Vitamin E-Supplementierung nicht die Glykierung des LDL oder anderer Stoffe, wie des Albumins oder des Hämoglobins. Glykationshemmend war eine α-Tocopherol-Supplementierung in der Studie von Jain et al. (531), wo diese zur Senkung des HbA_{1c} führte (11,5±0,4 Vitamin E vs. 12,8±0,9% ohne Vitamin E, $p<0,05$).

9.5.1.3. Weitere natürliche Stoffe

Jene genannten weiteren Substanzen sind recht heterogen in Bezug auf ihre Substanzklasse. Taurin ist eine Aminosulfonsäure, zu jener jedoch bisher eher wenige Daten bezüglich glykationshemmender Effekte vorliegen. Taurin übt seine Anti-AGE-Wirkung sowohl als Carbonyl-Scavenger (532) als auch als ROS-Inhibitor aus (533). Zu jenen vorhandenen Studien gibt es Resultate, die dem Taurin präventive Eigenschaften gegen den Katarakt (532) sowie gegen die Nephropathie zusprechen (534). In letzterer Studie konnte Taurin die profibrotischen Vorgänge und die renale tubuläre Hypertrophie signifikant reduzieren. Bei Ratten erwies sich Taurin als blutzuckersenkend und verhinderte die Glykierung des Hämoglobins sowie weiterer Proteine ($p<0,05$ jeweils) (535).
Zitronensäure ist eine Carbonsäure. Sie scheint als Metall-Chelator zu wirken und zeigte an STZ-Ratten ebenfalls günstige Effekte in Bezug auf Katarakt und Nephropathie, nicht aber

auf den Blutzuckergehalt (536). Die Hemmung der Kataraktprogression ging mit einer signifikanten Verminderung des CEL- und CML-Gehaltes in der Linse einher und die 24-h Proteinurie sowie Albuminurie wurde nach 27-wöchiger Behandlung gesenkt ($p<0,05$).
Kinetin (N-6-Furfuryladenin), ein Zytokinin und Phytohormon (537), welches in Kosmetika zur Anti-Aging-Therapie auch verwendet wird, besaß in vitro AGE-inhibierende Effekte (538).
L-Carnitin ist ein Dipeptid, welches aus Methionin und Lysin besteht. Ähnlich wie das Carnosin, kommt Carnitin ebenfalls in großen Mengen im Fleisch vor. Da L-Carnitin im Fettsäuremetabolismus eine wichtige Funktion übernimmt, wird es gerne zur Gewichtsreduktion als Nahrungsergänzungsmittel eingenommen. Eine weitere Gemeinsamkeit zum Carnosin ist die Fähigkeit AGEs zu hemmen. Es ist, zumindest teilweise, in der Lage mit freien Metallionen Komplexe zu bilden und wirkt somit als Metallchelator (539). Die AGE-Inhibition wurde sowohl präklinisch (540) als auch an Hämodialysepatienten (541) nachgewiesen. Mittels AGE-Reader wurde die Hautfluoreszenz gemessen, die bei den L-Carnitin behandelten Patienten signifikant niedriger war.

9.5.1.4. Ernährungsweisen

Viele Substanzen, die eine glykationshemmende Wirkung zeigen, kommen auch im Fleisch vor, darunter z.B. das Carnosin, L-Carnitin oder auch die α-Liponsäure. Die Überlegung, ob sich eine fleischreiche Diät bezüglich der AGE-Menge im Körper als vorteilhaft erweist bzw. eine vegetarische Diät als nachteilig, ist daher durchaus angebracht. Allerdings ist die Datenlage mehr als knapp bemessen und sehr uneinig (542). Sebeková et al. (543) kamen in ihrer Studie zum Ergebnis, dass die Ernährungsweise von gesunden Veganern, Lactoovo-Vegetariern und Semi-Vegetariern mit signifikant höheren Werten für AGEs verbunden war als die von gesunden Menschen mit einer omnivoren Ernährung. In einer weiteren Studie von Sebeková et al. (544) war die AGE-Menge im Plasma von Vegetariern nur etwas höher als im Plasma von Menschen, die auch Fleisch aßen, allerdings nicht signifikant. Fleischkonsumenten nahmen hingegen mehr Fett, gesättigte Fettsäuren und Proteine zu sich, ebenso war die Kalorienmenge höher als bei Vegetariern, während die Vitamin C und β-Carotin Werte wiederum erniedrigt waren. Beide Studien wurden an gesunden Probanden durchgeführt. Daten zu diabetischen Patienten fehlen bislang. Und auch die bisherigen Resultate sollte man mit Vorsicht behandeln. So mag eine vegetarische Diät mit erhöhten AGE-Werten verbunden sein, aber gleichzeitig war der Gehalt an Antioxidantien bei Vegetariern höher. Somit ist es gut möglich, dass die erhöhten Werte der AGEs durch die erhöhten Antioxidantien ausgeglichen und deren pathologischen Effekte somit neutralisiert werden. Außerdem kann die erniedrigte AGE-Menge der Fleischesser möglicherweise dadurch zustande kommen, dass nach einer proteinreichen Nahrung die GFR ansteigt und so die AGE vermehrt ausgeschieden werden (545). Bevor man somit behaupten kann, dass sich ein vegetarischer Lebensstil als unvorteilhaft bezüglich der AGE-Menge im Körper erweist, müsse man weitere Studien durchführen, vor allem in Bezug auf die mögliche Neutralisierung der erhöhten AGEs und erhöhten Antioxidantien, des Messbias der GFR und der Studiendauer. In der Studie von Rizzo et al. (546) ging jedenfalls eine vegetarische Diät, verglichen zu nicht vegetarischen, mit einem geringen Risiko einher, ein metabolisches Syndrom zu entwickeln (Odds Ratio 0,44, $p<0,001$).

9.5.2. Phytotherapie

Pflanzliche Arzneimittel werden bei vielen verschiedenen Krankheiten eingesetzt und die Behandlung einer Erkrankung mit Pflanzen und Pflanzenteilen ist eine der ältesten Therapieformen. Nicht verwunderlich, dass Ärzte und auch Patienten, mit selbsttherapeutischen Tendenzen, gerne auf Arzneien pflanzlichen Ursprungs zurückgreifen, vor allem bei leichten Beschwerden. So auch bei den diabetischen Folgeerkrankungen. Manche Pflanzen, die als Phytopharmaka genutzt werden können, scheinen zudem einen

gewissen AGE-senkenden Effekt aufzuweisen, der in Studien nachgewiesen wurde. Viele dieser Pflanzen stammen aus dem Gebiet der asiatischen Pflanzenheilkunde und bei ein paar konnte man die enthaltene Substanz als AGE-senkendes Agens bestimmen.
Daten bezüglich einer glykationshemmenden Wirkung liegen zu diversen Pflanzen und deren Extrakten vor, die aus diversen Pflanzenteilen, wie der Rinde oder den Wurzeln gewonnen wurden. Mitunter wurden sie auch am Tiermodell getestet und schienen diabetische Komplikationen abzuschwächen bzw. zu verhindern. Unter jenen phytopharmazeutisch nutzbaren Pflanzen befinden sind auch solche, die in der westlichen Welt durchaus bekannt sind, z.b *Panax ginseng* (Abbildung 36a & 36b) oder *Cassia tora*. Alle pflanzlichen Arzneimittel aufzuzählen, für die eine AGE-senkende Wirkung beschrieben wurde, würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, weshalb die nachfolgende Tabelle (Tabelle 7) nur eine kleine Auswahl von vielen Pflanzen geben soll, die sich in der Behandlung von diabetischen Komplikationen möglicherweise positiv auswirken können.

Abbildung 36a & 36b: *Panax ginseng* (Abb. 36a Wurzel, Abb. 36b Beere)

Abbildung 37a, 37b, 37c: Weitere Pflanzen, deren Bestandteile als Phytopharmaka zur AGE-Senkung potenziell verwedet werden können. Von links nach rechts: *Terminalia chebula, Abelmoschus manihot, Litsea japonica*.

Bei manchen Phytopharmaka konnte man das glykationshemmende Agens auch bestimmen. Zu jenen Stoffen gehören z.B. Saponine (547), Polyphenole, wie Butein (548), Kaffee- und Chlorogensäure (549) und Anthrachinone (550), und Benzofurane (551).

Tabelle 7: Phytopharmaka und ihre Effekte auf die AGE/RAGE-Achse

Phytopharmakon	Studienmodell	Effekte
Panax ginseng	In vivo an STZ-Ratten	AGE-Bildung & RAGE-Expression ↓, TNF-α & MAP-K ↓, glomeruläre Morphologie verbessert (552)
Litsea japonica	In vivo an db/db-Mäusen	Renale AGE-Ablagerungen & Proteinurie ↓ (553)
Astragalus membranaceus Astragali radix	In vitro	CML & Pentosidin ↓ (554)
Rhus verniciflua	In vitro	Aldose-Reduktase-Aktivität & AGE-Bildung ↓ (548)
Ilex paraguariensis Achyrocline satureioides	In vitro vom menschlichen Plasma	MG-induzierte Antithrombin III- & Plasminogen-Hemmung ↓ (555)
Aster koraiensis	In vivo STZ-Ratten	Albuminurie & Proteinurie ↓, renale AGE-Ablagerungen ↓ (556)
Pyrus pyrifolia Acanthopanax senticosus Eugenia caryophllata	In vitro	Glykationhemmend und antioxidativ (499)

Abelmoschus manihot	In vivo	Glomeruläre & Podozyten-Apoptose ↓, Albuminausscheidung ↓ (519)
Aegle marmelos	In vivo an STZ-Ratten	Diabetische Nephropathie verbessert, AGE-Bildung ↓ (557)
Terminalia chebula	In vitro/in vivo an Ratten	AGE- & ROS-Bildung ↓, Leukozytenadhäsion ↓ (558), Blutzucker & Plasma-Cholesterin ↓, MDA ↓, AGE-Ablagerungen in den Tubuli seminiferi ↓, pathomorphologische renale Veränderungen verbessert (559)
Boswellia serrata *Lagerstroemia speciose* *Ocimum gratissimum* *Syzygium cumni*	In vitro/In vivo an Wistar-Ratten	Aldose-Reduktase-Aktivität & AGE-Bildung ↓ (560)
Cassia tora	In vivo an STZ-Ratten	Renale AGE-Ablagerung & RAGE-Expression ↓, Nüchternblutzucker, Gesamtcholesterin & Triglyzeride ↓, diabetische Nephropathie funktionell und morphologisch verbessert (561)
Wu-Ling-San (eine Arznei der Traditionellen chinesischen Medizin (TCM) bestehend aus *Sclerotium Poriae Cocos*, *Alismatis Rhizoma*, *Sclerotium polypori Umbrellati*, *Ramulus Cinnamomi Cassiae*, *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*)	In vivo an STZ-Ratten	Renale AGE-Ablagerung & RAGE-Expression ↓, Blutzucker ↓, Kreatininclearance & Nierengewicht ↓, NF-κB-, Fibronectin- & TGF-β1-Expression ↓ (562)
Kangen-karyu (TCM-Arznei bestehend aus *Paeoniae Radix*, *Cnidii Rhizoma, Carthami Flos*, *Cyperi Rhizoma*, *Saussureae Radix*, *Salviae Miltiorrhizae Radix*)	In vivo an STZ-Ratten und db/db-Mäusen	Hepatische AGE-Ablagerungen, RAGE-Expression und Serum-AGEs ↓, Triglyzeride ↓, NF-κB-Expression der Leber ↓ (563) AGE-Ablagerung in Niere und Leber ↓, nicht aber die RAGE-Expression, NF-κB-, Fibronectin- & TGF-β1-Expression ↓ (564)
KIOM-79 (Arznei aus *Puerariae Radix*, *Glycyrrhizae Radix*, *Euphorbiae Radix* und mit *Zingiberis Rhizoma*-verarbeitete *Magnolia officinalis Cortex*	In vitro/In vivo an diverse Ratten	AGE-Ablagerung ↓, Blutzucker ↓, diabetische Nephropathie funktionell und morphologisch verbessert (565) Verzögerung der Kataraktbildung und der Apoptose der Linsenepithelien (566) Perizytenverlust & azelluläre retinale Kapillaren ↓, VEGF-Expression ↓ (567) Kardiale AGEs & RAGE ↓, myokardiale Fibrose↓ (568)

10. Diskussion

AGEs und RAGE nehmen in der Pathogenese des Diabetes mellitus, aber auch bei weiteren Erkrankungen eine wichtige Stellung ein. Daher überrascht es nicht, dass in den letzten Jahren viel Forschung betrieben wurde und weiterhin betrieben wird, um effektiv in den AGE/RAGE-Weg bei der Entstehung und der Progression des Diabetes mellitus einzugreifen. Nicht nur medikamentös mit sogar eigens dafür entwickelten Wirkstoffen, sondern auch nicht medikamentös mittels ernährungsspezifischen und alternativmedizinischen Methoden versucht man gegen die Advanced glycation end products vorzugehen. Die drei speziell dagegen entwickelten Wirkstoffgruppen sind die AGE-Cross-link Breaker, AGE-Inhibitoren und RAGE-Antagonisten. Von allen drei Klassen gibt es zumindest einen Wirkstoff, der klinische Studien vorweisen kann. Bei den AGE-Cross-link Breaker stach das Alagebrium besonders hervor, bei den AGE-Inhibitoren das Aminoguanidin, Carnosin und Pyridoxamin. Zu den RAGE-Antagonisten gibt es wiederum Studien bezüglich des TTP488. Alagebrium, Aminoguanidin, Carnosin, Pyridoxamin und TTP488 zeigten in präklinischen Studien viele günstige Effekte auf diverse diabetische Folgeerkrankungen, welche aber beim Menschen nur teilweise bzw. gar nicht wiedergegeben wurden. Alagebrium, Carnosin und Pyridoxamin erbrachten nicht die gewünschten Ergebnisse wie sie es am Tiermodell taten, scheiterten somit in ihrer Effektivität und waren nicht die erhofften Wundermittel. Auch gaben das Aminoguanidin und das TTP488 nicht die präklinischen Resultate am Menschen wieder und scheinen zudem viele und durchaus schwerwiegende Nebenwirkungen zu besitzen, Aminoguanidin sogar ein gewisses Tumorrisiko, welches man noch genauer evaluieren sollte. Dennoch hatten jene Wirkstoffe durchaus auch günstige Effekte am Menschen, wenn auch nur wenige, welche man nicht komplett außer Acht lassen sollte. Ob einer dieser Wirkstoffe vielleicht als Zusatztherapeutikum in der Therapie des Diabetes mellitus verwendet wird, wird sich nach dem Ergebnis der Phase III verdeutlichen. Derzeit befinden sich jene fünf Wirkstoffe in dieser klinischen Phase und werden wahrscheinlich nicht so schnell über die Phase III hinauskommen, zumindest nicht Aminoguanidin, Alagebrium und Pyridoxamin. Aufgrund mangelnder finanzieller Mittel und der aufgelösten Zusammenarbeit mit Genentech, Inc. (569) wurde Alteon Corp. aufgekauft und in Synvista Therapeutics, Inc. umbenannt. Jene beendete die Fortführung klinischer Studien mit Alagebrium und die Weiterentwicklung des Aminoguanidind scheint, zumindest vorläufig, ebenfalls auf Eis gelegt worden zu sein. Wie die Zukunft zum Pyridoxamin, Carnosin und TTP488 aussieht ist ebenfalls ungewiss. Zu einigen Folgeerkrankungen sind klinische Daten jener fünf Substanzen hingegen noch ausständig und möglicherweise erweisen sie sich hierzu als effektiver. So liegen bisher zu einer Phase-II-Studie, welche die Auswirkungen des TTP488 auf die diabetischen Nephropathie beschreiben soll, noch keine Resultate vor (570), und Alagebrium könnte eventuell als mögliches Co-Antihypertensivum bzw. Zusatztherapeutikum für die erektile Dysfunktion in Frage kommen. Zukünftige Forschung wird also zeigen, ob sich diese Vermutung bestätigen wird oder nicht, ebenso die Frage, ob Alagebrium, Aminoguanidin, Carnosin, Pyridoxamin oder TTP488 eventuell für andere, nicht diabetisch assoziierte Erkrankungen in Betracht kämen, wie z.B. Pyridoxamin in der Therapie der Osteoarthritis.

