

# Messung der Autofluoreszenz der Haut

## Die Autofluoreszenz ist ein Parameter für Diagnose, Risikostratifizierung und Intervention bei Diabetes.

A. Stirban<sup>1</sup>, L. Heinemann<sup>1</sup>

*Diabetes Stoffw Herz* 2013; 22: ??–??



A. Stirban

### Theoretischer Hintergrund

Zwei der wichtigsten Pathomechanismen bei Diabetes mellitus stellen die Advanced Glycation Endproducts (AGEs) sowie der oxidative Stress dar (1, 2).

#### Was sind AGEs?

AGEs stellen eine heterogene Substanzklasse dar, die durch nichtenzymatische Glykierung von Proteinen, Lipiden oder Nucleinsäuren im Rahmen der Maillard-Reaktion (Louis Camille Maillard, 1878–1936, französischer Chemiker) entstehen. Zwischenprodukte der Maillard-Reaktion sind Schiffsbasen und Amadoriprodukte (3).

Die Maillard-Reaktion spielt eine bedeutende Rolle in der Nahrungsmittelzubereitung, da sie die Bräunung von Nahrungsmitteln beim Erhitzen erklärt und somit deren spezifische Farbe und deren spezifischen Geschmack bewirkt. Nahrungs-AGEs werden teilweise absorbiert und gelangen so in die Blutbahn (4). Im Körper werden AGEs aber auch endogen gebildet, vermehrt bei Hyperglykämie, Hyperlipidämie oder bei erhöhtem oxidativen Stress (3). Das glykierte Hämoglobin A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>) ist ebenfalls ein Amadoriprodukt. Endogene und exogene AGEs werden zum Teil von Makrophagen abgebaut oder über die Niere ausgeschieden, aber eine gewisse Menge wird in körpereigene Proteinstrukturen oder Enzyme eingebaut, die dadurch in ihrer Funktion beeinträchtigt werden können. Darüber hinaus können AGEs durch Bindung an spezifische

### Zusammenfassung

Die Messung des HbA<sub>1c</sub> als Maß für die Güte der Stoffwechselkontrolle über die letzten 8 bis 12 Wochen hinweg hat sowohl die Therapie des Diabetes als auch unser Verständnis über die Entstehung von Diabeteskomplikationen stark geprägt. Die Ergebnisse der Studie DCCT/EDIC haben zur Festigung des Konzepts des metabolischen Gedächtnisses beigetragen, d. h. die Güte der Stoffwechselkontrolle über mehrere Jahre hinweg ist prädiktiv für das Risiko der Entwicklung von Diabeteskomplikationen. Das HbA<sub>1c</sub> ist hierbei allerdings vielleicht kein optimaler Parameter. Ein besseres Substrat für das metabolische Gedächtnis sind wahrscheinlich andere, langlebige Substanzen wie die Advanced Glycation Endproducts. Um diese rasch, unkompliziert und nichtinvasiv messen zu können, wurden in den letzten Jahren Verfahren ent-

wickelt, die die Autofluoreszenz der Haut (AFH) messen. Die AFH scheint eine gute Aussagekraft für das Diabetesscreening, aber auch für die Prädiktion der Entstehung von Diabeteskomplikationen sowie von kardiovaskulären Komplikationen zu haben. Dieser Artikel befasst sich mit den theoretischen Hintergründen zu diesem neuen Marker und den Ergebnissen der bisher vorliegenden klinischen Studien.

### Schlüsselwörter

Autofluoreszenz, Advanced Glycation Endproducts, Prädiktion, Diabeteskomplikationen

### Measuring Skin Autofluorescence

#### Summary

Measuring HbA<sub>1c</sub> as a parameter mirroring the quality of glycaemic control within the previous eight to twelve weeks has markedly influenced not only diabetes therapy, but also our understanding of how diabetes complications develop. Results from the DCCT/EDIC study have strengthened the glycaemic memory concept's postulation that metabolic control over several years predicts the development of diabetic complications. While HbA<sub>1c</sub> might not represent the optimal parameter, other substances with longer persistence – such as those referred to as advanced glycation endproducts – are probably more effective as a substrate of metabolic memory. Recent years have seen methods develop for rapid, easy and non-invasive skin autofluorescence assessment, a parameter

with good apparent validity for diabetes screening as well as predictive value for future diabetes complications and cardiovascular complications. The present article deals with the theoretical background and clinical data available for this new marker.

### Key words

autofluorescence, advanced glycation endproducts, prediction, diabetes complications

1) Profil Institut für Stoffwechselforschung GmbH, Neuss

Rezeptoren intrazelluläre Prozesse wie oxidativen Stress oder Inflammation induzieren. Es wird angenommen, dass ein vermehrtes endogenes und exogenes Angebot von AGEs unmittelbar an der Entwicklung von angiopathischen Komplikationen sowohl bei Diabetikern als auch bei Nichtdiabetikern beteiligt ist (3) und dass die AGEs-Ablagerungen mit deren langer Persistenz in den verschiedenen Geweben vermutlich eine zentrale Rolle beim Entstehen des „glykämischen Gedächtnisses“ spielen (5). Zirkulierende oder gewebsgebundene AGEs können mittels ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), Fluoreszenzspektroskopie, Flüssigchromatographie und Gaschromatographie mit Massenspektrometrie gemessen werden (6). Während die Experten darüber debattieren, welche der Methoden die genaueste und klinisch relevanteste ist, stellt sich immer mehr die Frage, in welchem Kompartiment es sinnvoll ist, zu messen: im Blut oder im Gewebe? Während die Messergebnisse von im Blut zirkulierenden AGEs größere Schwankungsbreiten aufweisen, z. B. postprandial (4), weisen die Messergebnisse bei gewebsgebundenen AGEs eine größere Stabilität auf. Insbesondere Gewebe mit einem langsamen Umsatz (z. B. Dermis, Gefäßwand, Augenlinse) weisen eine hohe AGEs-Akkumulation auf (7). Deshalb ist es je nach Fragestellung sinnvoll, sich auf die Messung zirkulierender oder gewebsgebundener AGEs zu konzentrieren.

### Die AF stellt die natürliche Lichtemission einiger biologischer Substrate dar, nachdem diese Licht absorbiert haben.

Möchte man gewebsgebundene AGEs messen, steht man vor der Entscheidung, wo gemessen werden soll: Aus pragmatischen Gründen ist dies in der Regel die Haut. Den Goldstandard für die Messung von AGEs in der Haut stellt die biochemische Analyse von Hautbiopsien dar (7, 8). Diese Methode ist jedoch invasiv, es bedarf einer aufwendigen Analyseapparatur in spezialisierten Zentren, die Messergebnisse sind erst nach Tagen oder Wochen verfügbar und die

Messungen sind teuer. Deshalb wurden nichtinvasive Methoden entwickelt, die anhand der Messung der Autofluoreszenz (AF) der Haut (AGE-Reader, DiagnOptics, Groningen, Niederlande, oder SCOUT DS®, VeraLight, Albuquerque, New Mexico, USA), der Kornea oder der Linse (Fluorotron™, OcuMetrics, Mountain View, Kalifornien, USA) die AGE-Konzentration im Gewebe messen. Diese Methoden erlauben eine schnelle, reproduzierbare und relativ kostengünstige Messung der AGEs-Ansammlung (8–10).

#### *Messung der Autofluoreszenz der Kornea oder der Augenlinse*

Die altersbedingte Trübung der Linse wird auf eine nichtenzymatische Glykierung der Proteine in der Linse zurückgeführt, deren Ausmaß mittels Messung der AF der Linse nichtinvasiv registriert werden kann (11–13). Da bei Patienten nach einer Kataraktoperation diese Messung nicht mehr sinnvoll ist, wurden auch Verfahren entwickelt (z. B. mit dem Fluorotron™), die eine Messung der AF der Kornea ermöglichen (14). Eine gute Korrelation der Kornea-AF mit der AF der Haut sowie mit vaskulären Parametern (z. B. mit der Gefäßsteifigkeit) wurde insbesondere bei Patienten mit Typ-1-Diabetes beschrieben (14). Diurnale Variationen der Messergebnisse der Kornea-AF werden anscheinend durch Gefäßveränderungen hervorgerufen (15).

#### *Messung der Autofluoreszenz der Haut (AFH)*

##### *Prinzip und Durchführung*

Die AF stellt die natürliche Lichtemission einiger biologischer Substrate (z. B. AGE-modifizierte Proteine) dar, nachdem diese Licht absorbiert haben (8). Die spektroskopischen Messungen von AGEs in der Haut beruhen auf den autofluoreszierenden Eigenschaften einiger (z. B. Pentosidin), aber nicht aller (z. B. Carboxymethyllysin) AGEs (16). Darüber hinaus werden einige redoxregulierte Fluorophore (z. B. NADH (Nicotinamidadeninindinukleotid reduziert), FAD (Flavin-Adenin-Dinukleotid) und



DiagnOptics, Groningen, Niederlande

**Abb. 1: Beim AGE-Reader (DiagnOptics, Groningen, Niederlande) legt der Proband seinen Unterarm auf das blaue Feld, so dass kein Außenlicht an das „Messfenster“ dringen kann. Durch dieses Fenster wird für Sekundenbruchteile Licht auf die Haut aufgestrahlt und dann die Autofluoreszenz der Haut gemessen. Das Messergebnis wird innerhalb von 12 Sekunden auf dem Display zusammen mit Referenzwerten angezeigt.**

Porphyrine) mit autofluoreszierenden Eigenschaften erfasst (17). Auch andere Substanzen, die nicht durch Glykierung entstehen, scheinen AF zu besitzen und somit zur Gesamtautofluoreszenz der Haut beizutragen (18). Jedoch trägt Pentosidin maßgeblich zur AFH bei: Etwa 76 % der Variabilität der AFH ist durch die Variabilität des Pentosidins in der Haut zu erklären (19). Somit stellt die AFH einen Surrogatparameter der Haut-AGE-Konzentration dar und wird als solches in diesem Artikel behandelt. Der Leser möge jedoch die hier genannten Aspekte berücksichtigen.

