

FREIE VORTRÄGE

Folgeerkrankungen (klinische Studien)

V-1

Langzeitprognose von nierentransplantierten Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zu Nicht-Diabetikern

* Schiel R.⁽¹⁾, Heinrich S.⁽²⁾, Steiner T.⁽³⁾, Ott U.⁽²⁾, Müller U. A.⁽²⁾, Stein G.⁽²⁾

⁽¹⁾Inselklinik Heringsdorf, Seebad Heringsdorf, Friedrich-Schiller-Universität, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽²⁾Friedrich-Schiller-Universität, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽³⁾Friedrich-Schiller-Universität, Klinik für Urologie, Jena

Fragestellung: Pat. mit Typ-2-Diabetes (D. m.) und terminaler Niereninsuffizienz werden seltener nierentransplantiert (NTX) als Nicht-Diabetiker (ND). Das Ziel der Studie war die Untersuchung der Komplikationsrate und der Stoffwechseleinstellung bei Pat. mit D. m. im Vergleich zu ND nach NTX.

Material und Methoden: Alle Patienten (n = 333), die seit 1992 am Zentrum eine NTX erhielten, wurden erfasst. Das Follow-up betrug bei 302/333 Pat. (91 %) 3,3 ± 1,5 (0,1–17,7) J. Bei NTX hatten 49 Pat. einen D. m. (Typ-1/2 n = 3/46).

Ergebnisse: Verglichen mit ND (n = 253) waren Pat. mit D. m. älter (52,2 ± 12,6 vs. 58,8 ± 13,1, p = 0,01). Die Stoffwechseleinstellung bei NTX war sehr gut (HbA_{1c}, Tosho, mittl. NW 5,15 %, ND 5,15 ± 0,98 vs. Pat. mit D. m. 6,33 ± 0,93 %, p = 0,03) und blieb über den Studienzeitraum konstant (ND 5,46 ± 0,92 vs. 5,67 ± 0,93 %, p = 0,30). Vergleichbar waren am Ende der Untersuchung der mittlere Blutdruck (ND 130,9 ± 28,6/78,8 ± 17,1 vs. D. m. 135,3 ± 28,2/79,6 ± 17,2 mmHg, p = 0,33/0,78) und Nierenfunktion (Kreatinin: 142,9 ± 61,6 vs. 151,8 ± 68,2 µmol/l, p = 0,38, glom. Filtrationsrate: 63,1 ± 23,3 vs. 59,1 ± 24,0 ml/min/1,73m², p = 0,30). Es waren 26 Rejektionsbehandlungen (Prävalenz 8,6 %) erforderlich (ND 18 [7,1 %] vs. D. m. 8 [16,3 %], p = 0,11). Eine Assoziation zum Auftreten einer Rejektion zeigte der Nüchternblutglukosewert (R-square 0,044, β = 0,21, p = 0,009). Alle anderen in das Modell einbezogenen Parameter (BMI, Dauer nach NTX, Diabetesdauer, immunsuppressive Th., HbA_{1c}, HLA-Mismatch) zeigten keine Assoziationen.

Schlussfolgerung: Die Häufigkeit von Rejektionen ist bei Pat. mit D. m. verglichen mit ND nach NTX nicht-signifikant höher. Ein wesentlicher Risikofaktor scheinen Nüchternblutglukosewerte zu sein. Es müssen daher neben einer optimalen immunsuppressiven Th., guten HLA-Übereinstimmung, straffen Blutdruck- und HbA_{1c}-Einstellung insbesondere niedrige Nüchternblutglukosewerte angestrebt werden.

V-2

Akuter ST-Hebungs- und Nicht-ST-Hebungsinfarkt bei Diabetes mellitus – Das Schwabinger Herzinfarktregister im Jahr 2002

* Otter W.⁽¹⁾, Neumann C.⁽²⁾, Doering W.⁽¹⁾, Standl E.⁽²⁾, Schnell O.⁽²⁾

⁽¹⁾KH München-Schwabing, Medizinische Klinik 2, München, ⁽²⁾KH München-Schwabing, Medizinische Klinik 3 und Institut für Diabetesforschung, München

Fragestellung: Die Hospitalsterblichkeit von Diabetikern (D) mit akutem Myokardinfarkt ist gegenüber Nicht-Diabetikern erhöht. In aktuellen Leitlinien wird ein Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) von einem ST-Hebungsinfarkt (STEMI) unterschieden. Ziel der Studie war es, die Häufigkeit von NSTEMI und STEMI bei D zu untersuchen und den Hospitalverlauf aufzuzeigen.

Material und Methoden: Im Schwabinger Herzinfarktregister des Jahres 2002 (n = 143 (44 %) D) wurden diagnostische Maßnahmen, Therapie, Morbidität und Mortalität bei D mit STEMI und NSTEMI ausgewertet.

Ergebnisse: Klinische Charakteristika von D mit NSTEMI (49 %) und STEMI (51 %): Alter 73 ± 11 J. vs. 70 ± 13 J., HbA_{1c} 6,9 ± 1,8 % vs. 6,6 ± 1,5 %).

Die Co-Morbidität war bei D mit NSTEMI ausgeprägter als bei D mit STEMI: Hypertonie (95 % vs. 80 %; p < 0,01), Carotisstenose (34 % vs. 5 %; p < 0,001), Z.n. Apoplex (37 % vs. 9 %; p > 0,001), Niereninsuffizienz (61 % vs. 44 %; p < 0,05). Ck-max. war zwischen den Gruppen vergleichbar (745 ± 979 U/l vs. 736 ± 1347 U/l). D mit NSTEMI gaben seltener pectanginöse Beschwerden an als D mit STEMI (61 % vs. 78 %; p < 0,05). D mit NSTEMI erhielten seltener als D mit STEMI eine Koronarangiografie (46 % vs. 70 %; p < 0,01), Akut-PTCA (19 % vs. 53 %; p < 0,001) und GPIIb/IIIa-RA (39 % vs. 67 %; p = 0,001). Die Gabe einer Glukose-Insulin-Infusion war nicht signifikant unterschiedlich (47 % vs. 58 %).

Die Gesamt-Hospitalsterblichkeit bei D mit NSTEMI war gegenüber D mit STEMI fast 2fach erhöht (37 % vs. 19 %; p < 0,05). Die Sterblichkeit innerhalb der ersten 24 Stunden nach Aufnahme betrug bei D mit NSTEMI 14 % verglichen mit 3 % D mit STEMI (p < 0,05).

Schlussfolgerung: Die Studie zeigt, dass Diabetiker mit NSTEMI eine Hochrisikogruppe für einen ungünstigen Hospitalverlauf darstellen. Eine Intensivierung von frühzeitigen diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen ist zur Verbesserung der Prognose notwendig.

V-3

Anämieprävalenz bei Diabetikern mit Nephropathie* Karakalpakis I.⁽¹⁾, Sanden S.⁽¹⁾, Hasslacher C.⁽¹⁾⁽¹⁾ St. Josefskrankenhaus, Innere Medizin, Heidelberg

Fragestellung: Diabetiker mit Nephropathie weisen eine erhöhte cardiovasculäre Mortalität und Morbidität auf. Als eine Ursache wird in letzter Zeit die schon bei geringer Nierenfunktionseinschränkung nachweisbare Anämie diskutiert. Eine nähere Charakterisierung der Anämie wurde bisher bei dieser Patientengruppe kaum durchgeführt. Bei rund der Hälfte der Anämiepatienten wird eine Störung der Eisenspeicher vermutet.

Material und Methoden: Bei 289 Diabetikern mit Nephropathie (143 Männer und 146 Frauen), die sich in den Jahren 2000 bis 2003 ambulant vorgestellt haben, wurden folgende Parameter untersucht:

- die Prävalenz einer Anämie (Def.: bei Männern Hb < 13g/dl, bei Frauen < 12g/dl),
- das Vorliegen einer normochromen und normocytären Anämie (Def.: MCV 80–96 µm³, MCH 28–33pg), c) errechnete Creatinin-Clearance nach Cockcroft (CCL), d) Albuminausscheidung im Urin, e) Stoffwechseleinstellung (HbA_{1c}), f) Gabe von ACE-Hemmern.

Ergebnisse: Die Prävalenz einer Anämie betrug insgesamt 14,18 %, bei Männern 13,98 % und bei Frauen 14,38 %. Eine höhergradige Anämie (Hb < 11g/dl) wurde insgesamt bei 2,08 % der Patienten (bei 0,7 % der Männer und bei 3,4 % der Frauen) festgestellt. Die Anämieprävalenz nahm mit abnehmender Nierenfunktion zu: 5,67 % bei CCL > 90 ml/min und vorhandener Albuminurie, 12,71 % bei CCL 60–89 ml/min, 30,95 % bei CCL 30–59 ml/min und 66,67 % bei CCL 15–29 ml/min. Eine normochrome und normocytäre Anämie wurde insgesamt bei 83,78 % der Anämiepatienten festgestellt (88,89 % der Männer und 78,95 % der Frauen). Die Verteilung der normochromen und normocytären Anämie war bei allen Niereninsuffizienzstadien in etwa gleich. Bezüglich der Güte der Stoffwechseleinstellung und der Einnahme von ACE-Hemmern bestand zwischen Patienten mit und ohne Anämie kein signifikanter Unterschied.

Schlussfolgerung: Die Untersuchung bestätigt die erhöhte Prävalenz einer Anämie bei Diabetikern mit leichter oder mittelgradiger Nierenfunktionseinschränkung. Bei der Mehrzahl der Patienten war eine normochrome, normocytäre Anämie festzustellen, was gegen einen stärkeren Eisenmangel spricht.

V-4

Starke Erhöhung des kardiovaskulären Risikos bei älteren Diabetikern mit arterieller Verschlusskrankheit bzw. hohem Homocystein: 1-Jahres-Ergebnisse der getABI Studie* Lange S.⁽¹⁾, Diehm C.⁽²⁾, Darius H.⁽³⁾, Allenberg J.⁽⁴⁾, Haberl R.⁽⁵⁾, v. Stritzky B.⁽⁶⁾, Tepohl G.⁽⁷⁾, Pittrow D.⁽⁸⁾, Trampisch H.-J.⁽¹⁾⁽¹⁾ Ruhr-Universität, Abt. für Med. Inf., Biometrie und Epidemiol., Bochum, ⁽²⁾ Klinikum Karlsbad Akad. Lehrkrankenhaus, Innere Abt./Angiologie, Karlsbad-Langensteinbach,⁽³⁾ Vivantes Klinikum, I. Med. Klinik, Berlin-Neukölln,⁽⁴⁾ Ruprecht-Karls-Univ., Abt. für Gefäßchirurgie, Heidelberg, ⁽⁵⁾ Städt. KH, Abt. für Neurologie, München-Harlaching, ⁽⁶⁾ Med. Abt., Sanofi-Synthelabo, Berlin, ⁽⁷⁾ Praxis, Internist/Angiologie, München, ⁽⁸⁾ Technische Univ., Inst. für Klin. Pharmakol., Dresden

Fragestellung: Quantifizierung der 1-Jahres-Mortalität und der Inzidenz schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse (Tod, Myokardinfarkt, koronare, periphere oder Carotiden-Revaskularisation, Amputation) bei älteren Diabetikern mit und ohne periphere arterielle Verschlusskrankheit (AVK).

Material und Methoden: 344 Allgemeinärzte schlossen im Oktober 2001 6.880 unselektierte Patienten ≥ 65 Jahre (einziges Ausschlusskriterium Lebenserwartung < 6 Monate) in die prospektive, nicht-interventionelle, German Epidemiological Trial on Ankle Brachial Index (getABI) ein. AVK wurde definiert als Ankle-Brachial Index (ABI) < 0,9, oder periphere Revaskularisation oder Amputation wegen AVK. Diabetes wurde definiert durch die klinische Diagnose des Hausarztes und/oder HbA_{1c} = 6,5 % und/oder Einnahme von oralen Antidiabetika und/oder Insulin.

Ergebnisse: 1.743 Patienten wurden als Diabetiker klassifiziert: mittleres Alter 72,5 ± 5,4 Jahre, 51,4 % Frauen; mittlere Diabetesdauer 6 (2; 11) Jahre, mittleres HbA_{1c} 6,6 % (5,9; 7,3). Die 1-Jahres-Mortalität der Diabetiker (DIA) im Vergleich zu Nicht-Diabetikern betrug 2,0 % vs. 1,0 % (Odds ratio [OR], multivariat adjustiert für bekannte Risikofaktoren: 1,9 [95 % Konfidenzintervall 1,2; 3,0]). Die Inzidenz schwerwiegender vaskulärer Ereignisse betrug 6,1 % (DIA) vs. 2,9 % (OR: 1,8 [-1,4; 2,4]). Diabetiker, die gleichzeitig unter einer AVK litten, hatten gegenüber Nicht-Diabetikern ein mehr als 5fach erhöhtes Risiko zu versterben (univariate OR 5,4 [3,1; 9,4]), bzw. ein schwerwiegendes vaskuläres Ereignis zu erleiden (OR 5,7 [4,0; 8,1]). Diabetiker mit hohem Homocystein (HC > 80 % Quantil) hatten im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes und ohne erhöhtes HC ebenfalls ein erhöhtes Risiko (OR für Tod: 5,6 [2,8; 10,9]), für schwerw. vaskuläres Ereignis: 4,1 [2,7; 6,2]). Am stärksten gefährdet waren Diabetiker, die neben AVK auch ein hohes HC hatten (OR für Tod 8,6 [3,4; 21,7], OR für vaskuläre Ereignisse: 6,8 [3,6; 12,6]).

Schlussfolgerung: Ältere Diabetiker haben bei Vorliegen einer AVK und/oder erhöhtem HC ein deutlich erhöhtes Risiko für vorzeitiges Versterben bzw. kardiovaskuläre Ereignisse.

V-5

Eine neue Behandlungsform der diabetischen Gastroparese: Die Therapie mit Enterra™* Hummel M.⁽¹⁾, Matzel K.⁽²⁾, Liebl A.⁽³⁾, Demmer J.⁽⁴⁾, Stoesser M.⁽⁴⁾, Standl E.⁽¹⁾, Schnell O.⁽¹⁾⁽¹⁾ Institut für Diabetesforschung, München, ⁽²⁾ Chirurgische Klinik, Universität Erlangen, Erlangen, ⁽³⁾ Fachklinik Bad Heilbrunn, Bad Heilbrunn, ⁽⁴⁾ Medtronic GmbH Deutschland, Düsseldorf

Fragestellung: Medikamentös therapierefraktäre Formen der diabetischen Gastroparese sind bei langjährigem Diabetes mellitus nicht selten. Ein neues Behandlungskonzept zur Verbesserung der Motilität des Magens stellt die elektrische Magenstimulation mit Enterra™ dar. Wir berichten über den Verlauf nach Implantation von Enterra™ bei zwei langjährigen Typ-1-Diabetikern mit szintigrafisch nachgewiesener (T50 > 60 min) und medikamentös nicht beherrschbarer diabetischer Gastroparese.

Material und Methoden: Bei beiden Patienten (A u. B) wurde das Enterra™-System implantiert. Die beiden Schrittmacher-Sonden

wurden 10 cm oberhalb des Pylorus im Bereich der großen Kurvatur positioniert. Die klinische Symptomatik wurde standardisiert vor der Implantation sowie nach 1, 3 und 6 Monaten erfasst.

Ergebnisse: Die Implantation des Schrittmachersystems wurde bei beiden Patienten während eines stationären Aufenthaltes durchgeführt. Bei Patient A konnte die Frequenz der Brechanfälle von im Mittel 35 pro Woche auf 1 pro Woche nach Implantation reduziert werden. Die Zahl der Stunden mit Brechreiz pro Tag verminderte sich von 6 Stunden auf 1 Stunde. Bei Patient B gingen die Frequenz der Brechanfälle von im Mittel 60 pro Woche auf 6 pro Woche und die Anzahl der Stunden mit Brechreiz von 8 auf 1,5 Stunde täglich zurück. Eine frühzeitiges Sättigungsgefühl wurde von 3,5 (Skala von 0–4) auf 0,5 bzw. von 3 auf 0,5 verbessert. Die Parameter des allgemeinen Wohlbefindens und der Leistungsfähigkeit waren deutlich verbessert. Der positive Effekt der Behandlung war über den derzeitigen Beobachtungszeitraum von 6 Monaten unverändert nachweisbar. Komplikationen während und nach der Implantation traten nicht auf.

Schlussfolgerung: In ersten Beobachtungen bei Diabetikern mit ausgeprägter Gastroparese stellt die Implantation eines Magenschrittmachers Enterra™ eine neue Therapieoption dar, die bei nachgewiesener Magenentleerungsstörung zu einer deutlichen Verbesserung der Symptomatik führt.

V-6

Prävalenz von unerkanntem Diabetes mellitus in der koronaren Bypasschirurgie

*Lauruschkat A.⁽¹⁾, Albert A.⁽¹⁾, Arnrich B.⁽²⁾, Walter J.⁽¹⁾, Amann B.⁽³⁾, Rosendahl U.⁽¹⁾, Ennker J.⁽¹⁾

⁽¹⁾Herzzentrum Lahr/Baden, Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie, Lahr, ⁽²⁾TU Bielefeld, Neuroinformatik, Bielefeld, ⁽³⁾St.Franziskus-KH, Medizinische Klinik, Berlin

Fragestellung: Die Daten der KORA-Survey 2000 zeigen in der Altersgruppe der 55–74-Jährigen eine Prävalenz des Diabetes

mellitus von 16,6 %, wobei in der Hälfte der Fälle die Erkrankung bislang unentdeckt war. Über das Ausmaß und die Folgen des nichtdiagnostizierten Diabetes mellitus in der Hoch-Risiko-Gruppe der Patienten mit koronarer Herzerkrankung wissen wir nur äußerst wenig. Ziel dieser Arbeit war es, die Prävalenz nichtdiagnostizierten Diabetes mellitus bei koronaren Bypasspatienten und dessen Auswirkungen auf die peri- und postoperativen Ergebnisse zu ermitteln.

Material und Methoden: Bei 8891 Patienten, die sich im Zeitraum vom Januar 1996 bis Juni 2003 koronaren Bypassoperationen unterzogen, wurden umfangreiche präoperative, intraoperative und postoperative Daten erfasst und ausgewertet. Die statistische Analyse erfolgte unter Verwendung von Chi-Quadrat- und Student-t-Tests sowie mittels multivariater logistischer Regressionsanalysen.

Ergebnisse: Unter den untersuchten koronaren Bypasspatienten finden wir einen Anteil diagnostizierter Diabetiker von 28,2 %. Die Prävalenz von Patienten mit gestörtem Glukosestoffwechsel (IFG; NBZ 100–125 mg/dl) beträgt 23,3 %, von Patienten mit unentdecktem Diabetes mellitus (NBZ \geq 126 mg/dl) 5,2 %. Im Vergleich zu den anderen Gruppen (nicht-DM vs. undiagn.DM vs. DM) müssen die nichtdiagnostizierten Diabetiker perioperativ häufiger reanimiert werden (1,8 % vs. 3,7 % vs. 1,8 %; $p=0,014$), reintubiert werden (2,2 % vs. 4,8 % vs. 3,9 %; $p=0,001$), erleiden häufiger Schlaganfälle (1,7 % vs. 3,0 % vs. 2,5 %; $p=0,007$) und weisen eine längere Beatmungsdauer (0,9 d vs. 1,5 d vs. 1,1 d.; $p < 0,001$) und längere Intensivliegezeit (3,2 d vs. 3,9 d vs. 3,8 d; $p < 0,001$) auf. Die perioperative Mortalität ist in dieser Gruppe am höchsten (0,9 % vs. 2,2 % vs. 1,7 %; $p < 0,001$).