Einzig das Benfotiamin erwies sich bei der diabetischen Polyneuropathie als mögliches Therapeutikum, weswegen es auch unter dem Medikamentennamen mil*gamma*® protekt vertrieben wird. Dennoch ist die Studienlage des Benfotiamin immer noch kontrovers, v.a. in Bezug auf Effektivität, und bisher sind die einzigen Indikationen des Benfotiamins die diabetische Polyneuropathie sowie der diabetische Fuß (571). In klinischen Studien zeigte Benfotiamin fast keine Nebenwirkungen und wurde gut toleriert. Mancherorts ist Benfotiamin daher auch nur apothekenpflichtig, jedoch nicht rezeptpflichtig. Dennoch müsse man noch abklären, ob Benfotiamin eventuell auch für andere diabetische Komplikationen als Medikament in Betracht käme und ob es nicht nur im Anfangsstadium der Polyneuropathie

verwendet werden kann, sondern, ob es auch bei Diabetikern mit einer längeren Polyneuropathiedauer als 2 Jahren seine neuroprotektiven Wirkungen zeigt. Denn immerhin besitzen viele Diabetiker eine Nervenschädigung, die länger als 2 Jahre existiert.
Die Chance der anderen beschriebenen AGE-Cross-link Breaker, AGE-Inhibitoren und RAGE-Antagonisten, jemals eine Zulassung zu bekommen, besteht derzeit noch für TRC4186, was sich momentan in der Phase II befindet, für TTP4000, welches in der Phase I ist, für OPB-9195, sRAGE und für LR-90. Hierzu gelte es die Effekte jener Wirkstoffe weiter in klinischen Studien zu evaluieren. Die restlichen Wirksubstanzen werden hingegen sehr wahrscheinlich keinen Stellenwert in der Therapie des Diabetes mellitus besitzen, da sie mitunter bereits am Tiermodell scheiterten.
Für viele Medikamente, welche bereits in der Therapie des Diabetes mellitus Verwendung finden, wurde in den letzten Jahren auch ein AGE-inhibitorischer/RAGE-antagonisierender Effekt beschrieben. Zu jenen zählen Antidiabetika, Antihypertensiva, Statine sowie weitere Medikamente. Die Wirkstoffe jener Medikamentengruppen besitzen bereits eine Zulassung und wirken gegen diverse diabetische Folgeerkrankungen. Ihre AGE-inhibitorischen/RAGE-antagonisierenden Effekte sind allerdings, im Großen und Ganzen, noch nicht ganz geklärt. Für manche Substanzgruppen, wie die Insulin-Sensitizer, wurden mögliche Wirkmechanismen beschrieben, aber noch nicht für alle. Insbesondere müsse die gegenseitige Beeinflussbarkeit des RAAS und der AGEs/RAGE genauer geklärt werden sowie, welche der oben genannten Überlegung oder Überlegungen sich später bewahrheiten werden oder ob gar ein bisher unbekannter Mechanismus dahintersteckt. Interessant ist auch, dass einige Substanzen innerhalb der gleichen Wirkstoffklasse unterschiedlich stark wirken, nur wieso das so ist, ist noch weitestgehend unbekannt. Auf diese Frage hat womöglich die Forschung der nächsten Jahre eine Antwort parat, ebenso auf die Frage, wie stark die Hemmung des AGE/RAGE-Weges die antidiabetsche, antihypertensive oder antiatheromatöse Wirkung der beschriebenen Medikamente tatsächlich unterstützt. Bei den Antidiabetika bildet wahrscheinlich die Senkung des Blutzuckers einen wesentlich effektiveren Schutz vor den diabetischen Folgekomplikationen als die AGE/RAGE-Hemmung. Denn wenn weniger Glukose zur Verfügung steht, mag es nicht sonderlich verwunderlich sein, dass dadurch auch die Glykierung abnimmt und nicht nur der AGE/RAGE-Weg gehemmt wird, sondern auch die anderen vier Wege, die bei der Hyperglykämie vermehrt aktiviert werden. Zwar werden sich auch unter Normoglykämie AGEs formieren und RAGE-Rezeptoren aktivieren, weil immer noch Substrat für die Maillard-Reaktion vorhanden ist, allerdings in einem geringeren Ausmaß. Die zusätzliche Anti-AGE/RAGE-Wirkung mag vielleicht bei manchem Wirkstoff durchaus den Unterschied ausmachen, sodass jener die diabetischen Folgekomplikationen auch effektiv(er) behandeln und verhindern kann. Gerade dieser Grad muss in Zukunft erst noch genauer quantifiziert werden. Auch müsse man genauer abklären, welche Substanzgruppen klinisch relevanter und zugleich die AGE-Auswirkungen effektiver reduzieren können. Zu den Insulin-Sensitizer liegen viele Studien bezüglich eines inhibierenden Effektes auf den AGE/RAGE-Weg vor, jedoch besitzen sie auch viele Nebenwirkungen und sind momentan nur Mittel der 2. Wahl bei der Therapie des Diabetes mellitus. Denkbar wäre, dass die „alten“ Glitazone Pioglitazon und Rosiglitazon durch die „neueren“ Glitazone Rivoglitazon, Ciglitazon und Netglitazon, welche sich derzeit noch in klinischer bzw. experimenteller Erprobung befinden, in der Behandlung des Diabetes mellitus ersetzt werden. Daten über einen glykationshemmenden Effekt fehlen bislang allerdings zu jenen. Mit Ausnahme des Metformin liegen zu den anderen Antidiabetika, die häufiger in der Behandlung des Diabetes mellitus eingesetzt werden als Insulin-Sensitizer, vergleichsweise wenig Ergebnisse zu einer glykationshemmenden Eigenschaft vor.
Ähnliches gilt für die beschriebenen Antihypertensiva, Statine und restlichen Medikamente. Gegenwärtig ist die primäre Wirkung der Antihypertensiva mit Blockierung des RAAS-Systems bzw. Blockierung der Calcium-Kanäle sicher noch von größerer Bedeutung als die

sekundäre Wirkung als AGE-Inhibitor/RAGE-Antagonist. Bei den Statinen scheint zwar ebenfalls einiges dafür zu sprechen, dass Statine ihre antiatherogene Wirkung, zumindest teilweise, über die RAGE-Modulation und AGE-Reduktion ausüben. Dennoch bleibt zu klären, wie stark dieser Einfluss auf die antiatherogenen Effekte wirklich ist, und ob vielleicht doch nicht andere Vorgänge in der Plaquestabilisierung wichtiger sind als eine AGE-Inhibierung mit RAGE-Antagonisierung. Auch zu den restlichen Medikamenten liegen Resultate zur AGE/RAGE-Blockierung vor, allerdings ist der Wirkmechanismus nicht geklärt, es liegen nur vereinzelte Daten vor und/oder die Glykationshemmung wurde in vitro bzw. an Tieren erzielt, nicht aber am Menschen. So auch für die α-Liponsäure. AGE-inhibierende Ergebnisse zu diabetischen Folgeerkrankungen liegen vor, kaum eines wurde aber klinisch gezeigt. Klinische Resultate gibt es zu jenem Wirkstoff bisher hauptsächlich zur diabetischen Polyneuropathie, allerdings wurden die Auswirkungen auf die AGE/RAGE-Achse nicht beschrieben, da solche Parameter nicht gemessen wurden. Dass diese mögliche neuroprotektive Wirkung durch AGE-Inhibierung geschieht, zumindest teilweise, vermutet man. Als abgesichert gilt sie bisher aber nicht. Zukünftige Studien, mitunter sogar Klinische, werden hoffentlich bezüglich der wirklichen Beeinflussbarkeit dieser Medikamente und -Gruppen auf den AGE/RAGE-Weg genauere Daten liefern.
Als nicht medikamentöse Möglichkeit zur Beeinflussung des AGE/RAGE-Weges stehen diätetische und alternativmedizinische Methoden zur Verfügung. Allgemein ist zu Studien, die Ernährung und Phytopharmaka beinhalten zu sagen, dass man die in vitro Erkenntnisse ebenfalls nicht einfach so auf den menschlichen Organismus und Metabolismus übertragen kann, was man am besten am Beispiel der Polyphenole sieht. Obwohl in vitro-Studien Polyphenole durchaus als potente Antioxidantien und AGE-Inhibitoren darstellen, muss man hierzu anmerken, dass manche Ergebnisse unter unphysiologischen Konzentrationen erzielt wurden. Andererseits muss man anmerken, dass sich in vivo-Studien an Tieren auch mit physiologischen Konzentrationen günstig auswirkten. Ein weiteres Problem jedoch ist, dass viele „gesunde“ Nahrungsmittel und Phytopharmaka wiederum nicht nur aus einem oder zwei potenziell gesundheitsförderlichen Substanzen bestehen, sondern ein Vielstoffgemisch aus hunderten oder sogar tausenden unterschiedlichen Substanzen bilden. Eine eventuelle Wirksamkeit resultiert somit eher aus der komplexen Interaktion der Inhaltsstoffe als durch eine einzige Wirksubstanz. Man kann also schwer sagen, welche dieser Substanzen tatsächlich AGE-senkend ist und welche nicht. Allerdings wäre das wiederum klinisch wenig relevant, solang das Phytopharmakon, die Frucht, der Saft, etc. dennoch effektiv am Menschen wirkt. Und das ist der dritte Punkt, denn bei keinem genannten Phytopharmakon wurde eine Wirkung auf den menschlichen Organismus beschrieben. Zudem liegen, ausgenommen des KIOM-79, fast nur Effekte auf die Nephropathie vor. Von rationaler Phytotherapie kann bisher nicht gesprochen werden. Zur Ernährung/Nahrungsmitteln sieht es bezüglich der Anzahl klinischer Daten besser aus, ein wirklicher Beweis wurde aber auch hier nicht erbracht. Klinische Studien zur Ernährung waren z.B. weder randomisiert noch placebokontrolliert und wurden an Gesunden durchgeführt (494,513). Oder aber es wurden nur Kurzzeiteffekte bei jungen Gesunden angeschaut, die Probanden in ihrem Ernährungsverhalten nicht genau kontrolliert (495) und mit Extrakten, aber nicht mit dem eigentlichen Nahrungsmittel getestet (497). Interessanter wäre es hingegen zu wissen, wie stark das Lebensmittel in seiner „Nahrungsform“ wirkt und ob es notwendig ist, dass man jenes längerfristig zu sich nehmen muss. Bisher ist somit immer noch nicht geklärt, wie stark Ernährung und Phytotherapie tatsächlich auf die im menschlichen Organismus enthaltenen AGEs Einfluss nehmen, insbesondere bei pathologischen veränderten Geschehnissen. Das gilt nicht nur in Anbetracht auf eine spezifische Beeinflussung des AGE/RAGE-Weges, sondern in Anbetracht allgemeiner pathologischer Vorgänge. Man nehme nur als Beispiel den Rotwein und seine möglichen antiatherosklerotischen Eigenschaften.

Abschließend kann man behaupten, dass man bisher für die spezifische Behandlung gegen die AGEs (noch) nichts Effektives in der Hand hat. Bei fast allen Wirkstoffen, die als mögliches effektives Anti-AGE-Medikament beworben wurden, zeigten sich zwar gute Resultate im Reagenzglas und am Tiermodell, keine oder nur kaum welche beim Menschen. Wenn überhaupt, dann werden die „großen“ und bekannten Wirkstoffe, wie Alagebrium, Aminoguanidin oder Pyridoxamin, nur als Co-Therapeutikum Verwendung finden. Möglich wäre, dass manche der unbekannteren Substanzen wie LR-90, Benfotiamin, TRC4186 oder sRAGE sich als effektiver AGE-Inhibitor, -Cross-link Breaker oder RAGE-Antagonist bewähren. Auch bleibt die Frage zu klären, ob manche der beschriebenen AGE-Cross-link Breaker, -Inhibitoren und RAGE-Antagonisten eventuell bei anderen diabetischen Krankheitsentitäten als nur bei einer günstige Effekte zeigen und somit zur Prophylaxe/Therapie dagegen eingesetzt werden könnten. So liegen zum TTP488 z.B. keine Resultate zu den Auswirkungen auf eine diabetische Retinopathie vor, obwohl eine RAGE-Aktivierung auch hier zu pathologischen Veränderungen führen kann. Diese Frage wird möglicherweise durch zukünftige Forschung beantwortet. Ebenso ist es denkbar, dass *das eine* Anti-AGE/RAGE-Medikament einfach noch nicht gefunden wurde bzw. dass Wirkstoffe, welche über einen anderen Wirkmechanismus verfügen, wie z.B. NADPH-Oxidase-Hemmer oder Inhibitoren des PKC-Weges, auch in den AGE/RAGE-Weg effektiv eingreifen und blockieren können. Auf solche Wirkstoffe, wie das Apocynin, ein NADPH-Oxidase-Hemmer, wurde in dieser Literaturrecherche aber nicht eingegangen, weil der derzeitige Forschungsstand über jene gegenseitige Beeinflussung noch zu uneinig und widersprüchlich ist. Gegenwärtig scheint der einzig effektive Schutz vor den AGEs die Reduktion der Substratmenge zu sein, also einen normoglykämen Metabolismus zu schaffen. Somit schützen die Anitdiabetika wahrscheinlich von allen beschriebenen Wirkstoffen am effektivsten vor den AGE-Auswirkungen. Der allereffektivste Schutz gegen die Auswirkungen der AGEs und des RAGE ist aber wahrscheinlich immer noch die Primärprävention vor dem Diabetes mellitus, die man mittels gesunder Ernährung, Bewegung und allgemein gesunder Lebensweise erzielen kann, zumindest beim Typ 2 Diabetes mellitus.

11. Literaturverzeichnis

1 International Diabetes Federation [Internet]. Brüssel: International Diabetes Federation; 2013 [zitiert am 21. Februar 2014]. Available from: http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf

2 Daneman D. Type 1 diabetes. Lancet. 2006; 367: 847-58.

3 International Diabetes Federation [Internet]. Brüssel: International Diabetes Federation; 2013 [zitiert am 21. Februar 2014]. Available from: http://www.idf.org/atlasmap/atlasmap

4 Bo S, Ciccone G, Gancia R, et al. Mortality within the first 10 years of the disease in type 2 diabetes patients. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2006; 16: 8-12.

5 Aiello LP, Gardner TW, King GL, et al. Diabetic retinopathy. Diabetes care. 1998; 21: 143-56.

6 Stenvinkel P. Chronic kidney disease: a public health priority and harbinger of premature cardiovascular disease. J Intern Med. 2010; 268: 456-67. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02269.x.

7 Garcia MJ, McNamara PM, Gordon T, et al. Morbidity and mortality in diabetics in the Framingham population. Sixteen year follow-up study. Diabetes. 1974; 23: 105-11.

8 Candido R, Jandeleit-Dahm KA, Cao Z, et al. Prevention of accelerated atherosclerosis by angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetic apolipoprotein E-deficient mice. Circulation. 2002; 106: 246-53.

9 Cukierman T, Gerstein HC, Williamson JD. Cognitive decline and dementia in diabetes — systematic overview of prospective observational studies. Diabetologia. 2005; 48: 2460-69.

10 Centers for Disease Control and Prevention. National diabetes fact sheet: estimates in diabetes and its burden in the United States [Internet]. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2014 [zitiert am 12. Oktober 2014]. Available from: http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/statsreport14/national-diabetes-report-web.pdf

11 Klein BE, Klein R, Moss SE. Prevalence of cataracts in a population-based study of persons with diabetes mellitus. Ophthalmology. 1985; 92: 1191-96.

12 Vickers MA, Wright EA. Erectile dysfunction in the patient with diabetes mellitus. Am J Manag Care. 2004; 10: 3-11.

13 [No authors listed]. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. N Engl J Med. 1993; 329: 977-86.

14 [No authors listed]. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet. 1998; 352: 837-53.

15 Karjalainen J, Martin JM, Knip M et al. A bovine albumin peptide as a possible trigger of insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1992; 327: 302-7. Erratum in: N Engl J Med 1992; 327: 1252.

16 Fairweather D, Noel RR. Type 1 diabetes: virus infection or autoimmune disease? Nat Immunol. 2002; 3: 338-40.

17 Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. Lancet. 2001; 358: 1500-3.

18 Nejentsev S, Howson JM, Walker NM, et al. Localization of type 1 diabetes susceptibility to the MHC class I genes HLA-B and HLA-A. Nature. 2007; 450: 887-892.

19 Risérus U, Willett WC, Hu FB. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. Prog Lipid Res. 2009; 48: 44-51.

20 Mozaffarian D, Kamineni A, Carnethon M, et al. Lifestyle risk factors and new-onset diabetes mellitus in older adults: the Cardiovascular Health Study. Arch Intern Med. 2009; 169: 798-807. doi: 10.1001/archinternmed.2009.21.

21 Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. J Clin Invest. 2006; 116: 1793-1801. Erratum in: J Clin Invest. 2006; 116: 2308.
22 Yang Q, Graham TE, Mody N, et al. Serum retinol binding protein contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. Nature. 2005;436: 356-62.
23 Graham TE, Yang Q, Bluher M, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. New Engl J Med. 2006; 354: 2552-63.
24 Parker J, Hashmi O, Dutton D, et al. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. Maturitas. 2010; 65: 225-36.
25 Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. 1999; Lancet, 354: 1435-39.
26 Herder C; Roden M. Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance. Eur J Clin Invest. 2011; 41: 679-92.
27 Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res. 2010; 107: 1058-70.
28 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. Diabetes. 2005; 54: 1615-25.
29 Kaiser N. Sasson S, Feener EP, et al. Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. Diabetes. 1993; 42: 80-89.
30 Heidenrich KA, Gilmore PR, Gravey VT. Glucose transport in primary cultured neurons. J Neurosci Res. 1989; 22: 397-407.
31 Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. Annu Rev Med. 1995; 46: 223-34.
32 Krantz S. Janusgesicht Glucose: Die Bedeutung der Maillard-Reaktion für das Altern, diabetische Folgeerkrankungen. [Ort der Veröffentlichung nicht verfügbar]: Tredition; 2010.
33 Biemel KM, Friedl DA, Lederer MO. Identification and quantification of major maillard cross-links in human serum albumin and lens protein: Evidence for glucosepane as the dominant compound. J Biol Chem. 2002; 277: 24907-15.
34 Bierhaus A, Stern DM, Nawroth PP. RAGE in inflammation: a new therapeutic target? Curr Opin Investig Drugs. 2006; 7: 985-91.
35 Neeper M, Schmidt AM, Brett J, et al. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation endproducts of proteins. J Biol Chem. 1992; 267: 14998-5004.
36 Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. Advanced glycation endproducts: from precursors to RAGE: round and round we go. Amino Acids. 2012; 42: 1151-61.
37 Hudson BI, Harja E, Moser B, et al. Soluble levels of receptor for advanced glycation endproducts (sRAGE) and coronary artery disease: the next C-reactive protein? Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005; 25: 879-82.
38 Barlovic DP, Soro-Paavonen A, Jandeleit-Dahm K. RAGE biology, atherosclerosis and diabetes. Clin Sci (Lond). 2011; 121: 43-55.
39 Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. The receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) and cardiovascular disease. Expert Rev Mol Med. 2009; 11: e9. doi: 10.1017/S146239940900101X.
40 Penfold SA, Coughlan MT, Patel SK, et al. Circulating high-molecular-weight RAGE ligands activate pathways implicated in the development of diabetic nephropathy. Kidney Int 2010; 78: 287-95.
41 Basta G, Schmidt AM, De Caterina R. Advanced glycation end products and vascular inflammation : implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. Cardiovasc Res. 2004; 63: 582-92.