Eine der nichtinvasiven Messtechniken der AFH verwendet der AGE-Reader (DiagnOptics). Der Proband legt seinen Unterarm auf eine spezielle Armlehne, die in der Mitte über ein Fenster verfügt. Dadurch wird Licht auf die Haut aufgestrahlt und das reflektierte Licht registriert, analysiert und der AGE-Gehalt anhand der AF ermittelt (Abbildung 1). Das beleuchtete Hautareal hat eine Fläche von ca. 4 cm<sup>2</sup>, das gegen Umgebungslicht abgeschirmt ist. Das von einer Exzitationslichtquelle, aus mehreren LEDs (lichtemittierenden Dioden) mit unterschiedlich intensiver Wellenlänge, aufgestrahlte Licht hat eine maximale Intensität bei einer Wellenlänge von ca. 370 nm im Frequenzbereich von 300 bis 420 nm. Die Messung der Frequenzverteilung und der Strahlungsintensität des emittierten und des reflektierten Lichts erfolgt mit einem Detektor im Wellenlängenbereich von 300 bis 600 nm mit Hilfe multipler Photodioden. Das Messergebnis wird in willkürlichen Einheiten (Arbitrary Units, AU)

angegeben. Dabei wird das Ergebnis als Quotient kalkuliert: Intensität des reflektierten Lichts/Intensität des Exzitationslichts x 100. Weitere technische Details wurden von Meerwaldt et al. veröffentlicht (20). Die Messung dauert etwa 12 Sekunden und das Messergebnis wird unmittelbar angezeigt, zusammen mit Referenzwerten.

*Validierung der AFH-Messung*

Die Validierung dieser Messmethode erfolgte im Vergleich zu Ergebnissen von biochemischen Analysen von Hautbiopsien im Rahmen von drei Studien (8, 21, 22). In der ersten Studie wurde die AFH bei nierengesunden Patienten mit Typ-1-Diabetes (n=13) oder Typ-2-Diabetes (n=18) sowie bei 12 gesunden Probanden am Unterarm gemessen (8). Die AFH korrelierte dabei recht gut mit der gemessenen AGE-Konzentration in den Hautbiopsien vom Unterarm: Pentosidin (r=0,55, p<0,001), Carboxymethyllysin (CML) (r=0,55, p<0,001) und Carboxyethyllysin (CEL) (r=0,47, p=0,002). Der Korrelationskoeffizient zwischen Pentosidin, CML und CEL lag jeweils bei >0,4. Eine ähnliche Validierungsstudie wurde bei 29 hämodialysierten Patienten durchgeführt; dabei wurde eine gute Korrelation zwischen der AFH und Pentosidin (r=0,75, p<0,001) sowie CML und CEL (für beide: r=0,45, p<0,01) in der Haut ermittelt (22). Die Tatsache, dass die AFH nicht nur mit der Konzentration fluoreszierender (z.B. Pentosidin), sondern auch mit der nichtfluoreszierender AGEs korreliert (z.B. CML), ist ein indirekter Hinweis dafür, dass unterschiedliche AGEs parallel gebildet werden (siehe auch (23)). Bei einer zusammenfassenden Analyse dieser Studien (19) wurde ein Korrelationskoeffizient von 0,87 zwischen der AFH und Pentosidin in der Haut ermittelt.

Eine Studie von Na et al. (17) zeigte eine gute Übereinstimmung sogar zwischen der Autofluoreszenzmessung an der Stirn (sonnenexponierte Haut) und am Gesäß. Darüber hinaus korreliert die AFH mit der an der Kornea oder der Augenlinse gemessenen Autofluoreszenz (14) und eine signifikante Korrelation zwischen der AFH und der AGE-Konzentration im Material einer Bypassoperation konnte ebenfalls fest-

gestellt werden (24). Dies unterstreicht, dass AGEs an verschiedenen Hautstellen und sogar verschiedenen Organe vergleichbar akkumulieren und dass der Einfluss der Sonnexposition auf die AFH gering ausfällt.

*Variabilität der AFH-Messung*

In einer der ersten Validierungsstudien wurde für die AFH-Messung (AGE-Reader) eine intraindividuelle Variabilität von 5,03 % bei Messungen innerhalb eines Tages sowie von 5,87 % als saisonale Variabilität bei Personen mit Diabetes beschrieben (8). Weitere Arbeitsgruppen geben eine intraindividuelle Variabilität von 4,2 % bzw. 4,9 % bei Messungen innerhalb eines Tages an (25, 26). In eigenen Untersuchungen fanden wir eine intraindividuelle Variabilität dieser Methode von 6,9 % bei Messungen innerhalb von 6 Wochen und von 10,9 % bei Messungen innerhalb von 12 Wochen bei Personen mit Diabetes (27). Die Standardabweichung der AFH innerhalb einer Personengruppe liegt bei 0,5 AU (20 % des Mittelwerts) (28).

*Grundlegende Faktoren, die die Autofluoreszenz im Gewebe beeinflussen*

Zur Untersuchung grundlegender Faktoren, die die Autofluoreszenz im Gewebe beeinflussen, führten Kessel et al. eine

zuordnen. Das Alter, der Raucherstatus (ermittelt als „Packungs-Jahre“) sowie der Glukosewert 2 Stunden nach einem oralen Glukosetoleranztest (OGTT) waren für ca. 60 % (adjustierter R<sup>2</sup>) der interindividuellen Variation der Linsen-AF verantwortlich.

Eine Untersuchung an 1 185 Patienten mit Typ-1-Diabetes der Studie DCCT/

**Die AFH korreliert recht gut mit der gemessenen AGE-Konzentration in Hautbiopsien vom Unterarm.**

EDIC zeigte in Multivariatanalysen, dass folgende Faktoren zur AFH beitragen (in Klammern Prozentsatz des Beitrags): Variation aufgrund der Messmethode (7,4 %), Alter (14,7 %), Raucherstatus (5,2 %), Hautfarbe (3,4 %), geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) <60 ml/min/m<sup>2</sup>, Längengrad (1,5 %) und mittlerer HbA<sub>1c</sub>-Wert (4,5 %). 33,1 % der AFH konnten durch klinische und technische Variablen erklärt werden, der restliche 60%ige Beitrag konnte nicht erklärt werden (25).

Die AFH zeigt einen linearen Anstieg von 0,023 AU/Jahr mit dem Alter für

Altersgruppe (Jahre)	AFH bei Gesunden (AU)	AFH bei Typ-2-Diabetikern (AU)
40–49	1,84±0,4 (n=64)	2,17±0,5* (n=44)
50–59	2,12±0,3 (n=199)	2,57±0,7* (n=47)
60–69	2,50±0,6 (n=278)	2,69±0,7 (n=32)
70–79	2,76±0,6 (n=307)	3,04±0,8 (n=37)
>80	2,89±0,5 (n=108)	3,17±0,7 (n=7)

**Tab. 1: Autofluoreszenz der Haut (AFH), gemessen mit dem AGE-Reader (Mittelwert ± Standardabweichung) in verschiedenen Alterskategorien bei Gesunden und bei Patienten mit Typ-2-Diabetes (\* p<0,01 vs. Gesunde, angepasst nach (16)).**

sehr elegante Studie an 59 monozygoten und 55 dizygoten gesunden Zwillingen durch (10). Die AF der Linse korrelierte mit dem Alter der Studienteilnehmer (R<sup>2</sup>=53 %), deren aktueller Glukosehomöostase (R<sup>2</sup>=10 %) und dem Raucherstatus (R<sup>2</sup>=10 %). Nach Adjustierung für diese Faktoren war die interindividuelle Variation der Linsen-AF statistisch ca. 28 % hereditären Faktoren, 58 % gemeinsamen Umwelteinflüssen und 14 % nichtgemeinsamen Umwelteinflüssen zu-

Personen bis 70 Jahre (28). Die Variabilität der AFH-Messung bei Patienten mit Diabetes könnte höher sein als bei Gesunden, aufgrund der größeren metabolischen Schwankungen (16). Ein geringer postprandialer Anstieg der AFH wurde in manchen (29, 30), aber nicht in allen (26) Studien beschrieben, eine Messung im nüchternen Zustand erscheint somit nicht zwingend.

Referenzwerte für Kaukasier für die Messung mit dem AGE-Reader wurden

von Lutgers und Koetsier veröffentlicht (16, 28) (siehe auch Tabelle 1). Normwerte für eine asiatische Population liegen ebenfalls vor und liegen im indi-

## Die AFH spiegelt die Güte der Stoffwechselkontrolle über mehrere Jahre wider und erweitert die Aussagekraft des HbA<sub>1c</sub> zeitlich.

rekten Vergleich numerisch unter den Werten von Kaukasiern (31).

### AFH und Diabetes

#### *Glykiertes Kollagen in der Haut: Prädiktor für Diabeteskomplikationen?*

Die Erkenntnis, dass das HbA<sub>1c</sub> die kumulative Glykämie der vorangegangenen 8 bis 12 Wochen widerspiegelt, hat sowohl die Diabetestherapie als auch unser Verständnis vom Zusammenhang der Hyperglykämie und dem Entstehen von Diabeteskomplikationen stark geprägt (32). Bekanntlich hat der Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) gezeigt, dass eine bessere Stoffwechseleinstellung bei Patienten mit Typ-1-Diabetes eine Reduktion der mikrovaskulären und neuropathischen Komplikationen zur Folge hat (33). Die Tatsache, dass glykierte Proteine stabile AGEs bilden, die in von Diabeteskomplikationen betroffenen Geweben akkumulieren (34), hat zur Etablierung des schon erwähnten Konzepts des „metabolischen Gedächtnisses“ geführt (5). Die Annahme ist, dass die Glykierung von Proteinen das Substrat des metabolischen Gedächtnisses darstellt und eine kausale Rolle im Entstehen der Diabeteskomplikationen spielt (23). Die Messung von AGEs könnte somit einen integrierten Parameter darstellen, der die Glukoseexposition des Gewebes über mehrere Jahre wiedergibt und damit das Risiko für das Entstehen von Diabeteskomplikationen genauer widerspiegelt als die Messung des HbA<sub>1c</sub> (23, 35). Ein Beleg dafür erbrachte die Untersuchung von Monnier et al., der bei 216 DCCT-Teilnehmern am Ende der fünfjährigen Behandlungsphase (inten-