Schlussfolgerung: In dieser Studie wird erstmals die Prävalenz nichtdiagnostizierten Diabetes mellitus unter Patienten in der Herzchirurgie publiziert. Im peri- und postoperativen Verlauf weisen diese Patienten eine besonders hohe Morbidität und Mortalität auf.

Psychosoziale Aspekte

V-7

Keine erhöhte Unfallhäufigkeit im Straßenverkehr bei Menschen mit Diabetes mellitus

* Hermanns N.⁽¹⁾, Kulzer B.⁽²⁾, Kempe J.⁽¹⁾, Kubiak T.⁽¹⁾, Vidal S.⁽³⁾, Haak T.⁽¹⁾

⁽¹⁾Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Mergentheim (FIDAM), Bad Mergentheim, ⁽²⁾Diabetes Zentrum Mergentheim, Bad Mergentheim, ⁽³⁾Praxisgemeinschaft Hipp, Haak & Vidal, Bad Mergentheim

Einleitung: Es gibt nur wenige Daten zur Unfallhäufigkeit von Diabetikern im Straßenverkehr. Im Rahmen einer Pilotstudie wurden Befragungsdaten zur Unfallhäufigkeit von Diabetikern gewonnen und diese Angaben wurden mit den Daten des statistischen Bundesamtes zur Unfallhäufigkeit in Deutschland verglichen.

Methodik: An dieser Untersuchung nahmen 119 ambulant behandelte Diabetespatienten (49,5 % Typ-1-Diabetiker; 71 % männlich; Alter $48,6 \pm 14,7$ J.; Dauer des Führerscheinbesitzes $28,1 \pm 13,1$ J.; Diabetesdauer $12,3 \pm 8,6$ J.; HbA_{1c} $7,3 \pm 1,7$ %) teil. Diese Patienten bearbeiteten einen Fragebogen, in dem nach der Anzahl der Verkehrsunfälle in den letzten beiden Jahren und der Anzahl der durch eine Hypoglykämie mitverursachten Unfälle gefragt wurde.

Ergebnisse: Im Durchschnitt gaben die Patienten eine jährliche Fahrleistung von $21\,025 \pm 18\,400$ km an. Insgesamt waren in den zurückliegenden beiden Jahren 11 Verkehrsunfälle aufgetreten (6 Unfälle bei Typ-1-Diabetikern und 5 Unfälle bei Typ-2-Diabetikern $P = 0,193$). Rechnet man diese Unfälle auf die jährliche Kilometerleistung um, so tritt bei Typ-1-Diabetikern im Durchschnitt alle 364 666 km, bei Typ-2-Diabetikern alle 563 232 km ein Unfall auf. Nach den Angaben des statistischen Bundesamtes ereignet sich in Deutschland im Durchschnitt alle 274 545 km ein polizeilich gemeldeter Unfall. Keiner der Patienten berichtete von einem Unfall, der mit einer Hypoglykämie assoziiert war.

Schlussfolgerung: Diese Befragungsdaten geben keinen Anhaltspunkt dafür, dass Diabetiker ein höheres Unfallrisiko im Straßenverkehr haben als der Durchschnitt der deutschen Bevölkerung. Die geringe Anzahl unfallfreier Fahrkilometer bei Typ-1-Diabetikern im Vergleich zu Typ-2-Diabetikern könnte mit dem jüngeren Lebensalter dieser Patientengruppe im Zusammenhang stehen. Eine Ergänzung dieser Selbstberichtsdaten durch amtliche Unfallstatistiken erscheint sinnvoll, da bei Selbstberichtsdaten eine Tendenz zu sozial erwünschten Antworten nicht ausgeschlossen werden kann.

V-8

Prävention und Frühdiagnose des Typ-2-Diabetes: Bedeutung des betriebsärztlichen Dienstes am Beispiel von DaimlerChrysler

* Mayer D.⁽¹⁾, Beck M.⁽¹⁾, Schultheiß K.⁽¹⁾, Häring H.⁽²⁾, Matthaei S.⁽³⁾

⁽¹⁾DaimlerChrysler AG Sindelfingen, Betriebsärztlicher Dienst, Sindelfingen, ⁽²⁾Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik IV und Poliklinik, Tübingen, ⁽³⁾Christliches Krankenhaus, Diabetes-Zentrum, Quakenbrück

Fragestellung: Ziel dieses arbeitsmedizinischen Projektes war es, in Kooperation des betriebsärztlichen Dienstes mit der DaimlerChrysler(DC)-BKK und unter wissenschaftlicher Betreuung, die Mitarbeiter (M) des DC-Werkes Sindelfingen (ca. 41.000) systematisch und umfassend über die Risiken des Typ-2-Diabetes (T2D) aufzuklären, sowie die Prävention und Frühdiagnose von T2D und eingeschränkter Nüchtern glukose (IFG) zu ermöglichen.

Material und Methoden: DC M wurden unter dem Motto ‚T2D erkennen und richtig behandeln‘ über die Werkszeitung, das DC-Intranet, die Regelkommunikation und den Betriebsrat systematisch über T2D informiert. Teilnahme an Untersuchung (Anamnese (Alter, BMI, familiäres Vorkommen von T2D, HLP?, art. Hypertonus?) und Bestimmung des Nüchtern-BZ (NBZ) (Accu-Check Glukosesensor®, Roche Diagnostik) wurde angeboten, kostenlos während Arbeitszeit. Begleitend fanden in allen Betriebsrestaurants Aktionstage ‚Gesunde Mittelmeerkost‘ statt, der DC-Konzernsport vermittelte den positiven Effekt von Bewegung auf die Entwicklung des T2D.

Ergebnisse: 834 M beteiligten sich an dem Projekt; (Mittelwerte \pm SD) Alter: 41 Jahre $\pm 10,1$, 91 % Männer, 9 % Frauen, BMI $26,0 \text{ kg/m}^2 \pm 3,9$, positive T2D Familienanamnese bei 30 %. NBZ (mg/dl): ≤ 95 bei 511 M (61 %); 95–110 bei 247 M (30 %); 110–126 (IFG) bei 57 M (6,8 %); ≥ 126 (T2D) bei 19 M (2,3 %). BMI bei IFG: $28,8 \pm 4,7 \text{ kg/m}^2$; BMI bei neuentdecktem T2D: $30,8 \pm 5,5 \text{ kg/m}^2$.

Schlussfolgerung: In dem untersuchten, relativ jungen Kollektiv konnten bei ca. 40 % NBZ von ≥ 95 mg/dl festgestellt werden, wobei die NBZ eher als falsch niedrig zu beurteilen sind, da die M vor der Messung bereits aktiv waren. Die Ergebnisse dieses Projektes, welches nun konzernweit an allen DC-Standorten durchgeführt wird, zeigen, dass die problemorientierte betriebsärztliche Versorgung ein großes Potenzial zur Identifikation von Menschen mit grenzgradig erhöhtem NBZ, IFG und ‚frühen‘ Phasen des T2D hat. Die prospektive Beobachtung der M wird Aussagen hinsichtlich der Effektivität der o. g. Maßnahmen ermöglichen.

V-9

Verlauf depressiver Symptome bei Typ-2-Diabetes mellitus

* Hermanns N.⁽¹⁾, Kulzer B.⁽²⁾, Reinecker H.⁽³⁾, Kubiak T.⁽¹⁾, Haak T.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Mergentheim (FIDAM), Bad Mergentheim, ⁽²⁾ Diabetes-Zentrum Mergentheim, Bad Mergentheim, ⁽³⁾ Universität Bamberg, Klinische Psychologie, Bamberg

Einleitung: In einer prospektiven Studie mit 15-monatigem follow-up-Zeitraum wurde der Verlauf der Depression und mögliche Prädiktoren dieses Verlaufes bei Typ-2-Diabetikern untersucht.

Methodik: Zu Beginn und am Ende dieses Zeitraumes bearbeiteten 177 Patienten (HbA_{1c} 7.8 ± 1.6 %; Alter 55.5 ± 6.5 J.; 50.6 % weiblich, BMI 32.2 ± 3.8 kg/m²) einen Depressionsfragebogen (Zerrsen Depression Skala). Patienten mit einem Depressionsscore von > 10 wurden als depressiv eingestuft.

Ergebnisse: Zu Beginn zeigte sich bei 54 Patienten (30.5 %) ein erhöhter Depressionsscore. Nach 15 Monaten verbesserten sich 28 von diesen Patienten (15.8 %) und erreichten einen unauffälligen Score, während 26 Patienten (14.7 %) erneut einen erhöhten Score aufwiesen. Bei 9, initial asymptomatischen, Patienten wurde beim follow-up erstmals ein erhöhter Score festgestellt (Inzidenz 5,1 %). In einer logistischen Regressionsanalyse differenzierte weibliches Geschlecht (OR 4.9 CI 1.7–14.0), Anzahl von Spätkomplikationen (OR 1.9 CI 1.1–3.6) und Gewichtsverlust (OR 1.4 CI 1.0–2.1) signifikant zwischen den Patienten mit persistierender Depressionssymptomatik und denen mit einem unauffälligen Score zu beiden Messzeitpunkten. In einer zweiten logistischen Regression differenzierte nur die Anzahl der Folgekomplikationen (OR 4.8 CI 1.7–13.3) signifikant zwischen Patienten, bei denen die depressive Symptomatik persistierte, von denen mit einer Remission der depressiven Symptomatik.

Schlussfolgerung: Nach Teilnahme an einem Schulungsprogramm verbesserten sich die Depressionswerte bei der Mehrzahl der initial als depressiv eingestuften Diabetiker. Folgekomplikationen scheinen die Remission depressiver Symptome zu verhindern. Angesichts der häufig anzutreffenden Multimorbidität dieser Patientengruppe sollte der Umgang mit Folgekomplikationen ein integraler Bestandteil von Schulungsprogrammen sein. Ein größerer Gewichtsverlust ging eher mit einem Persistieren depressiver Symptome einher, so dass vermutet werden kann, dass eine Veränderung der Ernährungsgewohnheiten von vielen als belastend erlebt wird.

V-10

Evaluation der Ergebnisqualität von 24 Schulungszentren für Typ-1-Diabetes durch die Arbeitsgemeinschaft für strukturierte Diabetestherapie (ASD) in 2003

* Sämman A.⁽¹⁾, Kloos C.⁽¹⁾, Femerling M.⁽²⁾, Risse A.⁽³⁾, Müller U. A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Innere Medizin III, FSU Jena, Diabetologie, Jena, ⁽²⁾ Kreiskrankenhaus, Innere Medizin, Eckemförde, ⁽³⁾ Krankenhaus Dortmund Nord, Innere Medizin, Diabetologie, Dortmund

Fragestellung: Aufgabe der ASD ist die Durchführung einer kontinuierlichen Evaluation von Ergebnis-, Struktur- und Prozessqualität der strukturierten Schulung und Behandlung von Patienten mit Typ-1- und Typ-2-Diabetes in Deutschland. Vorgestellt

werden die Ergebnisse der Evaluationen für Typ-1-Diabetes in 2003.

Material und Methoden: Evaluation der Ergebnisqualität durch Nachuntersuchung einer zufällig gezogenen Patientenstichprobe ($n = 30$ pro Zentrum) aller geschulten Patienten mit Typ-1-Diabetes. Erhebung von: Alter, Diabetesdauer, HbA_{1c} , Anzahl von schweren Hypoglykämien, Ketoazidosen sowie Hospitalisationstagen pro Patientenjahr innerhalb von 12 Monaten vor Schulung sowie zu Nachuntersuchung (Zeitraum von 12 bis 15 Monaten nach Schulung). Adjustierung der HbA_{1c} -Werte auf den DCCT-Referenzbereich.

Ergebnisse: 24 Evaluationen wurden präsentiert (993 Patienten): mittleres Lebensalter 39,8 Jahre, mittlere Diabetesdauer 14,4 Jahre. Verringerung mittleres HbA_{1c} von 7,75 % (Schulung) auf 7,15 % (Nachuntersuchung; $p < 0,0001$), Reduktion schwerer Hypoglykämien von 0,29 auf 0,09 Ereignisse pro Patientenjahr ($p < 0,0001$), Reduktion von schweren Ketoazidosen von 0,09 auf 0,03 pro Patientenjahr ($p < 0,0001$), Reduktion der Hospitalisationstage von 4,1 auf 2,3 Tage pro Patientenjahr. Auswertung nach vermutetem Therapieziel: 388 Patienten hatten vor Schulung ein HbA_{1c} -Wert unter 7,0 %. Hier bestand das unterstellte Interventionsziel in der Verringerung schwerer Hypoglykämien: mittleres HbA_{1c} vor Schulung: 6,2 %, bei Nachuntersuchung: 6,5 %, Reduktion schwerer Hypoglykämien von 0,4 auf 0,11 Ereignisse pro Patientenjahr ($p < 0,0001$).

Schlussfolgerung: Durch systematische Nachuntersuchung der betreuten Patienten konnten 24 Schulungszentren für Typ-1-Diabetes die Verbesserungen von klinisch relevanten Parametern der Stoffwechsellkontrolle durch strukturierte Patientenschulung nachweisen.

V-11

Entwicklung und erste Validierung einer Screeninginstrumente zur Erfassung des kognitiven Leistungsfähigkeit von Typ-2-Diabetespatienten im höheren Lebensalter

* Rittmeier H.⁽¹⁾, Kubiak T.⁽²⁾, Kulzer B.⁽³⁾, Hermanns N.⁽²⁾, Haak T.⁽²⁾

⁽¹⁾ Universität Konstanz, Fachbereich Psychologie, Konstanz, ⁽²⁾ Diabetes Zentrum Mergentheim, Forschungsinstitut der Diabetes-Akademie, Bad Mergentheim,

⁽³⁾ Diabetes Zentrum Mergentheim, Diabetesambulanz, Bad Mergentheim

Fragestellung: Typ-2-Diabetespatienten haben aufgrund diabetesspezifischer und -unspezifischer (z. B. Alter) Faktoren ein erhöhtes Risiko für kognitive Abbauprozesse. Da je nach Therapie unterschiedliche Anforderungen an die kognitive Leistungsfähigkeit der Patienten gestellt werden, ist die Identifikation von Patienten mit reduzierter Leistungsfähigkeit klinisch bedeutsam. Screeninginstrumente Geriatrie/Neurologie sind nur bedingt für eine breitere Anwendung geeignet, da sie von Patienten oft nicht akzeptiert oder als diskriminierend empfunden werden.

Material und Methoden: Ein Screeninginstrument zur Erhebung therapierelevanter Leistungsbereiche wurde nach folgenden Zielvorgaben entwickelt: (1) Ökonomie; (2) Akzeptanz/Diabetesbezug. Es umfasst 5 Subtests: (1) Handlungssequenzierung; (2) Arithmetik; (3) Interpretation von Blutzuckerprotokollen; (5) Gedächtnis; (6) Konzentration. An einem klinischen Kollektiv älterer Typ-2-Diabetespatienten ($n = 84$, Alter 67.9 ± 5.6 J.; Diabetesdauer 15.1 ± 9.8 J.; HbA_{1c} 8.5 ± 1.4 %) wurde das Instru-

ment auf Reliabilität und Validität geprüft. Als Referenzverfahren wurden der HAWIE-R und das Demenzscreening DemTect vorgegeben.

Ergebnisse: Auf Einzelitem- und Subtestebene ergeben sich befriedigende bis gute Trennschärfen. Die internen Konsistenzen der Subtests liegen zwischen $\alpha=0.66$ und $\alpha=0.81$ (Cronbach), die Reliabilitäten (Spearman-Brown) zwischen $r=.65$ und $r=.92$. Das Gesamtinstrument ist reliabel und intern konsistent ($\alpha=.87$; $r=.94$). Die Gesamtscores sind annähernd normalverteilt (Kolmogorov-Smirnov-Test $p=.307$). Signifikante Korrelationen mit HAWIE-R und DemTect sind beobachtbar ($r=.68$ bzw. $r=.55$).

Schlussfolgerung: Mit dem entwickelten Instrument steht ein psychometrisch fundiertes Screening für den breiteren klinischen Einsatz zur Verfügung, das eine Identifikation von Patienten mit reduzierter kognitiver Leistungsfähigkeit mit guter klinischer Genauigkeit erlaubt.

V-12

Die Behandlungszufriedenheit von insulinbehandelten Patienten mit Diabetes mellitus – Eine Analyse von Abhängigkeit und Einflussfaktoren

* Schiel R.⁽¹⁾, Braun A.⁽²⁾, Stein G.⁽²⁾, Müller U. A.⁽²⁾

⁽¹⁾ Inselklinik Heringsdorf, Seebad Heringsdorf, Friedrich-Schiller-Universität, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽²⁾ Friedrich-Schiller-Universität, Klinik für Innere Medizin III, Jena

Fragestellung: Bisher ist unklar, welche Faktoren die Behandlungszufriedenheit (BHZ) bei Diabetes (D. m.) beeinflussen: Die Stoffwechseleinstellung, die Behandlungsstrategie oder Folgekrankheiten?

Material und Methoden: Die BHZ wurde bei 338 insulinbehandelten Pat. (Typ-1/-2 191/147) mit einem standard. Fragebogen nach Bradley et al. untersucht. Weiter wurden Stoffwechseleinstellung (HbA_{1c}, mittl. NW 5,15 %), Behandlungsstrategie (Insulinth., Insulindosisanpassung, Selbstkontrollen) und Folgekrankh. erfasst. Es erfolgten Subanalysen: 90 % aller Pat. zw. 16–60 J., Wohnsitz in Jena (Typ-1/-2 113/98), wurden analysiert, alle Pat. mit Typ-1-D. m. (n=45), die 1990 an einem Behandlungs- und Schulungsprogramm für intens. Insulintherapie teilgenommen hatten, alle Pat. mit Typ-1 (n=33), die 1989–1996 ständig am Zentrum mit Insulinpumpe betreut wurden, und 49 Patienten mit Typ-2-D. m., die an einer random. Studie zum Vergleich der Therapie mit dem langwirksamen Insulinanalogon (Glargin) vs. konventioneller Insulintherapie teilgenommen hatten.

Ergebnisse: Weder in der Gesamtgruppe noch in den Subgruppen bestanden Korrelationen oder Assoziationen (multivariate Analyse) zur Stoffwechseleinstellung oder Therapie. In der Populationsuntersuchung aller Pat. mit D. m. und Wohnsitz in Jena hatten Pat. mit Typ-1 (Alter $40,4 \pm 12,2$ J., HbA_{1c} $8,4 \pm 1,8$ %) und peripherer Polyneuropathie eine geringere BHZ. Bei Pat. mit Typ-2 (Alter $53,2 \pm 6,4$ J., HbA_{1c} $9,1 \pm 1,9$ %) bestand kein Unterschied. Kein Unterschied bestand bei Pat. mit Typ-2 und konvent. (n=65, $33,6 \pm 8,7$) vs. intens. Insulinth. (n=33, $33,6 \pm 7,8$ Pkte, $p=0,75$). Pat. mit Typ-1 und Insulinpumpe (n=33, Alter $36,7 \pm 11,7$ J., HbA_{1c} $7,4 \pm 1,08$ %, BHZ $32,8 \pm 5,9$ Pkte) hatten, verglichen mit matched-pairs mit intensivierter Insulintherapie, eine höhere BHZ ($29,8 \pm 5,2$ Pkte, $p=0,04$).

Schlussfolgerung: Bei insulinbehandelten Patienten mit D. m. ist die BHZ unabhängig von der Stoffwechseleinstellung. Die BHZ bei Typ-2 und konvent. oder intens. Insulinth. oder Th. mit langwirksamen Insulinanaloga ist vergleichbar. Pat. mit Insulinpumpe haben eine höhere BHZ. Schmerzhafte Folgekrankh. beeinträchtigen die BHZ.