42 Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, et al. Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. J Biol Chem. 1997; 272: 17810-14.
43 Chen SC, Guh JY, Hwang CC, et al. Advanced glycation end-products activate extracellular signal-regulated kinase via the oxidative stress-EGF receptor pathway in renal fibroblasts. J Cell Biochem. 2010; 109: 38-48.
44 Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M, et al. Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB. Diabetes. 2001; 50: 2792-808.
45 Hegab Z, Gibbons S, Neyses L, et al. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. World J Cardiol. 2012; 4: 90-102.
46 Chung SS, Ho EC, Lam KS, et al. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. J Am Soc Nephrol. 2003; 14: 233-36.
47 Szwergold BS, Kappler F, Brown TR. Identification of fructose 3-phosphate in the lens of diabetic rats. Science. 1990; 247: 451-54.
48 Sima AA, Sugimoto K. Experimental diabetic neuropathy: an update. Diabetologia. 1999; 42: 773-88.
49 Harper MT, Poole AW. Diverse functions of protein kinase C isoforms in platelet activation and thrombus formation. J Thromb Haemost. 2010; 8: 454-62.
50 Geraldes P, Hiraoka-Yamamoto J, Matsumoto M, et al. Activation of PKC-delta, and SHP-1 by hyperglycemia causes vascular cell apoptosis and diabetic retinopathy. Nat Med. 2009; 15: 1298-306.
51 Ganz MB, Seftel A. Glucose-induced changes in protein kinase C and nitric oxide are prevented by vitamin E. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2000; 278: E146-52.
52 Williams B, Gallacher B, Patel H, et al. Glucose-induced protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. Diabetes. 1997; 46: 1497-503.
53 Buse MG. Hexosamines, insulin resistance and the complications of diabetes: current status. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006; 290: E1-E8.
54 Jackson SP, Tjian R. O-glycosylation of eukaryotic transcription factors: implications for mechanisms of transcriptional regulation. Cell. 1988; 55: 125-133.
55 Chen YQ, Su M, Walia RR, et al. Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem. 1998, 273: 8225-31.
56 Kolm-Litty V, Sauer U, Nerlich A, et al. High glucose-induced transforming growth factor β1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. J Clin Invest. 1998; 101: 160-69.
57 Singh R, Barden A, Mori T, et al. Advanced glycation end-products: a review. Diabetologia. 2001; 44: 129-46.
58 Maillard LC. Action des acides aminés sur les sucres: formation des mélanoidines par voie méthodique. C R Acad Sci. 1912; 154: 66-68.
59 Thorpe SR, Baynes JW. Maillard reaction products in tissue proteins: new products and new perspectives. Amino Acids. 2003; 25: 275-81.
60 Wolff SP. Dean RT. Glucose autoxidation and protein modification. The potenial role of autoxidative glycolysation in diabetes. Biochem J. 1987; 245: 243-50.
61 Vlassara H, Palace MR. Diabetes and advanced glycation endproducts. J Intern Med. 2002; 251: 87-101.
62 Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. J Am Diet Assoc. 2010; 110: 911-16.e12.
63 Meerwaldt R, Links T, Zeebregts C, et al. The clinical relevance of assessing advanced glycation endproducts accumulation in diabetes. Cardiovasc Diabetol. 2008; 7: 29.

64 Rodríguez-Mañas L, Angulo J, Vallejo S, et al. Early and intermediate Amadori glycated adducts, oxidative stress, and endothelial dysfunction in the streptozotocin-induced diabetic rats vasculature. Diabetologia. 2003; 46: 556-66.
65 Miyata T, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K, et al. Alterations in non enzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications. Kidney Int. 1999; 55: 389-99.
66 Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. AGEs and carbonyl stress: potential pathogenetic factors of long-term uraemic complications. Nephrol Dia Transplant. 2000; 15 Suppl 2: 7-11.
67 Monnier VM, Mustata GT, Biemel KL, et al. Cross-linking of the extracellular matrix by the Maillard reaction in aging and diabetes: an update on “a puzzle nearing resolution”. Ann N Y Acad Sci. 2005;1043: 533-44.
68 Peppa M, Uribarri J, Vlassara H. The role of advanced glycation end products in the development of atherosclerosis. Curr. Diab. Rep. 2004; 4: 31-36.
69 Cerami C, Founds H, Nicholl I, et al. Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997; 94: 13915-20.
70 Peppa M, Dardaine V, Cai W, et al. C-reactive protein and other inflammatory markers are induced by dietary glycotoxins: a pathway for accelerated atherosclerosis in diabetes (Abstract). ENDO. 2002; P2 359.
71 Haslbeck KM, Schleicher ED, Friess U, et al. N(epsilon)-Carboxymethyllysine in diabetic and non-diabetic polyneuropathies. Acta Neuropathol. 2002; 104: 45-52.
72 Ono Y, Aoki S, Ohnishi K, et al. Increased serum levels of advanced glycation end-products and diabetic complications. Diabetes Res Clin Pract. 1998; 41: 131-37.
73 Srikanth V, Maczurek A, Phan T, et al. Advanced glycation endproducts and their receptor RAGE in Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 2011; 32: 763-77.
74 Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, et al. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. N Engl J Med. 1991; 325: 836-42.
75 Fukushima Y, Daida H, Morimoto T, et al. Relationship between advanced glycation end products and plaque progression in patients with acute coronary syndrome: the JAPAN-ACS sub-study. Cardiovasc Diabetol. 2013; 12: 5. doi: 10.1186/1475-2840-12-5.
76 Zieman SJ, Kass DA. Advanced glycation endproduct crosslinking in the cardiovascular system: potential therapeutic target for cardiovascular disease. Drugs. 2004; 64: 459-70.
77 Tan KC, Chow WS, Ai VH, et al. Advanced glycation end-products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2002; 25: 1055-59.
78 Morigi M, Angioletti S, Imberti B, et al. Leucocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycaemia in a NK-κB-dependent fashion. J. Clin. Invest. 1998; 101: 1905-15.
79 Xu B, Chibber R, Ruggerio D, et al. Impairment of vascular endothelial nitric oxide synthase activity by advanced glycation end products. FASEB J. 2003; 17: 1289-91.
80 Yamagishi S, Fujimori H, Yonekura H, et al. Advanced glycation end-products inhibit prostacyclin production and induce plasminogen activator inhibitor-1 in human microvascular endothelial cells. Diabetologia. 1998; 41: 1435-41.
81 Quehenberger P, Bierhaus A, Fasching P, et al. Endothelin-1 transcription is controlled by nuclear factor-κB in AGE-stimulated cultured endothelial cells. Diabetes. 2000; 49: 1561-70.
82 Gawlowski T. Glykierungsprodukte als Gerinnungsaktivatoren. Der Diabetologe. 2008; 4: 440-47.
83 Böhm M, Hallek M, Schmiegel W. Innere Medizin. 6. Edition. München: Elsevier; 2009.
84 Tanji N, Markowitz GS, Fu C, et al. Expression of advanced glycation end products and their cellular receptor RAGE in diabetic nephropathy and nondiabetic renal disease. J Am Soc Nephrol. 2000; 11: 1656-66.

85 Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S, et al. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994; 91: 11704-8.
86 Yamagishi S, Inagaki Y, Okamoto T, et al. Advanced glycation end products inhibit de novo protein synthesis and induce TGFBeta over-expression in proximal tubular cells. Kidney Int. 2003; 63: 464-73.
87 Pugliese G, Pricci F, Romeo G, et al. Upregulation of mesangial growth factor and extracellular matrix synthesis by advanced glycation end products via a receptor-mediated mechanism. Diabetes. 1997; 46: 1881-87.
88 Cheng C, Zheng Z, Shi C, et al. Advanced glycation end-products reduce podocyte adhesion by activating the renin-angiotensin system and increasing integrin-linked kinase. Exp Ther Med. 2013; 6: 1494-98.
89 Suzuki D, Toyoda M, Yamamoto N, et al. Relationship between the expression of advanced glycation end-products (AGE) and the receptor for AGE (RAGE) mRNA in diabetic nephropathy. Intern Med. 2006; 45: 435-41.
90 Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, et al. Expression of transforming growth factor beta is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993; 90:1814-18.
91 Yamagishi S, Matsui T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy. Oxid Med Cell Longev. 2010; 3: 101-8.
92 Silbiger S, Crowley S, Shan Z, et al. Nonenzymatic elevated glucose reduces collagen synthesis and proteoglycan charge. Kidney Int. 1993; 43: 853-64.
93 Fujita M, Okuda H, Tsukamoto O, et al. Blockade of angiotensin II receptors reduces the expression of receptors for advanced glycation end products in human endothelial cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006; 26: e138-42.
94 Forbes JM, Thorpe SR, Thallas-Bonke V, et al. Modulation of soluble receptor for advanced glycation end products by angiotensin-converting enzyme-1 inhibition in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2005; 16: 2363-72.
95 Kashihara N, Haruna Y, Kondeti VK, et al. Oxidative stress in diabetic nephropathy. Curr Med Chem. 2010; 17: 4256-69.
96 Dhar I, Dhar A, Wu L, et al. Methylglyoxal, a reactive glucose metabolite, increases Renin Angiotensin aldosterone and blood pressure in male sprague-dawley rats. Am J Hypertens. 2014; 27: 308-16.
97 Cheng CL, Tang Y, Zheng Z, et al. Advanced glycation end-products activate the renin-angiotensin system through the RAGE/PI3-K signaling pathway in podocytes. Clin Invest Med. 2012; 35: E282.
98 Nguyen G, Delarue F, Burcklé C, et al. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. J Clin Invest. 2002; 109: 1417-27.
99 Gardiner TA, Archer DB, Curtis TM, et al. Arteriolar involvement in the microvascular lesions of diabetic retinopathy: implications for pathogenesis. Microcirculation. 2007; 14: 25-38.
100 Hammes HP, Alt A, Niwa T, et al. Differential accumulation of advanced glycation end products in the course of diabetic retinopathy. Diabetologia. 1999; 42: 728-36.
101 Yong PH, Zong H, Medina RJ, et al. Evidence supporting a role for N-(3-formyl-3,4-dehydropiperidino)lysine accumulation in Müller glia dysfunction and death in diabetic retinopathy. Mol Vis. 2010; 16: 2524-38.
102 Zhang X, Lai Y, McCane DR, et al. Evaluation of N (epsilon)-(3-formyl-3,4-dehydropiperidino)lysine as a novel biomarker for the severity of diabetic retinopathy. Diabetologia. 2008; 51: 1723-30.

103 Chen BH, Jiang DY, Tang LS. Advanced glycation end-products induce apoptosis involving the signaling pathways of oxidative stress in bovine retinal pericytes. Life Sci. 2006; 79: 1040-48.
104 Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) prevents diabetes- or advanced glycation end products (AGE)-elicited retinal leukostasis. Microvasc Res. 2006; 72: 86-90.
105 Hughes SJ, Wall N, Scholfield CN, et al. Advanced glycation endproduct modified basement membrane attenuates endothelin-1 induced [Ca2+]i signalling and contraction in retinal microvascular pericytes. Mol Vis. 2004; 10: 996-1004.
106 Chibber R, Molinatti PA, Rosatto N, et al. Toxic action of advanced glycation end products on cultured retinal capillary pericytes and endothelial cells: relevance to diabetic retinopathy. Diabetologia. 1997; 40: 156-64.
107 Dagher Z, Park YS, Asnaghi V, et al. Studies of rat and human retinas predict a role for the polyol pathway in human diabetic retinopathy. Diabetes. 2004; 53: 2404-11.
108 Asnaghi V, Gerhardinger C, Hoehn T, et al. A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat. Diabetes. 2003; 52: 506-11.
109 Bradley JL, Thomas PK, King RH, et al. A comparison of perineural and vascular basal laminal changes in diabetic neuropathy. Acta Neuropathol. 1994; 88: 426-32.
110 Duran-Jimenez B, Dobler D, Moffatt S, et al. Advanced glycation end products in extracellular matrix proteins contribute to the failure of sensory nerve regeneration in diabetes. Diabetes 2009; 58: 2893-903.
111 Sugimoto K, Nishizawa Y, Horiuchi S, et al. Localization in human diabetic peripheral nerve of N(epsilon)-carboxymethyllysine-protein adducts, an advanced glycation endproduct. Diabetologia. 1997; 40: 1380-87.
112 Meerwaldt R, Links TP, Graaff R, et al. Increased accumulation of skin advanced glycation end-products precedes and correlates with clinical manifestation of diabetic neuropathy. Diabetologia. 2005; 48: 1637-44.
113 Toth C, Rong LL, Yang C, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and experimental diabetic neuropathy. Diabetes. 2008; 57: 1002-7.
114 Obayashi H, Nakano K, Shigeta H, et al. Formation of crossline as a fluorescent advanced glycation end product in vitro and in vivo. Biochem Biophys Res Commun. 1996; 226: 37-41.
115 Schleicher ED, Wagner E, Nerlich AG. Increased accumulation of the glycoxidation product N-(epsilon)-(carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. J Clin Invest. 1997; 99: 457-68.
116 Bucala R, Makita Z, Vega G, et al. Modification of low density lipoprotein by advanced glycation end products contributes to the dyslipidemia of diabetes and renal insufficiency. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994; 91: 9441-45.
117 Cai W, He JC, Zhu L, et al. High levels of dietary advanced glycation end products transform low-density lipoprotein into a potent redox-sensitive mitogen-activated protein kinase stimulant in diabetic patients. Circulation. 2004; 110: 285-91.
118 Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, et al. Glycation impairs high-density lipoprotein function. Diabetologia. 2000; 43: 312-20.
119 Kilhovd BK, Berg TJ, Birkeland KI, et al. Serum levels of advanced glycation end products are increased in patients with type 2 diabetes and coronary heart disease. Diabetes Care 1999; 22: 1543-48.
120 Nin JW, Jorsal A, Ferreira I, et al. Higher plasma levels of advanced glycation end products are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. Diabetes Care. 2011; 34: 442-47.

121 de Vos LC, Mulder DJ, Smit AJ, et al. Skin autofluorescence is associated with 5-year mortality and cardiovascular events in patients with peripheral artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014; 34: 933-38.
122 Lapolla A, Piarulli F, Sartore G, et al. Advanced glycation end products and antioxidant status in type 2 diabetic patients with and without peripheral artery disease. Diabetes Care. 2007; 30: 670-76.
123 Meerwaldt R, Lutgers HL, Links TP, et al. Skin autofluorescence is a strong predictor of cardiac mortality in diabetes. Diabetes Care. 2007; 30: 107-12.
124 Lindsey JB, de Lemos JA, Cipollone F, et al. Association between circulating soluble receptor for advanced glycation end products and atherosclerosis: observations from the Dallas Heart Study. Diabetes Care. 2009; 32: 1218-20.
125 Humpert PM, Kopf S, Djuric Z, et al. Plasma sRAGE is independently associated with urinary albumin excretion in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2006; 29: 1111-13.
126 Liang F, Jia J, Wang S, et al. Decreased plasma levels of soluble low density lipoprotein receptor-related protein-1 (sLRP) and the soluble form of the receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in the clinical diagnosis of Alzheimer's disease. J Clin Neurosci. 2013; 20: 357-61.
127 Meloche J, Courchesne A, Barrier M, et al. Critical role for the advanced glycation end-products receptor in pulmonary arterial hypertension etiology. J Am Heart Assoc. 2013; 2: e005157. doi: 10.1161/JAHA.112.005157.
128 Bell DS. Diabetic cardiomyopathy. Diabetes Care. 2003; 26: 2949-51.
129 Singh VP, Bali A, Singh N, et al. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. Korean J Physiol Pharmacol. 2014; 18: 1-14.
130 Petrova R, Yamamoto Y, Muraki K, et al. Advanced glycation endproduct-induced calcium handling impairment in mouse cardiac myocytes. J Mol Cell Cardiol. 2002; 34: 1425-31.
131 Bidasee KR, Nallani K, Yu Y, et al. Chronic diabetes increases advanced glycation end products on cardiac ryanodine receptors/calcium-release channels. Diabetes. 2003; 52: 1825-36.
132 Bidasee KR, Zhang Y, Shao CH, et al. Diabetes increases formation of advanced glycation end products on Sarco(endo)plasmic reticulum Ca2+-ATPase. Diabetes. 2004; 53: 463-73.
133 Steine K, Larsen JR, Stugaard M, et al. LV systolic impairment in patients with asymptomatic coronary heart disease and type 1 diabetes is related to coronary atherosclerosis, glycaemic control and advanced glycation endproducts. Eur J Heart Fail. 2007; 9: 1044-50.
134 Willemsen S, Hartog JW, Hummel YM, et al. Tissue advanced glycation end products are associated with diastolic function and aerobic exercise capacity in diabetic heart failure patients. Eur J Heart Fail. 2011; 13: 76-82.
135 Campbell DJ, Somaratne JB, Jenkins AJ, et al. Diastolic dysfunction of aging is independent of myocardial structure but associated with plasma advanced glycation end-product levels. PLoS One. 2012; 7: e49813. doi: 10.1371/journal.pone.0049813.
136 Raposeiras-Roubín S, Rodiño-Janeiro BK, Grigorian-Shamagian L, et al. Soluble receptor of advanced glycation end products levels are related to ischaemic aetiology and extent of coronary disease in chronic heart failure patients, independent of advanced glycation end products levels: New Roles for Soluble RAGE. Eur J Heart Fail. 2010; 12: 1092-100.
137 Franke S, Dawczynski J, Strobel J, et al. Increased levels of advanced glycation end products in human cataractous lenses. J Cataract Refract Surg. 2003; 29: 998-1004.