sive Therapie n=122, konventionelle Therapie n=94) eine Hautbiopsie entnahm (23). Verglichen mit den konventionell behandelten Patienten, wiesen die Patienten in der intensiviert behandelten Gruppe 30 bis 32 % weniger Furosin, 9 % weniger Pentosidin, 9 bis 13 % weniger CML sowie eine geringere Quervernetzung des Kollagens auf ( $p < 0,015 - 0,001$  für alle außer CML). Nach Adjustierung für Alter und Diabetesdauer waren alle genannten Parameter signifikant sowohl mit dem aktuellen HbA<sub>1c</sub>-Wert als auch mit dem Mittelwert aller vorherigen studienbezogenen HbA<sub>1c</sub>-Messungen korreliert. Multiple logistische Regressionsanalysen zeigten eine signifikante Assoziation zwischen den Parametern der Kollagenveränderung und den vorliegenden Diabeteskomplikationen (Retinopathie, Nephropathie und Neuropathie). Bei den konventionell behandelten Patienten stellte das glykierte Kollagen den Parameter dar, der am besten mit den Diabeteskomplikationen korrelierte. In der Studie Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) konnten Genuth et al. den prädiktiven Wert von Parametern des Hautkollagens für die Progression der diabetischen Retinopathie und Nephropathie in den nächsten 10 Jahren bestätigen (36). In multivariaten Analysen ergab die Kombination von Furosin und CML den höchsten Vorhersagewert für die Progression der Retinopathie ( $\chi^2 = 59,4$ ,  $p < 0,0001$ ) und der Nephropathie ( $\chi^2 = 18,2$ ,  $p = 0,0001$ ), sogar nach Adjustierung für das mittlere HbA<sub>1c</sub> ( $\chi^2 = 32,7$ ,  $p < 0,0001$  bzw.  $\chi^2 = 12,8$ ,  $p = 0,0016$ ). Nach Adjustierung für Furosin und CML verschwand der prädiktive Wert des HbA<sub>1c</sub> ( $\chi^2 = 0,0002$ ,  $p = 0,987$  für Retinopathie und  $\chi^2 = 0,0002$ ,  $p = 0,964$  für Nephropathie). Nach Meinung der Autoren unterstreichen diese Ergebnisse die Bedeutung der AGE-Bildung in der Pathogenese der Retinopathie und der Nephropathie und bilden daher eine rationale Basis für das Konzept des metabolischen Gedächtnisses in der Entstehung der Diabeteskomplikationen. AGEs haben gegenüber dem HbA<sub>1c</sub> aber nur dann einen Vorteil in der Prädiktion der Komplikationsentstehung, wenn sie eine längere Persistenz aufweisen und metabolische Prozesse über länger als

12 Wochen widerspiegeln. Mit dieser Fragestellung beschäftigte sich eine Studie von Lyons et al., die bei Patienten mit Typ-1-Diabetes mit einer intensivierten Diabetestherapie über 4 Monate hinweg einen signifikanten Abfall des HbA<sub>1c</sub> (von  $11,6 \pm 2,3$  % auf  $8,3 \pm 1,1$  %,  $p < 0,001$ ) beobachteten (7). Parallel dazu kam es zu einem Abfall der Glykierung des Kollagens in der Haut (von  $13,2 \pm 4,3$  auf  $10,6 \pm 2,3$  mmol FL/mol Lysin,  $p < 0,002$ ), jedoch zu keinem signifikanten Abfall der AGEs Pentosidin, CML und Carboxymethylhydroxylysin (CMHL) oder der Autofluoreszenz. Diese Studie zeigt, dass die Glykierung langlebiger Proteine durch eine bessere Stoffwechseleinstellung beeinflusst werden kann und dass es, sobald kumulativer Schaden am Kollagen durch Maillard-Produkte und Oxidation stattgefunden hat, jedoch einer längeren Zeitdauer als 4 Monate bedarf, um diese Vorgänge rückgängig zu machen. AGEs der Haut reagieren also träger auf Stoffwechselveränderungen als das HbA<sub>1c</sub>.

Es blieb noch die Frage offen, ob Parameter der AGE-Akkumulation in der Haut auch besser die langfristige Stoffwechseleinstellung widerspiegeln als der HbA<sub>1c</sub>-Wert. Mit dieser Fragestellung haben sich zwei Studien beschäftigt:

Aroda et al. untersuchten nichtinvasiv (SCOUT DS®) die AFH bei 172 Patienten mit Typ-1-Diabetes, bei denen über im Mittel 16,6 Jahre (mindestens jedoch 4 Jahre) HbA<sub>1c</sub>-Werte vorlagen (37). Die altersadjustierte AFH korrelierte signifikant mit dem Langzeit-HbA<sub>1c</sub> (als Mittelwert aller HbA<sub>1c</sub>-Werte,  $r = 0,44$ ,  $p < 0,0001$ ), aber nicht mit dem aktuellen HbA<sub>1c</sub> ( $r = 0,14$ ,  $p = 0,075$ ). Bei gleichzeitig vorliegenden Nierenfunktionsstörungen oder bei Vorliegen einer Makroalbuminurie war die Korrelation nicht mehr signifikant. Diese Studie zeigt, dass die AFH die Güte der Stoffwechselkontrolle über mehrere Jahre hinweg widerspiegelt und somit die Aussagekraft des HbA<sub>1c</sub> zeitlich erweitert. Alter, Diabetesdauer und Nierenfunktion beeinflussen die Akkumulation von autofluoreszierenden Substanzen in der Haut.

In einer Studie von Sugisawa (38) wurden 241 Patienten mit Typ-1-Diabetes sowie 110 Kontrollpersonen eingeschlossen. Die AFH (AGE-Reader) kor-

relierte bei Patienten signifikant mit der Fläche unter der Kurve der HbA<sub>1c</sub>-Messungen der letzten 15 Jahre.

In einer Population von 452 Patienten mit einem gut eingestellten Typ-2-Diabetes (HbA<sub>1c</sub> zu Beginn: 6,8 ± 1,2 %, am Ende 7,0 ± 1,0 %) konnten Gerrits et al. über eine Beobachtungsdauer von 3,3 ± 0,4 Jahren zeigen, dass die AFH sich wenig verändert (die AFH variierte um 0,08 AU). Dies belegt die Stabilität der AFH bei konstant guter Stoffwechseleinstellung (39). Ähnliche Ergebnisse ergab die Studie von Noordzij (30). Allerdings blieb noch offen, wie schnell die AFH auf Abfälle des HbA<sub>1c</sub>-Werts reagiert, z. B. im Rahmen einer verbesserten Stoffwechseleinstellung.

#### AFH bei Personen mit Gestationsdiabetes

Studien von de Ranitz-Greven et al. (26, 40) haben gezeigt, dass Messungen der AFH als Screeningmethode für einen Gestationsdiabetes (GDM) wegen zu geringer Anstiege in den AFH-Messwerten nicht geeignet sind. Die AFH korrelierte auch nicht mit Schwangerschaftskomplikationen.

#### AFH bei Diabetes und mikro- und makrovaskulären Komplikationen

Lutgers et al. haben bei Patienten mit Typ-2-Diabetes (n = 973) und vergleichbaren gesunden Kontrollpersonen (n = 231) festgestellt, dass die AFH der Haut (AGE-Reader) in fast allen Alterskategorien bei Patienten mit Typ-2-Diabetes höher war (im Mittel 2,79 vs. 2,14 AU, siehe auch Tabelle 1) (16). Bei den Patienten mit Diabetes, die auch mikro- und makrovaskuläre Komplikationen aufwiesen, war die AFH höher (3,12 AU) als bei denjenigen, die nur mikrovasculäre Komplikationen aufwiesen (2,71 AU), oder bei Patienten ohne Komplikationen (2,57 AU; p < 0,001 für alle). Auch bei den Patienten mit lediglich makrovaskulären Komplikationen war die AFH höher (2,91 AU) als bei denjenigen ohne Komplikationen. Die oben genannten Ergebnisse blieben auch nach Alterskorrektur signifikant. Ähnliche Ergebnisse ergab eine Un-

tersuchung von Noordzij et al. (41) bei 563 Patienten mit Typ-2-Diabetes (HbA<sub>1c</sub> 7,5 % (58 mmol/mol)), 61 % mit mikrovasculären Komplikationen (38 % Nephropathie, 36 % Retinopathie, 35 % Neuropathie) und 42 % mit makrovaskulären Komplikationen. Die AFH (gemessen mit AGE-Reader) war erhöht bei Patienten mit Komplikationen: makrovaskuläre Komplikationen 2,85 (2,41–3,41) AU (Median, Interquartile-Range), mikrovasculäre Komplikationen 2,79 (2,38–3,29) AU, sowohl mikro- als auch makrovaskuläre Komplikationen 2,96 (2,56–3,60) AU vs. keine Komplikationen 2,56 (2,26–2,90) AU (p < 0,001 für alle vs. keine Komplikationen).

Den prädiktiven Wert der AFH für die Entwicklung von mikrovasculären Komplikationen bei Patienten mit Typ-2-Diabetes und guter Stoffwechsellkontrolle (mittleres HbA<sub>1c</sub> 6,6 %) untersuchten Gerrits et al. (42). Von den 881 Personen, die im Schnitt über 3,1 Jahre beobachtet wurden, wiesen diejenigen mit einer höheren AFH zu Beginn (AGE-Reader) ein höheres Risiko für mikrovasculäre Komplikationen auf (OR 2,05, 95%-Konfidenzintervall 1,51–2,80, p < 0,001), insbesondere für Neuropathie und Albuminurie, nicht aber für Retinopathie. Eine der wichtigsten Botschaften dieser Studie ist, dass in dem untersuchten Patientenkollektiv der prädiktive Wert der AFH höher war als der der klassischen Prädiktoren wie HbA<sub>1c</sub> und Diabetesdauer. Diese Ergebnisse wurden in einer anderen Studie (43) mit 133 Patienten mit Typ-1-Diabetes bestätigt, bei denen nach Adjustierung für Alter, HbA<sub>1c</sub>, Rauchen und Diabeteskomplikationen eine Assoziation zwischen der AFH und einer Nephropathie bzw. Neuropathie bestand, nicht jedoch mit einer Retinopathie. Sugisawa konnte bei Patienten mit Typ-1-Diabetes ebenfalls eine signifikante Assoziation zwischen der AFH und der diabetischen Nephropathie und Retinopathie feststellen (38).

#### AFH bei peripherer und autonomer diabetischer Neuropathie

Conway et al. haben die AFH (SCOUT DS®) bei 111 Patienten mit Typ-1-Dia-

betes (Alter und Diabetesdauer im Mittel 49 bzw. 40 Jahre, 61 % mit autonomer Neuropathie (ANP) und 66 % mit symmetrischer distaler Polyneuropathie (PNP)) gemessen (44). Die AFH war bei Personen mit ANP höher (p < 0,0001); jede Änderung der AFH um eine Standardabweichung war mit einer 2,6-fach höheren Wahrscheinlichkeit für ANP verbunden (p = 0,006). Die AFH war ebenfalls höher bei Personen mit PNP (p < 0,0001) und die Signifikanz blieb auch nach multivariaten Analysen (OR 2,70; p = 0,005). Insgesamt war die AFH stärker mit der ANP und der PNP assoziiert als der mittlere HbA<sub>1c</sub>-Wert.