Pädiatrie

V-13

Bessere gesundheitsbezogene Lebensqualität (LQ) bei Kindern und Jugendlichen mit Typ-1-Diabetes nach standardisierter strukturierter Schulung und Behandlung

* Wagner V.⁽¹⁾, Müller-Godefroy E.⁽¹⁾, v Sengbusch S.⁽¹⁾, Lingelbach C.⁽¹⁾, Thyen U.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Lübeck

Fragestellung: Optimale LQ und Funktionsfähigkeit im Alltag sind unbestrittene Ziele der Diabetestherapie. Hierbei ist die gesundheitsbezogene LQ ein anerkannter Evaluationsparameter. Welchen Einfluss hat die standardisierte strukturierte Schulung und Behandlung durch die Mobile Diabetes Schulung Schleswig-Holstein (MDSH) auf die generische und krankheitsspezifische LQ bei Kindern und Jugendlichen?

Material und Methoden: 110 Kinder (8–12 Jahre) und Jugendliche (13–16 Jahre) aus 6 Kinderkliniken berichteten zur gesundheitsbezogenen LQ. Es wurde die generische und krankheitsspezifische LQ mit dem modularen Instrument KINDL-R bei der Aufnahme zur Schulung (t0), 6 Wochen (t1) und sechs Monate (t2) nach Schulungsende erfasst. Gleichzeitig wurden klinische, soziodemographische Parameter, die familiäre Belastung und die Selbständigkeit bestimmt.

Ergebnisse: Die Interventionsmaßnahme hatte bei Kindern/Jugendlichen einen positiven Effekt auf das Selbstwertgefühl bei t1 und t2 ($p < 0,01$), ebenso wurde die diabetesspezifische LQ bei t1 ($p < 0,05$) und t2 ($p < 0,01$) höher bewertet. Während die Lebensqualität insgesamt und die Bereiche Selbstwert und Schule von den Kindern vor Schulung im Vergleich zu gleichaltrig Gesunden niedriger bewertet wurden ($p < 0,05$), fanden sich nach Schulung (t2) keine Unterschiede gegenüber Normdaten. Persönliche/familiäre Einschränkungen korrelierten negativ mit der generischen ($p < 0,05$) und der diabetesspezifischen ($p < 0,05$) LQ. Eine positive Assoziation fand sich zwischen der Zufriedenheit der Aufgabenverteilung Eltern/Kind und der diabetesspezifischen LQ ($p < 0,01$).

Schlussfolgerung: Standardisierte, strukturierte Schulungs- und Behandlungsmaßnahmen beeinflussten kurz- und langfristig die gesundheitsbezogene LQ positiv. Das krankheitsspezifische Instrument ist zur Evaluation von Interventionsmaßnahmen geeignet, die Bestimmung der generischen LQ erlaubt den Vergleich zu gesunden Peers. Die Instrumente sind auch im jungen Schulalter einsetzbar.

V-14

Longitudinale Verbesserung von HbA_{1c} und Hypoglykämierate mit zunehmender Einführung intensivierter Therapieverfahren in einem pädiatrischen Behandlungszentrum (1994–2002)

* von Schütz W.⁽¹⁾, Lange K.⁽²⁾, Danne T.⁽¹⁾, Hürter P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Kinderkrankenhaus auf der Bult, Diabetes-Zentrum für Kinder und Jugendliche, Hannover, ⁽²⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Medizinische Psychologie, Hannover

Die ICT und die CSII setzen sich auch in der Pädiatrie als Therapien der Wahl durch. Allerdings gibt es Berichte über einen fehlenden Effekt einer Umstellung von KT auf ICT hinsichtlich der Stoffwechselkontrolle. Während 1986 noch 91 % der pädiatrischen Patienten mit KT behandelt wurden, war dieser Anteil 1994 bereits auf 32 % gesunken. Wir untersuchten den Effekt der ICT auf die Langzeitstoffwechselkontrolle bei einem Kollektiv, das von Anfang an überwiegend mit ICT behandelt wurde.

Der überwiegende Teil der Patienten aus der Region werden in unserem Behandlungszentrum betreut (mittlerer Abstand vom Zentrum zum Wohnort: 26.6 km). 1994 lag der mittlere HbA_{1c} bei 518 Patienten (53 % männlich, Durchschnittsalter 14,3 J., Diabetesdauer 6,2 J.) bei 8,4 %. Die Rate schwerer Hypoglykämien (Koma/Krampfanfall) betrug 8,8 (pro 100 Patienten-J.). Im Jahr 2002 (53 % männl., Durchschnittsalter 13,0 J.; Diab.Dauer 5,3 J.) war der Anteil von mit ICT behandelten Patienten auf über 95 % gestiegen. Trotz einer kontinuierlichen Verbesserung des HbA_{1c} kam es gleichzeitig zu einer Verringerung der Rate schwerer Hypoglykämien (Jahr:Zahl der Patienten/Hypoglykämien pro 100 Patientenjahre/mittleres HbA_{1c} (%)): 1995:527/8,2/8,6; 1996:512/16,4/8,0; 1997:473/15,0/7,8; 1998:454/14,2/7,8; 1999:458/5,7/7,7; 2000:468/10,1/7,9; 2001:453/6,4/7,8; 2002:469/3,7/7,6. Der Anteil der Patienten mit einem HbA_{1c} im guten Bereich ($< 7,5$ %) nahm ebenfalls von 22,6 % (1994) auf 43,1 % (2002) stetig zu. Die niedrigste Rate schwerer Hypoglykämien weisen Patienten mit CSII auf (2002: $n = 71$, 1,6 pro 100 Patientenj., HbA_{1c}: 7.9 %).

Eine Behandlung mit intensivierten Therapieverfahren bei Kindern und Jugendlichen mit Typ-1-Diabetes von Anfang an in einem anerkannten pädiatrisch-diabetologischen Zentrum führte in der letzten Dekade zu einer signifikanten Verbesserung der langfristigen Stoffwechsellage mit gleichzeitiger Senkung der Inzidenz schwerer Hypoglykämien.

V-15

Diabetes mellitus bei Trisomie 21: Häufige Form des Typ-3-Diabetes bei jungen Diabetespatienten

* Thon A.⁽¹⁾, Holl R.⁽²⁾, Schober E.⁽³⁾, Zimmermann J.⁽⁴⁾, Krause U.⁽²⁾, DPV-Wiss.⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Medizinische Hochschule, Kinderklinik, Hannover, ⁽²⁾ Universität Ulm, ZI Biomedizinische Technik, Ulm, ⁽³⁾ Universität Wien, Kinderklinik, Wien, ⁽⁴⁾ AK Celle, Kinderklinik, Celle, ⁽⁵⁾ Initiative, DPV-Wiss.

Fragestellung: Identifizierung und Charakterisierung von Nicht-Typ 1-Diabetespatienten, die aufgrund verbesserter Überlebenszeiten chronisch kranker Kinder zunehmen.

Material und Methoden: Die multizentrische Datenbank DPV-Wiss (Stand: 10/2003) erfasst 38 561 Diabetespatienten aus 171 überwiegend pädiatrischen Zentren und erlaubt die Auswertung anonymisierter Verlaufsdaten.

Ergebnisse: Bei den unter 20-Jährigen wurden 22 875 Patienten (97,2 %) mit Typ-1-Diabetes diagnostiziert, 191 Patienten (0,8 %) mit Typ 2, 543 Patienten (2,3 %) als ‚sonstige spezifische Diabetesformen‘ (Typ 3). Nach dem CF-assoziierten Diabetes (n = 86) stellt der Diabetes bei Trisomie 21 mit 58 Patienten die größte Gruppe in dieser Altersklasse, gefolgt von Patienten mit MODY-Diabetes (n = 45).

Mädchen sind bei Trisomie 21 signifikant häufiger betroffen (60 %) als beim Typ-1-DM (48 %; $p < 0,0001$). Patienten mit Trisomie 21 erkrankten früher (mittleres Manifestationsalter 6,9 Jahre gegenüber 10,1 Jahre beim Typ 1 DM; $p < 0,001$). Basierend auf den Normalwerten der AGA waren Patienten mit Trisomie 21 signifikant kleiner (SDS Größe: $-2,83 \pm 0,17$) als Typ 1-Patienten (SDS Größe: $-0,09 \pm 0,01$; $p < 0,0001$). Es bestand kein Unterschied im BMI, beide Gruppen sind im Vergleich zur Normalbevölkerung übergewichtig (Trisomie 21: BMI-SDS: $+0,62 \pm 0,19$; Typ-1-DM: BMI-SDS: $+0,36 \pm 0,01$). Die mittlere Insulindosis/kg KG betrug bei den Trisomie-Patienten $0,80 \pm 0,04$ IE/Tag und unterschied sich nicht von den Typ-1-Patienten ($0,82 \pm 0,01$ IE/kg KG). Die erreichte Stoffwechseleinstellung war bei den Patienten mit Trisomie 21 tendenziell besser (HbA_{1c} : $7,8 \pm 0,18$ %) als bei Patienten mit Typ-1-DM (HbA_{1c} : $8,2 \pm 0,01$ %).

Schlussfolgerung: Der Diabetes bei Trisomie 21 ist nach dem CF-assoz. Diabetes die zweithäufigste Form des Typ-3-Diabetes in pädiatrischen Diabeteszentren. Jüngeres Manifestationsalter und Mädchenwendigkeit unterscheidet diese Gruppe vom Typ-1-Diabetes. Trotz des intellektuellen Handicaps erreichen diese Patienten tendenziell bessere HbA_{1c} -Werte als Patienten mit Typ-1-Diabetes.

V-16

Die Basalrate bei Insulinpumpentherapie (CSII) im Kindes- und Jugendalter – Ergebnisse der DPV-Wiss-Gruppe

* Bachran R.⁽¹⁾, Beyer P.⁽¹⁾, Heidtmann B.⁽²⁾, Klinkert C.⁽³⁾, Krause U.⁽⁴⁾, Holl R.⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Ev. Krankenhaus Oberhausen, Klinik für Kinder und Jugendliche, Oberhausen, ⁽²⁾ Kinderkrankenhaus Wilhelmstift, Hamburg, ⁽³⁾ Herz- und Diabeteszentrum, Bad Oeynhausen, ⁽⁴⁾ Zentralinstitut für Biomedizinische Technik, Ulm

Fragestellung: Die Continuierliche Subcutane Insulininjektion (CSII) hat bei der Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit Typ-1-Diabetes in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Bei

dieser Insulinsubstitution kommt der Basalrate eine grundlegende Bedeutung zu.

Material und Methoden: Aus den im DPV-Wiss-Projekt gesammelten Daten (Stand Okt.2003) wurden wichtige Einflussfaktoren untersucht, die für die Ermittlung der Basalrate wichtig sind. Aus 3287 Datensätzen konnten 977 Patienten mit CSII ausgewertet werden. Wir bildeten 4 Altersgruppen: A: 0–5,9 Jahre (n = 59); B: 6–9,9 Jahre (n = 87); C: 10–14,9 Jahre (n = 396); D: 15–20 Jahre (n = 435). Wir verglichen die Basalrate von 872 Patienten zum Zeitpunkt der Therapieumstellung (T1) und im Verlauf (T2).

Ergebnisse: Einen hoch signifikanten Einfluss auf die gewichtsbezogene Basalrate (gBasRat) [IE/KgKG] fanden wir für Alter, Diabetesdauer und korrigiertes HbA_{1c} (jeweils $p \leq 0,0001$). Die Insulinart (Analog-vs. Normalinsulin) hatte einen ‚leichten‘ Einfluss auf die Insulinmenge ($p < 0,05$). Keinen Zusammenhang fanden wir für Geschlecht und Body-Mass-Index (BMI). Altersgruppe A: 72 % Analoginsulin, Median der gBasRat 0,21 IE/KgKG. Gruppe B: 65 % Analoginsulin, Median der gBasRat 0,31 IE/KgKG. Gruppe C: 67 % Analoginsulin, Median der gBasRat 0,42 IE/KgKG. Gruppe D: 70 % Analoginsulin, Median der gBasRat 0,41 IE/KgKG. Die prozentuale Verteilung der Basalrate auf 24 Stunden zeigt bei jüngeren Kindern ein Maximum um 21:00 Uhr und einen Peak zwischen 4 und 9 Uhr. Je älter die Patienten, desto mehr verändert sich die Verteilung zum bekannten Muster nach Renner mit dem Maximum zwischen 5 und 6 Uhr und einem Peak zwischen 17 und 18 Uhr. Die initiale Basalrate T1 ist im Vergleich zu T2 (mittlerer Abstand ca. 1 Jahr) unwesentlich höher. Die Basalrate bei Normalinsulin hat im Vergleich zum Analoginsulin höhere Maxima und niedrigere Minima.

Schlussfolgerung: Bei den durch CSII substituierten diabetischen Kindern und Jugendlichen kommt in 2/3 der Fälle ein Analoginsulin zum Einsatz. Die gewichtsbezogene Basalrate ist altersabhängig und steigt von 0,21 IE/KgKG auf 0,41 IE/KgKG an.

V-17

Was essen übergewichtige Erstklässler?

* Haas G.⁽¹⁾, Liepold E.⁽²⁾, Schwandt P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Arteriosklerose-Präventions-Institut, München, ⁽²⁾ Arteriosklerose-Präventions-Institut, Nürnberg

Übergewicht und Adipositas im Kindesalter nehmen weltweit rapide zu und damit auch das Risiko für Typ II Diabetes und kardiovaskuläre Erkrankungen (Ebbeling et al. 2002), so dass so früh wie möglich dagegen vorgegangen werden muss. Dabei spielt das Umfeld – also für Erstklässler die Familie mit ihren Ernährungsgewohnheiten – eine wichtige Rolle.

Fragestellung: Wir haben im Rahmen von PEP (Präventions-Erziehungs-Programm für die ganze Familie) beim 9. Survey bei Erstklässlern die Frage nach dem Zusammenhang zwischen der Prävalenz von Übergewicht und Adipositas und der Ernährung gestellt.

Material und Methoden: Bei 291 Kindern der 1. Grundschulklasse (Alter 6 bis 8 Jahre) haben wir Übergewicht als BMI ≥ 90 . Percentile und Adipositas als ≥ 97 . Percentile nach Cole definiert.

Die Kalorien- und Nährstoff-Zufuhr wurden aus dem von den Eltern geführten 7-Tage-Ernährungsprotokoll nach PRODI4.6 errechnet.

Ergebnisse: Von den 108 Mädchen waren 12 % übergewichtig und 13 % adipös. Bei den 88 Buben hatten 9 % Übergewicht und 11 % waren adipös.

Die gesamte Energiezufuhr betrug bei den adipösen Mädchen gegenüber normgewichtigen +8 % und bei den adipösen Buben +18 %. Diese vermehrte Kalorienaufnahme war zurückzuführen auf +12 % Fett, vor allem aber auf +23 % Kohlenhydrate und davon wieder +41 % Monosaccharide. Die entsprechenden Zahlen bei den adipösen Mädchen waren: Fett +11 %, Kohlenhydrate +11 % und Monosaccharide +39 %.

Im Gegensatz zu den übergewichtigen Mädchen (+12 %) gegenüber Normgewichtigen konsumierten die übergewichtigen Buben 40 % mehr Monosaccharide.

Schlussfolgerung: Gut ein Zehntel der Erstklässler ist adipös, was offenbar auf einen stark erhöhten Monosaccharidkonsum zurückzuführen ist verbunden mit einer gegenüber normgewichtigen Kindern um rund 10 % höheren Fettzufuhr. Die übergewichtigen Buben konsumieren deutlich mehr Monosaccharide als die übergewichtigen Mädchen.

V-18

Autoantikörperscreening und Typ-1-Diabetesrisiko in einer gesunden Schulkinderpopulation – Die Karlsruher Typ-1-Diabetesrisikostudie

* Schlosser M.⁽¹⁾, Strelow M.⁽²⁾, Rjasanowski I.⁽³⁾, Kerner W.⁽³⁾, Waßmuth R.⁽⁴⁾, Ziegler M.⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald, Institut für Pathophysiologie, Karlsburg, ⁽²⁾ L-A-D GmbH, Karlsburg, ⁽³⁾ Klinikum Karlsburg, Klinik für Diabetes und Stoffwechselerkrankungen, Karlsburg, ⁽⁴⁾ Universitätsklinikum Düsseldorf, Institut für Transplantationsdiagnostik und Zelltherapeutika, Düsseldorf, ⁽⁵⁾ Institut für Diabetes, Gerhardt Katsch' e. V., Karlsburg

Fragestellung: Der Typ-1-Diabetes (T1D) ist Resultat einer spezifischen Destruktion der Betazellen, die durch Autoantikörper (AAk) gegen Betazellantigene angezeigt wird. Ziel der Studie

war es, eine Screeningstrategie zur Identifizierung von Risikoprobanden aus der gesunden Allgemeinbevölkerung zu entwickeln.

Material und Methoden: In den Jahren 1995–1996 und 1998–1999 wurden 14.742 Schulkinder ohne Diabetesheredität im Alter von 6–17 Jahren (mittleres Alter 11 ± 3 Jahre) auf AAK gegen GAD65 (GADA), Proteintyrosinphosphatase (IA-2A), Insulin (IAA) mittels Radio-Ligandenbindungsassays ≥ 98 . Perzentile und gegen inselzellzytoplasmatische Antigene (ICA) ≥ 10 JDFU getestet.

Ergebnisse: Von 11.840 Schülern konnten alle vier AAK bestimmt werden, 821 (6,9 %) hatten singuläre und 83 (0,7 %) hatten multiple AAK. Wenn im Primärscreening auf GADA/IA-2A/IAA getestet wird, wären 94 % der Schüler mit singulären und alle mit multiplen AAK identifiziert worden. Von den Schülern mit multiplen AAK würden 97,6 % durch die Kombination GADA/IA-2A, 98,8 % durch GADA/IAA und 85,5 % durch IA-2A/IAA identifiziert werden. Zur Nachuntersuchung erschienen 600 der ursprünglich 904 AAK-positiven Schüler, die eine Gesamtpopulation von 7.858 Schülern repräsentieren. Insgesamt 181 Schüler (2,8 %) hatten singuläre, 41 (0,5 %) hatten multiple AAK ≥ 99 . Perzentile und/oder ICA ≥ 20 JDFU. Im Rahmen des Follow-up dieser Studie (Median: 94,5 Monate) sind 14 Schüler an einem T1D erkrankt (Median des Manifestationsalters: 12,5 Jahre). Zwölf Probanden hatten multiple AAK, zwei hatten singuläre AAK. Weiterhin hatten dreizehn Probanden mindestens ein diabetes-assoziiertes HLA-DQB1 oder DRB1-Allel bei Abwesenheit des protektiven Allels. Das kumulative Risiko, innerhalb von 5 Jahren an einem T1D zu erkranken, beträgt 40,9 % bei Probanden mit 3 oder 4 AAK, 15,8 % bei denen mit 2 AAK und 1,1 % bei Schülern mit singulären AAK.

Schlussfolgerung: Ein kombiniertes AAK-Screening GADA/IAA oder GADA/IA-2A identifiziert 98 % der Probanden mit multiplen AAK, deren Risiko vergleichbar ist mit dem von erstgradig Verwandten von Patienten mit T1D.

Immunologie

V-19

Manifestation des immunologisch bedingten Diabetes mellitus im Erwachsenenalter (Typ 1-DM/LADA): Ergebnisse der ADBW-End-1-Studie

* Holl R.⁽¹⁾, Böhm B.⁽²⁾, Beischer W.⁽³⁾, Busch P.⁽⁴⁾, Born B.⁽⁵⁾, Haak T.⁽⁶⁾, ADBW-End-1-Studiengruppe⁽⁷⁾

⁽¹⁾ Universität Ulm, ZIBMT, Ulm, ⁽²⁾ Universität Ulm, Innere Medizin I, Ulm, ⁽³⁾ Bürgerhospital, Innere Medizin III, Stuttgart, ⁽⁴⁾ SLK-Klinikum, Innere Medizin, Heilbronn, ⁽⁵⁾ Klinikum Reutlingen, Innere Medizin, Reutlingen, ⁽⁶⁾ Diabetesklinik, Bad Mergentheim, ⁽⁷⁾ Deutschland

Fragestellung: Bisher gibt es kaum populationsbezogene Daten zur Manifestation des Typ-1-DM/LADA bei Erwachsenen. In Baden-Württemberg wird durch die DDG-Regionalgruppe (ADBW) eine standardisierte Dokumentation und zentralisierte Bestimmung von β -Zell-AK bei Erwachsenen mit Verdacht auf autoimmunologischen Diabetes durchgeführt.