138 Fuentealba D, Friguet B, Silva E. Advanced glycation endproducts induce photocrosslinking and oxidation of bovine lens proteins through type-I mechanism. Photochem Photobiol. 2009; 85: 185-94.
139 Stitt AW, Moore JE, Sharkey JA, et al. Advanced glycation end products in vitreous: Structural and functional implications for diabetic vitreopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1998; 39: 2517-23.
140 Coughlan MT, Yap FY, Tong DC, et al. Advanced glycation end products are direct modulators of β-Cell Function. Diabetes. 2011; 60: 2523-32.
141 Cartledge JJ, Eardley I, Morrison JF. Advanced glycation end-products are responsible for the impairment of corpus cavernosal smooth muscle relaxation seen in diabetes. BJU Int 2001; 87: 402-7.
142 Lüth HJ, Ogunlade V, Kuhla B, et al. Age- and stage-dependent accumulation of advanced glycation end products in intracellular deposits in normal and Alzheimer's disease brains. Cereb Cortex 2005; 15: 211-20.
143 Byun K, Bayarsaikhan E, Kim D, et al. Induction of neuronal death by microglial AGE-albumin: implications for Alzheimer's disease. PLoS One. 2012; 7: e37917. doi: 10.1371/journal.pone.0037917.
144 Yan SD, Fu J, Soto C, et al. An intracellular protein that binds amyloid-beta peptide and mediates neurotoxicity in Alzheimer's disease. Nature. 1997; 389: 689-95.
145 Hayashi N, George J, Takeuchi M, et al. Acetaldehyde-derived advanced glycation end-products promote alcoholic liver disease. PLoS One. 2013; 8: e70034. doi: 10.1371/journal.pone.0070034.
146 Morbini P, Villa C, Campo I, et al. The receptor for advanced glycation end products and its ligands: a new inflammatory pathway in lung diseases? Mod Pathol. 2006; 19: 1437-45.
147 Takahashi M, Suzuki M, Kushida K, et al. Relationship between pentosidine levels in serum and urine and activity in rheumatoid arthritis. Br J Rheumatol. 1997; 36: 637-42.
148 Vos PA, DeGroot J, Huisman AM, et al. Skin and urine pentosidine weakly correlate with joint damage in a cohort of patients with early signs of osteoarthritis (CHECK). Osteoarthritis Cartilage. 2010; 18: 1329-36.
149 Chiavaroli V, D'Adamo E, Giannini C, et al. Serum levels of receptors for advanced glycation end products in normal-weight and obese children born small and large for gestational age. Diabetes Care. 2012; 35: 1361-63.
150 Araki N, Higashi T, Mori T, et al. Macrophage Scavenger Receptor Mediates the Endocytic Uptake and Degradation of Advanced Glycation End Products of the Maillard Reaction. Eur J Biochem. 1995; 230: 408-15.
151 Gardiner TA, Stitt AW, Archer DB. Retinal vascular endothelial cell endocytosis increases in early diabetes. Lab Invest. 1995; 72: 439-44.
152 Smedsrød B, Melkko J, Araki N, et al. Advanced glycation end products are eliminated by scavenger-receptor-mediated endocytosis in hepatic sinusoidal Kupffer and endothelial cells. Biochem J. 1997; 322: 567-73.
153 Miyata T, Ueda Y, Horie K, et al. Renal catabolism of advanced glycation end products: The fate of pentosidine. Kidney Int. 1998; 53: 416-22.
154 Dolhofer-Bliesener R, Lechner B, Gerbitz KD. Possible significance of advanced glycation end products in serum in end-stage renal disease and in late complications of diabetes. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 355-61.
155 Thornalley PJ. Glyoxalase I – structure, function and a critical role in the enzymatic defence against glycation. Biochem Soc Trans. 2003; 31: 1343-48.
156 Vander Jagt DL. Glyoxalase II: molecular characteristics, kinetics and mechanism. Biochem Soc Trans. 1993; 21: 522-27.

157 Mulder DJ, Water TV, Lutgers HL, et al. Skin autofluorescence, a novel marker for glycemic and oxidative stress-derived advanced glycation endproducts: an overview of current clinical studies, evidence, and limitations. Diabetes Technol Ther. 2006; 8: 523-35.
158 Smit AJ, Gerrits EG. Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation endproduct deposition: a novel risk marker in chronic kidney disease. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2010; 19: 527-33.
159 Diagnoptics Technologies B.V. [Internet]. [Datum der Veröffentlichung unbekannt, zitiert am 10. März 2014]. Available from: http://www.diagnoptics.com/en
160 Januszewski AS, Sachithanandan N, Karschimkus C, et al. Non-invasive measures of tissue autofluorescence are increased in Type 1 diabetes complications and correlate with a non-invasive measure of vascular dysfunction. Diabet Med. 2012; 29: 726-33.
161 Stirban A, Negrean M, Stratmann B, et al. Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes. Diabetes Care 2006; 29: 2064-71.
162 Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Effect of intensive therapy on the microvascular complications of type 1 diabetes mellitus. JAMA. 2002; 287: 2563-69.
163 Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. N Engl J Med. 2005; 353: 2643-53
164 Holman RR, Paul SK, Bethel MA, et al. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. N Engl J Med. 2008; 359: 1577-89.
165 El-Osta A, Brasacchio D, Yao D, et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. J Exp Med. 2008; 205: 2409-17.
166 Jax TW. Metabolic memory: a vascular perspective. Cardiovasc Diabetol. 2010; 9: 51.
167 Stirban A, Gawlowski T, Roden M. Vascular effects of advanced glycation endproducts: Clinical effects and molecular mechanisms. Mol Metab. 2013; 3: 94-108.
168 Sugisawa E, Miura J, Iwamoto Y, et al. Skin autofluorescence reflects integration of past long-term glycemic control in patients with type 1 diabetes. Diabetes Care. 2013; 36: 2339-45.
169 Genuth S, Sun W, Cleary P, et al. Glycation and carboxymethyllysine levels in skin collagen predict the risk of future 10-year progression of diabetic retinopathy and nephropathy in the diabetes control and complications trial and epidemiology of diabetes interventions and complications participants with type 1 diabetes. Diabetes. 2005; 54: 3103-11.
170 Aroda VR, Conway BN, Fernandez SJ, et al. Cross-sectional evaluation of noninvasively detected skin intrinsic fluorescence and mean hemoglobin a1c in type 1 diabetes. Diabetes Technol Ther. 2013; 15: 117-23.
171 Lutgers HL, Graaff R, Links TP et al. Skin autofluorescence as a noninvasive marker of vascular damage in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care. 2006; 29: 2654-59.
172 Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PHN, et al. Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. Diabetologia. 2004; 47: 1324-30.
173 Conway BN, Aroda VR, Maynard JD, et al. Skin intrinsic fluorescence correlates with autonomic and distal symmetrical polyneuropathy in individuals with type 1 diabetes. Diabetes Care. 2011; 34: 1000-5.
174 Meerwaldt R, Hartog JW, Graaff G, et al. Skin Autofluorescence, a Measure of Cumulative Metabolic Stress and Advanced Glycation End Products, Predicts Mortality in Hemodialysis Patients. J Am Soc Nephrol. 2005; 16: 3687-93.

175 Lutgers HL, Gerrits EG, Graaff G, et al. Skin autofluorescence provides additional information to the UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) risk score for the estimation of cardiovascular prognosis in type 2 diabetes mellitus. Diabetologia. 2009; 52: 789-97.
176 Hartog JW, Gross S, Oterdoom LH, et al. Skin-autofluorescence is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients. Transplantation. 2009; 87: 1069-77.
177 Kerkeni M, Saïdi A, Bouzidi H, et al. Pentosidine as a biomarker for microvascular complications in type 2 diabetic patients. Diab Vasc Dis Res. 2013; 10: 239-45.
178 Weiss MF, Erhard P, Kader-Attia FA, et al. Mechanisms for the formation of glycoxidation products in end-stage renal disease. Kidney Int. 2000; 57: 2571-85.
179 Sternberg Z, Hennies C, Sternberg D, et al. Diagnostic potential of plasma carboxymethyllysine and carboxyethyllysine in multiple sclerosis. J Neuroinflammation. 2010; 7: 72. doi: 10.1186/1742-2094-7-72
180 Kim T, Spiegel DA. The unique reactivity of N-phenacyl-derived thiazolium salts toward α-dicarbonyl compounds. Rejuvenation Res. 2013; 16: 43-50.
181 Thornalley PJ, Minhas HS. Rapid hydrolysis and slow alpha,beta-dicarbonyl cleavage of an agent proposed to cleave glucose-derived protein cross-links. Biochem Pharmacol. 1999; 57: 303-7.
182 Wolffenbuttel BH, Boulanger CM, Crijns FR, et al. Breakers of advanced glycation end products restore large artery properties in experimental diabetes. Proc. Natl Acad Sci U S A. 1998; 95: 4630-34.
183 Candido R, Forbes JM, Thomas MC, et al. A Breaker of Advanced Glycation End Products Attenuates Diabetes-Induced Myocardial Structural Changes. Circ Res. 2003; 92: 785-92.
184 Kranstuber AL, Del Rio C, Biesiadecki BJ, et al. Advanced glycation end product cross-link breaker attenuates diabetes-induced cardiac dysfunction by improving sarcoplasmic reticulum calcium handling. Front Physiol. 2012; 3: 292 doi: 10.3389/fphys.2012.00292.
185 Vaitekvicius PV, Lane M, Spurgeon H, et al. A cross-link breaker has sustained effects on arterial and ventricular properties in older rhesus monkeys. Proc. Natl Acad Sci U S A. 2001; 98: 1171-75.
186 Liu J, Masurekar MR, Vatner DE, et al. Glycation end-product cross-link breaker reduces collagen and improves cardiac function in aging diabetic heart. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003; 285: H2587-91.
187 Shapiro BP, Owan TE, Mohammed SF, et al. Advanced glycation end products accumulate in vascular smooth muscle and modify vascular but not ventricular properties in elderly hypertensive canines. Circulation. 2008; 118: 1002-10.
188 Forbes JM, Yee LT, Thallas V, et al. Advanced glycation end product interventions reduce diabetes-accelerated atherosclerosis. Diabetes. 2004; 53: 1813-23.
189 Nobécourt E, Zeng J, Davies MJ, et al. Effects of cross-link breakers, glycation inhibitors and insulin sensitisers on HDL function and the non-enzymatic glycation of apolipoprotein A-I. Diabetologia. 2008; 51: 1008-17.
190 Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, et al. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. Circulation. 2001; 104. 1464-70.
191 Little WC, Zile MR, Kitzman DW, et al. The effect of alagebrium chloride (ALT-711), a novel glucose cross-link breaker, in the treatment of elderly patients with diastolic heart failure. J Card Fail. 2005; 11: 191-95.
192 Oudegeest-Sander MH, Olde Rikkert MG, Smits P, et al. The effect of an advanced glycation end-product crosslink breaker and exercise training on vascular function in older individuals: a randomized factorial design trial. Exp Gerontol. 2013; 48: 1509-17.

193 Hartog JW, Willemsen S, van Veldhuisen DJ, et al. Effects of alagebrium, an advanced glycation endproduct breaker, on exercise tolerance and cardiac function in patients with chronic heart failure. Eur J Heart Fail. 2011; 13: 899-908.
194 Forbes JM, Thallas V, Thomas MC, et al. The breakdown of preexisting advanced glycation end products is associated with reduced renal fibrosis in experimental diabetes. FASEB J. 2003; 17: 1762-64.
195 Lassila M, Seah KK, Allen TJ, et al. Accelerated nephropathy in diabetic apolipoprotein e-knockout mouse: role of advanced glycation end products. J Am Soc Nephrol. 2004; 15: 2125-38.
196 Peppa M, Brem H, Cai W, et al. Prevention and reversal of diabetic nephropathy in db/db mice treated with alagebrium (ALT-711). Am J Nephrol. 2006; 26: 430-36.
197 Watson AM, Gray SP, Jiaze L, et al. Alagebrium reduces glomerular fibrogenesis and inflammation beyond preventing RAGE activation in diabetic apolipoprotein E knockout mice. Diabetes. 2012; 61: 2105-13.
198 Thallas-Bonke V, Lindschau C, Rizkalla B, et al. Attenuation of extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy by the advanced glycation end product cross-link breaker ALT-711 via a protein kinase C-alpha-dependent pathway. Diabetes. 2004; 53: 2921-30.
199 Park J, Kwon MK, Huh JY, et al. Renoprotective antioxidant effect of alagebrium in experimental diabetes. Nephro Dial Transplant. 2011; 26: 3474-84.
200 Monnier VM, Sell DR. Prevention and repair of protein damage by the Maillard reaction in vivo. Rejuvenation Res. 2006; 9: 264-73.
201 Kiland JA, Gabelt BT, Tezel G, et al. Effect of the age cross-link breaker alagebrium on anterior segment physiology, morphology, and ocular age and rage. Trans Am Ophthalmol Soc. 2009; 107: 146-58.
202 Gurbuz N, Sagdic G, Sanli A, et al. Therapeutic effect of combination of alagebrium (ALT-711) and sildenafil on erectile function in diabetic rats. Int J Impot Res. 2012; 24: 114-21.
203 Wang L, Tian W, Uwais Z, et al. AGE-breaker ALT-711 plus insulin could restore erectile function in streptozocin-induced type 1 diabetic rats. J Sex Med. 2014; 11: 1452-62.
204 Zhang B, He K, Chen W, et al. Alagebrium (ALT-711) improves the anti-hypertensive efficacy of nifedipine in diabetic-hypertensive rats. Hypertens Res. 2014; 37: 901-7.
205 Coughlan MT, Thallas-Bonke V, Pete J, et al. Combination therapy with the advanced glycation end product cross-link breaker, alagebrium, and angiotensin converting enzyme inhibitors in diabetes: synergy or redundancy? Endocrinology. 2007; 148: 886-95.
206 Dhar A, Desai KM, Wu L. Alagebrium attenuates acute methylglyoxal-induced glucose intolerance in Sprague-Dawley rats. Br J Pharmacol. 2010; 159:166-75.
207 Vasan S, Foiles P, Founds H. Therapeutic potential of breakers of advanced glycation end product-protein crosslinks. Arch Biochem Biophys. 2003; 419: 89-96.
208 Krautwald M, Leech D, Horne S, et al. The advanced glycation end product-lowering agent ALT-711 is a low-affinity inhibitor of thiamine diphosphokinase. Rejuvenation Res. 2011; 14: 383-91.
209 Cheng G, Wang LL, Qu WS, et al. C16, a novel advanced glycation endproduct breaker, restores cardiovascular dysfunction in experimental diabetic rats. Acta Pharmacol Sin. 2005; 26. 1460-66.
210 Cheng G, Wang LL, Long L, et al. Beneficial effects of C36, a novel breaker of advanced glycation endproducts cross-links, on the cardiovascular system of diabetic rats. Br J Pharmacol. 2007; 152: 1196-206.
211 Vasan S, Zhang X, Zhang X, et al. An agent cleaving glucose-derived protein crosslinks in vitro and in vivo. Nature. 1996; 382: 275-78.

212 Cooper ME, Thallas V, Forbes J, et al. The cross-link breaker, N-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. Diabetologia. 2000; 43: 660-64.
213 Schwedler SB, Verbeke P, Bakala H, et al. N-phenacylthiazolium bromide decreases renal and increases urinary advanced glycation end products excretion without ameliorating diabetic nephropathy in C57BL/6 mice. Diabetes Obes Metab. 2001; 3: 230-39.
214 Oturai PS, Christensen M, Rolin B, et al. Effects of advanced glycation end-product inhibition and cross-link breakage in diabetic rats. Metabolism. 2000; 49: 996-1000.
215 Joshi D, Gupta R, Dubey A, et al. TRC4186, a novel AGE-breaker, improves diabetic cardiomyopathy and nephropathy in Ob-ZSF1 model of type 2 diabetes. J Cardiovasc Pharmacol. 2009; 54: 72-81.
216 Chandra KP, Shiwalkar A, Kotecha J, et al. Phase I clinical studies of the advanced glycation end-product (AGE)-breaker TRC4186: safety, tolerability and pharmacokinetics in healthy subjects. Clin Drug Investig. 2009; 29: 559-75.
217 Pathak P, Gupta R, Chaudhari A, et al. TRC4149 a novel advanced glycation end product breaker improves hemodynamic status in diabetic spontaneously hypertensive rats. Eur J Med Res. 2008; 13: 388-98.
218 Soulis T, Sastra S, Thallas V, et al. A novel inhibitor of advanced glycation end-product formation inhibits mesenteric vascular hypertrophy in experimental diabetes. Diabetologia. 1999; 42: 472-79.
219 Khalifah RG, Baynes JW, Hudson BG. Amadorins: novel post-Amadori inhibitors of advanced glycation reactions. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 257: 251-58.
220 Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, et al. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. Science. 1986; 232: 1629-32.
221 Thornalley PJ. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. Arch Biochem Biophys. 2003; 419: 31-40.
222 Hirsch J, Petrakova E, Feather MS. The reaction of some dicarbonyl sugars with aminoguanidine. Carbohydr Res. 1992; 232: 125-30.
223 Price DL, Rhett PM, Thorpe SR, et al. Chelating activity of advanced glycation end-product inhibitors. J Biol Chem. 2001; 276: 48967-72.
224 Khalifah RG, Baynes JW, Hudson BG. Amadorins: novel post-Amadori inhibitors of advanced glycation reactions. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 257: 251-58.
225 Buchmüller-Rouiller Y, Schneider P, Betz-Corradin S, et al. 3-amino-1,2,4-triazole inhibits macrophage NO synthase. Biochem Biophys Res Commun. 1992; 183: 150-55.
226 Thornalley PJ. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. Arch Biochem Biophys. 2003; 419: 31-40.
227 Huang Y, Lin S, Zhou J. Gene expression of receptor for advanced glycosylation end products and its modulation by aminoguanidine in diabetic kidney tissue. Chin Med J (Engl). 1998; 111: 698-704.
228 Wang X, Diao Y, Zhang H, et al. The role of RAGE in aminoguanidine-induced suppression of venous intimal hyperplasia in diabetic rats. Ann Vasc Surg. 2009; 23: 246-54.
229 Edelstein D, Brownlee M. Aminoguanidine ameliorates albuminuria in diabetic hypertensive rats. Diabetologia. 1992; 35: 96-97.
230 Soulis-Liparota T, Cooper M, Papazoglou D, et al. Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion, and tissue fluorescence in streptozocin-induced diabetic rat. Diabetes. 1991; 40: 1328-34.
231 Yamauchi A, Takei I, Makita Z, et al. Effects of aminoguanidine on serum advanced glycation endproducts, urinary albilmin excretion, mesangial expansion, and glomerular basement membrane thickening in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Diabetes Res Clin Pract. 1997; 34: 127-33.