Meerwaldt und Kollegen untersuchten die Assoziation der AFH (AGE-Reader) mit dem Schweregrad der diabetischen Neuropathie bei 24 Patienten mit Diabetes und einer Vorgeschichte eines neuropathischen Fußsyndroms (DFS; PNP(+)), 23 Patienten ohne PNP (PNP(-)) sowie 21 Kontrollpersonen (45). Eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) wurde ausgeschlossen. Im Vergleich zu Kontrollpersonen war die AFH bei Patienten mit PNP(-) erhöht, stieg weiter an bei Patienten mit PNP(+) und korrelierte bei diesen mit dem Wagner-Score. Die AFH korrelierte negativ mit Parametern der Nervenleitgeschwindigkeit, mit der Herzfrequenzvariabilität und der Baroreflexsensitivität bei PNP(-) und PNP(+). Interessant ist, dass in dieser Studie eine Korrelation der AFH mit

### **Der prädiktive Wert der AFH war in einer Studie höher als der der klassischen Prädiktoren wie HbA<sub>1c</sub> und Diabetesdauer.**

dem Schweregrad der ANP und der PNP auch bei subklinischen Formen beobachtet wurde.

#### AFH und das kardiovaskuläre Risiko bei Diabetes

Conway et al. zeigten bei 105 Patienten mit Typ-1-Diabetes (Alter und Diabetesdauer im Mittel 49 bzw. 40 Jahre), dass die AFH der Haut (SCOUT DS®) mit der Kalzifizierung der Koronarar-

terien (coronary artery calcification (CAC), gemessen mittels Computertomographie) assoziiert war (OR 2,51; 1,37–4,59) (46). Diese Assoziation verschwand jedoch nach Altersadjustierung. Insbesondere bei einem CAC-Score >400 war die Diskriminierungsfähigkeit der AFH hinsichtlich einer pathologischen CAC mit >85 % hoch.

Bei 172 Patienten mit Typ-1-Diabetes (davon 30 mit KHK) wurden die AFH (SCOUT DS®) gemessen und das mittlere HbA<sub>1c</sub> über mehr als 10 Jahre berechnet (9). Die AFH war höher bei den Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK) ( $p < 0,0001$ ) und korrelierte signifikant mit der KHK (OR 3,5, 95%-Konfidenzintervall 2,1–6,1) auch nach Adjustierung für Alter, Diabetesdauer und mittlerem HbA<sub>1c</sub> (2,4, 1,3–4,4). Diese Korrelation war bei Männern (5,6, 2,1–14,6) ausgeprägter als bei Frauen (1,4, 0,61–3,3). Es gibt also eine signifikante Assoziation zwischen der AFH und der KHK, die vom Alter und der Diabetesdauer abhängt und weniger vom mittleren Langzeit-HbA<sub>1c</sub> und der Nierenfunktion. Deshalb schlugen die Autoren die Messung der AFH als ein Marker für die KHK bei Patienten mit Typ-1-Diabetes vor.

Der UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study)-Risiko-Score hat sich als Standard für die Abschätzung des kardiovaskulären Risikos in den nächsten 10 Jahren bei Patienten mit Typ-2-Diabetes etabliert. Lutgers et al. (47) haben bei 973 Patienten mit Typ-2-Diabetes eine Berechnung des UKPDS-Risiko-Scores sowie eine Messung der AFH (AGE-Reader) durchgeführt

### Die AFH hat eine prädiktive Bedeutung bei Patienten mit Typ-1- und Typ-2-Diabetes für die kardiovaskuläre Mortalität.

und diese in 4 Gruppen unterteilt: Gruppe 1 (n=144) mit einem Risiko nach UKPDS-Risiko-Score <10 % und einer AFH unterhalb des Medians, Gruppe 2 (n=59) mit einem Risiko <10 % und einer AFH oberhalb des Medians, Gruppe 3 (n=328) mit einem Risiko >10 % und AFH unterhalb des Medians und

Gruppe 4 (n=436) mit einem Risiko >10 % und AFH oberhalb des Medians. Über eine Beobachtungsdauer von im Mittel 1131 Tagen (3,2 Jahren) traten 119 kardiovaskuläre Ereignisse (44 tödliche, 75 nichttödliche) auf. Multivariate Analysen zeigten, dass AFH, Alter, Geschlecht und Diabetes Prädiktoren für den primären Endpunkt (tödliche und nichttödliche kardiovaskuläre Ereignisse) darstellten. Die Mitberücksichtigung der AFH führte zu einer Einstufung von 55 von 203 Teilnehmern (27 %) in eine höhere Risikogruppe. In dieser Studie wies die Gruppe 4 die höchste kardiovaskuläre Mortalität auf. Somit scheint die Messung der AFH die Risikostratifizierung zusätzlich zum UKPDS-Risiko-Score sowohl in der Gruppe mit niedrigem Risiko, aber auch in der Gruppe mit erhöhtem Risiko zu verbessern.

Die Voraussagekraft der AFH (AGE-Reader-Prototyp) für die kardiale Mortalität bei Patienten mit Diabetes (n=48 mit Typ-1- und n=69 mit Typ-2-Diabetes) sowie 43 Kontrollpersonen wurde in einer weiteren Studie von Meerwaldt et al. über 5 Jahre untersucht (48). Es gab einen starken Zusammenhang zwischen AFH und KHK (OR 7,9); dabei war die AFH in beiden Patientenpopulationen ein unabhängiger Prädiktor für die Mortalität (OR 2,0). Eine erhöhte Mortalität konnte sowohl bei Patienten mit Typ-1- als auch mit Typ-2-Diabetes bei einer AFH >0,020 AU (2,0 AU) festgestellt werden, sie erhöhte sich weiter bei einer AFH >0,030 AU (3,0 AU,  $p < 0,001$ ) (in Klammern entsprechende Werte des marktreifen Geräts). Bei Patienten mit Typ-1- bzw. Typ-2-Diabetes waren die Korrelationen zwischen der AFH und dem mittleren HbA<sub>1c</sub>-Wert des vorherigen Jahres vergleichbar ( $r = 0,6$  bzw.  $r = 0,5$ ;  $p < 0,01$  für beide). Dabei war die AFH stärker mit der KHK und der Mortalität assoziiert als mit HbA<sub>1c</sub>, Triglyzeriden oder LDL-Cholesterin. Dies unterstreicht die prädiktive Bedeutung dieses Parameters bei Risikopatienten für die kardiovaskuläre Mortalität.

#### AFH als Parameter zur Diagnose des Diabetes

Nationale und internationale Leitlinien legen fest, wie die Diabetesdiagnose

anhand der Messung der Nüchternplasmaglukose (NPG), der Glukose nach einem OGTT sowie dem HbA<sub>1c</sub>-Wert erfolgt. Die Nachteile dieser Methoden beziehen sich auf deren Preis, den Zeitaufwand oder auf die eingeschränkte Sensitivität für das Diabetesscreening (49). Wenn die Messung der AFH langfristige hyperglykämische Stoffwechsellagen charakterisiert, kann man dann diesen Parameter nicht auch zum Diabetesscreening verwenden? Dies war die Arbeitshypothese der vier folgenden Studien.

Bei 351 Personen ohne bekannten Diabetes wurde außer den drei oben genannten Parametern auch die AFH gemessen (Prototyp des SCOUT DS®) (50). Bei einem Schwellenwert von 100 mg/dl für die normale Plasmaglukose wies die NPG eine Sensitivität von 58,0 % und eine Spezifität von 77,4 % für eine gestörte Glukosetoleranz (impaired glucose tolerance, IGT) auf. Bei einer ähnlichen Spezifität lag die Sensitivität in Bezug auf eine IGT für HbA<sub>1c</sub> (Schwellenwert 5,8 %) bei 63,8 %, während die für die AFH 74,7 % betrug. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass die AFH-Messung beim Diabetesscreening eine höhere Sensitivität aufweist als etablierte Methoden wie die Messung der NPG oder des HbA<sub>1c</sub>.

Diese Ergebnisse wurden von Tentolouris et al. in einer Gruppe von 398 Personen mit Risikofaktoren für einen Typ-2-Diabetes bestätigt (51). Mittels HbA<sub>1c</sub>-Messung wurde eine Dysglykämie ( $\geq 5,7$  % (39 mmol/mol)) oder ein bestehender Diabetes ( $\geq 6,5$  % (47,5 mmol/mol)) definiert. Kapilläre Blutglukosemessungen, der Risikotest der American Diabetes Association (diabetes risk test, DRT) sowie die AFH (SCOUT DS®) wurden in Relation zu den Ergebnissen des HbA<sub>1c</sub> miteinander verglichen: Beim Erkennen einer Dysglykämie oder eines Diabetes schnitt die AFH besser ab als die kapilläre Blutglukosemessung oder der DRT. Auch eine weitere Untersuchung legte nahe, dass die Messung der Linsen-AF (Fluorotron) mit einer Sensitivität von 79 % und einer Spezifität von 100 % zur Diagnose bei Typ-2-Diabetes eingesetzt werden kann (52).

In einer Studie bei 218 Personen mit mittlerem Risiko für Diabetes mellitus konnten Smit und Kollegen zeigen, dass

die Messung der AFH mit dem AGE-Reader, integriert in einen Algorithmus (AFH-DM) für die Diabetesdiagnose, der nüchternen Plasmaglukose überlegen und dem  $HbA_{1c}$ -Wert nicht unterlegen ist (Sensitivität 82 %, Spezifität 89 %) (53). Dieser Algorithmus wird in der Abbildung 2 näher dargestellt.

### AFH und Niereninsuffizienz

Personen mit Niereninsuffizienz (NI) weisen erhöhte Serum-AGE-Konzentrationen auf, aufgrund eines exazerbierten oxidativen Stresses, der die Urämie begleitet, einer erhöhten Produktion reaktiver Vorstufen der AGEs (54, 55), einer Dyslipidämie (56) sowie einer verminderten renalen Ausscheidung der AGEs. Exogene AGEs z.B. werden zu etwa 30 % renal ausgeschieden, beim Vorliegen einer Niereninsuffizienz sinkt dieser Anteil bis auf etwa 5 % ab (57). Die zunehmende AGE-Akkumulation im Körper – die aus den o.g. Mechanismen resultiert – erklärt, warum Patienten mit Niereninsuffizienz Stadium 3 (58) oder terminaler Niereninsuffizienz

unter Dialyse eine erhöhte AFH aufweisen (59, 60).