Material und Methoden: Ende 2003 waren 189 Patienten erfasst (mittl. Alter 39,5 Jahre [15–90,25]) aus 48 Kliniken und Praxen. AK-Befunde von 102 Patienten liegen vor.

Ergebnisse: Bei 52 Patienten konnte ein Typ-1- bzw. LADA-Diabetes gesichert werden: ICA-AK bei 59,2 % der Patienten, GAD-AK bei 86,5 %, IA2-AK bei 48,1 %. 50 Patienten ohne Antikörper wurden, da sekundäre Diabetesformen anamnestisch ausgeschlossen waren, als nicht-immunologischer Typ 1B/Typ-2 klassifiziert. Patienten mit gesichertem Typ-1/LADA-Diabetes waren signifikant jünger (Mittel 38,5 Jahre, Bereich 16 bis 89!) als Patienten mit Typ-2-Diabetes (Mittel 45,9 Jahre; $p < 0,005$). 19 Patienten mit gesichertem autoimmunologischem Diabetes (37 %) waren bei Diagnose älter als 40 Jahre. 78 % der nicht-immunologisch bedingten Patienten waren männlich verglichen mit 56 % der Typ-1/LADA-Patienten ($p < 0,02$). Der Body-Mass-Index lag bei nicht-immunologischen/Typ-2-Patienten mit $25,7 \text{ kg/m}^2$ (Bereich: 18,4–42,3) erwartungsgemäß höher als bei Typ-1/LADA ($22,3 \text{ kg/m}^2$, 16–29,7; $p < 0,0005$). Die Häufigkeit der klinischen Zeichen Hyperventilation, Exsiccose, Präkoma/Koma bei Manifestation unterschied sich nicht, ebenso wenig der Blutzucker bei Diagnose (400 versus 375 mg/dl) oder der HbA_{1c} -Wert (10,9 versus 11,2 %). Weder das Auftreten eines Typ-1-Diabetes (8 % versus 4 %) noch die familiäre Belastung mit Typ-2-Diabetes (34 % versus 19 %) unterschieden sich zwischen den beiden Patientengruppen.

Schlussfolgerung: Die Diagnose „Typ-1/LADA“ bestätigt sich bei circa 50 % der neuerkrankten Erwachsenen, bei denen eine immunologische Ursache vermutet worden war. Klinisch können diese Patienten nicht von AK-negativen Patienten unterschieden werden. Für die definitive Zuordnung ist eine Verlaufsbeobachtung notwendig.

V-20

Preproinsulin ist ein wichtiges, aber kein essentielles Autoantigen in der Pathogenese des Typ-I-Diabetes der NOD Maus.

* Jaeckel E.⁽¹⁾, von Boehmer H.⁽²⁾

⁽¹⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Gastroenterologie & Endokrinologie, Hannover, ⁽²⁾ Dana Farber Cancer Institute, Cancer Immunology & AIDS, Boston, USA

Nach der bisherigen Hypothese der Immunpathogenese des Typ-I-Diabetes (DM) beginnt die Immunantwort fokussiert gegen essentielle Autoantigene. Wir konnten kürzlich zeigen, dass Glutamatdecarboxylase 65 (GAD), entgegen anders lautender Angaben, kein essentielles Autoantigen im DM der NOD Maus ist. Wir wollten deshalb nun untersuchen, ob adaptive Immunantworten gegen Preproinsulin (PPI) essentiell für die Entwicklung eines DM sind.

Methodik: Wir generierten Mäuse mit transgener Überexpression von PPI 2 unter einem hybriden Invariant Chain/MHC II Promotor auf dem NOD Hintergrund mit dem Ziel, eine rezessive Toleranz gegenüber PPI zu erreichen. Transgene Mäuse zeigten eine unveränderte metabolische Funktion und Inselstruktur.

Ergebnisse: Wir charakterisierten erstmals die MHC II-restringierte Immunantwort von NOD Mäusen gegenüber rekombinantem PPI 1 und 2. Die Epitope p9–23 und p49–66 wurden als dominante Epitope identifiziert und es bestand eine Kreuzreaktivität zwischen den p9–23 und p49–66 Epitopen von PPI 1 und 2. PPI-transgene Mäuse zeigten im Vergleich zu Kontrolltieren eine komplette Toleranz gegenüber allen PPI 1/2 Epitopen. Gleichzeitig konnten wir erstmals eine Toleranz der Insulinautoantikörperantwort in dem NOD Modell demonstrieren. Immunantworten gegenüber anderen β -Zell- und Kontrollantigenen waren in beiden Mausgruppen unverändert. Kokultur und Transferexperimente ergaben keinen Hinweis auf eine dominante Toleranz. PPI-transgene Mäuse zeigten eine verringerte Intensität an Insulitis und eine deutlich niedrigere Diabetesinzidenz (18 % vs. 88 % in Kontrollen).

Schlussfolgerung: Im Gegensatz zu GAD ist PPI ein wichtiges Autoantigen in der Immunpathogenese des DM. Da jedoch einige Mäuse trotz kompletter PPI-spezifischer Toleranz einen DM entwickeln, ist auch PPI kein essentielles Autoantigen. Unsere Arbeit stellt damit das bisherige Konzept der essentiellen Autoantigene in der Immunpathogenese des DM in Frage. Es könnte somit sein, dass die anti- β -Zell-Immunantworten a priori multispezifisch sind.

V-21

Antigenspezifische Foxp3 transduzierte T Zellen zur Therapie des Typ-1-Diabetes.* Jaeckel E.⁽¹⁾, Manns M.⁽¹⁾⁽¹⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Gastroenterologie & Endokrinologie, Hannover

CD4+CD25+ regulatorische T Zellen (Tregs) haben eine wichtige Bedeutung in der Kontrolle β -Zell-spezifischer Immunantworten in der NOD Maus. Der Transkriptionsfaktor Foxp3 ist spezifisch in Tregs exprimiert und die ektope Expression von Foxp3 in naiven T Zellen kann diese zu regulatorischen T Zellen instruieren. Ziel einer spezifischen Therapie des Typ I (DM) wäre die spezifische Kontrolle β -Zell-spezifischer Immunantworten ohne eine systemische Immunsuppression. Wir untersuchten deshalb, ob eine Therapie eines etablierten DM mit antigenspezifischen Tregs möglich ist.

Methodik: Naive polyklonale (A), GAD65 spezifische (B) und β -Zell-spezifische BDC2.5 transgene T Zellen (C), welche ein unbekanntes Inselzellantigen erkennen, wurden retroviral mit einem Foxp3-IRES-eGFP Konstrukt transduziert.

Ergebnisse: Foxp3 transduzierte Zellen gleich welcher Spezifität zeigten in vitro eine vermehrte IL10 Produktion und eine verminderte Proliferation. Sie waren in Kokultursversuchen in der Lage, naive polyklonale T Zellen zu inhibieren. Nach Markierung mit CFSE und Transfer in NOD Mäuse zeigten nur die BDC2.5 transgenen T-Zellen ein pankreasspezifisches Homing, Aktivierung und Proliferation in drainierenden pankreatischen Lymphknoten. 100 000 transduzierte Zellen wurden in Mäuse transferiert, welche in den letzten 5 Tagen diabetisch geworden waren. EGFP transduzierte Zellen jeder Spezifität und Foxp3 transduzierte A- oder B- spezifische Zellen hatten keinen Einfluss auf das weitere Krankheitsgeschehen. Foxp3 transduzierte BDC2.5 Zellen bewirkten jedoch nach einmaliger Gabe zunächst eine Stabilisierung und schließlich über 30–40 Tage eine Normalisierung der Blutzuckerspiegel für mindestens 100 Tage.

Schlussfolgerung: Eine sehr kleine Anzahl β -zell-spezifischer, Foxp3 transduzierter T Zellen ist in der Lage, den neu aufgetretenen DM der NOD Maus zu heilen. Diese Zellen könnten ein sehr großes therapeutisches Potential für die Therapie von Patienten mit dem Risiko zur Entwicklung eines DM, mit neu aufgetretenem DM und von Patienten nach Insel Tx besitzen.

V-22

Expression co-stimulatorischer Rezeptoren auf autoreaktiven T Zellen beim Typ-1-Diabetes* Rosinger S.⁽¹⁾, Endl J.⁽²⁾, Schwarz B.⁽²⁾, Schendl D.⁽³⁾, Böhm B.⁽¹⁾⁽¹⁾ Universitätsklinik Ulm, Innere Medizin I, Ulm, ⁽²⁾ Roche Diagnostics, Penzberg,⁽³⁾ Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Institut für Molekulare Immunologie, München

Typ-1-Diabetes (T1D) ist eine chronische Autoimmunerkrankung, bei deren Pathogenese autoreaktive T-Zellen eine Hauptrolle übernehmen. Generelle Charakteristika krankheitsassoziierter T-Zellen konnten noch nicht definiert werden. Um autoreaktive T-Zellen zu beschreiben, wurden phänotypische T-Zell-Merkmale von T1D-Patienten und Kontrollpersonen verglichen.

Hierzu wurden Lymphozyten von T1D-Patienten (N = 32), Prä-T1D-Probanden (N = 5), T2D-Patienten (N = 4) und HLA-identischen gesunden Kontrollpersonen (N = 21) für 5 Tage mit entweder Insulin, Proinsulin (PI) und Präproinsulin (PPI)-Peptiden oder Glutamatdecarboxylase (GAD)-Peptiden stimuliert.

Anschließend erfolgte die Analyse der Expression co-stimulatorischer Signale, u. a. CD134 und CD25, mittels eines FACS Assays. Durch Eingrenzung bestimmter Populationen wurden entweder naive oder memory T-Zellen untersucht. Die statistische Auswertung erfolgte mittels χ^2 -Test.

Die Analyse der T-Zellreaktivitäten gegen die Hauptautoantigene Proinsulin und GAD ergab einen hoch signifikanten Unterschied bezüglich der Co-Expression von CD25 und CD134 zwischen T1D-Patienten und Kontrollen ($p < 0,001$ für PI/PPI-Peptide; $p < 0,01$ für GAD-Peptide). Dabei war die Immunreaktion von T1D-Patienten, charakterisiert durch CD134+CD25+Co-Expression, gegen mehrere PPI-bzw. GAD-Peptide gerichtet. Am häufigsten wurde das B-Ketten-Peptid B16–32 erkannt (45 % der analysierten T1D-Patienten). Der Mangel an CD25+CD134+ doppelpositiven T-Zellen nach Stimulation mit den Autoantigenen bei gesunden Kontrollen war nicht auf einen generellen Defekt zurückzuführen. Nach Stimulation mit Tetanus Toxoid konnte bei T1D-Patienten und bei Kontrollen eine Hochregulierung der CD134+CD25+Co-Expression nachgewiesen werden.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass co-stimulatorische Signale bei der T1D-Pathogenese eine wichtige Rolle übernehmen. Des Weiteren könnten unsere Ergebnisse eine große Bedeutung sowohl für die zukünftige Diagnose als auch für das Design neuer therapeutischer Strategien zur Behandlung autoimmuner Erkrankungen haben.

Gefördert durch Deutsche Diabetes Gesellschaft und SFB 518

V-23

EAD, ein neues Tiermodell des Typ-1-Diabetes* Karges W.⁽¹⁾⁽¹⁾ Universität Ulm, Medizinische Klinik 1, Ulm

Insulin wurde zur Prävention des Typ-1-Diabetes im Tiermodell und in klinischen Studien (z. B. DPT1) eingesetzt. Wir konnten zeigen (Diabetes 51:3237–44), dass die DNA-Vakzination mit Insulin im transgenen RIP-B7.1-Mausmodell zur Entwicklung eines Autoimmundiabetes führt. Aktuell haben wir die molekularen Elemente dieses neuen Tiermodells, des experimentellen Autoimmundiabetes (EAD), weiter charakterisiert. Im adoptiven T-Zell-Transfer führt die Transplantation von Splenocyten diabetischer RIP-B7.1-Mäuse bei 14 von 15 syngenen Empfängern zu einer raschen Diabetesentwicklung, nicht aber in Wildtyp-BL/6 Mäusen. Titrationsexperimente mit $2-20 \times 10^6$ Splenocyten zeigen eine dosisabhängige Diabetesinzidenz, mit einem Plateau bei 10×10^6 Zellen. Die Induktion diabetogener T-Zellen erfolgt unabhängig von der B7.1 Expression in Betazellen, da Splenocyten von Wildtyp BL/6 Tieren nach adoptiven Transfer ebenfalls eine Hyperglykämie auslösen. Dagegen ist B7.1 zur T-Zell-abhängigen Betazelldestruktion erforderlich, da Wildtyp-Tiere im Gegensatz zu RIP-B7.1 transgenen Tieren eine Normoglykämie aufweisen. Zusammenfassend zeigen diese Untersuchungen, dass der insulininduzierte Diabetes in zwei Stufen verläuft: einer antigenabhängigen Induktionsphase und einer B7.1 abhängigen Effektorphase. Die differentielle Rolle von CD4+ und CD8+ T-Zell-Subpopulatio-

nen im Zwei-Phasen Konzept des EAD ist Gegenstand laufender Untersuchungen.

V-24

Die Vulnerabilität von B-Zellen gegenüber Zytokin-induzierter Apoptose wird durch Replikation gesteigert

* Meier J.⁽¹⁾, Ritzel R.⁽¹⁾, Gurlo T.⁽¹⁾, Butler P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Division of Endocrinology and Diabetes, University of Southern California, Los Angeles, USA

Fragestellung: Die B-Zell-Zerstörung beim Typ-1-Diabetes wird über eine Zytokin-Freisetzung vermittelt. Die B-Zell-Masse wird bei gesunden Menschen durch eine stetige Neogenese aufrechterhalten. Dies führt zu der Frage, warum bei Patienten mit Typ-1-Diabetes keine Regeneration der B-Zell-Masse erfolgt. Daher wurde untersucht, ob replizierende B-Zellen eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber der Zytokin-Wirkung aufweisen.

Material und Methoden: Protokoll 1. RIN-Zellen wurden mit Hilfe eines Time-lapse Video Mikroskops über 36 Stunden in einem Mikrokultur-System untersucht. Die Zellen wurden mit unterschiedlichen Dosen eines Zytokin-Gemisches inkubiert (Maximal-Dosis: IL-1 β 50 U/ml, TNF- α 1000 U/ml, IFN- γ 1000 U/ml) und in Hinblick auf die Zell-Zahl und das Auftreten von

Apoptosen und Mitosen untersucht. Das Auftreten von Apoptosen wurde im Verhältnis zur letzten Zellteilung analysiert. Protokoll 2. Isolierte humane Inseln wurden für 24 Stunden mit einem vergleichbaren Zytokin-Gemisch oder Placebo inkubiert und auf das Auftreten von Apoptosen (TUNEL-Färbung) hin untersucht. Das Vorkommen von gepaarten TUNEL-positiven Zellen wurde als Hinweis auf post-mitotische Apoptosen quantifiziert.

Ergebnisse: Protokoll 1: Die Zytokin-Behandlung führte zu einer signifikanten Verringerung der RIN-Zell-Population ($p < 0.001$), verbunden mit einem signifikanten Anstieg der Apoptose-Rate ($p < 0.001$). Die Zell-Sterberate war am höchsten während der ersten 4 Stunden nach der Zellteilung und erreichte einen zweiten Peak gegen Ende des Zellzyklus. Ebenso wurde die Mitose-Rate signifikant verringert ($p < 0.001$). Protokoll 2: Die Cytokin-Behandlung führte zu einem Anstieg der Apoptose-Rate in den humanen Inseln ($p < 0.001$). Der Anteil der gepaarten Apoptosen stieg unter der Zytokin-Behandlung an ($p < 0.001$).

Schlussfolgerung: Replizierende B-Zellen weisen eine gesteigerte Vulnerabilität gegenüber Zytokin-induzierter Apoptose auf. Dieser Mechanismus könnte zur Verhinderung der Insel-Neogenese beim Typ-1-Diabetes beitragen.

Schwangerschaft

V-25

Prävalenz eines Gestationsdiabetes (GDM) in einer Populationsuntersuchung in Thüringen und somatometrisches und anamnestisches Risikoprofil hinsichtlich GDM

* Hunger-Dathe W.⁽¹⁾, Diener F.⁽²⁾, Müller U. A.⁽¹⁾, Sämman A.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽²⁾ Universität Jena, Medizinische Fakultät, Jena

Fragestellung: Es sollte die GDM-Prävalenz erhoben und das Risikoprofil für einen GDM kalkuliert werden.

Material und Methoden: 2000 bis 2001 erfolgte in einer offenen Populationsstudie ein generelles GDM-Screening (DDG-Empfehlung, 2001) und eine HbA_{1c}-Bestimmung (NB 5.47; SD 0.38) zwischen der 24.–28. SSW. Bei pathologischem (path.) Screening wurde die Durchführung eines 75 g oGTT empfohlen. Für alle Patienten wurde durch den behandelnden Gynäkologen ein Anamnesedokumentationsbogen ausgefüllt.

Ergebnisse: Bei 1299 Schwangeren erfolgte ein GDM-Screening (26. ± 2 SSW); path. Screening bei 12,8 % (n = 166) der Schwangeren. GDM-Prävalenz: Bei 20,5 % (n = 34) bestätigte sich ein GDM (GDM-Prävalenz in Gesamtgruppe 2,6 %); bei 9,6 % (n = 16) zeigte sich eine iGT (iGT in Gesamtgruppe 1,2 %). Im Verlauf der Schwangerschaft manifestierte sich bei weiteren 0,7 % (n = 9) der Frauen trotz normalem Screeningtest ein GDM, so dass sich insgesamt eine GDM-Prävalenz von 3,3 % ergab. Bei 36,7 % der Schwangeren (n = 61) mit path. Screening erfolgte trotz Empfehlung keine weitere Diagnostik. Kalkuliert man die nicht nachuntersuchten Frauen mit path. Screening mit einer GDM-Manifestationsrate von ebenfalls 20,5 % (n = 13) ein, so würde sich eine GDM-Prävalenz von gesamt 4,3 % in der Studienpopulation hochrechnen lassen. Risikoprofil (vgl. Frauen mit gesichertem GDM/iGT vs. Screening-Normalbefund): Schwangere mit GDM hatten höhere HbA_{1c}-Werte (5,0 ± 0,5 % vs. 4,8 ± 0,4 %), waren älter (30J. vs. 28J.; p < 0,001) und zeigten einen höheren prägrav. BMI (27 kg/m² vs. 23 kg/m²; p = 0,001). Folgende Risikofaktoren waren häufiger: Harnwegsinfekte (9,4 % vs. 3,7 %; p < 0,03), GDM (4 % vs. 1 %; p = 0,005) und Frühgeburt (8 % vs. 2 %, p < 0,01) in vorausgegangener Gravidität, Diabetes bei den Eltern (10 % vs. 11 %, p < 0,03). Keine Unterschiede hinsichtlich Totgeburt, vorzeitigen Wehen, EPH-Gestosen.

Schlussfolgerung: Die gesicherte GDM-Prävalenz liegt bei 3,3 %, wobei sich jedoch nicht alle Frauen mit path. Screening einer Befundkontrolle unterzogen. Frauen mit GDM zeigten anhand somatometrischer und anamnestischer Daten ein eindeutiges Risikoprofil.