232 Soulis T, Cooper ME, Sastra S, et al. Relative contributions of advanced glycation and nitric oxide synthase inhibition to aminoguanidine-mediated renoprotection in diabetic rats. Diabetologia. 1997; 40: 1141-51.
233 Osicka TM, Yu Y, Panagiotopoulus S, et al. Prevention of albuminuria by aminoguanidine or ramipril in streptozotocin-induced diabetic rats is associated with the normalization of glomerular protein kinase C. Diabetes. 2000; 49: 87-93.
234 Sugimoto H, Shikata K, Wada J, et al. Advanced glycation end products-cytokine-nitric oxide sequence pathway in the development of diabetic nephropathy: aminoguanidine ameliorates the overexpression of tumour necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase in diabetic rat glomeruli. Diabetologia. 1999; 42: 878-86.
235 Soulis T, Cooper ME, Vranes D, et al. Effects of aminoguanidine in preventing experimental diabetic nephropathy are related to the duration of treatment. Kidney Int. 1996; 50: 627-34.
236 Oturai PS, Rasch R, Hasselager E, et al. Effects of heparin and aminoguanidine on glomerular basement membrane thickening in diabetic rats. APMIS. 1996; 104: 259-64.
237 Wilkinson-Berka JL, Kelly DJ, Koerner SM, et al. ALT-946 and aminoguanidine, inhibitors of advanced glycation, improve severe nephropathy in the diabetic transgenic (mREN-2)27 rat. Diabetes. 2002; 51: 3283-89.
238 Birrell AM, Heffernan SJ, Kirwan P, et al. The effects of aminoguanidine on renal changes in a baboon model of Type 1 diabetes. J Diabetes Complications. 2002; 16: 301-9.
239 Kelly DJ, Gilbert RE, Cox AJ, et al. Aminoguanidine ameliorates overexpression of prosclerotic growth factors and collagen deposition in experimental diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2001; 12: 2098-107.
240 Freedman BI, Wuerth JP, Cartwright K, et al. Design and baseline characteristics for the aminoguanidine Clinical Trail in Overt Type 2 Diabetic Nephropathy (ACTION II). Control Clin Trials. 1999; 20: 493-510.
241 Bolton WK, Cattran DC, Williams ME, et al. Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. Am J Nephrol. 2004; 24: 32-40.
242 Hammes HP, Martin S, Federlin K, et al. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991; 88: 11555-58.
243 Hammes HP, Strödter D, Weiss A, et al. Secondary intervention with aminoguanidine retards the progression of diabetic retinopathy in the rat model. Diabetologia. 1995; 38: 656-60.
244 Kern TS, Engerman RL. Pharmacological inhibition of diabetic retinopathy: aminoguanidine and aspirin. Diabetes. 2001; 50: 1636-42.
245 Hammes HP, Ali SS, Uhlmann M, et al. Aminoguanidine does not inhibit the initial phase of experimental diabetic retinopathy in rats. Diabetologia. 1995; 38: 269-73.
246 Swamy-Mruthinti S, Green K, Abraham EC. Inhibition of cataracts in moderately diabetic rats by aminoguanidine. 1996; 62: 505-10.
247 Yan H, Guo Y, Zhang J, et al. Effect of carnosine, aminoguanidine, and aspirin drops on the prevention of cataracts in diabetic rats. Mol Vis. 2008; 14: 2282-91.
248 Yagihashi S, Kamijo M, Baba M, et al. Effect of aminoguanidine on functional and structural abnormalities in peripheral nerve of STZ-induced diabetic rats. Diabetes. 1992; 41: 47-52.
249 Miyauchi Y, Shikama H, Takasu T, et al. Slowing of peripheral motor nerve conduction was ameliorated by aminoguanidine in streptozocin-induced diabetic rats. Eur J Endocrinol. 1996; 134: 467-73.

250 Cameron NE, Cotter MA, Dines K, et al. Effects of aminoguanidine on peripheral nerve function and polyol pathway metabolites in streptozotocin-diabetic rats. Diabetologia. 1992; 35: 946-50.
251 Wada R, Sugo M, Nakano M, et al. Only limited effects of aminoguanidine treatment on peripheral nerve function, (Na+,K+)-ATPase activity and thrombomodulin expression in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetologia. 1999; 42: 743-47.
252 Birrell AM, Heffernan SJ, Ansselin AD, et al. Functional and structural abnormalities in the nerves of type I diabetic baboons: aminoguanidine treatment does not improve nerve function. Diabetologia. 2000; 43: 110-16.
253 Tasaka Y, Nakaya F, Omori Y. Effects of aminoguanidine on glucagon and insulin release from rat pancreatic islet. Endocr J. 1996; 43: 725-30.
254 Piercy V, Toseland CD, Turner NC. Potential benefit of inhibitors of advanced glycation end products in the progression of type II diabetes: a study with aminoguanidine in C57/BLKsJ diabetic mice. Metabolism. 1998: 47; 1477-80.
255 Usta MF, Bivalacqua TJ, Yang DY, et al. The protective effect of aminoguanidine on erectile function in streptozotocin diabetic rats. J Urol. 2003; 170: 1437-42.
256 Usta MF, Kendirci M, Gur S, et al. The breakdown of preformed advanced glycation end products reverses erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: preventive versus curative treatment. J Sex Med. 2006; 3: 242-52.
257 Chang KC, Tseng CD, Wu MS, et al. Aminoguanidine prevents arterial stiffening in a new rat model of type 2 diabetes. Eur J Clin Invest. 2006; 36: 528-35.
258 Brooks BA, Heffernan S, Thomson S, et al. The effects of diabetes and aminoguanidine treatment on endothelial function in a primate model of type 1 diabetes. Am J Primatol. 2008; 70: 796-802.
259 Arai T, Morimoto K, Oka M, et al. Aminoguanidine induces haematuria of non-glomerular origin in spontaneously hypertensive rats. Nephrol Dial Transplant. 2000; 15: 811-17.
260 Gulewitsch W, Amiradžibi S. Über das Carnosin, eine neue organische Base des Fleischextractes. Deutsch Chem Ges. 1900; 33: 1902-3.
261 Klebanov GI, Teselkin YuO, Babenkova IV, et al. Effect of carnosine and its components on free-radical reactions. Membr Cell Biol. 1998; 12: 89-99.
262 Babizhayev MA, Seguin MC, Gueyne J, et al. L-carnosine (beta-alanyl-L-histidine) and carcinine (beta-alanylhistamine) act as natural antioxidants with hydroxyl-radical-scavenging and lipid-peroxidase activities. Biochem J. 1994; 304: 509-16.
263 Hipkiss AR, Michaelis J, Syrris P. Non-enzymic glycosylation of the dipeptide L-carnosine, a potential anti-protein-cross-linking agent. FEBS Lett. 1995; 371: 81-85.
264 Hipkiss AR, Brownson C. Carnosine reacts with a glycated protein. Free Rad. Biol Med. 2000; 28: 1564-70.
265 Hipkiss AR. Carnosine and Protein Carbonyl Groups: A Possible Relationship. Biochemistry (Mosc). 2000; 65: 771-78.
266 Babizhayev MA, Yermakova VN, Sakina NL et al. N alpha acetylcarnosine as a pro-drug of L-carnosine in ophthalmic application as antioxidant. Clin Chim Acta. 1996; 254: 1-21.
267 Babizhayev MA, Deyev AI, Yermakova VN, et al. Efficacy of N-acetylcarnosine in the treatment of cataracts. Drug R D. 2002; 3: 87-103.
268 Babizhayev MA. Rejuvenation of visual functions in older adult drivers and drivers with cataract during a short-term administration of N-acetylcarnosine lubricant eye drops. Rejuvenation Res. 2004; 7: 186-98.
269 Babizhayev MA, Burke L, Micans P, et al. N-Acetylcarnosine sustained drug delivery eye drops to control the signs of ageless vision: glare sensitivity, cataract amelioration and

quality of vision currently available treatment for the challenging 50,000-patient population. Clin Interv Aging. 2009; 4: 31-50.
270 Babizhayev MA, Lankin VZ, Savel'Yeva EL, et al. Diabetes mellitus: novel insights, analysis and interpretation of pathophysiology and complications management with imidazole-containing peptidomimetic antioxidants. Recent Pat Drug Deliv Formul. 2013; 7: 216-56.
271 Britain's Royal College of Ophthamologists [Internet]. London: Britain's Royal College of Ophthamologists; 2008 [zitiert am 5. September 2014]. Available from: http://www.rcophth.ac.uk/core/core_picker/download.asp?id=177&filetitle=Revised+statement+on+N+Acetyl+Carnosine+for+Cataracts+August+2008
272 Babizhayev MA, Yermakova VN, Semiletov YA, et al. The natural histidine-containing dipeptide Nalpha-acetylcarnosine as an antioxidant for ophthalmic use. Biochemistry (Mosc). 2000; 65: 588-98.
273 Pfister F, Riedl E, Wang Q, et al. Oral carnosine supplementation prevents vascular damage in experimental diabetic retinopathy. Cell Physiol Biochem. 2011; 28: 125-36.
274 Lee YT, Hsu CC, Lin MH, et al. Histidine and carnosine delay diabetic deterioration in mice and protect human low density lipoprotein against oxidation and glycation. Eur J Pharmacol. 2005; 513: 145-50.
275 Sauerhöfer S, Yuan G, Braun GS, et al. L-carnosine, a substrate of carnosinase-1, influences glucose metabolism. Diabetes. 2007; 56: 2425-32.
276 Yay A, Akkuş D, Yapislar H, et al. Antioxidant effect of carnosine treatment on renal oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Biotech Histochem. 2014; 19: 1-6.
277 Vardarli I, Baier LJ, Hanson RL, et al. Gene for susceptibility to diabetic nephropathy in type 2 diabetes maps to 18q22.3–23. Kidney Int. 2002; 62: 2176-83.
278 Janssen B, Hohenadel D, Brinkkoetter P, et al. Carnosine as a protective factor in diabetic nephropathy: association with a leucine repeat of the carnosinase gene CNDP1. Diabetes. 2005; 54: 2320-27.
279 Freedman BI, Hicks PJ, Sale MM, et al. A leucine repeat in the carnosinase gene CNDP1 is associated with diabetic end-stage renal disease in European Americans. Nephrol Dial Transplant. 2007; 22: 1131-35.
280 Kim S, Abboud HE, Pahl MV, et al. Examination of association with candidate genes for diabetic nephropathy in a Mexican American population. Clin J Am Soc Nephrol. 2010; 5; 1072-78.
281 Chakkera HA, Hanson RL, Kobes S, et al. Association of variants in the carnosine peptidase 1 gene (CNDP1) with diabetic nephropathy in American Indians. Mol Genet Metab. 2011; 103: 185-90.
282 Brown BE, Kim CH, Torpy FR, et al. Supplementation with carnosine decreases plasma triglycerides and modulates atherosclerotic plaque composition in diabetic apo E(-/-) mice. Atherosclerosis. 2014; 232: 403-9.
283 Barski OA, Xie Z, Baba SP, et al. Dietary Carnosine Prevents Early Atherosclerotic Lesion Formation in Apolipoprotein E–Null Mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2013; 33: 1162-70.
284 Zschocke J, Nebel A, Wicks K, et al. Allelic variation in the CNDP1 gene and its lack of association with longevity and coronary heart disease. Mech Ageing Dev. 2006; 127: 817-20.
285 Münch G, Mayer S, Michaelis J, et al. Influence of advanced glycation end-products and AGE-inhibitors on nucleation-dependent polymerization of beta-amyloid peptide. Biochim Biophys Acta. 1997; 1360: 17-29.
286 Metzler DE, Ikawa M, Snell EE. A general mechanism for vitamin B_6-catalyzed reactions. J Am Chem Soc. 1954; 76*:* 648-52.

287 Gustafson RL, Martell AE. Stabilities of metal chelates of pyridoxamine. Arch Biochem Biophys. *1957;* 68*:* 485-98.
288 Voziyan PA, Khalifah RG, Thibaudeau C, et al. Modification of proteins in vitro by physiological levels of glucose: pyridoxamine inhibits conversion of Amadori intermediate to advanced glycation end-products through binding of redox metal ions. J Biol Chem. 2003; 278*:* 46616-24.
289 Onorato JM, Jenkins AJ, Thorpe SR, et al. Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation reactions, also inhibits advanced lipoxidation reactions. Mechanism of action of pyridoxamine. J Biol Chem. 2000; 275: 21177-84.
290 Jain SK, Lim G. Pyridoxine and pyridoxamine inhibits superoxide radicals and prevents lipid peroxidation, protein glycosylation, and (Na++ K+)-ATPase activity reduction in high glucose-treated human erythrocytes. Free Radic Biol Med. 2001; 30: 232-37.
291 Khalifah RG, Chen Y, Wassenberg JJ. Post-Amadori AGE inhibition as a therapeutic target for diabetic complications: a rational approach to second-generation Amadorin design. Ann N Y Acad Sci. 2005; 1043: 793-806.
292 Regulations.gov [Internet]. [Ort unbekannt]: Regulations.gov; 2009 [zitiert am 11. Oktober 2014]. Available from: http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=FDA-2005-P-0259-0004
293 Degenhardt TP, Alderson NL, Arrington DD, et al. Pyridoxamine inhibits early renal disease and dyslipidemia in the streptozotocin-diabetic rat. Kidney Int. 2002; 61: 939-50.
294 Booth AA, Khalifah RG, Hudson BG. Thiamine pyrophosphate and pyridoxamine inhibit the formation of antigenic advanced glycation end-products: comparison with aminoguanidine. Biochem Biophys Res Commun. 1996; 220: 113-19.
295 Alderson NL, Chachich ME, Youssef NN, et al. The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits lipemia and development of renal and vascular disease in Zucker obese rats. Kidney Int. 2003; 63: 2123-33.
296 Williams ME, Bolton WK, Khalifah RG, et al. Effects of Pyridoxamine in Combined Phase 2 Studies of Patients with Type 1 and Type 2 Diabetes and Overt Nephropathy. Am J Nephrol. 2007; 27: 605-14.
297 Lewis EJ, Greene T, Spitalewiz S, et al. Pyridorin in type 2 diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2012; 23: 131-36.
298 Stitt A, Gardiner TA, Alderson NL, et al. The AGE Inhibitor Pyridoxamine Inhibits Development of Retinopathy in Experimental Diabetes. Diabetes. 2002; 51: 2826-32. Erratum in: Diabetes 2003; 52: 223.
299 Padival S, Nagaraj RH. Pyridoxamine inhibits maillard reactions in diabetic rat lenses. Ophthalmic Res. 2006; 38: 294-302.
300 Metz TO, Alderson NL, Thorpe SR, et al. Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation and lipoxidation reactions: a novel therapy for treatment of diabetic complications. Arch Biochem Biophys. 2003; 419: 41-49.
301 Chang KC, Liang JT, Tsai PS, et al. Prevention of arterial stiffening by pyridoxamine in diabetes is associated with inhibition of the pathogenic glycation on aortic collagen. Br J Pharmacol. 2009; 157: 1419-26.
302 Garg S, Syngle A, Vohra K. Efficacy and tolerability of advanced glycation end-products inhibitor in osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Clin J Pain. 2013; 29: 717-24.
303 Schreeb KH, Freudenthaler S, Vormfelde SV, et al. Comparative bioavailability of two vitamin B1 preparations: benfotiamine and thiamine mononitrate. Eur J Clin Pharmacol. 1997; 52: 319-20.

304 Hammes HP, Du X, Edelstein D, et al. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. Nat Med. 2003; 9: 294-99.
305 Berrone E, Beltramo E, Solimine C, et al. Regulation of intracellular glucose and polyol pathway by thiamine and benfotiamine in vascular cells cultured in high glucose. J Biol Chem. 2006; 281: 9307-13.
306 Karachalias N, Babaei-Jadidi R, Rabbani N, et al. Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diabetes. Diabetologia. 2010; 53: 1506-16.
307 Stracke H, Hammes HP, Werkmann D, et al. Efficacy of benfotiamine versus thiamine on function and glycation products of peripheral nerves in diabetic rats. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2001; 109: 330-36.
308 Ma H, Li SY, Xu P, et al. Advanced glycation endproduct (AGE) accumulation and AGE receptor (RAGE) up-regulation contribute to the onset of diabetic cardiomyopathy. J Cell Mol Med. 2009; 13: 1751-64.
309 Alkhalaf A, Kleefstra N, Groenier KH, et al. Effect of benfotiamine on advanced glycation endproducts and markers of endothelial dysfunction and inflammation in diabetic nephropathy. PLoS One. 2012; 7: e40427. doi: 10.1371/journal.pone.0040427.
310 Stirban A, Pop A, Fischer A, et al. Variability of skin autofluorescence measurement over 6 and 12 weeks and the influence of benfotiamine treatment. Diabetes Technol Ther. 2013; 15: 733-37.
311 Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N, et al. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. Diabetes. 2003; 52: 2110-20.
312 Haupt E, Ledermann H, Köpcke W. Benfotiamine in the treatment of diabetic polyneuropathy--a three-week randomized, controlled pilot study (BEDIP study). Int J Clin Pharmacol Ther. 2005; 43: 71-77.
313 Stracke H, Lindemann A, Federlin K. A benfotiamine-vitamin B combination in treatment of diabetic polyneuropathy. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 1996; 104: 311-16.
314 Simeonov S, Pavlova M, Mitkov M, et al. Therapeutic efficacy of "Milgamma" in patients with painful diabetic neuropathy. Folia Med (Plovdiv). 1997; 39: 5-10.
315 Stracke H, Gaus W, Achenbach U, et al. Benfotiamine in diabetic polyneuropathy (BENDIP): results of a randomised, double blind, placebo-controlled clinical study. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2008; 116: 600-05.
316 Fraser DA, Diep LM, Hovden IA, et al. The effects of long-term oral benfotiamine supplementation on peripheral nerve function and inflammatory markers in patients with type 1 diabetes: a 24-month, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Diabetes Care. 2012; 35: 1095-97.
317 Alkhalaf A, Klooster A, van Oeveren W, et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial on benfotiamine treatment in patients with diabetic nephropathy. Diabetes Care. 2010; 33: 1598-1601.
318 Beltramo E, Nizheradze K, Berrone E, et al. Thiamine and benfotiamine prevent apoptosis induced by high glucose-conditioned extracellular matrix in human retinal pericytes. Diabetes Metab Res Rev. 2009; 25: 647-56.
319 Pomero F, Molinar Min A, La Selva M, et al. Benfotiamine is similar to thiamine in correcting endothelial cell defects induced by high glucose. Acta Diabetol. 2001; 38: 135-38.
320 Stirban A, Nandrean S, Kirana S, et al. Benfotiamine counteracts smoking-induced vascular dysfunction in healthy smokers. Int J Vasc Med. 2012; 2012: 968761. doi: 10.1155/2012/968761.