Bei 1707 Patienten mit Niereninsuffizienz Stadium 3 (GFR 30–59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) konnten McIntyre et al. eine Assoziation zwischen der AFH (AGE-Reader) und renalen sowie kardiovaskulären Risikofaktoren finden. Multivariate lineare Regressionsanalysen zeigten, dass das Hämoglobin, das Vorhandensein des Diabetes per se, das Alter sowie die eGFR die wichtigsten unabhängigen bestimmenden Faktoren für die AFH darstellen (58).

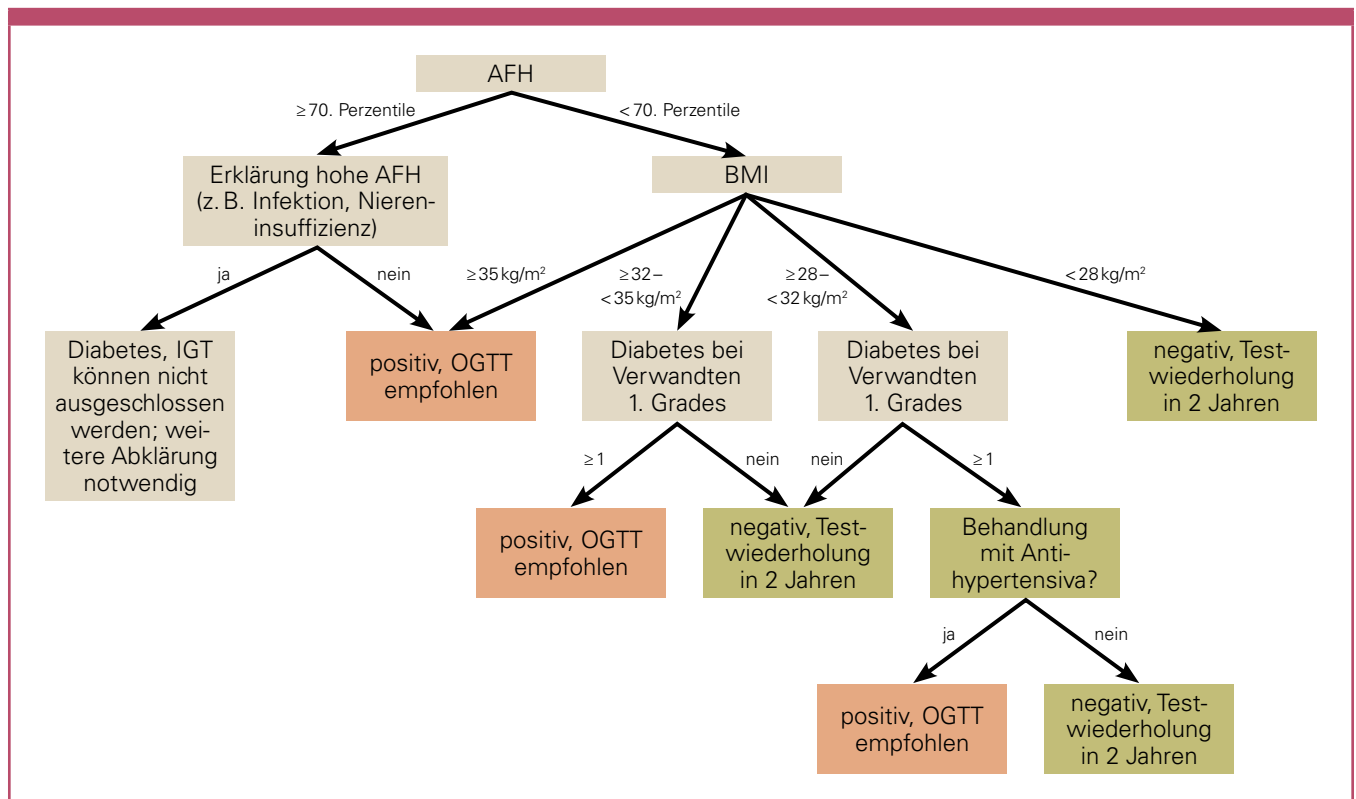
Dass die Messung der AFH auch innerhalb einer Gruppe von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz ihre Sensitivität für eine Risikostratifizierung behält, zeigte eine Studie von Ueno et al. (59). Sowohl bei den Personen aus der Kontrollgruppe (n=110) als auch bei den Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz (n=120) wurde eine signifikante Korrelation zwischen der AFH (AGE-Reader) und der Pulswellengeschwindigkeit (pulse wave velocity, PWV) als Marker der arteriellen Steifigkeit festgestellt ( $R_s=0,246$  bzw.  $R_s=0,205$ ). Bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz

blieb diese Korrelation auch nach Adjustierung für andere Variablen wie das Alter signifikant.

Hartog und Mitarbeiter zeigten bei 285 Patienten nach Nierentransplantation, 32 Dialysepatienten sowie 231 al-

### Bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz gibt es eine Korrelation zwischen der AFH und der Pulswellengeschwindigkeit.

tersgleichen Gesunden, dass die Transplantation zu einer Verminderung der AFH (AGE-Reader) führt (61). Die AFH war höher in der Dialysegruppe im Vergleich zu Gesunden (2,8 vs. 2,0 AU,  $p<0,0001$ ) und transplantierten Patienten (2,5 AU,  $p<0,0001$ ). Die transplantierten Patienten hatten auch im Vergleich zu den Gesunden eine erhöhte AFH ( $p<0,0001$ ). Bei den transplantierten und dialysierten Patienten korrelierte die AFH positiv mit den Dialysejahren. Die Nierentransplantation normalisiert also die AFH nur teilweise, ein Effekt ist



**Abb. 2: Algorithmus für die Diagnose gestörter Glukosetoleranz (IGT) und Diabetes auf der Basis der AFH-Grenzwerte (hier für Personen >50 Jahre), als Grenzwert wurde die 70. Altersperzentile definiert, für Personen <50 Jahre wird die 80. Altersperzentile als Grenzwert empfohlen (angepasst nach (53)); AFH: Autoimmunfluoreszenz der Haut, BMI: Body-Mass-Index, OGTT: oraler Glukosetoleranztest.**

abhängig von der Funktionsqualität des Nierentransplantats.

Risikofaktoren für eine Nierentransplantatdysfunktion sowie für kardiovaskuläre Komplikationen (z. B. Alter, systolischer Blutdruck, Raucherstatus, C-reaktives Protein, Dialysedauer vor der Transplantation) erklären zu 41 % die AFH (62). Dies bedeutet nach Ansicht der Autoren, dass die AFH-Messung für die Identifizierung und das Monitoring von Risikopatienten für eine Nierentransplantatdysfunktion sowie für kardiovaskuläre Komplikationen verwendet werden kann. In der Tat zeigte eine weitere Studie bei 302 nierentransplantierten Patienten (63), dass eine erhöhte AFH mit einer Hazard Ratio (HR) von bis zu 2,40 für den Transplantatverlust innerhalb von etwa 5,2 Jahren verbunden war ( $p < 0,01$ ).

Bei 109 dialysierten Patienten stellte die AFH (AGE-Reader) einen starken, unabhängigen Prädiktor für die Mortalität innerhalb von 3 Jahren dar (22). Die OR für die Gesamtmortalität lag bei 3,9, höher als das einer vorbekannten kardiovaskulären Erkrankung (OR 3,1). Die OR für die kardiovaskuläre Mortalität lag bei 6,8. Die AFH zu Beginn der Studie war eng mit dem Vorhandensein einer kardiovaskulären Erkrankung verbunden (OR 8,8). Diese Ergebnisse zeigen, dass die AFH bei dieser Patientenpopulation einen wertvollen prädiktiven Parameter darstellt und mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine kardiovaskuläre Erkrankung hindeutet.

Eine ähnliche Studie bei 105 dialysepflichtigen Patienten (23 mit Diabetes, Beobachtungsdauer im Mittel 4,9 Jahre)

### Bei Patienten ohne Diabetes oder kardiovaskuläre Erkrankungen korreliert die AFH mit der Intima-Media-Dicke der Arteria carotis.

zeigte, dass die AFH einen unabhängigen Prädiktor für die Gesamtmortalität darstellt (HR 1,83; 95-%.Konfidenzintervall 1,32–2,54), dabei war die HR allerdings geringer als die einer bekannten kardiovaskulären Erkrankung (HR 2,77, 1,48–5,18) (64). Die AFH wies keinen prädiktiven Wert für die kardio-

vaskuläre Mortalität auf, möglicherweise waren die Gruppen zu klein.

### AFH und kardiovaskuläre Erkrankungen

Die Atherosklerosebildung ist ein Prozess, der sich über Jahrzehnte erstreckt; einige der ersten morphologischen Veränderungen stellen die Zunahme der Gefäßsteifigkeit, der Intima-Media-Dicke (IMT) sowie die Plaquerbildung dar.

#### *AFH und Gefäßsteifigkeit*

Die Gefäßsteifigkeit (GS) ist ein Prädiktor für die Gesamtmortalität sowie die kardiovaskuläre Mortalität insbesondere bei Personen mit Niereninsuffizienz (65). AGEs scheinen zu den Mechanismen zu gehören, die zum Entstehen der GS beitragen (66, 67).

Eine Studie konnte eine Korrelation zwischen der AFH und der PWV bei Gesunden finden, diese Korrelation verschwand jedoch nach Adjustierung für das Alter (59). Watfa und Kollegen konnten nur bei jüngeren Personen (<65 Jahre) eine signifikante Korrelation zwischen der PWV und der AFH feststellen ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,0001$ ), nicht aber bei Älteren (68). Dies spricht dafür, dass die Akkumulation der AGEs in der Haut und die arterielle Steifigkeit eine Funktion des Alterungsprozesses darstellen. Bei einer eleganten Studie von Hofmann et al. (24) konnte bei 52 Patienten, die sich einer Bypassoperation unterzogen haben, eine signifikante Korrelation zwischen der nichtinvasiv gemessenen AFH und der PWV einerseits sowie der AGE-Konzentration im Material der Bypassoperation andererseits festgestellt werden. Dies zeigt, dass die AGEs-Akkumulation in der Haut parallel zu der in den Gefäßen stattfindet und dass diese Prozesse auch mit funktionellen Veränderungen der Gefäße – wie eine erhöhte GS – einhergehen.