V-26

Parameter des maternalen und fetalen Fettstoffwechsels und deren Einfluss auf das fetale Wachstum bei Schwangerschaften mit Gestationsdiabetes

Kulbaka I.⁽¹⁾, * Schäfer-Graf U.⁽²⁾, Bühner C.⁽³⁾, Bühling K.⁽¹⁾, Kjos S.⁽⁴⁾, Vetter K.⁽²⁾
⁽¹⁾ Charité, Campus Virchow-Klinikum, Klinik für Geburtsmedizin, Berlin, ⁽²⁾ Vivantes Klinikum Neukölln, Klinik für Geburtsmedizin, Berlin, ⁽³⁾ Charité, Campus Virchow-Klinikum, Klinik für Neonatologie, Berlin, ⁽⁴⁾ University of Southern California, Dep. of Obstetrics, California, Los Angeles

Ziel: Trotz Kontrolle des Glukosestoffwechsels bei Schwangerschaften mit Gestationsdiabetes kann bei adipösen Frauen die Rate an large-for-gestational-age Neugeborenen häufig nicht normalisiert werden. Untersucht wurde, inwieweit der maternale Lipidstoffwechsel die Lipidwerte des Feten und sein Wachstum beeinflusst.

Methoden: Bei 173 Schwangerschaften mit Gestationsdiabetes wurden Cholesterin und Triglyceride im maternalen Serum bei Diagnose und vor Entbindung und im Nabelschnurblut (NS) bestimmt. Die maternalen und fetalen Lipidwerte wurden miteinander und mit Parametern der fetalen und neonatalen Anthropometrie korreliert.

Ergebnisse: Maternales Cholesterin und Triglyceride bei Diagnose zeigten eine schwache Korrelation mit dem fetalen Abdominalumfang (p = 0.001, r = 0.19 und 0.25), während die bei Entbindung gemessenen Werte weder mit dem Geburtsgewicht (GW) noch dem neonatalen BMI korrelierten. Alle maternalen Lipidwerte bei Entbindung waren signifikant korreliert mit den Werten im NS (p = 0.038–0.000, r = 0.32–0.38). Cholesterin- oder Triglyceridwerte > 240 mg/dl waren mit einem signifikanten Anstieg von erhöhten Lipidwerten in NS (nach Obladen) verbunden. (12.5 vs. 35 %, p = 0.001 für Cholesterin; 56 vs. 83.6 %, p = 0.04 für Triglyceride). NS-Triglyceride waren negativ korreliert mit GW und BMI (p = 0.02 r = -0.23; P = 0.001, r = -0.34). NS-Triglyceride von Neugeborene mit GW < 10. Perzentile waren bei 75 % der Kinder erhöht versus 25 % bei GW > 10. Perzentile (p = 0.01)

Schlussfolgerung: Maternale Lipide sind kein Prädiktor für abnormes Wachstum, sie haben jedoch einen Einfluss auf den fetalen Lipidstoffwechsel. Wachstumsretardierung nicht Makrosomie ist mit hohen NS-Lipidwerten verbunden. Das könnte auf eine erhöhte lipolytische Aktivität bei katabolem Stoffwechsel hinweisen.

V-27

Mütterliches und kindliches Outcome von 160 Frauen mit Gestationsdiabetes 1999–2003Gutmann-Feisthauer K.⁽¹⁾, *Braun D.⁽¹⁾, Fass B.⁽²⁾, Untiedt A.⁽²⁾⁽¹⁾Mutterhaus der Borromäerinnen, Innere Medizin 2, Trier, ⁽²⁾Mutterhaus der Borromäerinnen, Gynäkologie und Geburtshilfe, Trier

Fragestellung: Feststellung der Häufigkeit von kindlicher Makrosomie, postpartaler Hypoglykämie sowie Verlegungsrate in die Neonatologie und Korrelation dieser Ergebnisse zu mütterlichen Therapiedaten.

Material und Methoden: Retrospektive Analyse aller durch die Diabetesambulanz betreuten Frauen mit Gestationsdiabetes (GDM) 1999–9/2003.

Ergebnisse: Auswertbar: 160 von 191 Frauen. Alter $31,4 \pm 5,3$ J., Schwangerschaften $2,2 \pm 1,4$. BMI $26,7 \pm 6,2$ kg/m². Risikofaktoren (Alter > 30 J., BMI > 26 kg/m²), Diabetes bei erstgradigen Angehörigen, Abort, früherer GDM, früheres makroso-mes Kind) sind bei 85 % der Frauen nachweisbar. SSW der Erstvorstellung $27,6 \pm 7,1$. OGTT (75 g, n=140): nüchtern $91,5 \pm 15,7$ mg/dl, 1 Std. $188,8 \pm 28,5$ mg/dl, 2 Std. $135,0 \pm 31,5$ mg/dl. HbA_{1c} bei Erstvorstellung $5,0 \pm 0,6$ %, vor Entbindung $5,0 \pm 0,4$ %. Häufigkeit der Insulintherapie ansteigend von 27,5 % im Jahr 1999/2000 auf 59,5 % 2003. Outcome: 156 Geburten in 8 Krh. der Region, 2 Aborte, 2 Totgeburten. Spontangeburt n=98, Sectio n=49, Forceps n=5, Vakuum n=4 (ohne Aborte/Totgeburten). Makrosome Kinder n=21 (13,2 %). Geburtsgewicht GDM+Ernährungstherapie 3397 ± 574 g, Insulintherapie 3483 ± 534 g. Hypoglykämien: Ernährungstherapie n=7, Insulin n=7. Vergleich von Krh. mit vs. ohne Neonatologie: Verlegungen in die Neonatologie n=32 vs. n=2, Entbindung makrosomer Kinder n=11 vs. n=10, dokumentierte kindl. Hypoglykämien n=12 vs. n=2, Hypoglykämierate 12,3 vs. 3,2 %. Hypoglykämien fanden sich bei Geburtsgewicht < 3000 g (n=5), 3000–3500 g (n=4), 3500–4000 g (n=5), > 4000 g (n=0) zwischen der 34. und 42. SSW.

Schlussfolgerung: Bei nach internistischen Kriterien gut eingestellten Frauen zeigt eine strukturierte postpartale BZ-Messung eine kindliche Hypoglykämierate von 12,3 %. Mütterliche Therapieform (Ernährung vs. Insulin) oder mütterliche Stoffwechsellparameter diskriminieren nicht zwischen Kindern mit hohem oder niedrigem Hypoglykämierisiko. Alle Frauen mit GDM sollten daher in Zentren mit Neonatologie entbinden.

V-28

Erhebung der perinatalen Morbidität in Thüringen in Abhängigkeit des Screenings (Scr.) und der anschließend veranlassten Diagnostik hinsichtlich eines Gestationsdiabetes (GDM)*Hunger-Dathe W.⁽¹⁾, Diener F.⁽²⁾, Müller U. A.⁽¹⁾, Sämman A.⁽¹⁾⁽¹⁾Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽²⁾Friedrich-Schiller-Universität Jena, Medizinische Fakultät, Jena

Fragestellung: Ist bei Unterlassung einer generellen GDM-Diagnostik mit einer erhöhten Morbidität von Mutter und Kind zu rechnen?

Material und Methoden: Generelles GDM-Scr. bei allen Schwangeren (1299) eines Gebietes in Thüringen innerhalb von 1^{1/2} Jahren; Empfehlung einer anschließenden Diagnostik hinsichtlich GDM bei pathologischem (path.) Scr.; Erfassung des Geburtsergebnisses von allen Kindern (excl. Gemini (1,6 %)).

Ergebnisse: Bei 36,9 % der Frauen mit path. GDM-Scr. (4,8 % der Gesamtgruppe) war keine weitere Diagnostik und damit auch keine Therapie erfolgt. Frauen mit path. Scr. ohne weitere Diagnostik/Therapie zeigten im Vgl. zu Frauen mit unauffälligem Scr. einen höheren prägraviden BMI (25 ± 5 vs. 23 ± 4 kg/m², p = 0,003) und waren älter (30 ± 5 vs. 28 ± 5 Jahre, p=0,001). Weitere GDM-Risikoparameter und Schwangerschaftskomplikationen zeigten keine statistischen Unterschiede. Kindliche Morbidität: Mütter mit fehlender GDM-Diagnostik (vs. unauffälligem Scr.) hatten tendenziell häufiger ein makrosomes Kind (15 % vs. 8 %, n. s.) und die Kinder zeigten tendenziell häufiger eine Hyperbilirubinämie (Hyperbili) (9 % vs. 4 %, n. s.). Signifikanz zeigte nur die Häufung mikrosomer Kinder bei path. GDM-Scr. (10 % vs. 3 %, p=0,02). Weitere kindliche Morbiditätskriterien waren in beiden Gruppen vergleichbar. Vergleicht man die Morbidität der mikro- u. makrosomen Kinder vs. den normosomen Kindern bei Frauen mit path. Scr., so zeigten sich keine statistischen Unterschiede bzgl. Frühgeburtlichkeit 7 % vs. 5 %; Asphyxie 0 % vs. 2 %; Azidoserate 7 % vs. 5 %; Anpassungsstörungen 7 % vs. 2 %. Einzige Auffälligkeit war eine höhere Hyperbili-Rate: 27 % vs. 2 %, p < 0,02. Im Vgl. zu makro- u. mikrosomen Kindern bei normalem GDM-Scr. zeigte sich auch hier lediglich eine erhöhte Hyperbili.-Rate: 27 % vs. 7 % (p < 0,04).

Schlussfolgerung: Frauen mit unterlassener GDM-Diagnostik zeigten nicht häufiger Schwangerschaftskomplikationen. Einzig signif. Unterschied war die höhere Prävalenz mikrosomer Kinder, die häufiger eine Hyperbili zeigten, die jedoch auch bei mikrosomen Kindern stoffwechselgesunder Mütter zu finden war.

V-29

Parameter der Schwangerenvorsorge bei präexistenten Diabetikerinnen im Vergleich zu nichtdiabetischen Schwangeren. Ergebnisse der Niedersächsischen Perinatalerhebung der Jahre 1987 bis 1999*Günter H. H.⁽¹⁾, Oehler K.⁽¹⁾, Maul H.⁽¹⁾, Wenzlaff P.⁽²⁾, Scharf A.⁽¹⁾⁽¹⁾Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Frauenheilkunde, Hannover, ⁽²⁾Ärztammer Niedersachsen, Zentrum Qualitätsmanagement, Hannover

Fragestellung: Die Schwangere mit einem präexistenten Diabetes mellitus ist eine Hochrisikoschwangere, die einer intensiven Schwangerenvorsorge bedarf. Entsprechende Empfehlungen liegen seit einigen Jahren vor. Die Realität der Schwangerenvorsorge ist jedoch weithin unbekannt. Es wurden daher u. a. folgende Parameter untersucht: Terminierung der geburtshilflichen und sonographischen Erstuntersuchungen, Anzahl der Vorsorge- und Ultraschalluntersuchungen sowie Anzahl und Dauer von Klinikaufenthalten.

Material und Methoden: Für die Untersuchung wurden die Datensätze der Perinatalstatistik Niedersachsen der Jahre 1987 bis 1999 benutzt: Präexistente Diabetikerinnen (DM) n=3485, nichtdiabetische Schwangere (KD) n=919014. Die Berechnungen der deskriptiven Statistik erfolgten mit dem SPSS Programm.

Ergebnisse: Erstuntersuchung vor der 12. Schwangerschaftswoche (SSW): DM 19,7 %, KD 19,1 %; Vorsorgeuntersuchungen n = 1 bis 6: DM 6,2 %, KD 4,5 %; Vorsorgeuntersuchungen n = 7 bis 10: DM 34,0 %, KD 34,8 %; keine Vorsorge: DM n = 7, KD n = 2613; erste Ultraschalluntersuchung nach der 12. SSW: DM 46,0 %, KD 48,0 %; Ultraschalluntersuchungen n = 1 bis 4: DM 34,9 %, KD 47,0 %, $p < 0,01$; Ultraschalluntersuchungen n > 8: DM 19,8 %, KD 10,2 %. Klinikaufenthalt während der Schwangerschaft: DM 40,9 %, KD 18,6 %, $p < 0,001$; Klinikaufenthalt > eine Woche: DM 27,5 %, KD 8,8 %, $p < 0,01$.

Schlussfolgerung: Die Daten können dahingehend interpretiert werden, dass bei etwa einem Fünftel der Diabetikerinnen die erste geburtshilfliche Vorsorgeuntersuchung (intravaginale Infektion?) und bei fast der Hälfte der Diabetikerinnen die erste sonographische Untersuchung (Festlegung des Schwangerschaftsalters) zu spät oder doch erst zu einem nicht mehr optimalen Zeitpunkt durchgeführt wurden. Etwa ein Drittel der Schwangeren erhielten somit während der Schwangerschaft keine optimale Betreuung. Eine diesbezügliche Aufklärung der Diabetikerin, aber auch aller behandelnden Ärzte, bereits vor einer Schwangerschaft, bleibt daher eine kontinuierliche Aufgabe.

V-30

Evaluation der Behandlungsqualität von Patientinnen mit Diabetes mellitus (DM) im 2. und 3. Schwangerschaftstrimenon: Analyse der kindlichen und mütterlichen Morbidität

* Hunger-Dathe W.⁽¹⁾, Köhn B.⁽²⁾, Sämann A.⁽¹⁾, Müller U. A.⁽¹⁾, Schleußner E.⁽³⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽²⁾ Universitätsklinikum Jena, Medizinische Fakultät, Jena, ⁽³⁾ Universitätsklinikum Jena, Klinik für Frauenheilkunde und Gynäkologie, Jena

Fragestellung: Konnte in Thüringen bei Frauen mit DM ein vergleichbares Geburtsergebnis wie bei nichtdiabetischen Frauen erreicht werden?

Material und Methoden: Analyse der mütterlichen Stoffwechseleinstellung im 2. und 3. Schwangerschaftstrimenon in Zusammenhang mit der kindlichen Morbidität. Die Fehlbildungsrate (Organogenese < 12.SSW) wurde in dieser Studie nicht analysiert.

Ergebnisse: Auswertung von 85 Schwangerschaften (90 % Typ 1, 7 % Typ 2, Alter 28J.; DD 13J., Retinopathie 30 %, Hypertonie 21 %, Nephropathie 5 %). 5 % der Schwangerschaften endeten mit einem Abort (Abort: relativer HbA_{1c} 2,0-fach erhöht vs. kein Abort 1,4-fach, $p < 0,001$). Relativer HbA_{1c}: Zur Konzeption $1,5 \pm 0,3$ -fache des mittleren Normbereichs Gesunder, bei Erstkonsultation $1,4 \pm 0,3$, zur Geburt $1,1 \pm 0,2$. Frauen mit DM zeigten im Vgl. zu einer nichtdiabetischen Vergleichsgruppe (VG) eine höhere Frühgeburtlichkeit (33 % vs. 9 %, $p < 0,0001$). Kinder diabetischer Mütter zeigten im Vgl. zur VG folgende signifikanten Unterschiede: höhere Makrosomierate (25 % vs. 11 %, $p = 0,002$), höhere Präazidoserate (31 % vs. 11 %, $p < 0,001$), häufiger Hyperbilirubinämien (47 % vs. 4 %, $p < 0,001$), häufiger respiratorische Störungen (27 % vs. 2 %, $p < 0,0001$). Signifikante Korrelationen bestanden zwischen: Frühgeburtlichkeit und Blutglukosemittelwert der Mutter (MBG) (4. SSMo: $r = -0,356$; 5. SSMo: $r = -0,285$; 6. SSMo: $r = -0,271$), Percentile und MBG (8. SSMo: $r = +0,321$; 9. SSMo: $r = +0,275$), Azidose und BGM (9. SSMo: $r = +0,257$), Bilirubinspiegel und MBG im 9. SSMo ($r = +0,412$). Mütter mit makrosomem Kind zeigten höhere MBG im 7. und 8. SSMo im Vgl. zu Frauen mit normosomem Kind (7. SSMo: 6,7 vs. 5,7 mmol/l, $p = 0,02/8$. SSMo: 6,9 vs. 5,7 mmol/l; $p = 0,003$) sowie höhere präprandiale BG (7. SSMo: 6,2 vs. 5,2 mmol/l; $p = 0,03/8$. SSMo: 6,4 vs. 5,2 mmol/l, $p = 0,008$).

Schlussfolgerung: Ursache der erhöhten kindlichen Morbidität war das Nichterreichen der streng normoglykämischen Stoffwechseleinstellung. Unsere Daten zeigten eine Korrelation erhöhter MGB zur Frühgeburtlichkeit bereits ab 4. SSMo. Eine Korrelation zur kindlichen Morbidität ließ sich erst nach 6. SSMo. aufzeigen.

Pathophysiologie des Typ-2-Diabetes

V-31

–11 377 G/C Adiponectin-Promotor-Polymorphismus beeinflusst das Adipositas-abhängige Diabetesrisiko

* Spranger J.⁽¹⁾, Boeing H.⁽²⁾, Möhlig M.⁽¹⁾, Müller S.⁽¹⁾, Osterhoff M.⁽¹⁾, Ristow M.⁽¹⁾, Hoffmann K.⁽²⁾, Pfeiffer A.⁽¹⁾

⁽¹⁾Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke und Charité-Universitätsmedizin Berlin, Abteilung für Klinische Ernährung und Abteilung für Endokrinologie, Diabetes und Ernährung, Potsdam/Berlin, ⁽²⁾Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, Abteilung für Epidemiologie, Nuthetal

Fragestellung: Über 70 % der adipösen Menschen entwickeln während ihres Lebens keinen Typ-2-Diabetes. Die Ursache hierfür ist unklar, hereditäre Ursachen sind denkbar. Adiponectin wird in weißem Fettgewebe exprimiert und vermittelt Insulinsensitivität.

Material und Methoden: Wir haben in dieser Studie den Einfluss eines häufigen Adiponectin-Promotor-SNPs (–11 377 G/C) auf das Diabetesrisiko und auf zirkulierende Adiponectin-Spiegel in einer eingebetteten Fall-Kontroll-Studie untersucht (187 Probanden mit inzidentem Typ-2-Diabetes und 374 Kontrollen). Der Einfluss auf das Diabetesrisiko wurde für einen dominanten, additiven oder rezessiven Effekt des Polymorphismus untersucht. Zusätzlich wurden potentielle Interaktionen mit vorbestehender Adipositas analysiert.

Ergebnisse: Wir konnten keine direkte Assoziation zwischen Genotyp und inzidenter Erkrankung finden, unabhängig ob ein dominantes, additives oder rezessives Modell angenommen wurde. Interessanterweise fand sich eine hochsignifikante Interaktion mit Adipositas in Bezug auf das Diabetesrisiko. So hatten im voll-adjustierten Modell Probanden mit adiponectin –11 377 CC Genotyp kein signifikant erhöhtes BMI-abhängiges Diabetesrisiko (OR 1.07; 95 % CI 0.98–1.17; n = 308). Im Gegensatz dazu hatten Probanden mit GC oder GG ein substantiell gesteigertes Adipositas-abhängiges Diabetesrisiko (OR 1.3; 95 % CI 1.1–1.4; n = 255). Auch wenn nur Probanden mit einem HbA_{1c} unter 5,6 % untersucht wurden, blieb diese Interaktion hochsignifikant (P für multiplikativen Interaktionsterm 0.004; n = 429). Probanden mit adiponectin –11 377 CC Genotyp hatten insgesamt höhere Adiponectinspiegel im Plasma als Personen mit GC oder GG (P = 0.008).

Schlussfolgerung: Wir zeigen in einer populationsbezogenen, prospektiven Studie, dass der häufige Adiponectin –11 377 G/C SNP zirkulierende Adiponectinspiegel beeinflusst und das BMI-abhängige Diabetesrisiko modifiziert. In diesem Sinne könnte er ein hereditärer Faktor sein, der übergewichtige Menschen vor der Entstehung eines Typ-2-Diabetes schützen kann.