321 Stirban A, Pop A, Tschoepe D. A randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled trial of 6 weeks benfotiamine treatment on postprandial vascular function and variables of autonomic nerve function in Type 2 diabetes. Diabet Med. 2013; 30: 1204-08.
322 Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2011; 300: H2-12.
323 Ceylan-Isik AF, Wu S, Li Q, et al. High-dose benfotiamine rescues cardiomyocyte contractile dysfunction in streptozotocin-induced diabetes mellitus. J Appl Physiol (1985). 2006; 100: 150-56.
324 De Grey A, Rae M. Niemals alt!: So lässt sich das Altern umkehren. Fortschritte der Verjüngungsforschung. Bielefeld: transcript; 2010.
325 Kochakian M, Manjula BN, Egan JJ. Chronic dosing with aminoguanidine and novel advanced glycosylation end product-formation inhibitors ameliorates cross-linking of tail tendon collagen in STZ-induced diabetic rats. Diabetes. 1996; 45: 1694-1700.
326 Vasan S, Netram K, Zhang X, et al. Identification of new inhibitors of AGE-protein cross-linking using a novel ELISA. Diabetes. 1996; 45 (Suppl. 2): 72A.
327 Forbes JM, Soulis T, Thallas V, et al. Renoprotective effects of a novel inhibitor of advanced glycation. Diabetologia. 2001; 44: 108-14.
328 Miyata T, Ueda Y, Asahi K, et al. Mechanism of the inhibitory effect of OPB-9195 [(+/-)-2-isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-yla cetanilide] on advanced glycation end product and advanced lipoxidation end product formation. J Am Soc Nephrol. 2000; 11: 1719-25.
329 Nakamura S, Makita Z, Ishikawa S, et al. Progression of nephropathy in spontaneous diabetic rats is prevented by OPB-9195, a novel inhibitor of advanced glycation. Diabetes. 1997; 46: 895-99.
330 Nakamura S, Tachikawa T, Tobita K, et al. An inhibitor of advanced glycation end product formation reduces N epsilon-(carboxymethyl)lysine accumulation in glomeruli of diabetic rats. Am J Kidney Dis. 2003; 41: 68-71.
331 Tsuchida K, Makita Z, Yamagishi S, et al. Suppression of transforming growth factor beta and vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy in rats by a novel advanced glycation end product inhibitor, OPB-9195. Diabetologia. 1999; 42: 579-88.
332 Miyata T, Ishikawa S, Asashi k, et al. 2-Isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-ylacetanilide (OPB-9195) treatment inhibits the development of intimal thickening after balloon injury of rat carotid artery: role of glycoxidation and lipoxidation reactions in vascular tissue damage. FEBS Lett. 1999; 445: 202-6.
333 Wada R, Nishizawa Y, Yagihashi N, et al. Effects of OPB-9195 anti-glycation agent, on experimental diabetic neuropathy. Eur J Clin Invest. 2001; 31: 513-20.
334 Rahbar S, Figarola JL. Novel inhibitors of advanced glycation endproducts. Arch Biochem Biophys. 2003; 419: 63-79.
335 Figarola JL, Scott S, Loera S, et al. LR-90 a new advanced glycation endproduct inhibitor prevents progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-diabetic rats. Diabetologia. 2003; 46: 1140-52.
336 Figarola JL, Loera S, Weng Y, et al. LR-90 prevents dyslipidaemia and diabetic nephropathy in the Zucker diabetic fatty rat. Diabetologia. 2008; 51: 882-91.
337 Figarola JL, Scott S, Loera S, et al. Prevention of early renal disease, dyslipidaemia and lipid peroxidation in STZ-diabetic rats by LR-9 and LR-74, novel AGE inhibitors. Diabetes Metab Res Rev. 2005; 21: 533-44.
338 Figarola JL, Singhal J, Rahbar S, et al. LR-90 prevents methylglyoxal-induced oxidative stress and apoptosis in human endothelial cells. Apoptosis. 2004; 19: 776-88.

339 Satheesan S, Figarola JL, Dabbs T, et al. Effects of a new advanced glycation inhibitor, LR-90, on mitigating arterial stiffening and improving arterial elasticity and compliance in a diabetic rat model: aortic impedance analysis. Br J Pharmacol. 2014; 171: 3103-14.
340 Bhatwadekar A, Glenn JV, Figarola JL, et al. A new advanced glycation inhibitor, LR-90, prevents experimental diabetic retinopathy in rats. Br J Ophthalmol. 2008; 92: 545-47.
341 Münch G, Taneli Y, Schraven E, et al. The cognition-enhancing drug tenilsetam is an inhibitor of protein crosslinking by advanced glycosylation. J Neural Transm Park Dis Dement Sect. 1994; 8: 193-208.
342 Webster J, Urban C, Berbaum K, et al. The carbonyl scavengers aminoguanidine and tenilsetam protect against the neurotoxic effects of methylglyoxal. Neurotox Res. 2005; 7: 95-101.
343 Ihl R, Perisic I, Maurer K, et al. Effects of 3 months treatment with tenilsetam in patients suffering from dementia of Alzheimer type (DAT). J Neural Trans. 1989; 1: 84-85.
344 Saletu B, Semlitsch HV, Anderer P, et al. Psychophysiological research in psychiatry and neuropsychopharmacology. II. The investigation of antihypoxidotic/nootropic drugs (tenilsetam and co-dergocrine-mesylate) in elderlies with the Viennese Psychophysiological Test-System (VPTS). Methods Find Exp Clin Pharmacol. 1989; 11: 43-55.
345 Shoda H, Miyata S, Liu BF, et al. Inhibitory effects of tenilsetam on the Maillard reaction. Endocrinology. 1997; 138: 1886-92.
346 Hoffmann J, Alt A, Lin J, et al. Tenilsetam prevents early diabetic retinopathy without correcting pericyte loss. Thromb Haemost. 2006; 95: 689-95.
347 Izuhara Y, Nangaku M, Takizawa S, et al. A novel class of advanced glycation inhibitors ameliorates renal and cardiovascular damage in experimental rat models. Nephrol Dial Transplant. 2008; 23: 497-509.
348 Miyata T, van Ypersele de Strihou C, Ueda Y, et al. Angiotensin II receptor antagonists and angiotensin-converting enzyme inhibitors lower in vitro the formation of advanced glycation end products: biochemical mechanisms. J Am Soc Nephrol. 2002; 13: 2478-87.
349 Guo Q, Mori T, JiangY, et al. Methylglyoxal contributes to the development of insulin resistance and salt sensitivity in Sprague-Dawley rats. J Hypertens. 2009; 27: 1664-71.
350 Wautier JL, Zoukourian C, Chappey O, et al. Receptor-mediated endothelial cell dysfunction in diabetic vasculopathy: soluble receptor for advanced glycation end products blocks hyperpermeability in diabetic rats. J Clin Invest. 1996; 97: 238-43.
351 Park L, Raman KG, Lee KJ, et al. Suppression of accelerated diabetic atherosclerosis by the soluble receptor for advanced glycation endproducts. Nat Med. 1998; 4: 1025-31.
352 Bucciarelli LG, Wendt T, Qu W, et al. RAGE blockade stabilizes established atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-null mice. Circulation. 2002; 106: 2827-35.
353 Zhou Z, Wang K, Penn MS, et al. Receptor for AGE (RAGE) mediates neointimal formation in response to arterial injury. Circulation. 2003; 107: 2238-43.
354 Wendt TM, Tanji N, Guo J, et al. RAGE drives the development of glomerulosclerosis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. Am J Pathol. 2003; 162: 1123-37.
355 Goova MT, Li J, Kislinger T, et al. Blockade of receptor for advanced glycation end-products restores effective wound healing in diabetic mice. Am J Pathol. 2001; 159: 513-525
356 TransTech Pharma, LLC [Internet]. [Ort unbekannt]: TransTech Pharma, LLC; 2014 [zitiert am 30. September 2014]. Available from: http://www.ttpharma.com/TherapeuticAreas/AlzheimersDisease/tabid/95/Default.aspx
357 Lee YS, Kim H, Kim YH, et al. Synthesis and structure-activity relationships of tri-substituted thiazoles as RAGE antagonists for the treatment of Alzheimer's disease. Bioorg Med Chem Lett. 2012; 22: 7555-61.

358 Han YT, Choi GI, Son D, et al. Ligand-based design, synthesis, and biological evaluation of 2-aminopyrimidines, a novel series of receptor for advanced glycation end products (RAGE) inhibitors. J Med Chem. 2012; 55: 9120-35.
359 Arumugam T, Ramachandran V, Gomez SB, et al. S100P-derived RAGE antagonistic peptide reduces tumor growth and metastasis. Clin Cancer Res. 2012; 18: 4356-64.
360 Sabbagh MN, Agro A, Bell J, et al. PF-04494700, an oral inhibitor of receptor for advanced glycation end products (RAGE), in Alzheimer disease. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2011; 25: 206-12.
361 Galasko D, Bell J, Mancuso JY, et al. Clinical trial of an inhibitor of RAGE-Aβ interactions in Alzheimer disease. Neurology. 2014; 82: 1536-42.
362 Hobart J, Cano S, Posner H, et al. Putting the Alzheimer's cognitive test to the test I: traditional psychometric methods. Alzheimers Dement. 2013; 9 (1 Suppl): S4-9.
363 Burstein AH, Grimes I, Galasko DR, et al. Effect of TTP488 in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. BMC Neurol. 2014; 14: 12. doi: 10.1186/1471-2377-14-12
364 Zhou B, Rothlein R, Shen J, et al. TTP4000, a soluble fusion protein inhibitor of Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) is an effective therapy in animal models of Alzheimer’s disease. FASEB J. 2013; 27: 803.1
365 Li G, Tang J, Du Y, et al. Beneficial effects of a novel RAGE inhibitor on early diabetic retinopathy and tactile allodynia. Mol Vis. 2011; 17: 3156-65.
366 ClinicalTrials.gov [Internet]. [Ort unbekannt]: U.S. National Institutes of Health; 2012 [zitiert am 1. Oktober 2014]. Available from: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01548430
367 Liang C, Ren Y, Tan H, et al. Rosiglitazone via upregulation of Akt/eNOS pathways attenuates dysfunction of endothelial progenitor cells, induced by advanced glycation end products. Br J Pharmacol. 2009; 158: 1865-75.
368 Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi S, et al. Rosuvastatin blocks advanced glycation end products-elicited reduction of macrophage cholesterol efflux by suppressing NADPH oxidase activity via inhibition of geranylgeranylation of Rac-1. Hormon Metab Res. 2011; 43: 619-24.
369 Bro S, Flyvbjerg A, Binder CJ, et al. A neutralizing antibody against receptor for advanced glycation end products (RAGE) reduces atherosclerosis in uremic mice. Atherosclerosis. 2008; 201: 274-80.
370 Jensen LJ, Denner L, Schrijvers BF, et al. Renal effects of a neutralizing RAGE-antibody in long-term streptozotocin-diabetic mice. J Endocrinol. 2006; 188: 493-501
371 Rong LL, Trojaborg W, Qu W, et al. Antagonism of RAGE suppresses peripheral nerve regeneration. FASEB J. 2004; 18: 1812-17.
372 Zhu Y, Shu T, Lin Y, et al. Inhibition of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) protects pancreatic β-cells. Biochem Biophys Res Commun. 2011; 404: 159-65.
373 Rahbar S, Natarajan R, Yerneni K, et al. Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. Clin Chim Acta. 2000; 301: 65-77.
374 Kanazawa I, Yamamoto M, Yamaguchi T, et al. Effects of metformin and pioglitazone on serum pentosidine levels in type 2 diabetes mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2011; 119: 362-65.
375 Marx N, Walcher D, Ivanova N, et al. Thiazolidinediones Reduce Endothelial Expression of Receptors for Advanced Glycation End Products. Diabetes. 2004, 53: 2662-68.
376 Oz Gul O, Tuncel E, Yilmaz Y, et al. Comparative effects of pioglitazone and rosiglitazone on plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products in type 2 diabetes mellitus patients. Metabolism. 2010; 59: 64-69.
377 Wu L, Eftekharpour E, Davies GF, et al. Troglitazone selectively inhibits glyoxalase I gene expression. Diabetologia. 2001; 44: 2004-12.

378 Wu L, Davies GF, Roesler WJ, et al. Regulation of the glyoxalase pathway in human brain microvascular endothelium: effects of troglitazone and tertiary butylhydroperoxide. Endothelium. 2002; 9: 273-78.
379 Liang YJ, Jian JH, Chen CY, et al. L-165,041, troglitazone and their combination treatment to attenuate high glucose-induced receptor for advanced glycation end products (RAGE) expression. Eur J Pharmacol. 2013; 715: 33-38.
380 Gale EA. Troglitazone: the lesson that nobody learned? Diabetologia. 2006; 49: 1-6.
381 Loke YK, Kwok CS, Singh S. Comparative cardiovascular effects of thiazolidinediones: systematic review and meta-analysis of observational studies. BMJ. 2011; 342:d1309. doi: 10.1136/bmj.d1309.
382 U.S. Food and Drug administration [Internet]. Silver Spring: U.S. Food and Drug administration; 2011 [updated 2011 August 4; zitiert 28. August 2014]. Available from: http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm226257.htm
383 Tan KC, Chow WS, Tso AW, et al. Thiazolidinedione increases serum soluble receptor for advanced glycation end-products in type 2 diabetes. Diabetologia. 2007; 1819-25.
384 Morcos M, Schlotterer A, Sayed AA, et al. Rosiglitazone reduces angiotensin II and advanced glycation end product-dependent sustained nuclear factor-kappaB activation in cultured human proximal tubular epithelial cells. Horm Metab Res. 2008; 40: 752-59.
385 Guminiczek A. Effects of pioglitazone on hyperglycemia-induced alterations in antioxidative system in tissues of alloxan-treated diabetic animals. Exp Toxicol Pathol. 2005; 56: 321-26.
386 Puddu A, Sanguineti R, Durante A, et al. Pioglitazone attenuates the detrimental effects of advanced glycation end-products in the pancreatic beta cell line HIT-T15. Regul Pept. 2012; 177: 79-84.
387 Yuan X, Zhang Z, Gong K, et al. Inhibition of reactive oxygen species/extracellular signal-regulated kinases pathway by pioglitazone attenuates advanced glycation end products-induced proliferation of vascular smooth muscle cells in rats. Biol Pharm Bull. 2011; 34: 618-23.
388 Li F, Cai Z, Chen F, et al. Pioglitazone attenuates progression of aortic valve calcification via down-regulating receptor for advanced glycation end products. Basic Res Cardiol. 2012; 107: 306. doi: 10.1007/s00395-012-0306-0
389 Mirmiranpour H, Mousavizadeh M, Noshad S, et al. Comparative effects of pioglitazone and metformin on oxidative stress markers in newly diagnosed type 2 diabetes patients: a randomized clinical trial. J Diabetes Complications. 2013; 27: 501-7.
390 Koyama H, Tanaka S, Monden M, et al. Comparison of effects of pioglitazone and glimepiride on plasma soluble RAGE and RAGE expression in peripheral mononuclear cells in type 2 diabetes: randomized controlled trial (PioRAGE). Atherosclerosis. 2014; 234: 329-34.
391 Hirasawa Y, Matsui Y, Yamane K, et al. Pioglitazone improves obesity type diabetic nephropathy: relation to the mitigation of renal oxidative reaction. Exp Anim. 2008; 57: 423-32.
392 Liu LP, Yan TH, Jiang LY, et al. Pioglitazone ameliorates memory deficits in streptozotocin-induced diabetic mice by reducing brain β-amyloid through PPARγ activation. Acta Pharmacol Sin. 2013; 34: 455-63.
393 Jiang LY, Tang SS, Wang XY, et al. PPARγ agonist pioglitazone reverses memory impairment and biochemical changes in a mouse model of type 2 diabetes mellitus. CNS Neurosci Ther. 2012; 18: 659-66.

394 Yu X, Li C, Li X, et al. Rosiglitazone prevents advanced glycation end products-induced renal toxicity likely through suppression of plasminogen activator inhibitor-1. Toxicol Sci. 2007; 96: 346-56.
395 El-Bassossy HM, Abo-Warda SM, Fahmy A. Rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor γ stimulant, abrogates diabetes-evoked hypertension by rectifying abnormalities in vascular reactivity. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2012; 39: 643-49.
396 Wang K, Zhou Z, Zhang M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma down-regulates receptor for advanced glycation end products and inhibits smooth muscle cell proliferation in a diabetic and nondiabetic rat carotid artery injury model. J Pharmacol Exp Ther. 2006; 317: 37-43.
397 Ihm SH, Chang K, Kim HY, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation attenuates cardiac fibrosis in type 2 diabetic rats: the effect of rosiglitazone on myocardial expression of receptor for advanced glycation end products and of connective tissue growth factor. Basic Res Cardiol. 2010; 105: 399-407.
398 Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. Ann Intern Med. 2002; 137: 25-33.
399 Salpeter SR, Greyber E, Pasternak GA, et al. Risk of fatal and nonfatal lactic acidosis with metformin use in type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. 2010; (4): CD002967. doi: 10.1002/14651858.CD002967.pub4.
400 Berger W, Mehnert-Aner S, Mülly K, et al. 10 cases of lactic acidosis during biguanide therapy (buformin and phenformin). Schweizerische medizinische Wochenschrift. 1976; 106: 1830-34.
401 Meinert CL, Tonascia S. Clinical trials: design, conduct, and analysis. Oxford [Oxfordshire]: Oxford University Press; 1986.
402 Collier CA, Bruce SR, Smith AC, et al. Metformin counters the insulin-induced suppression of fatty acid oxidation and stimulation of triacylglycerol storage in rodent skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006; 291: E182-89.
403 Beisswenger PJ, Howell SK, Touchette AD, et al. Metformin reduces systemic methylglyoxal levels in type 2 diabetes. Diabetes. 1999; 48: 198-202.
404 Ruggiero-Lopez D, Lecomte M, Moinet G, et al. Reaction of metformin with dicarbonyl compounds. Possible implication in the inhibition of advanced glycation end product formation. Biochem Pharmacol. 1999; 58: 1765-63.
405 Beisswenger P, Ruggiero-Lopez D. Metformin inhibition of glycation processes. Diabetes Metab. 2003; 29 (4 Pt 2): 6S95-103.
406 Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, et al. Metformin inhibits advanced glycation end products (AGEs)-induced renal tubular cell injury by suppressing reactive oxygen species generation via reducing receptor for AGEs (RAGE) expression. Horm Metab Res. 2012; 44: 891-95.
407 Ouslimani N, Mahrouf M, Peynet J, et al. Metformin reduces endothelial cell expression of both the receptor for advanced glycation end products and lectin-like oxidized receptor 1. Metabolism. 2007; 56: 308-13.
408 Lund SS, Tarnow L, Stehouwer CD, et al. Impact of metformin versus repaglinide on non-glycaemic cardiovascular risk markers related to inflammation and endothelial dysfunction in non-obese patients with type 2 diabetes. Eur J Endocrinol. 2008; 158: 631-41.
409 Matsuki K, Tamasawa N, Yamashita M, et al. Metformin restores impaired HDL-mediated cholesterol efflux due to glycation. Atherosclerosis. 2009, 206: 434-38.
410 Rabbani N, Chittari MV, Bodmer CW, et al. Increased glycation and oxidative damage to apolipoprotein B100 of LDL cholesterol in patients with type 2 diabetes and effect of metformin. Diabetes. 2010; 59: 1038-45.