Januszewski et al. konnte bei Patienten mit Typ-1-Diabetes ( $n = 69$ , 19 mit und 50 ohne vaskuläre Komplikationen) sowie bei 60 vergleichbaren Kontrollpersonen zeigen, dass die AF der Linse und die AFH korrelierten ( $r = 0,58$ ,  $p = 0,0001$  bzw.  $r = 0,53$ ,  $p = 0,001$ ) (14). Die AF

der Kornea korrelierte mit der der Linse ( $r = 0,53$ ,  $r = 0,52$ ,  $p = 0,0001$  für beide) und der AFH ( $r = 0,34$ ,  $p = 0,01$  und  $r = 0,49$ ,  $p = 0,00001$ ) (Werte bei Gesunden bzw. Patienten mit Typ-1-Diabetes). Bei Letzteren korrelierte die Elastizität der kleinen und großen Gefäße negativ und die systemische Gefäßresistenz positiv mit der AFH (für alle  $p = 0,001$ ) und mit der AF der Kornea und der Linse (für alle  $p < 0,03$ ). Alle o. g. Parameter waren signifikant verändert bei Patienten mit Typ-1-Diabetes. Bei solchen Patienten und vorliegenden Diabeteskomplikationen waren die AF der Haut, der Kornea und der Linse signifikant höher als bei denjenigen ohne Komplikationen (für alle  $p = 0,0001$ ). Nach Adjustierung für Alter, Diabetesdauer und  $HbA_{1c}$  war die AFH enger mit Parametern der Gefäßsteifigkeit assoziiert als die AF der Kornea oder der Linse.

Diese Studie, zusammen mit der Studie von Hofmann (24), untermauert die Hypothese, dass die Akkumulation der AGEs in verschiedenen Geweben parallel stattfindet, dass es jedoch Unterschiede im Ausmaß der Akkumulation zwischen verschiedenen Geweben gibt.

#### *AFH, Intima-Media-Dicke, Karotisstenosen und pAVK*

Die Verdickung der Intima media der Arteria carotis stellt einen der etablierten kardiovaskulären Risikoparameter dar (69). Lutgers et al. fanden bei 59 nicht-rauchenden, normalgewichtigen Patienten ohne Diabetes oder kardiovaskuläre Erkrankungen eine signifikante Korrelation der AFH (AGE-Reader) mit der Intima-Media-Dicke der Arteria carotis ( $r = 0,265$ ,  $p = 0,042$ ) (70).

Noordzij und Mitarbeiter haben die AFH (AGE-Reader) bei 56 Patienten mit Stenosen der Arteria carotis (12 davon mit Diabetes) sowie bei 56 alters- und geschlechtsgleichen Kontrollpersonen ohne Niereninsuffizienz oder bekannte Atherosklerose gemessen (71). Patienten mit einer Karotisstenose hatten eine höhere AFH als die Kontrollpersonen (2,81 vs. 2,46,  $p = 0,002$ ); diese Unterschiede waren ausgeprägter bei jüngeren Personen (Alter: 50–60 Jahre; 2,82 vs. 1,94,  $p < 0,001$ ). Patienten, die zusätzlich eine pAVK ( $n = 14$ ) aufwiesen, hatten



höhere AFH-Werte als diejenigen, die lediglich eine Karotisstenose hatten (3,28 vs. 2,66 AU,  $p=0,003$ ). Diese Daten zeigen, dass die AFH als ein Indikator des Ausmaßes der Atherosklerose betrachtet werden kann.

In der Tat weisen auch Personen mit pAVK eine erhöhte AFH auf. In einer Population von 492 Patienten mit pAVK sowie 164 Kontrollpersonen (angepasst für Alter und Diabetes) konnten Noordzij und Kollegen höhere AFH-Werte (AGE-Reader) zwischen den beiden Gruppen nachweisen (geometrisches Mittel 2,77 vs. 2,44 AU,  $p<0,001$ ) (72). Die adjustierte OR für das Vorhandensein einer pAVK war 2,47 (95%-Konfidenzintervall 1,66–3,69) pro Einheit Erhöhung der AFH. Personen mit pAVK und kardiovaskulärer Komorbidität wiesen eine höhere AFH auf als diejenigen ohne Komorbidität: 2,93 vs. 2,63 AU ( $p<0,001$ ).

#### AFH und KHK

Mulder und Mitarbeiter untersuchten die AFH (AGE-Reader) bei 63 Patienten mit stabiler KHK (Alter  $64,7 \pm 10,5$  Jahre, 78 % Männer, 19 % mit Diabetes, 22 % Raucher) sowie bei einer vergleichbaren Gruppe von 33 gesunden Nichtraucher (73). Die AFH war signifikant höher bei den Patienten als bei den Kontrollpersonen, unabhängig von Diabetes, Rauchen oder Nierenfunktion. Patienten mit einem ST-Hebungsinfarkt (ST-elevation myocardial infarction, STEMI,  $n=88$ ) wiesen aufgrund eines exazerbierten oxidativen Stresses und Inflammation eine höhere AFH als altersgleiche Patienten mit stabiler KHK ( $n=81$ ) sowie Gesunde ( $n=32$ ) auf. Die AFH nahm nach dem akuten Ereignis ( $>200$  Tage) wieder ab (74). Eine AFH-Messung oberhalb des Medians war prädiktiv für weitere kardiovaskuläre Ereignisse (HR 11,6, 95%-Konfidenzintervall 1,5–90,8,  $p=0,019$ ). Aus klinischer Sicht könnte die Messung der AFH im Rahmen eines akuten kardiovaskulären Ereignisses von Relevanz sein, um Hochrisikopatienten zu identifizieren. Auch bei Patienten auf einer Intensivstation wurden erhöhte AFH gemessen, die Relevanz dieser Beobachtung ist allerdings noch unklar (75).

#### AFH und Herzinsuffizienz

Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz mit oder ohne Diabetes korreliert die AFH mit Parametern der diastolischen Funktion (echokardiographisch gemessenes  $E'$ , adjustierter  $r=-0,21$ ,  $p=0,004$ ) sowie mit der aeroben Kapazität, gemessen anhand des  $VO_2$  peak (adjustiertes  $p=0,03$ ) (76). Eine Korrelation zwischen der AFH und der diastolischen Dysfunktion wurde ebenfalls bei dialysierten Personen beschrieben (77).

#### Zusammenfassung und praktische Empfehlungen

Langlebige Substanzen wie AGEs stellen vermutlich das Substrat für das metabolische Gedächtnis dar und weisen deshalb einen besseren prädiktiven Wert für die Entwicklung der Diabeteskomplikationen auf als der  $HbA_{1c}$ -Wert (23). Die Messung von im Blut zirkulierenden AGEs unterliegt großen Schwankungen (z. B. postprandial (4)), hingegen sind die Konzentrationen von gewebsgebundenen AGEs viel stabiler (7) und eignen sich deshalb besser für langfristige Aussagen (23). Zu deren Messung wurden in den letzten Jahren nichtinvasive Verfahren entwickelt, die auf der Autofluoreszenzeigenschaft einiger AGEs beruhen. Dazu gehören die Messung der Autofluoreszenz der Haut, der Kornea oder der Augenlinse. Diese Methoden erlauben eine schnelle, reproduzierbare und relativ kostengünstige Messung von AGE-modifizierten Proteinen in diesen Geweben (8–10). Darüber hinaus werden einige redoxregulierte Fluorophore (z. B. NADH, FAD und Porphyrine) mit autofluoreszierenden Eigenschaften sowie Substanzen, die nicht durch Glykierung entstehen, erfasst (17, 18).

Die AFH kann dabei am einfachsten gemessen werden, in der Regel findet die Messung am Unterarm statt (20, 44). Die Akkumulation autofluoreszierender Substanzen im Gewebe unterliegt dem Alterungsprozess (d. h. die AFH steigt jährlich etwa um 0,023 AU bis zum Alter von 70 Jahren an (28)), dem Einfluss von Umweltfaktoren (insbesondere Rauchen erhöht die AFH um etwa 0,16 AU (28)), genetischer Faktoren (10). Sie

wird aber auch durch Erkrankungen wie Diabetes (16), mikro- oder makrovaskuläre Erkrankungen (71) oder Niereninsuffizienz (59) beeinflusst. Als einer der wichtigsten Faktoren für die Variabilität der AFH auch bei Personen

#### Bei Patienten mit Diabetes korreliert die AFH besser mit Mittelwerten des $HbA_{1c}$ als mit dem letzten $HbA_{1c}$ -Wert allein.

ohne Diabetes weist das Alter (59) einen Beitrag zur AFH der Linse von bis zu 53 % ( $R^2$ ) auf, gefolgt vom Raucherstatus, der bis zu 10 % dazu beiträgt (10). Interessanterweise sind bei Patienten mit Typ-1-Diabetes bis zu 60 % der AFH nicht durch herkömmliche Variablen zu erklären, weitere Studien in diese Richtung werden erwartet (25).

Der Einfluss des Alters bei Personen mit Niereninsuffizienz ist unklar; es gibt Studien, die einen Einfluss auf die AFH zeigen (22), und solche, die keinen Einfluss nachweisen konnten (59). Bei gesunden Frauen (59) und Frauen mit Typ-2-Diabetes (16) war die AFH höher als bei Männern – ein Effekt, der wahrscheinlich östrogenbedingt ist (78). Bei Personen mit terminaler Niereninsuffizienz sind die geschlechtsbedingten Unterschiede aufgehoben oder sogar umgekehrt (58), möglicherweise aufgrund einer ovariellen Dysfunktion (59).

Die AFH ist bei Personen mit Diabetes in fast allen Alterskategorien höher als bei Gesunden (16). Dies erklärt, warum in einigen Studien die Messung der AFH erfolgreich zum Diabetescreening verwendet werden konnte (50–52). Es gilt aber, noch präzise Cut-off-Werte für die Diagnose zu ermitteln; diese sind gerätespezifisch. Ein pragmatisches Vorgehen für das Diabetescreening – welches die Meinung der Autoren widerspiegelt – ist in Abbildung 2 zu finden.

Bei Patienten mit Diabetes korreliert die AFH besser mit Mittelwerten des  $HbA_{1c}$  (von mindestens 4 Jahren) als mit dem letzten  $HbA_{1c}$ -Wert allein. Somit spiegelt die AFH die Stoffwechselkontrolle über mehrere Jahre hinweg wider und erweitert damit die zeitliche Aussagekraft des  $HbA_{1c}$ -Werts (37).

In mehreren Studien wurde eine gute Korrelation zwischen der AFH und dem Risiko für mikrovaskuläre Komplikationen beim Diabetes beobachtet, wie der Nephropathie (22, 79) oder der Neuropathie (45, 79), weniger jedoch für die Retinopathie (42, 43). Die AFH kann als prädiktiver Parameter für letale und nichtletale kardiovaskuläre Erkrankungen bei Patienten mit Diabetes herangezogen werden.