V-32

Vergleich der mikrovaskulären und endothelialen Aktivität von Pioglitazon im Vergleich zu Glimepirid bei Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 2

* Hohberg C.⁽¹⁾, Pfützner A.⁽²⁾, Langenfeld M.⁽¹⁾, Nguyen M.⁽¹⁾, Friedrich C.⁽¹⁾, Köder C.⁽²⁾, Lübben G.⁽³⁾, Fennenkötter U.⁽³⁾, Forst T.⁽¹⁾

⁽¹⁾Institut für Klinische Forschung und Entwicklung, Medizin, Mainz, ⁽²⁾Institut für Klinische Forschung und Entwicklung, Klinische Forschung, Mainz, ⁽³⁾Takeda Pharma, Aachen

Fragestellung: Typ-2-Diabetes und die Entwicklung einer Insulinresistenz gehen mit erheblichen vaskulären und endothelialen Funktionsstörungen einher. Ziel therapeutischer Interventionen muss neben einer Stoffwechsellnormalisierung eine Reduktion des vaskulären Risikos dieser Patienten sein.

Material und Methoden: Im Rahmen dieser Studie wurde die mikrovaskuläre und endotheliale Funktion in einer randomisierten, parallelen Untersuchung bei 90 Typ-2-Diabetikern unter Pioglitazon (n = 46, Alter 60,4 ± 9,1) im Vergleich zu Glimepirid (n = 44, Alter 64,5 ± 6,9 Jahre) über einen Zeitraum von 6 Monaten beobachtet. Die mikrovaskuläre Funktion wurde mittels Laserdopplerfluxmetrie nach Hitzeapplikation am distalen Unterarm untersucht. Die Beurteilung der endothelialen Funktion erfolgte anhand einer transkutanen Iontophorese von 1 %igem Azetylcholin (Ach).

Ergebnisse: Im Verlauf der Studie konnte eine Verbesserung des HbA_{1c} Spiegels in beiden Therapiegruppen erreicht werden (Pioglitazon 7,6 ± 1,0 zu 6,8 ± 0,6 %, p < 0,0001; Glimepirid 7,4 ± 0,8 zu 6,9 ± 1,0 %, p < 0,05). Die mikrovaskuläre Funktion nach neuraler Stimulation mittels Hitze zeigte in beiden Untersuchungsgruppen eine kontinuierliche Verbesserung nach 3 Monaten (delta Pioglitazon 21,1 ± 26,8 AU; delta Glimepirid 23,7 ± 28,9 AU; p < 0,001) sowie nach 6 Monaten (delta Pioglitazon 53,0 ± 39,7 AU; delta Glimepirid 48,8 ± 37,4 AU; p < 0,001). Die endotheliale, mikrovaskuläre Funktion zeigte hingegen lediglich in der Pioglitazongruppe eine signifikante Verbesserung (delta Ach 13,6 ± 33,3 AU; p < 0,05) während keinerlei Veränderung unter Glimepirid zu beobachten war.

Schlussfolgerung: Unsere Studie bestätigt die Bedeutung einer möglichst normnahen Blutzuckereinstellung für die mikrovaskuläre Funktion bei Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 2. Neben stoffwechselbedingten vaskulären Effekten konnte unter Pioglitazon eine direkte Endothelzell-vermittelte Verbesserung der mikrovaskulären Funktion beobachtet werden.

V-33

Eine Reduktion der postprandialen Hyperglykämie bei Typ-2-Diabetikern führt zu einer reduzierten NF-κB-Aktivierung in mononukleären Blutzellen

*Rudofsky G.⁽¹⁾, Reismann P.⁽¹⁾, van Eynatten M.⁽¹⁾, Humpert P.⁽¹⁾, Müller-Hoff C.⁽¹⁾, Lichtenstein S.⁽¹⁾, Bärtsh U.⁽¹⁾, Hamann A.⁽¹⁾, Nawroth P.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾
⁽¹⁾Universität Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg

Fragestellung: Kurzzeitige Hyperglykämien führen zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB in mononukleären Blutzellen. In dieser Studie wurde untersucht, ob der postprandiale Blutglukoseanstieg zu einer NF-κB-Aktivierung führt und ob eine Verringerung des Anstiegs durch den Alpha-Glukosidase-Inhibitor Acarbose zu einer reduzierten NF-κB-Aktivierung führt.

Material und Methoden: 20 Patienten mit Typ-2-Diabetes wurden in eine doppel-blind randomisierte Studie eingeschlossen. Sie erhielten 100 mg Acarbose oder Placebo dreimal pro Tag über eine Dauer von acht Wochen. Die mononukleären Zellen wurden vor und 120 Minuten nach einem standardisierten Frühstück isoliert. Die NF-κB-Bindungsaktivität wurde im EMSA (electrophoretic mobility shift assay) und die NF-κB-p65-Translokation im Western Blot bestimmt.

Ergebnisse: Eine Behandlung mit Acarbose über acht Wochen führte zu einer signifikanten Reduktion der postprandialen Hyperglykämie ($p = 0.004$ im Vergleich mit Placebo), der postprandialen mononukleären NF-κB-Bindungsaktivität ($p = 0.045$) und der nukleären Translokation von NF-κB-p65 ($p = 0.02$).

Schlussfolgerung: Die Reduktion von postprandialen Blutglukosespitzen durch Acarbose reduziert die postprandiale mononukleäre NF-κB-Aktivierung.

V-34

Glucose Excretion in Patients with Type 2 Diabetes: Is the Renal Threshold always 10 mmol/l?

*Rave K.⁽¹⁾, Nosek L.⁽¹⁾, Possner J.⁽²⁾, van Hoogdalem E.⁽²⁾
⁽¹⁾Profil Institut für Stoffwechselforschung, Neuss, ⁽²⁾Johnson & Johnson, Saunderton, UK

Objective: In nearly all diabetes textbooks, a renal threshold for glucose excretion of approx. 10 mmol/L is postulated. Surprisingly, there are little data in the literature to support this hypothesis.

Material and methods: Therefore, we conducted a study in patients with type -2-diabetes aiming to investigate 1) the renal threshold for glucose excretion (T_{GLU}), and 2) the intra-individual reproducibility of T_{GLU} . Twenty-two patients with type -2-diabetes (age 56 ± 7 y, normal endogenous creatinine clearance) participated in two identical five-step hyperglycaemic glucose-clamp experiments. High diuresis was ensured by iv infusion of isotonic saline and oral intake of water. A baseline blood glucose level of 12.2 mmol/L (220 mg/dl) was established by means of a Biostator. The subsequent clamp level was determined by the glucose concentration in urine (UGC): If the UGC was < 200 mg/dl, the clamp level was raised by 20 mg/dl (1.1 mmol/l); if the UGC was > 200 the clamp level was lowered by 20 mg/dL. The highest clamp level employed was 260 mg/dl (14.4 mmol/l)], the lowest was 140 mg/dl (7.8 mmol/l). T_{GLU} was defined as the

blood glucose concentration when UGC fell to < 50 mg/dl (2.8 mmol/l) as 50 mg/dL represents the LLOQ of the methods applied to measurement of UGC in earlier studies.

Results: The mean \pm SD of T_{GLU} was found to be 10.4 ± 1.2 mmol/L. There was large inter-individual variability (range 7.7–12.2 mmol/L), but intra-individual values were very reproducible with mean difference in T_{GLU} between the two experiments of 0.1 ± 0.1 mmol/L.

Conclusions: Low urinary glucose concentrations have been speculated to result from distal tubular leakage. However, the present data indicate that when employing a sensitive method for the measurement of urine glucose T_{GLU} is < 140 mg/dl in patients with type -2-diabetes, and may reflect trace amounts of glucose escaping from proximal tubular reabsorption.

V-35

Der Tonus der arteriellen Widerstandsgefäße steigt bei akuter Erhöhung des Blutzuckers.

*Schmölzer I.⁽¹⁾, Pressl H.⁽¹⁾, Wascher T.⁽¹⁾
⁽¹⁾Medizinische Universität, Klinik für Innere Medizin, Graz

Fragestellung: Diabetes mellitus ist mit einer Veränderung der biomechanischen Eigenschaften der arteriellen Strombahn assoziiert. Nicht bekannt ist, ob akute Änderungen des Blutzuckers dahingehend einen Einfluss haben. Fragestellung der vorliegenden Studie war daher: Geht der Blutzuckeranstieg während eines oralen Glukosetoleranztests (OGTT) mit einer akuten Veränderung des Tonus der Widerstandsgefäße einher?

Material und Methoden: Es wurden 56 konsekutive OGTTs bei Personen ohne vorbekannten Diabetes durchgeführt (30 Frauen, Alter 49 ± 13 Jahre). Laborchemische Analysen und Pulswellenmessungen (PulseTrace PCA, Micro Medical) erfolgten nüchtern und 2 Stunden nach Belastung mit 75 g Glukose. Der Reflexionsindex (RI), ermittelt aus den beiden Peaks der Pulswellenanalyse, wurde zur Beschreibung des Tonus der Widerstandsgefäße herangezogen. Die Auswertung erfolgte nach Bildung von 2 Gruppen anhand des Medians der Blutzuckeränderung während des OGTT (BZ-Änderung unter/über dem Median).

Ergebnisse: Die Veränderung des RI korrelierte in der Gesamtpopulation signifikant ($r = 0.306$, $p = 0.01$) mit der Änderung des Blutzuckers. Die Unterteilung nach dem Median der BZ-Änderung erbrachte keinen Unterschied hinsichtlich des BZ-nüchtern (mg/dl) oder des RI-nüchtern (%) zwischen den beiden Gruppen. Die BZ-Änderung (0–2 h) war signifikant höher in der Gruppe mit BZ-Anstieg über dem Median (-2 ± 13 vs. 33 ± 15 mg/dl; $p \leq 0.001$), ebenso der BZ-2 h (94 ± 15 vs. 132 ± 21 mg/dl; $p \leq 0.001$). Die Änderung des RI (0–2 h) war signifikant höher bei einem BZ-Anstieg über dem Median (-1.45 ± 7.57 vs. 4.29 ± 6.14 %; $p = 0.003$) als bei einem nur gering ausgeprägten BZ-Anstieg. Der RI-2 h war ebenfalls signifikant höher in der Gruppe mit einem BZ-Anstieg über dem Median (74.9 ± 10.8 vs. 80.3 ± 8.3 %; $p \leq 0.04$) als in der Gruppe mit einem BZ-Anstieg unter dem Median der BZ-Änderung.

Schlussfolgerung: Akute Hyperglykämie erhöht den Gefäßtonus. Das Ausmaß dieser Erhöhung korreliert mit dem Ausmaß der Hyperglykämie während des OGTT.

V-36

Beeinflussung der Nahrungsaufnahme durch akute Normalisierung der Plasmaglukosekonzentration bei Typ-2-Diabetes-Patienten

* Schultes B.⁽¹⁾, Merl V.⁽¹⁾, Chara K.⁽¹⁾, Oltmanns K.⁽²⁾, Kern W.⁽¹⁾, Born J.⁽²⁾, Fehm H.⁽¹⁾, Peters A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Klinik I, Universität zu Lübeck, Lübeck, ⁽²⁾ Institut für Neuroendokrinologie, Universität zu Lübeck, Lübeck

Fragestellung: Die Absenkung pathologischer erhöhter Plasmaglukosekonzentration im Rahmen der Therapie des Typ-2-Diabetes (T2DM) ist meist mit einer deutlichen Gewichtszunahme assoziiert. Vor dem Hintergrund, dass Glukose ein potentieller Modulator des Nahrungsaufnahmeverhaltens ist, stellten wir die Hypothese auf, dass eine akute Normalisierung der Plasmaglukosekonzentration (Pgl) bei Patienten mit Typ-2-Diabetes zu einer gesteigerten Nahrungsaufnahme führt.

Material und Methoden: Dreizehn Patienten mit T2DM (8 Frauen/5 Männer) wurden in randomisierter und balancierter Reihenfolge einmal einem hyperinsulinämischen-euglykämischen Clamp (Pgl: 90 mg/dl) und ein weiteres Mal einem hyperinsulinämischen-hyperglykämischen Clamp (Pgl: 190 mg/dl) ausgesetzt. Die einfach-blind durchgeführten Clamps dauerten insgesamt 120 Minuten, wobei die Probanden nach 90 Minuten ein Standard-Frühstück mit insgesamt 1200 kcal erhielten. Gemessen wurde, wie viel Kalorien die Probanden während der anschließenden 30 Minuten aßen.

Ergebnisse: Unter der euglykämischen Bedingung wurden von den Probanden insgesamt 644 ± 69 kcal gegessen, während unter der hyperglykämischen Bedingung nur 505 ± 41 aufgenommen wurden ($p < 0.05$). Im Rahmen dieser Erhöhung der Nahrungsaufnahme unter Euglykämie wurde keine Verschiebung bezüglich des Kohlehydrat-, Protein- und Fettanteils in der konsumierten Nahrung beobachtet.

Schlussfolgerung: Die Daten zeigen, dass die akute Normalisierung der Plasmaglukosekonzentration bei Patienten mit T2DM-Therapie zu einer gesteigerten Nahrungsaufnahme führt. Sollte sich in weiteren Untersuchungen zeigen, dass dieser Effekt der Normalisierung der Plasmaglukosekonzentration auf das Nahrungsaufnahmeverhalten über längere Zeit anhält, so könnte dies zumindest zum Teil die häufig beobachtete Gewichtszunahme im Rahmen der T2DM-Therapie erklären.

V-37

Ein molekularer Weg zur Klärung des metabolischen Syndroms? – Drei Generationen mit familiärer, partieller Lipodystropie und nachgewiesener LMNA-Mutation.

* Wiegand S.⁽¹⁾, Bochow B.⁽²⁾, Genschel J.⁽²⁾, Schmidt H.⁽²⁾, Grüters A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Otto-Heubner-Centrum für Kinderheilkunde; Charité Campus Virchow-Klinikum, Pädiatrische Endokrinologie, Berlin, ⁽²⁾ Medizinische Klinik; Charité Campus Mitte, Gastroenterologie, Hepatologie, Endokrinologie, Berlin

Fragestellung: Die familiäre, partielle Lipodystropie (FPL) ist gekennzeichnet durch regionalen Fettgewebsschwund, muskuläre Hypertrophie und ein metabolisches Syndrom aufgrund autosomal dominanter Mutationen im Lamin A-Gen (Chromosom 1q21.2). Als Index-Patientin (IP) wurde eine 15 J. alte Jugendli-

che mit schwerem metabolischem Syndrom sowie ihre Eltern und Großeltern untersucht.

Material und Methoden: Neben der metabolischen Charakterisierung der Familie (oGTT, 24h-RR, Lipidstatus, Hormonstatus) erfolgte eine Sequenzierung des LMNA-Gens durch Amplifizierung der codierenden Region für Lamin A/C.

Ergebnisse: Die IP zeigte klinisch eine moderate abdominale Adipositas (BMI $26,7 \text{ kg/m}^2$), Hirsutismus, Stiernacken, Acanthosis nigricans, muskuläre Hypertrophie und Lipodystrophie der Beine, sowie laborchemisch eine gestörte Glukosetoleranz mit massiver Insulin-Resistenz ($> 240 \text{ mU/ml}$), Hypertriglyceridämie (602 mg/dl), Hypercholesterinämie (212 mg/dl), mäßige Hyperandrogenämie (ohne PCO) und einen Hypertonus (92 % > 97 . Perc. im 24h-RR). Der gleiche Phänotyp bestand bei Mutter (Hypertonus, Insulinresistenz) und Großmutter mütterlicherseits (1. Bypass-OP mit 53 J.; schwere Hyperlipidämie). Bei allen drei Frauen wurde eine Missense-Mutation R482Q (Arg482Trp) im LMNA-Gen nachgewiesen. Die IP ist die jüngste mit FLP und führte zum bisher einzigen 3-Generationen Stammbaum mit LMNA-Mutation. Sie wird mit Metformin, Enalapril und Cyproteronacetat behandelt.

Schlussfolgerung: Die FPL sollte differentialdiagnostisch bei Jugendlichen mit metabolischem Syndrom und passendem Phänotyp (abdominale Adipositas, muskuläre Hypertrophie und Lipodystrophie der Beine) berücksichtigt werden. Da das LMNA-Gen für das Zellkern-Strukturprotein Lamin A/C codiert (differenzierte Zellen exprimieren Lamin A, undifferenzierte Zellen Lamin C), könnte ein besseres Verständnis der Funktion dieses Proteins helfen, zur Klärung der Pathogenese des metabolischen Syndroms beizutragen.

V-38

Lipoproteinlipase als mögliches Bindeglied zwischen Adiponectin und Dyslipidämie/KHK

* von Eynatten M.⁽¹⁾, Schneider J.⁽¹⁾, Hamann A.⁽¹⁾, Morcos M.⁽¹⁾, Kreuzer J.⁽²⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Nawroth P.⁽¹⁾, Dugi K.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, ⁽²⁾ Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin III, Heidelberg

Fragestellung: Das von Adipozyten sezernierte Hormon mit der höchsten Plasmakonzentration ist Adiponectin. Niedrige Adiponectin-Spiegel sind mit Adipositas, Insulinresistenz, Typ-2-Diabetes, Dyslipidämie und KHK assoziiert, aber die zugrunde liegenden Mechanismen sind nur unvollständig aufgeklärt. Niedrige Lipoproteinlipase (LPL)-Aktivität ist ebenfalls mit Dyslipidämie und KHK assoziiert und vor kurzem wurde in vitro und im Tiermodell gezeigt, dass Adiponectin die Expression von LPL steigert. Wir wollten daher untersuchen, ob dieser Zusammenhang auch im Menschen nachweisbar ist.

Material und Methoden: Wir bestimmten die Plasmaspiegel von Adiponectin mittels ELISA. LPL-Aktivität bzw. -Konzentration in Postheparinplasma (gewonnen 10 min nach Injektion von 60 IU/kg KG) wurde mittels einer künstlichen Emulsion bzw. ELISA quantifiziert. Insgesamt wurden 245 KHK-Patienten und 108 Typ-2-Diabetiker untersucht.

Ergebnisse: Niedrige Adiponectin-Spiegel waren mit niedrigerem

HDL-Cholesterin ($p < 0.001$), erhöhten Plasma-Triglyzeriden ($p < 0.001$) und VLDL-Cholesterin ($p < 0.001$), sowie einem höheren KHK-Ausmaß (Zahl der betroffenen Koronarien: $p = 0.002$, KHK „extent score“: $p = 0.003$) assoziiert. In einer multivariaten Analyse unter Einschluss von Alter, BMI, Insulinspiegel und Polymorphismen im LPL-Gen war Adiponectin der Faktor mit dem größten Einfluss auf LPL-Aktivität ($p = 0.002$) und -Konzentration ($p < 0.01$). Für die Quartile ansteigender Adiponectin-Spiegel fand sich ein kontinuierlicher Anstieg von LPL-Aktivität (144 ± 57 , 170 ± 69 , 175 ± 73 , 192 ± 64 nmol/ml/min, $p = 0.003$) und -Konzentration (237 ± 90 , 291 ± 100 , 302 ± 112 , 348 ± 153 ng/ml, $p < 0.001$). Im Kollektiv der Typ-2-Diabetiker war ein niedriger Adiponectin-Spiegel ebenfalls mit niedrigerer LPL-Konzentration ($r = 0.353$, $P < 0.001$) und LPL-Aktivität ($r = 0.315$, $P = 0.001$) assoziiert.

Schlussfolgerung: Diese Daten zeigen, dass Adiponectin sowohl in Patienten mit KHK als auch in Patienten mit Typ-2-Diabetes mit LPL assoziiert ist, und dass zumindest ein Teil des Effektes von Adiponectin auf Lipidprofil und KHK-Ausmaß durch LPL vermittelt sein könnte.

V-39

An APM1 promoter haplotype is associated with the progression toward diabetes through a preexisting hypoadiponectinemia, in subjects from T2D pedigrees.