411 Jyothirmayi GN, Soni BJ, Masurekar M, et al. Effects of Metformin on Collagen Glycation and Diastolic Dysfunction in Diabetic Myocardium. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 1998; 3: 319-26.
412 Tanaka Y, Uchino H, Shimizu T, et al. Effect of metformin on advanced glycation endproduct formation and peripheral nerve function in streptozotocin-induced diabetic rats. Eur J Pharmacol. 1999; 376: 17-22.
413 Diamanti-Kandarakis E, Alexandraki K, Piperi C, et al. Effect of metformin administration on plasma advanced glycation end product levels in women with polycystic ovary syndrome. Metabolism. 2007; 56: 129-134
414 Kiho T, Kato M, Usui S, et al. Effect of buformin and metformin on formation of advanced glycation end products by methylglyoxal. Clin Chim Acta. 2005; 358: 139-45.
415 Balfour JA, McTavish D. Acarbose. An update of its pharmacology and therapeutic use in diabetes mellitus. Drugs. 1993; 46: 1025-54.
416 Cohen MP, Klepser H, Wu VY. Effect of alpha-glucosidase inhibition on the nonenzymatic glycation of glomerular basement membrane. Gen Pharmacol. 1991; 22: 515-19.
417 Cohen MP, Klepser H. Alpha-glucosidase inhibition prevents increased collagen fluorescence in experimental diabetes. Gen Pharmacol. 1991; 22: 607-10.
418 Decarr LB, Velazquez N, Vasselli JR. Acarbose reduces nonenzymatic glycation of low density lipoprotein (GLDL) and improves lipoprotein composition in sucrose-fed diabetic rats. Diabetes. 1991; 40 (Suppl 1): 270A.
419 Tsunosue M, Mashiko N, Ohta Y, et al. An α-glucosidase inhibitor, acarbose treatment decreases serum levels of glyceraldehyde-derived advanced glycation end products (AGEs) in patients with type 2 diabetes. Clin Exp Med. 2010; 10: 139-41.
420 Ojima A, Ishibashi Y, Matsui T, et al. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonist Inhibits Asymmetric Dimethylarginine Generation in the Kidney of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats by Blocking Advanced Glycation End Product–Induced Protein Arginine Methyltranferase-1 Expression. Am J Pathol. 2013. 182: 132-41.
421 Chen S, An FM, Yin L, et al. Glucagon-like peptide-1 protects hippocampal neurons against advanced glycation end product-induced tau hyperphosphorylation. Neuroscience. 2014; 256: 137-46.
422 Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, et al. Sitagliptin augments protective effects of GLP-1 against advanced glycation end product receptor axis in endothelial cells. Horm Metab Res. 2011; 43: 731-34.
423 Nakashima S, Matsui T, Takeuchi M, et al. Linagliptin Blocks Renal Damage in Type 1 Diabetic Rats by Suppressing Advanced Glycation End Products-Receptor Axis. Horm Metab Res. 2014; 46: 717-21.
424 Sakata K, Hayakawa M, Yano Y, et al. Efficacy of alogliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on glucose parameters, the activity of the advanced glycation end product (AGE) - receptor for AGE (RAGE) axis and albuminuria in Japanese type 2 diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 2013; 29: 624-30.
425 Mamputu JC, Renier G. Advanced glycation end products increase, through a protein kinase C-dependent pathway, vascular endothelial growth factor expression in retinal endothelial cells. Inhibitory effect of gliclazide. J Diabetes Complications. 2002; 16: 284-93.
426 Renier G, Desfaits AC, Serri O. Gliclazide decreases low-density lipoprotein oxidation and monocyte adhesion to the endothelium. Metabolism. 2000; 49 (2 Suppl 1): 17-22.
427 Ke JT, Li M, Xu SQ, et al. Gliquidone decreases urinary protein by promoting tubular reabsorption in diabetic Goto-Kakizaki rats. J Endocrinol. 2014; 220: 129-41.

428 Kitahara Y, Takeuchi M, Miura K, et al. Glyceraldehyde-derived advanced glycation end products (AGEs). A novel biomarker of postprandial hyperglycaemia in diabetic rats. Clin Exp Med. 2008; 8: 175-77.
429 Miura K, Kitahara Y, Kajioka T, et al. Combination therapy with nateglinide and telmisartan ameliorates insulin resistance in zucker Fatty rats by suppressing advanced glycation end product receptor axis. Horm Metab Res. 2011; 43: 226-28.
430 Engelen L, Lund SS, Ferreira I, et al. Improved glycemic control induced by both metformin and repaglinide is associated with a reduction in blood levels of 3-deoxyglucosone in nonobese patients with type 2 diabetes. Eur J Endocrinol. 2011; 164: 371-79.
431 Wihler C, Schäfer S, Schmid K, et al. Renal accumulation and clearance of advanced glycation end-products in type 2 diabetic nephropathy: effect of angiotensin-converting enzyme and vasopeptidase inhibition. Diabetologia. 2005; 48: 1645-53.
432 Komiya N, Hirose H, Saisho Y, et al. Effects of 12-month valsartan therapy on glycation and oxidative stress markers in type 2 diabetic subjects with hypertension. Int Heart J. 2008; 49: 681-89.
433 Ono Y, Mizuno K, Takahashi M, et al. Suppression of advanced glycation and lipoxidation end products by angiotensin II type-1 receptor blocker candesartan in type 2 diabetic patients with essential hypertension. Fukushima J Med Sci. 2013; 59: 69-75.
434 Engelen L, Persson F, Ferreira I, et al. Irbesartan treatment does not influence plasma levels of the advanced glycation end products N(epsilon)(1-carboxymethyl)lysine and N(epsilon)(1-carboxyethyl)lysine in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria. A randomized controlled trial. Nephro Dial Transplant. 2011; 26: 3573-77.
435 Matsui T, Yamagishi S, Ueda S, et al. Telmisartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, inhibits advanced glycation end-product (AGE)-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in mesangial cells through downregulation of receptor for AGEs via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. J Int Med Res. 2007; 35: 482-90.
436 Koh EJ, Yoon SJ, Lee SM. Losartan protects liver against ischaemia/reperfusion injury through PPAR-γ activation and receptor for advanced glycation end-products down-regulation. Br J Pharmacol. 2013; 169: 1404-16.
437 Huang JS, Guh JY, Chen HC, et al. Role of receptor for advanced glycation end-product (RAGE) and the JAK/STAT-signaling pathway in AGE-induced collagen production in NRK-49F cells. J Cell Biochem. 2001; 81: 102-13.
438 Sebeková K, Gazdíková K, Syrová D, et al. Effects of ramipril in nondiabetic nephropathy: improved parameters of oxidatives stress and potential modulation of advanced glycation end products. J Hum Hypertens. 2003; 17: 265-70.
439 Liu XP, Pang YJ, Zhu WW, et al. Benazepril, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, alleviates renal injury in spontaneously hypertensive rats by inhibiting advanced glycation end-product-mediated pathways. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2009; 36: 287-96.
440 Sugiyama T, Okuno T, FukuharaM, et al. Angiotensin II receptor blocker inhibits abnormal accumulation of advanced glycation end products and retinal damage in a rat model of type 2 diabetes. Exp Eye Res. 2007; 85: 406-12.
441 Davis BJ, Forbes JM, Thomas MC, et al. Superior renoprotective effects of combination therapy with ACE and AGE inhibition in the diabetic spontaneously hypertensive rat. Diabetologia. 2004; 47: 89-97.
442 Forbes JM, Thomas MC, Thorpe SR, et al. The effects of valsartan on the accumulation of circulating and renal advanced glycation end products in experimental diabetes. Kidney Int Suppl. 2004; 66: S105-07.

443 Ihara Y, Egashira K, Nakano K, et al. Upregulation of the ligand-RAGE pathway via the angiotensin II type I receptor is essential in the pathogenesis of diabetic atherosclerosis. J Mol Cell Cardiol. 2007; 43: 455-64.
444 Calkin AC, Giunti S, Sheehy KJ, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor rosuvastatin and the angiotensin receptor antagonist candesartan attenuate atherosclerosis in an apolipoprotein E-deficient mouse model of diabetes via effects on advanced glycation, oxidative stress and inflammation. Diabetologia. 2008; 51: 1731-40.
445 Forbes JM, Cooper ME, Thallas V, et al. Reduction of the accumulation of advanced glycation end products by ACE inhibition in experimental diabetic nephropathy. Diabetes. 2002; 51: 3274-82.
446 Thomas MC, Tikellis C, Burns WM, et al. Interactions between renin angiotensin system and advanced glycation in the kidney. J Am Soc Nephrol. 2005; 16: 2976-84.
447 Sobal G, Menzel EJ, Sinzinger H. Calcium antagonists as inhibitors of in vitro low density lipoprotein oxidation and glycation. Biochem Pharmacol. 2001; 61: 373-79.
448 Kawai H, Deguchi S, Deguchi K, et al. Synergistic benefit of combined amlodipine plus atorvastatin on neuronal damage after stroke in Zucker metabolic rat. Brain Res. 2011; 1368: 317-23.
449 Akira K, Amano M, Okajima F, et al. Inhibitory effects of amlodipine and fluvastatin on the deposition of advanced glycation end products in aortic wall of cholesterol and fructose-fed rabbits. Bio Pharm Bull. 2006; 29: 75-81.
450 Busch M, Franke S, Wolf G, et al. Serum levels of the advanced glycation end products Nepsilon-carboxymethyllysine and pentosidine are not influenced by treatment with the angiotensin receptor II type 1 blocker irbesartan in patients with type 2 diabetic nephropathy and hypertension. Nephron Clin Pract. 2008; 108: c291-97.
451 Nakamura T, Sato E, Fujiwara N, et al. Calcium channel blocker inhibition of AGE and RAGE axis limits renal injury in nondiabetic patients with stage I or II chronic kidney disease. Clin Cardiol. 2011; 34: 372-77.
452 Yamagishi S, Takeuchi M. Nifedipine inhibits gene expression of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in endothelial cells by suppressing reactive oxygen species generation. Drugs Exp Clin Res. 2004; 30: 167-75.
453 Matsui T, Yamagishi S, Takeuchi M, et al. Nifedipine, a calcium channel blocker, inhibits advanced glycation end product (AGE)-elicited mesangial cell damage by suppressing AGE receptor (RAGE) expression via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. Biochem Biophys Res Commun. 2009; 385: 269-72.
454 Matsui T, Yamagishi S, Takeuchi M, et al. Nifedipine inhibits advanced glycation end products (AGEs) and their receptor (RAGE) interaction-mediated proximal tubular cell injury via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. Biochem Biophys Res Commun. 2010; 398: 326-30.
455 Furberg CD. Natural statins and stroke risk. Circulation. 1999; 99: 185-88.
456 Cuccurullo C, Iezzi A, Fazia ML, et al. Suppression of RAGE as a basis of simvastatin-dependent plaque stabilization in type 2 diabetes. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006; 26: 2716-23.
457 Santilli F, Bucciarelli L, Noto D, et al. Decreased plasma soluble RAGE in patients with hypercholesterolemia: effects of statins. Free Radical Biol Med. 2007; 43: 1255-62.
458 Tam HL, Shiu SW, Wong Y, et al. Effects of atorvastatin on serum soluble receptors for advanced glycation end-products in type 2 diabetes. Atherosclerosis. 2010; 209: 173-77.
459 Quade-Lyssy P, Kanarek AM, Baiersdörfer M, et al. Statins stimulate the production of a soluble form of the receptor for advanced glycation end products. J Lipid Res. 2013; 54: 3052-61.

460 Jinnouchi Y, Yamagishi S, Takeuchi M, et al. Atorvastatin decreases serum levels of advanced glycation end products (AGEs) in patients with type 2 diabetes. Clin Exp Med. 2006; 6: 191-93.
461 Scharnagl H, Stojakovic T, Winkler k, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor cerivastatin lowers advanced glycation end products in patients with type 2 diabetes. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2007; 115: 372-75.
462 Okamoto T, Yamagishi S, Inagaki Y, et al. Angiogenesis induced by advanced glycation end products and its prevention by cerivastatin. FASEB J. 2002; 16: 1928-30.
463 Ishibashi Y, Yamagishi S, Matsui T, et al. Pravastatin inhibits advanced glycation end products (AGEs)-induced proximal tubular cell apoptosis and injury by reducing receptor for AGEs (RAGE) level. Metabolism. 2012; 61: 1067-72.
464 Huby R, Harding JJ. Non-enzymic glycosylation (glycation) of lens proteins by galactose and protection by aspirin and reduced glutathione. Exp Eye Res. 1988; 47: 53-59.
465 Blakytny R, Harding JJ. Glycation (non-enzymic glycosylation) inactivates glutathione reductase. Biochem J. 1992; 288: 303-7.
466 Blakytny R, Harding JJ. Prevention of cataract in diabetic rats by aspirin, paracetamol (acetaminophen) and ibuprofen. Exp Eye Res. 1992; 54: 509-18.
467 Qin W, Smith JB, Smith DL. Reaction of aspirin with cysteinyl residues of lens γ-crystallins: a mechanism for the proposed anti-cataract effect of aspirin. Biochim Biophys Acta. 1993; 1181: 103-10.
468 Contreras I, Reiser KM, Martinez N, et al. Effects of aspirin or basic amino acids on collagen cross-links and complications in NIDDM. Diabetes Care. 1997; 20: 832-35.
469 Harding JJ, Egerton M, Harding RS. Protection against cataract by aspirin, paracetamol and ibuprofen. Acta Ophthalmol (Copenh). 1989; 67: 618-24.
470 Shi Q, Yan H, Li MY, et al. Effect of a combination of carnosine and aspirin eye drops on streptozotocin -- induced diabetic cataract in rats. Mol Vis. 2009; 15: 2129-38.
471 Cumming RG, Mitchell P. Medications and cataract. The Blue Mountains Eye Study. Ophthalmology. 1998; 105: 1751-58.
472 Chew EY, Williams GA, Burton TC, et al. Aspirin effects on the development of cataracts in patients with diabetes mellitus. Early treatment diabetic retinopathy study report 16. Arch Ophthalmol. 1992; 110: 339-42.
473 Marques LJ, Zheng L, Poulakis N, et al. Pentoxifylline inhibits TNF-alpha production from human alveolar macrophages. Am J Respir Crit Care Med. 1999; 159: 508-11.
474 Meiners I, Hauschildt S, Nieber K, et al. Pentoxyphylline and propentophylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts. J Neural Transm. 2004; 111: 441-47.
475 Wu J, Zhao MY, Zheng H, et al. Pentoxifylline alleviates high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis and early atherosclerosis in rats by inhibiting AGE and RAGE expression. Acta Pharmacol Sin. 2010; 31: 1367-75.
476 Vlassara H, Uribarri J, Cai W, et al. Effects of sevelamer on HbA1c, inflammation, and advanced glycation end products in diabetic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2012; 7: 934-42.
477 Smilkstein MJ, Knapp GL, Kulig KW, et al. Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985). N Engl J Med. 1988; 319: 1557-62.
478 Nakayama M, Izumi G, Nemoto Y, et al. Suppression of N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine generation by the antioxidant N-acetylcysteine. Perit Dial Int. 1999; 19: 207-10.
479 Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. Free Radic Biol Med. 1995; 19: 227-50.

480 Ziegler D, Schatz H, Conrad F, et al. Effects of treatment with the antioxidant alpha-lipoic acid on cardiac autonomic neuropathy in NIDDM patients. A 4-month randomized controlled multicenter trial (DEKAN Study). Deutsche Kardiale Autonome Neuropathie. Diabetes Care. 1997; 20: 369-73.
481 Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau KJ, et al. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). Diabetologia. 1995; 38: 1425-33.
482 Reljanovic M, Reichel G, Rett K, et al. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): a two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial (ALADIN II). Alpha Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. Free Radic Res. 1999; 31: 171-79.
483 Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau KJ, et al. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a 7-month multicenter randomized controlled trial (ALADIN III Study). ALADIN III Study Group. Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. Diabetes Care. 1999; 22: 1296-301.
484 Bierhaus A, Chevion S, Chevion M, et al. Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. Diabetes. 1997; 46: 1481-90.
485 Midaoui AE, Elimadi A, Wu L, et al. Lipoic acid prevents hypertension, hyperglycemia, and the increase in heart mitochondrial superoxide production. Am J Hypertens. 2003; 16: 173-79.
486 Muellenbach EM, Diehl CJ, Teachey MK, et al. Metabolic interactions of AGE inhibitor pyridoxamine and antioxidant alpha-lipoic acid following 22 weeks of treatment in obese Zucker rats. Life Sci. 2009; 84: 563-68.
487 Noori N, Tabibi H, Hosseinpanah F, et al. Effects of combined lipoic acid and pyridoxine on albuminuria, advanced glycation end-products, and blood pressure in diabetic nephropathy. Int J Vitam Nutr Res. 2013; 83: 77-85.
488 Goldberg T, Cai W, Peppa M, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. J Am Diet Assoc. 2004; 104: 1287-91.
489 Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, et al. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997; 94: 6474-79.
490 Negrean M, Stirban A, Stratmann B, et al. Effects of low- and high-advanced glycation endproduct meals on macro- and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. Am J Clin Nutr. 2007; 85: 1236-43.
491 Stirban A, Kotsi P, Franke K, et al. Acute macrovascular dysfunction in patients with type 2 diabetes induced by ingestion of advanced glycated β-lactoglobulins. Diabetes Care. 2013; 36: 1278-82.
492 Semba RD, Gebauer SK, Baer DJ, et al. Dietary intake of advanced glycation end products did not affect endothelial function and inflammation in healthy adults in a randomized controlled trial. J Nutr. 2014; 144: 1037-42.
493 Uribarri J, Cai W, Ramdas M, et al. Restriction of advanced glycation end products improves insulin resistance in human type 2 diabetes: potential role of AGER1 and SIRT1. Diabetes Care. 2011; 34: 1610-16.
494 Kelley DS, Adkins Y, Reddy A, et al. Sweet bing cherries lower circulating concentrations of markers for chronic inflammatory diseases in healthy humans. J Nutr. 2013; 143: 340-44.
495 Celec P, Hodosy J, Pálffy R, et al. The short-term effects of soybean intake on oxidative and carbonyl stress in men and women. Molecules. 2013; 18: 5190-200.