### Die Messung der AFH ist eine einfache, kostengünstige, reproduzierbare und schnell durchführbare Untersuchungsmethode.

Die Messung dieses Parameters ermöglicht es, die Einstufung nach dem UKPDS-Risiko-Score zu verbessern; insbesondere bei einem Absolutwert der AFH über 2,9 AU scheint ein erhöhtes Risiko vorzuliegen (48).

Kardiovaskuläre Erkrankungen per se gehen ebenfalls mit einer erhöhten AFH einher. Die AFH ist bei Patienten mit Stenosen der Arteria carotis (71), mit pAVK (72) sowie mit einer KHK (9) erhöht, wobei das Vorliegen zweier dieser Erkrankungen mit einer weiteren Erhöhung der AFH einhergeht (71, 72). Patienten mit ST-Hebungsinfarkt weisen eine höhere AFH auf als solche mit einer stabilen KHK; dabei ist das Ausmaß der AFH prädiktiv für weitere Ereignisse. Dies kann sowohl für die Primär- als auch für die Sekundärprävention von Bedeutung sein (74). Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz mit oder ohne Diabetes korreliert die AFH mit Parametern der diastolischen Funktion sowie mit der aeroben Kapazität ( $VO_2$  peak) (76). Eine Korrelation zwischen AFH und diastolischer Dysfunktion wurde bei dialysierten Personen beschrieben (77).

Auch Patienten mit Niereninsuffizienz weisen aufgrund einer verminderten renalen Ausscheidung, aber auch aufgrund des exazerbierten oxidativen Stresses erhöhte AGEs-Konzentrationen auf (54, 55). Diese steigen bei Dialyse auf bis das 2,4-Fache an und sogar mehr, wenn außerdem ein Diabetes vorliegt (22). Des Weiteren steigt die AFH mit dem Alter und der Dialysedauer an (22). Nach ei-

ner Nierentransplantation sinkt die AFH signifikant ab, jedoch werden Werte wie bei Gesunden nicht erreicht (61). Interessanterweise stellt die AFH > 1 Jahr nach Nierentransplantation einen Prädiktor für die Mortalität, aber auch für die Transplantatdysfunktion dar (der oft unvermeidbare Verlust der Transplantatfunktion, das langfristig unabhängig von der Transplantatabstoßung vorkommt). Bei Patienten mit einer Dialysetherapie stellt die AFH einen starken, unabhängigen Prädiktor für die Gesamtmortalität dar (22, 64).

Die Messung der AFH stellt eine einfache, kostengünstige, reproduzierbare und schnell durchführbare Untersuchungsmethode dar, die in einer Reihe von Studien validiert wurde. Die AFH-Messung kann sowohl zum Diabetes-screening als auch zum Abschätzen des Risikos für mikro- und makroangiopathische sowie neuropathische Komplikationen bei Typ-1- und Typ-2-Diabetikern und kardiovaskuläre Komplikationen bei Nichtdiabetikern eingesetzt werden. Ein praxistaugliches Gerät (Abbildung 1, AGE-Reader, DiagnOptics) ist verfügbar.

#### Literatur

- Vlassara H, Uribarri J: Glycooxidation and diabetic complications: modern lessons and a warning? *Rev Endocr Metab Disord* 2004; 5: 181-188
- Vlassara H, Striker G: The role of AGE-products in the etiology of insulin resistance and diabetes. *US Endocrinology* 2010; 6: 14-19
- Vlassara H: Advanced glycation in health and disease: role of the modern environment. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1043: 452-460
- Stirban A, Negrean M, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Gotting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, Tschoepe D: Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 2064-2071
- Pop-Busui R, Herman WH, Feldman EL, Low PA, Martin CL, Cleary PA, Waberski BH, Lachin JM, Albers JW: DCCT and EDIC studies in type 1 diabetes: lessons for diabetic neuropathy regarding metabolic memory and natural history. *Curr Diab Rep* 2010; 10: 276-282
- Mulder DJ, Water TV, Lutgers HL, Graaff R, Gans RO, Zijlstra F, Smit AJ: 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: 523-535
- Lyons TJ, Bailie KE, Dyer DG, Dunn JA, Baynes JW: Decrease in skin collagen glycation with improved glycemic control in patients with

- insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1991; 87: 1910-1915
- Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PH, Links TP, Jager JJ, Alderson NL, Thorpe SR, Baynes JW, Gans RO, Smit AJ: Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. *Diabetologia* 2004; 47: 1324-1330
- Conway BN, Aroda VR, Maynard JD, Matter N, Fernandez S, Ratner RE, Orchard TJ: Skin intrinsic fluorescence is associated with coronary artery disease in individuals with long duration of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2012; 35: 2331-2336
- Kessel L, Hougaard JL, Sander B, Kyvik KO, Sorensen TI, Larsen M: Lens ageing as an indicator of tissue damage associated with smoking and non-enzymatic glycation – a twin study. *Diabetologia* 2002; 45: 1457-1462
- Lyons TJ, Silvestri G, Dunn JA, Dyer DG, Baynes JW: Role of glycation in modification of lens crystallins in diabetic and nondiabetic senile cataracts. *Diabetes* 1991; 40: 1010-1015
- Ishiko S, Yoshida A, Mori F, Abiko T, Kitaya N, Konno S, Kato Y: Corneal and lens autofluorescence in young insulin-dependent diabetic patients. *Ophthalmologica* 1998; 212: 301-305
- Bleeker JC, van Best JA, Vrij L, van der Velde EA, Oosterhuis JA: Autofluorescence of the lens in diabetic and healthy subjects by fluorophotometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 791-794
- Januszewski AS, Sachithanandan N, Karschinkus C, O'Neal DN, Yeung CK, Alkatib N, Jenkins AJ: 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: 726-733
- Kitaya N, Ishiko S, Mori F, Abiko T, Kagokawa H, Takeda M, Takamiya A, Yoshida A: Diurnal variation of corneal autofluorescence in normal and diabetic eyes. *Eye (Lond)* 1998; 12 ( Pt 6): 934-937
- Lutgers HL, Graaff R, Links TP, Ubink-Veltmaat LJ, Bilo HJ, Gans RO, Smit AJ: Skin autofluorescence as a noninvasive marker of vascular damage in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 2654-2659
- Na R, Stender IM, Ma L, Wulf HC: Autofluorescence spectrum of skin: component bands and body site variations. *Skin Res Technol* 2000; 6: 112-117
- Sell DR, Nemet I, Monnier VM: Partial characterization of the molecular nature of collagen-linked fluorescence: role of diabetes and end-stage renal disease. *Arch Biochem Biophys* 2010; 493: 192-206
- 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: 527-533
- Meerwaldt R, Links T, Graaff R, Thorpe SR, Baynes JW, Hartog J, Gans R, Smit A: Simple noninvasive measurement of skin autofluorescence. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1043: 290-298
- den Hollander NC, Mulder DJ, Graaff R, Thorpe SR, Baynes JW, Smit GP, Smit AJ: Advanced glycation end products and the absence of premature atherosclerosis in glycogen storage disease Ia. *J Inher Metab Dis* 2007; 30: 916-923
- Meerwaldt R, Hartog JW, Graaff R, Huisman RJ, Links TP, den Hollander NC, Thorpe SR, Baynes JW, Navis G, Gans RO, Smit AJ: Skin autofluorescence, a measure of cumulative metabolic stress and advanced glycation end products, predicts mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3687-3693