* Schwarz P.⁽¹⁾, Towers W.⁽²⁾, Fückler K.⁽¹⁾, Fischer S.⁽¹⁾, Temelkova Kurtschew T.⁽³⁾, Oelkers A.⁽²⁾, Schulze J.⁽¹⁾, Hanefeld M.⁽³⁾

⁽¹⁾ Medizinische Klinik III, TU Dresden, Endokrinologie, Dresden, ⁽²⁾ Centre for Genome Research, Potchefstroom University, Pretoria, ⁽³⁾ Center for Clinical Studies, GWT-TU Dresden, Dresden

Aims/hypothesis: Adiponectin, encoded by the APM1 gene that has been shown to modulate insulin sensitivity and glucose homeostasis. Plasma adiponectin levels are decreased in type-2-diabetes and obesity. Recent studies have shown that genetic variation within the APM1 gene is associated with decreased adiponectin levels. The aim was to analyse genetic variation within APM1 and adiponectinaemia during the progression toward type-2-diabetes.

Methods: 661 probands with increased risk of type-2-diabetes mellitus, such as obesity, hyper- or dyslipoproteinaemia or familial history of type-2-diabetes, were included. All probands underwent a 75 g oral glucose tolerance test (oGTT) at time of the study inclusion and after 3 years follow up. Utilising the ADA/WHO criteria, probands were assigned into groups of glucose tolerance and according to the evolution of their diabetic status: those who kept their glucose tolerance status and those presenting a regression or progression of the disease. Adiponectinaemia was measured for the 1st and follow up oGTT. 3 common SNPs, +45 T > G in exon 2, SNPs -11391 G > A and -11377 C > G in the promoter were analysed using LightCycler™ Technology.

Results: The wild G allele at SNP-11391 and the variant G allele at SNP -11377 were associated with lower adiponectin level but no association was detected with the +45 TG ($p = 0.6$). A strong association between the A_C haplotype and adjusted adiponectin levels was noticed ($p = 0.0006$). Adiponectin levels at inclusion of the subjects was highly associated with the further evolution of the

disease, $p < 0.0001$. Having the high risk „low adiponectin level“ G_G haplotype was associated with higher diabetes risk and risk for disease progression. This association correlates significantly with higher levels for free fatty acids, $p = 0.019$.

Conclusions: Our observations suggest that genetic variants in the adiponectin gene promoter region define a risk haplotype which is associated with lower adiponectin levels, increased risk of type-2-diabetes, increased risk of disease progression and levels for free fatty acids.

V-40

Hyperbolischer Zusammenhang zwischen Betazellmasse und Nüchternglykämie und beschleunigter Verlust von Langerhans'schen Inseln in Personen mit Typ-2-Diabetes

* Ritzel R.⁽¹⁾, Butler A.⁽²⁾, Rizza R.⁽³⁾, Butler P.⁽²⁾

⁽¹⁾ Universität Heidelberg, Medizinische Klinik I, Heidelberg, ⁽²⁾ University of Southern California, Endocrinology and Diabetes, Los Angeles, ⁽³⁾ Mayo Clinic, Endocrine Division, Rochester

Beim Typ-2-Diabetes findet sich ein Defizit der Betazellmasse von ~65 % und eine gesteigerte Betazellapoptose. Es ist jedoch unklar, ob es zwischen der Betazellmasse und der Entwicklung eines Diabetes mellitus beim Menschen einen Zusammenhang gibt. Da es im humanen Pankreas einen aktiven Turnover der Inseln gibt, könnte durch eine gesteigerte Betazellapoptose die Lebenszeit der Inseln verkürzt sein.

Fragestellung: (1) Wird beim Typ-2-Diabetes die Überlebenszeit der Inseln durch eine gesteigerte Betazellapoptoserate verkürzt? (2) Gibt es beim Menschen einen Zusammenhang zwischen der Betazellmasse und der Nüchternglykämie?

Methoden: In Autopsiepankrea von BMI-gematchten Personen mit (D, $n = 57$) und ohne (ND, $n = 48$) Typ-2-Diabetes wurde durch morphometrische Analyse von Gewebeschnitten die Betazellreplikation (Marker Ki-67), Betazellapoptose (TUNEL) und die fraktionelle Betazellfläche (Insulin) bestimmt. Die Nüchtern-Glukosekonzentrationen wurden vor Beginn der finalen Erkrankung gemessen. Die Überlebenszeit der Inseln wurde anhand der Daten für Betazellreplikation und -apoptose berechnet.

Ergebnisse: Die Überlebenszeit der Inseln ist in Personen mit Typ-2-Diabetes von ~2.5 auf ~0.5 Jahre reduziert (ND vs. D). Zwischen der Betazellmasse und der Nüchternglykämie besteht eine negative hyperbole Korrelation ($r = 0.5$, $p < 0.0001$). Sobald das Betazelldefizit ~50 % übersteigt kommt es zu einem steilen Anstieg der Nüchternglykämie (Analyse nur von Personen ohne medikamentöse Therapie).

Schlussfolgerungen: Bei Personen mit Typ-2-Diabetes wird die Überlebenszeit der Inseln durch eine vermehrte Betazellapoptose reduziert. Dies ist möglicherweise der Mechanismus, wie es beim Typ-2-Diabetes zu einem Betazelldefizit kommt. Ein Betazelldefizit von bis zu ~50 % wird toleriert, eine weitere Reduktion der Betazellmasse führt jedoch zu einem deutlichen Anstieg der Nüchternglykämie. Strategien zur Verhinderung der Betazellapoptose beim Typ-2-Diabetes verlängern möglicherweise die Inselüberlebenszeit und verhindern so einen Verlust der Betazellmasse.

V-41

Kardiovaskuläre Risikofaktoren in den Stadien der Glukoseintoleranz: Die RIAD 2-Studie

* Köhler C.⁽¹⁾, Henkel E.⁽¹⁾, Temelkova-Kurktschiew T.⁽¹⁾, Stier U.⁽¹⁾, Ott P.⁽¹⁾, Hanefeld M.⁽¹⁾, Leonhardt W.⁽¹⁾

⁽¹⁾GWT TU Dresden, Zentrum für Klinische Studien, Dresden

Fragestellung: Ziel der Arbeit war, das relative Risiko von arterieller Hypertonie, Hyper-/Dyslipidämie (HPL), Adipositas und koronarer Herzkrankheit (KHK) bei Personen mit gestörter Nüchternblutglukose (IFG), gestörter Glukosetoleranz (IGT) und neuentdecktem Typ-2-Diabetes (T2D) im Vergleich zu normoglykämischen Probanden (NG) zu untersuchen.

Material und Methoden: In Fortsetzung der RIAD-Studie (Risk Factors in IGT for Atherosclerosis and Diabetes) wurden 2310 Personen einer Risikopopulation für Diabetes (Alter 40–70 Jahre) eingeschlossen, die Verwandte von Diabetikern waren oder selbst an Hypertonie, Adipositas und/oder Dyslipidämie erkrankt waren (Definition nach NCEP 2001). Personen mit bekanntem Diabetes wurden ausgeschlossen. Bei allen Probanden wurde ein OGTT mit 75 g Glukose durchgeführt. Die Einteilung in die verschiedenen Glukosetoleranzstadien erfolgte nach WHO-Klassifikation (1999). Plasmaglukose und Lipide wurden mit Standard-Labormethoden bestimmt.

Ergebnisse: Die Odds für KHK-Anamnese bei IFG vs. NG waren 1,55 (95 % CI 1,10–2,19), für isolierte IGT vs. NG 1,62 (1,16–2,27), für kombinierte IFG/IGT vs. NG 2,40 (1,72–3,35) und für T2D vs. NG 2,14 (1,60–2,88). Bei Hypertonie fanden sich folgende Odds: IFG vs. NG 1,91 (1,43–2,55), für isolierte IGT vs. NG 1,75 (1,32–2,32), für kombinierte IFG/IGT vs. NG 2,37 (1,73–3,24) und für T2D vs. NG 3,41 (2,57–4,54). Die Odds für HPL ergaben IFG vs. NG 1,57 (1,17–2,12), für isolierte IGT vs. NG 1,95 (1,47–2,58), für kombinierte IFG/IGT vs. NG 3,1 (2,29–4,19) und für T2D vs. NG 3,66 (2,83–4,74). Bei Adipositas wurden die Odds IFG vs. NG 1,84 (1,33–2,55), für isolierte IGT vs. NG 1,67 (1,22–2,29), für kombinierte IFG/IGT vs. NG 2,80 (1,95–4,02) und für T2D vs. NG 4,16 (3,05–5,67) gefunden.

Schlussfolgerung: Mit Anstieg der Hyperglykämie erhöht sich parallel die Häufigkeit von zusätzlichen Erkrankungen des Metabolischen Syndroms. Bereits Probanden mit IFG haben ein signifikant höheres Risiko für das Vorhandensein von kardiovaskulären Risikofaktoren.

V-42

Adiponectin als Parameter für Lebensstil und koronares Risiko bei Frauen (Daten der CORA-Studie)

* Algenstaedt P.⁽¹⁾, Zyriax B.⁽¹⁾, Boeing H.⁽²⁾, Windler E.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Zentrum für Innere Medizin, Hamburg,

⁽²⁾Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Abteilung Epidemiologie, Potsdam-Rehbrücke

Fragestellung: In den letzten Jahren konnten zahlreiche, vom Fettgewebe sezernierte Adipozytokine identifiziert werden, die eine zentrale Rolle für die Entstehung von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes einnehmen. Ziel der ‚Coronary Risk Factors for Atherosclerosis in Women‘ (CORA) Studie ist es, neue Risikofaktoren für koronare Herzkrankheit bei Frauen zu identifizieren und sie mit Faktoren des Lebensstils zu korrelieren. In dieser Arbeit soll der Stellenwert von Adiponectin untersucht werden.

Material und Methoden: Die CORA-Studie vergleicht 200 Frauen mit der Erstmanifestation koronarer Herzkrankheit mit 255 gesunden Kontrollen gleichen Alters bezüglich zahlreicher klinischer, biochemischer, anthropometrischer, genetischer, Lebensstil- und ernährungsbedingter Risikofaktoren für Arteriosklerose. Adiponectin wurde mit dem RIA der Fa Linco Research bestimmt (Cat.-No.: #HADP-61HK).

Ergebnisse: Die Adiponectinspiegel der KHK-Fälle waren signifikant niedriger als die der Kontrollen ($p < 0,0001$). Für Fälle und Kontrollen gemeinsam betrachtet waren die Adiponectinspiegel bei Diabetikern ($p = 0,008$), beim Metabolischen Syndrom ($p < 0,0001$), bei erhöhter WHR ($p < 0,0001$) und bei Rauchern ($p < 0,0001$), nicht aber bei Hypertonikern niedriger jeweils verglichen mit den Werten der Frauen ohne diesen Risikofaktor. Adiponectin korrelierte mit dem HOMA-IR Score ($p = 0,0006$) und dem HDL-Cholesterin ($p = 0,0001$), aber nicht mit dem BMI. In einer bedingten logistischen Regression verlor Adiponectin als Prediktor für koronare Herzkrankheit seine Signifikanz, wenn Parameter des Lebensstils, insbesondere der Ernährung, in die Analyse eingingen.

Schlussfolgerung: In der CORA-Studie charakterisiert niedriges Adiponectin Frauen mit der Erstmanifestation einer koronaren Herzkrankheit. Entsprechend der zentralen Bedeutung einer Insulinresistenz als Risikofaktor korreliert Adiponectin mit den wesentlichen Komponenten des Metabolischen Syndroms. Adiponectin könnte deshalb einen hohen prognostischen Stellenwert für koronare Herzkrankheit erlangen und therapeutisch wegweisend für ernährungsbedingtes kardiovaskuläres Risiko sein.

Therapie des Typ-2-Diabetes

V-43

Ghrelinanstieg nach Gewichtsreduktion durch Magenbandplastik

* Spranger J.⁽¹⁾, Kopp H.⁽²⁾, Krzyzanowska K.⁽²⁾, Möhlig M.⁽¹⁾, Otto B.⁽³⁾, Tschöp M.⁽⁴⁾, Pfeiffer A.⁽¹⁾, Scherthaner G.⁽²⁾

⁽¹⁾ Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke und Charité-Universitätsmedizin Berlin, Abteilung für Klinische Ernährung und Abteilung für Endokrinologie, Diabetes und Ernährung, Potsdam/Berlin, ⁽²⁾ Hospital Rudolfstiftung, Medizinische Klinik, Wien, ⁽³⁾ Klinik-Innenstadt, Klinikum der Universität München, Medizinische Klinik, München, ⁽⁴⁾ University of Cincinnati, Department of Psychiatry, Cincinnati

Fragestellung: Ghrelin ist das stärkste derzeit bekannte orexigene Hormon. Es wird im Magen produziert und fällt unmittelbar nach Nahrungsaufnahme ab. In verschiedenen Studien wurde diskutiert, dass verminderte Ghrelinspiegel für die erfolgreiche Gewichtsreduktion nach Magenbypass-OP verantwortlich sein könnten. Über den Ghrelinspiegel im Verlauf bei Patienten vor und nach Magenbandplastik liegen bislang keine klaren Daten vor.

Material und Methoden: Wir haben insgesamt 49 morbid adipöse Patienten untersucht. Anthropometrische und laborchemische Daten wurden vor und ca. 14 Monate nach Magenbandplastik erhoben. Ghrelin wurde immunologisch bestimmt.

Ergebnisse: Durch die Magenbandplastik wurde bei den Patienten eine deutliche Gewichtsreduktion (BMI $48,1 \pm 1,1$ (SEM) vs. $32,9 \pm 1,2$ kg/m²; $p < 0,001$), eine Verbesserung der Insulinresistenz (HOMA-R $7,01 \pm 1,06$ vs. $2,6 \pm 0,24$; $p < 0,001$) und eine deutliche Verbesserung einzelner Lipidstoffwechselfparameter (Triglyzeride: 175 ± 13 vs. 115 ± 9 mg/dl; $p < 0,001$; HDL $49,4 \pm 1,6$ mg/dl vs. $56,6 \pm 2,3$; $p = 0,002$) induziert. Im Gegensatz zu publizierten Daten nach Magen-Bypass kam es bei unseren Patienten nach Magenbandplastik trotz sehr erfolgreicher Gewichtsreduktion zu einem deutlichen Anstieg der zirkulierenden Ghrelinspiegel (64 ± 6 pg/ml vs. 109 ± 12 pg/ml; $p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Ghrelin spielt bei der Induktion einer Gewichtsreduktion durch Magenbandplastik keine wesentliche Rolle.

V-44

Wirkprofile von Humaninsulin und Insulin Aspart bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 in verschiedenen Altersgruppen

* Krones R.⁽¹⁾, Heise T.⁽²⁾, Basir S.⁽¹⁾, Klein C.⁽¹⁾, Kaiser M.⁽³⁾, Sawicki P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ St. Franziskushospital, Innere Medizin, Köln, ⁽²⁾ Profil Institut für Stoffwechselforschung GmbH, Neuss, ⁽³⁾ Novo Nordisk Pharma GmbH, Mainz

Fragestellung: Unvorhersehbare Schwankungen der verzehrten Kohlenhydratmenge, Polymorbidität, Polymedikation und die verhältnismäßig lange Wirkdauer von Humaninsulin (HI) er-

höhen das Hypoglykämierisiko gerade bei alten Menschen. Die Pharmakodynamik (PD) verschiedener Insuline wurde jedoch bisher noch nicht bei älteren Typ-2-Diabetikern untersucht.

Material und Methoden: Die PD von Insulin Aspart (IAsp) und HI wurde bei älteren (DM2-A) (> 65 Jahre) und mittelalten (DM2-MA) (bis 60 Jahre) Typ-2-Diabetikern untersucht. 19 DM2-A (Alter 70 ± 5 LJ, BMI 30 ± 4 kg/m², HbA_{1c} $7,7 \pm 1,3$ %) und 16 DM2-MA (Alter 54 ± 6 LJ, BMI 31 ± 4 kg/m², HbA_{1c} $8,2 \pm 1$ %) nahmen an dieser doppelblinden Cross-over-Studie teil und erhielten an 2 Versuchstagen 0,3 IE/kg IAsp und HI unter Glukose-Clamp-Bedingungen (Blutzuckerziel 10 % unterhalb des Nüchternblutzuckers, Clampdauer 10 h).

Ergebnisse: IAsp wies im Vergleich zu Normalinsulin eine höhere frühmetabolische Aktivität (AUC der Glukose-Infusionsrate (GIR) in den ersten 3 Stunden (AUC-GIR(0–3 h)) und eine geringere spätmetabolische Aktivität (AUC-GIR(5–10 h)) auf (DM2-MA: AUC-GIR(0–3 h), IAsp 203 ± 107 vs. HI 98 ± 64 ($p = 0,004$); AUC-GIR(5–10 h) 591 ± 266 vs. 724 ± 320 ($p = 0,018$); DM2-A: AUC-GIR(0–3 h) 486 ± 339 vs. 247 ± 143 ($p < 0,001$); AUC-GIR(5–10 h) 353 ± 188 vs. 683 ± 372 mg/kg ($p < 0,001$)). Der Wirkbeginn sowohl von IAsp als auch von HI lag bei DM2-A früher als bei DM2-MA (Zeit bis zur halbmaximalen Wirkung: DM2-MA: 131 ± 24 vs. 186 ± 34 ; DM2-A: 71 ± 27 vs. 109 ± 20 min (jeweils $p < 0,001$ für DM2-MA vs. DM2-A)), bei der spätmetabolischen Aktivität gab es dagegen nur bei IAsp einen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen ($p = 0,01$).

Schlussfolgerung: Insulin Aspart zeigt bei mittelalten und besonders ausgeprägt bei älteren Patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus eine schnellere und kürzere Wirkung als Humaninsulin. Eine postprandiale Gabe einer an die tatsächlich aufgenommene Kohlenhydratmenge angepassten Dosis von IAsp könnte daher theoretisch die Häufigkeit von Hypoglykämien gerade bei alten Patienten vermindern. Entsprechende klinische Interventionsstudien sind aufgrund unserer Ergebnisse sinnvoll.