496 Saraswat M, Reddy PY, Muthenna P, et al. Prevention of non-enzymic glycation of proteins by dietary agents: prospects for alleviating diabetic complications. Br J Nutr. 2009; 101: 1714-21.
497 Huang SM, Chang YH, Chao YC, et al. EGCG-rich green tea extract stimulates sRAGE secretion to inhibit S100A12-RAGE axis through ADAM10-mediated ectodomain shedding of extracellular RAGE in type 2 diabetes. Mol Nutr Food Res. 2013; 57: 2264-68.
498 Ulicná O, Vancová O, Bozek P, et al. Rooibos tea (Aspalathus linearis) partially prevents oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Physiol Res. 2006; 55: 157-64.
499 Kim HY, Kim K. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. J Agric Food Chem. 2003; 51: 1586-91.
500 Ou CC, Tsao SM, Lin MC, et al. Protective action on human LDL against oxidation and glycation by four organosulfur compounds derived from garlic. Lipids. 2003; 38: 219-24.
501 Al-Qattan KK, Thomson M, Ali M, et al. Garlic (*Allium sativum*) attenuate glomerular glycation in streptozotocin-induced diabetic rats: A possible role of insulin. Pathophysiology. 2013; 20: 147-52.
502 Rani MP, Krishna MS, Padmakumari KP, et al. Zingiber officinale extract exhibits antidiabetic potential via modulating glucose uptake, protein glycation and inhibiting adipocyte differentiation: an in vitro study. J Sci Food Agric. 2012; 92: 1948-55.
503 Jin S, Cho KH. Water extracts of cinnamon and clove exhibits potent inhibition of protein glycation and anti-atherosclerotic activity in vitro and in vivo hypolipidemic activity in zebrafish. Food Chem Toxicol. 2011; 49: 1521-29.
504 Muthenna P, Raghu G, Kumar PA, et al. Effect of cinnamon and its procyanidin-B2 enriched fraction on diabetic nephropathy in rats. Chem Biol Interact. 2014; 222C: 68-76.
505 Kiho T, Usui S, Hirano K, et al. Tomato paste fraction inhibiting the formation of advanced glycation end-products. Biosci Biotechnol Biochem. 2004; 68: 200-5.
506 Liu W, Ma H, Frost L, et al. Pomegranate phenolics inhibit formation of advanced glycation endproducts by scavenging reactive carbonyl species. Food Funct. 2014; 11: 2996-3004.
507 Liu H, Liu H, Wang W, et al. Cranberry phytochemicals inhibit glycation of human hemoglobin and serum albumin by scavenging reactive carbonyls. Food Function. 2011; 2: 475-82.
508 Lo CY, Li S, Tan D, et al. Trapping reactions of reactive carbonyl species with tea polyphenols in simulated physiological conditions. Mol Nutr Food Res. 2006; 50: 1118-28.
509 Shao X, Bai N, He K, et al. Apple polyphenols, phloretin and phloridzin: new trapping agents of reactive dicarbonyl species. Chem Res Toxicol. 2008; 21: 2042-50.
510 Urios P, Grigorova-Borsos AM, Sternberg M. Flavonoids inhibit the formation of the cross-linking AGE pentosidine in collagen incubated with glucose, according to their structure. Eur J Nutr. 2007; 46: 139-46.
511 Chandler D, Woldu A, Rahmadi A, et al. Effects of plant-derived polyphenols on TNF-alpha and nitric oxide production induced by advanced glycation endproducts. Mol Nutr Food Res. 2010; 54 Suppl 2: S141-50.
512 Lv L, Shao X, Wang L, et al. Stilbene glucoside from Polygonum multiflorum Thunb.: a novel natural inhibitor of advanced glycation end product formation by trapping of methylglyoxal. J Agric Food Chem. 2010; 58: 2239-45.
513 Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, et al. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. Clin Nutr. 2004; 23: 423-33.
514 Ouyang P, Peng WL, Xu DL, et al. Green tea polyphenols inhibit advanced glycation end product-induced rat vascular smooth muscle cell proliferation. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao. 2004; 24: 247-51.

515 Cai Q, Li BY, Gao HQ, et al. Grape seed procyanidin b2 inhibits human aortic smooth muscle cell proliferation and migration induced by advanced glycation end products. Biosci Biotechnol Biochem. 2011; 75: 1692-97.
516 Jing YH, Chen KH, Yang SH, et al. Resveratrol ameliorates vasculopathy in STZ-induced diabetic rats: role of AGE-RAGE signalling. Diabetes Metab Res Rev. 2010; 26: 212-22.
517 Minakawa M, Kawano A, Miura Y, et al. Hypoglycemic effect of resveratrol in type 2 diabetic model db/db mice and its actions in cultured L6 myotubes and RIN-5F pancreatic β-cells. J Clin Biochem Nutr. 2011; 48: 237-44.
518 Wu CH, Lin JA, Hsieh WC, et al. Low-density-lipoprotein (LDL)-bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose in vitro. J Agric Food Chem. 2009; 57: 5058-64.
519 Zhou L, An XF, Teng SC, et al. Pretreatment with the total flavone glycosides of Flos Abelmoschus manihot and hyperoside prevents glomerular podocyte apoptosis in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. J Med Food. 2012; 15: 461-68.
520 Yamabe N, Yokozawa T, Oya T, et al. Therapeutic potential of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate on renal damage in diabetic nephropathy model rats. J Pharmacol Exp Ther. 2006; 319: 228-36.
521 Muthenna P, Raghu G, Akileshwari C, et al. Inhibition of protein glycation by procyanidin-B2 enriched fraction of cinnamon: delay of diabetic cataract in rats. IUBMB Life. 2013; 65: 941-50.
522 Lee SJ, Lee KW. Protective effect of (-)-epigallocatechin gallate against advanced glycation endproducts-induced injury in neuronal cells. Biol Pharm Bull. 2007; 30: 1369-73.
523 Liu FC, Hung LF, Wu WL, et al. Chondroprotective effects and mechanisms of resveratrol in advanced glycation end products-stimulated chondrocytes. Arthritis Res Ther. 2010; 12: R167. doi: 10.1186/ar3127.
524 Jain SK, Palmer M. The effect of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. Free Radic Biol Med. 1997; 22: 593-96.
525 May JM, Jayagopal A, Qu ZC, et al. Ascorbic acid prevents high glucose-induced apoptosis in human brain pericytes. Biochem Biophys Res Commun. 2014; 452: 112-27.
526 Miyata T, Inagi R, Asahi K, et al. Generation of protein carbonyls by glycoxidation and lipoxidation reactions with autoxidation products of ascorbic acid and polyunsaturated fatty acids. FEBS Lett. 1998; 437: 24-28.
527 Zhang J, Slevin M, Duraisamy Y, et al. Comparison of protective effects of aspirin, D-penicillamine and vitamin E against high glucose-mediated toxicity in cultured endothelial cells. Biochim Biophys Acta. 2006; 1762: 551-57.
528 Yatoh S, Mizutani M, Yokoo T, et al. Antioxidants and an inhibitor of advanced glycation ameliorate death of retinal microvascular cells in diabetic retinopathy. Diabetes Metab Res Rev. 2006; 22: 38-45.
529 Pazdro R, Burgess JR. Differential effects of α-tocopherol and N-acetyl-cysteine on advanced glycation end product-induced oxidative damage and neurite degeneration in SH-SY5Y cells. Biochim Biophys Acta. 2012; 1822: 550-56.
530 Reaven PD, Herold DA, Barnett J, et al. Effects of Vitamin E on susceptibility of low-density lipoprotein and low-density lipoprotein subfractions to oxidation and on protein glycation in NIDDM. Diabetes Care. 1995; 18: 807-16.
531 Jain SK, McVie R, Jaramillo JJ, et al. The effect of modest vitamin E supplementation on blood glycated hemoglobin and triglyceride levels and red cell indices in type 1 diabetic patients. J Am Coll Nutr. 1996; 15: 458-61.
532 Devamanoharan PS, Ali AH, Varma SD. Prevention of lens protein glycation by taurine. Mol Chem Biochem. 1997; 177: 245-50.

533 Wu QD, Wang JF, Fennessy F, et al. Taurine prevents high-glucose-induced human vascular endothelial cell apoptosis. Am J Physiol. 1999; 277: 1229-38.
534 Huang JS, Chuang LY, Guh JY, et al. Effect of taurine on advanced glycation end products-induced hypertrophy in renal tubular epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol. 2008; 233: 220-26.
535 Nandhini AT, Thirunavukkarasu V, Anuradha CV. Stimulation of glucose utilization and inhibition of protein glycation and AGE products by taurine. Acta Physiol Scand. 2004; 181: 297-303.
536 Nagai R, Nagai M, Shimasaki S, et al. Citric acid inhibits development of cataracts, proteinuria and ketosis in streptozotocin (type 1) diabetic rats. Biochem Biophys Res Commun. 2010; 393: 118-22.
537 Skoog F, Strong FM, Miller CO. Cytokinins. Science. 1965; 148: 532-33.
538 Verbeke P, Siboska GE, Clark BF, et al. Kinetin inhibits protein oxidation and glycoxidation in vitro. Biochem Biophys Res Commun. 2000; 276: 1265-70.
539 Reznick AZ, Kagan VE, Ramsey R, et al. Antiradical effects in l-propionyl carnitine protection of the heart against ischemia-reperfusion injury: The possible role of iron chelation. Arch Biochem Biophys. 1992; 296: 394-401.
540 Rajasekar P, Anuradha CV. L-Carnitine inhibits protein glycation in vitro and in vivo: evidence for a role in diabetic management. Acta Diabetol. 2007; 44: 83-90.
541 Fukami K, Yamagishi S, Sakai K, et al. Potential inhibitory effects of L-carnitine supplementation on tissue advanced glycation end products in patients with hemodialysis. Rejuvenation Res. 2013; 16: 460-66.
542 Hipkiss AR. Would Carnosine or a Carnivorous Diet Help Suppress Aging and Associated Pathologies? Ann N Y Acad Sci. 2006; 1067: 369-74.
543 Sebeková K, Krajcoviová-Kudlácková M, Schinzel R, et al. Plasma levels of advanced glycation end products in healthy, long-term vegetarians and subjects on a western mixed diet. Eur J Nutr. 2001; 40: 275-81.
544 Sebeková K, Boor P, Valachovicová M, et al. Association of metabolic syndrome risk factors with selected markers of oxidative status and microinflammation in healthy omnivores and vegetarians. Mol Nutr Food Res. 2006; 50: 858-68.
545 De Santo NG, Anastasio P, Cirillo M, et al. Sequential analysis of variation in glomerular filtration rate to calculate the haemodynamic response to a meat meal. Nephrol Dial Transplant. 1995; 10: 1629-36.
546 Rizzo NS, Sabaté J, Jaceldo-Siegl K, et al. Vegetarian dietary patterns are associated with a lower risk of metabolic syndrome: the adventist health study 2. Diabetes Care. 2011; 34: 1225-27.
547 Kang KS, Yamabe N, Kim HY, et al. Therapeutic potential of 20(S)-ginsenoside Rg(3) against streptozotocin-induced diabetic renal damage in rats. Eur J Pharmacol. 2008; 591: 266-72.
548 Lee EH, Song DG, Lee JY, et al. Inhibitory effect of the compounds isolated from Rhus verniciflua on aldose reductase and advanced glycation endproducts. Bio Pharm Bull. 2008; 31: 1626-30.
549 Gugliucci A, Bastos DH, Schulze J, et al. Caffeic and chlorogenic acids in Ilex paraguariensis extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. Fitoterapia. 2009; 80: 339-44.
550 Jang DS, Lee GY, Kim YS, et al. Anthraquinones from the seeds of Cassia tora with inhibitory activity on protein glycation and aldose reductase. Biol Pharm Bull. 2007; 30: 2207-10.

551 Jang DS, Kim JM, Lee YM, et al. Puerariafuran, a new inhibitor of advanced glycation end products (AGEs) isolated from the roots of Pueraria lobata. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2006; 54: 1315-17.
552 Quan HY, Kim do Y, Chung SH. Korean red ginseng extract alleviates advanced glycation end product-mediated renal injury. J Ginseng Res. 2013; 37: 187-93.
553 Sohn E, Kim J, Kim CS, et al. The Extract of Litsea japonica Reduced the Development of Diabetic Nephropathy via the Inhibition of Advanced Glycation End Products Accumulation in db/db Mice. Evid Based Complement Alternat Med. 2013; 2013:769416. doi: 10.1155/2013/769416.
554 Motomura K, Fujiwara Y, Kiyota N, et al. Astragalosides isolated from the root of astragalus radix inhibit the formation of advanced glycation end products. J Agric Food Chem. 2009; 57: 7666-72.
555 Gugliucci A, Menini T. The botanical extracts of Achyrocline satureoides and Ilex paraguariensis prevent methylglyoxal-induced inhibition of plasminogen and antithrombin III. Life Sci. 2002; 72: 279-92.
556 Sohn E, Kim J, Kim CS, et al. Extract of the aerial parts of Aster koriaensis reduced development of diabetic nephropathy via anti-apoptosis of podocytes in streptozotocin-induced diabetic rats. Biochem Biophys Res Commun. 2010; 391: 733-38.
557 Panaskar SN, Joglekar MM, Takilar SS, et al. Aegle marmelos Correa leaf extract prevents secondary complications in streptozotocin-induced diabetic rats and demonstration of limonene as a potent antiglycating agent. J Pharm Pharmacol. 2013; 65: 884-94.
558 Lee HS, Cho HY, Park KW, et al. Inhibitory effects of Terminalia chebula extract on glycation and endothelial cell adhesion. Planta Med. 2011; 77: 1060-67.
559 Kim JH, Hong CO, Koo YC, et al. Oral administration of ethyl acetate-soluble portion of Terminalia chebula conferring protection from streptozotocin-induced diabetic mellitus and its complications. Biol Pharm Bull. 2011; 34: 1702-09.
560 Rao AR, Veeresham C, Asres K. In vitro and in vivo inhibitory activities of four Indian medicinal plant extracts and their major components on rat aldose reductase and generation of advanced glycation endproducts. Phytother Res. 2013; 27: 753-60.
561 Kim YS, Jung DH, Sohn E, et al. Extract of Cassiae semen attenuates diabetic nephropathy via inhibition of advanced glycation end products accumulation in streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine. 2014; 21: 734-39.
562 Liu IM, Tzeng TF, Liou SS, et al. The amelioration of streptozotocin diabetes-induced renal damage by Wu-Ling-San (Hoelen Five Herb Formula), a traditional Chinese prescription. J Ethnopharmacol. 2009; 124: 211-18.
563 Kim HY, Okamoto T, Yokozawa T. Beneficial effects of Chinese prescription Kangen-karyu on diabetes associated with hyperlipidemia, advanced glycation endproducts, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2009; 124: 263-69.
564 Okamoto T, Park CH, Noh JS, et al. Hepato-/reno-protective activity of Chinese prescription Kangen-karyu through inhibition of AGE formation and fibrosis-related protein expression in type 2 diabetes. J Pharm Pharmacol. 2011; 63: 952-59.
565 Kim CS, Sohn EJ, Kim YS, et al. Effects of KIOM-79 on hyperglycemia and diabetic nephropathy in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. J Ethnopharmacol. 2007; 111: 240-47.
566 Kim J, Kim CS, Sohn E, et al. KIOM-79 Prevents Lens Epithelial Cell Apoptosis and Lens Opacification in Zucker Diabetic Fatty Rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2011; 2011. pii: 717921. doi: 10.1155/2011/717921.
567 Kim YS, Jung DH, Kim NH, et al. KIOM-79 inhibits high glucose or AGEs-induced VEGF expression in human retinal pigment epithelial cells. J Ethnopharmacol. 2007; 112: 166-72.

568 Kim J, Sohn E, Kim CS, et al. Effect of KIOM-79 on Diabetes-Induced Myocardial Fibrosis in Zucker Diabetic Fatty Rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2013; 2013:547653. doi: 10.1155/2013/547653.
569 PR Newswire [Internet]. Ramsey: PR Newswire Association LLC; 11. Februar 1999 [zitiert am 9. Oktober 2014]. Available from: http://www.thefreelibrary.com/Alteon+to+Regain+Rights+to+Pimagedine+After+Genentech+Announces...-a053853774
570 ClinicalTrials.gov [Internet]. [Ort unbekannt]: U.S. National Institutes of Health; 2009 [zitiert am 9. Oktober 2014]. Available from: http://clinicaltrials.gov/show/NCT00287183
571 Wörwag Pharma GmbH & Co.KG [Internet]. Böblingen: Wörwag Pharma GmbH & Co.KG; 2014 [zitiert am 9.Oktober 2014]. Available from: http://www.milgamma.de/index.php?id=8