23. Monnier VM, Bautista O, Kenny D, Sell DR, Fogarty J, Dahms W, Cleary PA, Lachin J, Genuth S: Skin collagen glycation, glycooxidation, and crosslinking are lower in subjects with long-term intensive versus conventional therapy of type 1 diabetes: relevance of glycated collagen products versus HbA1c as markers of diabetic complications. DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group. *Diabetes Control and Complications Trial*. *Diabetes* 1999; 48: 870-880
24. Hofmann B, Adam AC, Jacobs K, Riemer M, Erbs C, Bushnaq H, Simm A, Silber RE, Santos AN: Advanced glycation end product associated skin autofluorescence: a mirror of vascular function? *Exp Gerontol* 2013; 48: 38-44
25. Cleary PA, Braffett BH, Orchard T, Lyons TJ, Maynard J, Gubitosi-Klug RA, Way J, Anderson K, Barnie A, Villavencio S; the DCCT/EDIC Research Group: Clinical and technical factors associated with skin intrinsic fluorescence in subjects with type 1 diabetes from the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study. *Diabetes Technol Ther* 2013; 15: 466-474
26. de Ranitz-Greven WL, Kaasenbrood L, Poucki WK, Hamerling J, Bos DC, Visser GH, Biesma DH, Beulens JW, de Valk HW: Advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence, during normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus. *Diabetes Technol Ther* 2012; 14: 1134-1139
27. Stirban A, Pop A, Fischer A, Heckermann S, Tschöpe D: Variability of skin autofluorescence measurement over 6 and 12 weeks and the influence of benfotiamine treatment. *Diabetes Technol Ther* 2013 (in press)
28. Koetsier M, Lutgers HL, de JC, Links TP, Smit AJ, Graaff R: Reference values of skin autofluorescence. *Diabetes Technol Ther* 2010; 12: 399-403
29. Stirban S, Nandreaan S, Negrean M, Koschinsky T, Tschöpe D: Skin autofluorescence increases postprandially in human subjects. *Diabetes Technol Ther* 2008; 10: 200-205
30. Noordzij MJ, Lefrandt JD, Graaff R, Smit AJ: Skin autofluorescence and glycemic variability. *Diabetes Technol Ther* 2010; 12: 581-585
31. Yue X, Hu H, Koetsier M, Graaff R, Han C: Reference values for the Chinese population of skin autofluorescence as a marker of advanced glycation end products accumulated in tissue. *Diabet Med* 2011; 28: 818-823
32. Nathan DM, Singer DE, Hurxthal K, Goodson JD: The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N Engl J Med* 1984; 310: 341-346
33. 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: 977-986
34. Vlassara H, Bucala R, Striker L: Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. *Lab Invest* 1994; 70: 138-151
35. Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR: Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med* 1986; 314: 403-408
36. Genuth S, Sun W, Cleary P, Sell DR, Dahms W, Malone J, Sivitz W, Monnier VM: 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: 3103-3111
37. Aroda VR, Conway BN, Fernandez SJ, Matter NI, Maynard JD, Orchard TJ, Ratner RE: Cross-sectional evaluation of noninvasively detected skin intrinsic fluorescence and mean hemoglobin a1c in type 1 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2013; 15: 117-123
38. Sugisawa E, Miura J, Iwamoto Y, Uchigata Y: Skin autofluorescence reflects integration of past long-term glycemic control in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2013 Apr 11 (Epub ahead of print)
39. Gerrits EG, Lutgers HL, Kleefstra N, Groenier KH, Smit AJ, Gans RO, Bilo HJ: Skin advanced glycation end product accumulation is poorly reflected by glycemic control in type 2 diabetic patients (ZODIAC-9). *J Diabetes Sci Technol* 2008; 2: 572-577
40. de Ranitz-Greven WL, Bos DC, Poucki WK, Visser GH, Beulens JW, Biesma DH, de Valk HW: Advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence, at diagnosis in gestational diabetes mellitus compared with normal pregnancy. *Diabetes Technol Ther* 2012; 14: 43-49
41. Noordzij MJ, Mulder DJ, Oomen PH, Brouwer T, Jager J, Castro CM, Lefrandt JD, Smit AJ: Skin autofluorescence and risk of micro- and macrovascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus – a multi-centre study. *Diabet Med* 2012; 29: 1556-1561
42. Gerrits EG, Lutgers HL, Kleefstra N, Graaff R, Groenier KH, Smit AJ, Gans RO, Bilo HJ: Skin autofluorescence: a tool to identify type 2 diabetic patients at risk for developing microvascular complications. *Diabetes Care* 2008; 31: 517-521
43. Chabroux S, Canoui-Poitrine F, Reffet S, Mills-Joncour G, Morelon E, Colin C, Thivolet C: Advanced glycation end products assessed by skin autofluorescence in type 1 diabetics are associated with nephropathy, but not retinopathy. *Diabetes Metab* 2010; 36: 152-157
44. Conway BN, Aroda VR, Maynard JD, Matter NI, Fernandez S, Ratner RE, Orchard TJ: Skin intrinsic fluorescence correlates with autonomic and distal symmetrical polyneuropathy in individuals with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34: 1000-1005
45. Meerwaldt R, Links TP, Graaff R, Hoogenberg K, Lefrandt JD, Baynes JW, Gans RO, Smit AJ: Increased accumulation of skin advanced glycation end-products precedes and correlates with clinical manifestation of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 2005; 48: 1637-1644
46. Conway B, Edmundowicz D, Matter N, Maynard J, Orchard T: Skin fluorescence correlates strongly with coronary artery calcification severity in type 1 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2010; 12: 339-345
47. Lutgers HL, Gerrits EG, Graaff R, Links TP, Sluiter WJ, Gans RO, Bilo HJ, Smit AJ: 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: 789-797
48. Meerwaldt R, Lutgers HL, Links TP, Graaff R, Baynes JW, Gans RO, Smit AJ: Skin autofluorescence is a strong predictor of cardiac mortality in diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 107-112
49. Standards of medical care in diabetes – 2013. *Diabetes Care* 2013; 36 (Suppl 1): S11-S66
50. Maynard JD, Rohrscheib M, Way JF, Nguyen CM, Ediger MN: Noninvasive type 2 diabetes screening: superior sensitivity to fasting plasma glucose and A1C. *Diabetes Care* 2007; 30: 1120-1124
51. Tentolouris N, Lathouris P, Lontou S, Tzemos K, Maynard J: Screening for HbA1c-defined prediabetes and diabetes in an at-risk greek population: Performance comparison of random capillary glucose, the ADA diabetes risk test and skin fluorescence spectroscopy. *Diabetes Res Clin Pract* 2013; 100: 39-45
52. Koefoed TP, Hansen T, Larsen M, Pedersen O, Lund-Andersen H: Lens autofluorescence is increased in newly diagnosed patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996; 39: 1524-1527
53. Smit AJ, Smit JM, Botterblom GJ, Mulder DJ: Skin autofluorescence based decision tree in detection of impaired glucose tolerance and diabetes. *PLoS One* 2013; 8: e65592
54. Weiss MF, Erhard P, Kader-Attia FA, Wu YC, Deoreo PB, Araki A, Glomb MA, Monnier VM: Mechanisms for the formation of glycooxidation products in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2000; 57: 2571-2585
55. Uribarri J, Peppas M, Cai W, Goldberg T, Lu M, He C, Vlassara H: Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 728-731
56. Baynes JW, Thorpe SR: Glycooxidation and lipoxidation in atherogenesis. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1708-1716
57. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, Heitmann K, Vlassara H: Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 6474-6479
58. McIntyre NJ, Fluck RJ, McIntyre CW, Taal MW: Skin autofluorescence and the association with renal and cardiovascular risk factors in chronic kidney disease stage 3. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 2356-2363
59. Ueno H, Koyama H, Tanaka S, Fukumoto S, Shinohara K, Shoji T, Emoto M, Tahara H, Kakiya R, Tabata T, Miyata T, Nishizawa Y: Skin autofluorescence, a marker for advanced glycation end product accumulation, is associated with arterial stiffness in patients with end-stage renal disease. *Metabolism* 2008; 57: 1452-1457
60. McIntyre NJ, Chesterton LJ, John SG, Jefferies HJ, Burton JO, Taal MW, Fluck RJ, McIntyre CW: Tissue-advanced glycation end product concentration in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 51-55
61. Hartog JW, de Vries AP, Lutgers HL, Meerwaldt R, Huisman RM, van Son WJ, de Jong PE, Smit AJ: Accumulation of advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence, in renal disease. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1043: 299-307
62. Hartog JW, de Vries AP, Bakker SJ, Graaff R, van Son WJ, van der Heide JJ, Gans RO, Wolfenbutter BH, de Jong PE, Smit AJ: Risk factors for chronic transplant dysfunction and cardiovascular disease are related to accumulation of advanced glycation end-products in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2263-2269
63. Hartog JW, Gross S, Oterdoom LH, van Ree RM, de Vries AP, Smit AJ, Schouten JP, Nawroth PP, Gans RO, van Son WJ, Bierhaus A, Bakker SJ: Skin-autofluorescence is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients. *Transplantation* 2009; 87: 1069-1077
64. Gerrits EG, Lutgers HL, Smeets GH, Groenier KH, Smit AJ, Gans RO, Bilo HJ: Skin autofluorescence: a pronounced marker of mortality in

- hemodialysis patients. *Nephron Extra* 2012; 2: 184-191
65. Kitahara T, Ono K, Tsuchida A, Kawai H, Shinohara M, Ishii Y, Koyanagi H, Noguchi T, Matsumoto T, Sekihara T, Watanabe Y, Kanai H, Ishida H, Nojima Y: Impact of brachial-ankle pulse wave velocity and ankle-brachial blood pressure index on mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 688-696
66. Sims TJ, Rasmussen LM, Oxlund H, Bailey AJ: The role of glycation cross-links in diabetic vascular stiffening. *Diabetologia* 1996; 39: 946-951
67. Vishwanath V, Frank KE, Elmetts CA, Dauchot PJ, Monnier VM: Glycation of skin collagen in type I diabetes mellitus. Correlation with long-term complications. *Diabetes* 1986; 35: 916-921
68. Watfa G, Soulis G, Tartagni E, Kearney-Schwartz A, Borghi C, Salvi P, Benetos A: Relationship between tissue glycation measured by autofluorescence and pulse wave velocity in young and elderly non-diabetic populations. *Diabetes Metab* 2012; 38: 413-419
69. van den Oord SC, Sijbrands EJ, Ten Kate GL, van KD, van Domburg RT, van der Steen AF, Schinkel AF: Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: Systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis* 2013; 228: 1-11
70. Lutgers HL, Graaff R, de VR, Smit AJ, Dullaart RP: Carotid artery intima media thickness associates with skin autofluorescence in non-diabetic subjects without clinically manifest cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 812-817
71. Noordzij MJ, Lefrandt JD, Loeffen EA, Saleem BR, Meerwaldt R, Lutgers HL, Smit AJ, Zeebregts CJ: Skin autofluorescence is increased in patients with carotid artery stenosis and peripheral artery disease. *Int J Cardiovasc Imaging* 2012; 28: 431-438
72. de Vos LC, Noordzij MJ, Mulder DJ, Smit AJ, Lutgers HL, Dullaart RP, Kamphuisen PW, Zeebregts CJ, Lefrandt JD: Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation end products deposition is elevated in peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33: 131-138
73. Mulder DJ, van Haelst PL, Gross S, de LK, Bijzet J, Graaff R, Gans RO, Zijlstra F, Smit AJ: Skin autofluorescence is elevated in patients with stable coronary artery disease and is associated with serum levels of neopterin and the soluble receptor for advanced glycation end products. *Atherosclerosis* 2008; 197: 217-223
74. Mulder DJ, van Haelst PL, Graaff R, Gans RO, Zijlstra F, Smit AJ: Skin autofluorescence is elevated in acute myocardial infarction and is associated with the one-year incidence of major adverse cardiac events. *Neth Heart J* 2009; 17: 162-168
75. Greven WL, Smit JM, Rommes JH, Spronk PE: Accumulation of advanced glycation end (AGEs) products in intensive care patients: an observational, prospective study. *BMC Clin Pathol* 2010; 10: 4
76. Willemsen S, Hartog JW, Hummel YM, van Ruijven MH, van der Horst IC, van Veldhuisen DJ, Voors AA: 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
77. Hartog JW, Hummel YM, Voors AA, Schalkwijk CG, Miyata T, Huisman RM, Smit AJ, Van Veldhuisen DJ: Skin-autofluorescence, a measure of tissue advanced glycation end-products (AGEs), is related to diastolic function in dialysis patients. *J Card Fail* 2008; 14: 596-602
78. Thomas MC, Tsalamandris C, MacIsaac R, Medley T, Kingwell B, Cooper ME, Jerums G: Low-molecular-weight AGEs are associated with GFR and anemia in patients with type 2 diabetes. *Kidney Int* 2004; 66: 1167-1172
79. Monami M, Lamanna C, Gori F, Bartalucci F, Marchionni N, Mannucci E: Skin autofluorescence in type 2 diabetes: beyond blood glucose. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 79: 56-60

#### Korrespondenzadresse

Dr. Alin Stirban  
 Direktor Endokrinologie und Diabeteskomplikationen  
 Profil Institut für Stoffwechselforschung GmbH  
 Hellersbergstraße 9  
 41460 Neuss  
 E-Mail: alin.stirban@profil.com

Manuskript eingegangen: 22. Mai 2013  
 Manuskript angenommen: 12. Juni 2013

#### Interessenkonflikt:

Alin Stirban und Lutz Heinemann haben Beratungshonorare vom Unternehmen DiagnOptics erhalten, dem Hersteller des AGE-Readers.