V-45

IRIS-II Studie: Epidemiologische Analysedaten von Patienten mit Typ-2-Diabetes ohne Insulintherapie in Deutschland

* Pfützner A.⁽¹⁾, Standl E.⁽²⁾, Strotmann H.⁽³⁾, Schulze J.⁽⁴⁾, Hohberg C.⁽¹⁾, Pahlers S.⁽¹⁾, Lübben G.⁽⁵⁾, Forst T.⁽¹⁾

⁽¹⁾ IKFE, Mainz, ⁽²⁾ Universitätsklinik, Innere Medizin, München-Schwabing, ⁽³⁾ IKFE Rotenburg, Rotenburg/Fulda, ⁽⁴⁾ Universitätsklinik, Innere Medizin III, Dresden, ⁽⁵⁾ Takeda Pharma, Aachen

Ein Ziel dieser bundesweiten epidemiologischen Querschnittsuntersuchung war die Erfassung epidemiologischer Daten von

Patienten mit Typ-2-Diabetes ohne Insulintherapie. An der Untersuchung nahmen 4265 Patienten aus 149 Studienzentren teil (2121 Frauen, 2144 Männer, Alter(MW ± STD): 64 ± 11 J.; Diabetesdauer: 5,4 ± 5,6 J.; BMI: 30,1 ± 5,5 kg/m², HbA_{1c}: 6,8 ± 1,3 %). Nach Abnahme von Nüchternblut zur Bestimmung von Glukose, Insulin, intaktem Proinsulin, Lipiden und anderen Markern, füllten die Patienten einen standardisierten Fragebogen aus. Die häufigste Medikation (Monotherapie oder in Kombinationen, Behandlungsdauer 4,3 ± 4,6 J.) war Metformin (42 %; Sulfonylharnstoffe: 34 %, Diät: 27 %, Glitazone: 6 %, Glinide: 5 %, und α-Glukosidaseinhibitoren: 4 %, gar keine Therapie: 7 %). Ein Hochdruck fand sich bei 3133 Patienten (74 %; mittlere Hochdruckdauer: 10 ± 9 J.; syst.144 ± 18/diast. 84 ± 10 mmHg, von denen 2851 auch entsprechend behandelt wurden (ACE-Hemmer 59 %; β-Blocker 46 %; Diuretika 41 %). Die Einnahme von Statinen gaben 579 Patienten (14 %) an (Fibrate: 226 Patienten, 5 %). An einer strukturierten Diabetikerschulung hatten 1805 Patienten (42,3 %) teilgenommen. Der HbA_{1c} war hierbei umso niedriger je kürzer die letzte Schulung zurücklag (p < 0,001). Regelmäßige körperliche Betätigung wurde von 3656 Patienten (85,7 %) angegeben (Spazierengehen: 70 %, Fahrradfahren: 27 %, Laufen: 4 %). Bei den Sekundärkomplikationen fanden sich folgende Prävalenzen: 14,9 % Neuropathie, 17,4 % Nephropathie, 6,2 % Retinopathie, 19,3 % KHK, 6,2 % Schlaganfall und 6,6 % AVK. Patienten mit Insulinresistenz (HOMA > 2; 3135 Pat., 73,1 %) hatten höhere Werte für HbA_{1c}, BMI, Glukose, Insulin, intaktes Proinsulin und Triglyzeride und niedrigere HDL-Werte sowie eine höhere Prävalenz für Neuropathie (1,23 x), Nephropathie (1,14 x) und KHK (1,10 x). Die Mehrzahl der oral oder diätbehandelten Typ-2-Patienten in dieser Studie hatten eine Insulinresistenz mit erhöhter Prävalenz von mikro- und makrovaskulären Komplikationen und insgesamt schlechtere Laborwerte als die insulinsensitiven Patienten.

V-46

Einfluss von Exenatide auf die erste und zweite Phase der Insulin-Sekretion nach intravenöser Glukose-Injektion bei Patienten mit Typ-2-Diabetes

* Fehse F.⁽¹⁾, Trautmann M.⁽²⁾, Holst J.⁽³⁾, Halseth A.⁽⁴⁾, Fineman M.⁽⁴⁾, Kim D.⁽⁴⁾, Nauck M.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Diabeteszentrum, Bad Lauterberg, Deutschland, ⁽²⁾ Lilly Forschung GmbH, Hamburg, Deutschland, ⁽³⁾ Universität Kopenhagen, Kopenhagen, Dänemark,

⁽⁴⁾ Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, USA

Fragestellung: Exenatide (synthetisches Exendin-4, EX) erhöht die Insulin-Sekretion (IS) unter Hyperglykämie. Diese Studie untersuchte, ob EX die 1. und 2. Phase der IS nach Bolus-Gabe von intravenöser (iv) Glukose bei Patienten mit Typ-2-Diabetes (T2DM) erhöht.

Material und Methoden: 13 Patienten mit T2DM [2F/11M, Alter 56 ± 7 J, BMI 31,7 ± 2,4 kg/m², HbA_{1c} 6,6 ± 0,7 %, mit Diät allein (N = 1), Metformin (N = 10) oder Acarbose (N = 2) vorbehandelt] wurden in randomisierter Reihenfolge mit 12 Stoffwechselfgesunden [SWG, normale Glukosetoleranz, 3F/9M, Alter 57 ± 9 J, BMI 32 ± 2,9 kg/m²] welche kein EX erhielten, verglichen. Patienten mit T2DM erhielten eine Insulin (IN)-Infusion, um die Blutglukose über ~3 Std auf 80–100 mg/dL zu verringern. Danach erhielten sie entweder eine 300-Min-Infusion von Placebo (PBO) oder EX. 180 Min nach der PBO- oder EX-Infusion (und 30 Min nach Beendigung der IN-Infusion) wurde

ein iv Glukose-Bolus (0,3g/KG) gegeben. Glukose, IN, C-Peptid und Glukagon wurden gemessen, und IS wurde über eine Dekonvolutionsanalyse des C-Peptides ermittelt.

Ergebnisse: Vor Einsatz des Glukose-Bolus lag die BZ-Konzentration in allen Gruppen bei ~95 mg/dL. Im Vergleich zu PBO erhöhte EX die AUCs von IN (P < 0,005) und C-Peptid (P < 0,005) während der 1. (0–10 Min) und 2. Phase (20–120 Min) der IS um das 2 bis 4-fache, und führte ebenfalls zu einem Anstieg der IS während der gesamten 120 Min. EX-behandelte Patienten mit T2DM wiesen ähnliche IS-Muster und höhere IS-Raten als SWG auf, im Gegensatz zu PBO-behandelten T2DM, die im Vergleich zu SWG während der 1. Phase geringere IS-Raten hatten. Die Glukagon-Konzentrationen sanken nach iv Glukose-Gabe in allen Gruppen. Die EX-Plasmakonzentrationen lagen im Bereich der nach subkutaner Gabe in klinischen Studien erzielten Werte.

Schlussfolgerung: Diese Daten zeigen, dass iv EX die 1. und 2. Phase der IS nach iv Gabe von Glukose verstärkt und damit die frühen Sekretionsmuster bei Stoffwechselfgesunden nachahmt. Dieser Befund stimmt gut mit der Erkenntnis überein, dass EX die Betazell-Funktion akut verbessert.

V-47

Eignen sich Risikotabellen zur kardiovaskulären Prognose bei Typ-2-Diabetes?

* Lenz M.⁽¹⁾, Mühlhauser I.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universität Hamburg, Fachwissenschaft Gesundheit, Hamburg

Fragestellung: Eignen sich verfügbare Risikotabellen zur Bestimmung des kardiovaskulären Risikos bei Patienten mit Typ-2-Diabetes in Deutschland?

Methode: Systematische Literaturanalyse zu Risikoinstrumenten und dazugehörigen Validierungsstudien (interne und externe Evidenz). Die Bewertung erfolgte nach Kriterien zur Beurteilung von Prognosestudien einschließlich:

- 1) Diskriminationsfähigkeit zwischen Gruppen mit unterschiedlichen Risiken;
- 2) Prädiktive Werte zur Vorhersage des individuellen Risikos;
- 3) Anwendbarkeit für Patienten mit Diabetes;
- 4) Übertragbarkeit auf Deutschland.

Ergebnisse: Folgende Instrumente wurden analysiert: Framingham-, New Zealand-, Sheffield-, Joint British Guideline Charts, PROCAM, European Joint Task Force, SCORE, UKPDS Risk Engine. Alle Instrumente außer PROCAM, SCORE und UKPDS Risk Engine beruhen auf der Framingham-Population. Mit diesen wird das kardiovaskuläre Risiko für mitteleuropäische Populationen um mindestens 50 % überschätzt bei erheblicher regionaler Varianz auch innerhalb eines Landes. Das SCORE Instrument müsste vor Anwendung in Deutschland auf regionale kardiovaskuläre Mortalitätsdaten kalibriert werden. Diabetes ist in diesem Instrument nicht als eigener Risikofaktor berücksichtigt. PROCAM basiert auf einer nicht populationsbezogenen, ausschließlich männlichen Kohorte mit unzureichender Teilnehmerrate (etwa 60 %). Ein Vergleichsstandard ist nicht definiert. Beim externen Vergleich unterschiedlicher Risikotabellen sind Testqualitäten wie Sensitivität, Spezifität und ROC-Statistik erwartungsgemäß meist deutlich schlechter (ROC um 60 %) als bei interner Validierung (ROC bis zu 80 %). Die Übereinstim-

mung ist mäßig (kappa um 50 %). Externe Validierungen bei Diabetespopulationen fehlen. Eine Anpassung an sozial-schichtspezifische und ethnische Unterschiede erfolgt bei keinem der Instrumente. Ein valides diabetesspezifisches Instrument liegt bisher nicht vor.

Schlussfolgerungen: Verfügbare Risikotabellen sind unzureichend validiert. Ein unkritischer Einsatz dieser Instrumente könnte zu nicht abschätzbaren Fehlvorhersagen führen.

V-48

Therapiepräferenz und Behandlungsqualität unter konventioneller (CIT) und supplementärer präprandialer (SIT) Insulintherapie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und Sekundärversagen – eine prospektive, randomisierte Cross-over-Studie

* Kloos C.⁽¹⁾, Heckmann B.⁽¹⁾, Helbig C.⁽¹⁾, Braun A.⁽¹⁾, Schiel R.⁽¹⁾, Franke I.⁽¹⁾, Müller U.A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Klinikum der FSU Jena, Innere Medizin, Jena

Ziel: Therapiepräferenz und Stoffwechseleinstellung unter Ther. mit präprandialem Normalinsulin (SIT) und konventioneller Insulintherapie (CIT) mit Mischinsulin.

Methode: In einer randomisierten prospektiven Studie führten 40 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 im mittleren Lebensalter nach Sekundärversagen der Therapie mit oralen Antidiabetika und/oder Diät, nach strukturierter Schulung, CIT oder SIT über je 8 Wochen durch und entschieden sich anschließend, welche Therapie (CIT oder SIT) sie weiterführen wollten. Gesamtdauer 20 Wo., davon 4 Wo. Run-in, 8 Wo. Therapie 1, nach Cross-over 8 Wo. Therapie 2.

Ergebnisse: Gesamtgruppe: Alter 55,9 Jahre, Diabetesdauer 7,7 Jahre, Gew. 84,5 kg, BMI 29,35 kg/m², HbA_{1c} 8,9 %, relativer HbA_{1c} 1,92-fach erhöht, 26 berufstätig, 14 Rente oder arbeitslos. Gruppen n. Rand.: CIT n=21/SIT n=19, Alter 57,3/54,7 J. (p=0,84), Diabetesdauer 7,15/8,20 J. (p=0,38), Gew. 86,1/82,9 kg (p=0,35), BMI 29,35/29,34 kg/m² (p=0,13), HbA_{1c} 8,67/9,23 % (p=0,06), syst. RR 137,6/137,5 mmHg (p=0,68), diast. RR 81,6/80,9 mmHg (p=0,28). Im Studienverlauf verbesserte sich der HbA_{1c} signifikant (8,9 auf 7,24 %; p<0,001), der Blutdruck änderte sich nicht (syst. 137 auf 136 mmHg, p=0,56; diast. 81 auf 79 mmHg, p=0,34). Gew. (84,5 auf 86,3 kg, p=0,02) und BMI (29,35 auf 29,98, p=0,02) stiegen signifikant an. 21 Pat. votierten für CIT (berufstätig 13/Rente 8), 19 Pat. für SIT (berufstätig 13/Rente 6). Im Verlauf kam es zu 10 leichten Hypoglykämien (CIT 4/SIT 6); keine schweren Hypoglykämien (Glukagon/Glukose i. v.; Hospitalisation). 33 Pat. behielten die zuletzt durchgeführte Therapie.

Schlussfolgerungen: Beide Therapieformen verbessern die Glykämie signifikant und sind sicher. Schwere Hypoglykämien traten im Verlauf nicht auf, leichte bei beiden etwa gleich häufig. Die Pat. ließen keine Therapiepräferenz erkennen. Berufstätigkeit beeinflusste die Entscheidung nicht. Die überwiegende Mehrzahl der Pat. behielt die zuletzt angewandte Therapieform bei (Entscheidung unbeeinflusst vor Arztkontakt).

V-49

Eine intensive Cholesterinsenkung mit einem HMG-CoA Reduktasehemmer führt bei Typ 2-Diabetikern nicht zu einer Verbesserung der peripheren Endothelfunktion

* Balletshofer B.⁽¹⁾, Rittig K.⁽²⁾, Petzina D.⁽³⁾, Häring H.2

⁽¹⁾ Medizinische Klinik, Abt. IV, Tübingen, ⁽²⁾ Universität Tübingen, Abt. IV, Tübingen, ⁽³⁾ Bayer Vital GmbH, Leverkusen

Zahlreiche Studien belegen eine verminderte NO-Bioverfügbarkeit bei Patienten mit Störungen im Glukosemetabolismus, potentiell mit verantwortlich für den akzelerierten Verlauf der Atherosklerose bei diesen Patienten. HMG-CoA-Reduktasehemmer führen zu einer Verbesserung der Endothelfunktion im Sinne einer Steigerung der NO-Produktion im Zellmodell und bei Nichtdiabetikern. Unklar ist, ob sich durch eine Lipidsenkung mit Statinen auch eine Verbesserung der Endothelfunktion bei Typ-2-Diabetikern erzielen lässt.

Design: Randomisierte, doppelblinde, dreiarmlige, Placebo-kontrollierte Interventionsstudie in double-dummy Technik. 58 Patienten mit Typ-2-Diabetes (mittleres Alter 60 ± 8 Jahre). Therapiedauer 12 Wochen Cerivastatin (0,2 mg und 0,8 mg). Die Endothelfunktion wurde mit hochauflösendem Ultraschall (13 MHz) als flussmedierte Vasodilatation der Arteria brachialis erfasst (FMD in %).

Ergebnisse: Die mittlere FMD war mit 4,6 ± 2,1 % für die Gesamtgruppe erwartungsgemäß deutlich eingeschränkt. In der Ausgangsuntersuchung waren die Therapiegruppen (Placebo vs. 0,2 mg vs. 0,8 mg Cerivastatin) sowohl bezüglich der basalen Endothelfunktion (5,18 ± 2,31 %; 3,88 ± 1,68 %; 4,86 ± 2,25 % entsprechend) als auch für die endothelunabhängige Vasodilatation (400 µg Glyceroltrinitrat) vergleichbar. Trotz einer signifikanten Lipidsenkung (LDL-Cholesterin -26,8 ± 13,9 % unter 0,2 mg und -40,3 ± 16,0 % unter 0,8 mg Cerivastatin) zeigte sich kein relevanter Unterschied in der peripheren Endothelfunktion (p=0,52 bzw. p=0,56, ANCOVA). HbA_{1c}, CRP und HDL-Cholesterin zeigten keine signifikanten Veränderungen im Studienverlauf. Bis auf reversible leichte CK-Erhöhungen traten keine schwerwiegenden Nebenwirkungen auf.

Schlussfolgerung: Trotz signifikanter Verbesserung der Lipidparameter unter Cerivastatin konnte keine Verbesserung der Endothelfunktionswerte für die untersuchten Typ-2-Diabetiker erzielt werden. Dies unterstreicht die Notwendigkeit eines multimodalen Therapieansatzes unter Berücksichtigung aller Risikofaktoren des metabolischen Syndroms bei Diabetikern. Die Studie wurde mit dem Zeitpunkt der freiwilligen Marktwegnahme von Cerivastatin durch die Bayer Vital GmbH vorzeitig abgebrochen.

V-50

Keine Beeinträchtigung der Hypoglykämie-Gegenregulation mit Glucagon durch das lang wirksame GLP-1 Derivat Liraglutide (NN2211) bei Typ-2-Diabetes

* El-Ouaghli A.⁽¹⁾, Hompesch M.⁽²⁾, Jacobsen J.⁽³⁾, Elbroend B.⁽⁴⁾, Nauck M.⁽¹⁾
⁽¹⁾Diabeteszentrum Bad Lauterberg, Bad Lauterberg, ⁽²⁾Profil Institute for Clinical Research Inc., Chula Vista/USA, ⁽³⁾Novo Nordisk, Bagsvaerd/Dänemark, ⁽⁴⁾Novo Nordisk, Princeton/USA

Fragestellung: Das GLP-1-Analogon Liraglutide stellt eine neue Therapieoption des Typ-2-Diabetes dar. GLP-1 hemmt die Glucagon-Sekretion, so dass eine Beeinträchtigung der Gegenregulationsmechanismen im Rahmen einer Hypoglykämie denkbar wäre. Diese Studie prüfte die Hypoglykämie-Gegenregulation unter einer Therapie mit Liraglutide gegen Placebo.

Methodik: 11 Patienten mit Typ-2-Diabetes (3 F., Alter 56 ± 9 Jahre, BMI $30,4 \pm 3,4$ kg/m², Diabetesdauer 6 ± 3 Jahre, Nüchtern-Plasmaglukose $8,4 \pm 2,6$ mmol/l, HbA_{1c} $7,5 \pm 1,1$ %) wurden in einer plazebokontrollierten Cross-Over-Studie untersucht. Liraglutide ($7,5$ µg/kg) wurde als subcutane Einmalgabe am Mitternacht verabreicht. Mittels Clamp-Technik wurde am folgenden Morgen die kapilläre Blutglukose für jeweils 60 min. auf Werte von $4,3/3,7/3,0$ und $2,3$ mmol/l einreguliert. Parallel wurden die Konzentrationen von Blutglukose, Insulin, C-Peptid, Glucagon, Cortisol, Wachstumshormon sowie Katecholaminen bestimmt.

Ergebnisse: Liraglutide reduzierte die Nüchtern-Plasmaglukose auf $7,5 \pm 2,4$ mmol/l (Placebo: $8,1 \pm 3,0$ mmol/l). Hypoglykämie führte zu deutlichen gegenregulatorischen Konzentrationserhöhungen von Glucagon (1,6fach), Cortisol (2,2fach), Wachstumshormon (6,6fach), Adrenalin (14fach) und Noradrenalin (2,3fach; alle $p < 0,0001$, ANOVA). Die Hypoglykämiereaktionen unter Liraglutide vs. Placebo wiesen keine signifikanten Unterschiede auf, mit Ausnahme von Wachstumshormon (eingeschränkte Hypoglykämieantwort unter Liraglutide, $p = 0,034$). Die Insulin-Sekretionsraten während der hypoglykämischen Clamp-Phasen zeigten keine signifikanten Unterschiede, während unter anschließender intravenöser Glukosegabe die Sekretionsantwort unter Liraglutide signifikant höher war als unter Placebo.

Schlussfolgerung: Liraglutide reduziert die Nüchtern-Glykämie, beeinträchtigt jedoch nicht die Hypoglykämie-Gegenregulationen, mit Ausnahme einer eingeschränkten Reaktion des Wachstumshormons. Die Glukagonantwort bleibt erhalten. Wie bei GLP-1 ist die insulinotrope Wirkung von Liraglutide glukoseabhängig.

V-51

Wirksamkeit und Sicherheit von Rosiglitazon (Avandia®) in Kombination mit Glimperid (Amaryl®)

* Hamann A.⁽¹⁾, Matthaei S.⁽²⁾, Mauersberger H.⁽³⁾, Thom K.⁽⁴⁾, Banik N.⁽⁵⁾, Seidel D.⁽⁶⁾
⁽¹⁾Universität Heidelberg, Abt. Innere Med. I, Heidelberg, ⁽²⁾Christliches Krankenhaus, Diabetes-Zentrum, Quakenbrück, ⁽³⁾Facharzt für Innere Medizin, Diabetologe, Villingen-Schwenningen, ⁽⁴⁾GlaxoSmithKline GmbH & Co.KG, Klinische Forschung, Mannheim, ⁽⁵⁾GlaxoSmithKline GmbH & Co.KG, Biometrie und Data Management, München, ⁽⁶⁾GlaxoSmithKline GmbH & Co.KG, Medizin, München

Fragestellung: Untersuchung der Wirksamkeit und Sicherheit von Rosiglitazon (ROSI) 4 mg bzw. 8 mg in Kombination mit Glimperid (GLIM) 3 mg im Vergleich zu Glimperid allein.

Material und Methoden: In eine randomisierte, doppelblinde, placebo-kontrollierte Studie wurden 172 mit oraler antidiabetischer Monotherapie vorbehandelte Patienten mit Typ-2-Diabetes aufgenommen. Nach einer 4–8 wöchigen Run-in-Phase mit Auftitration auf 3 mg GLIM wurden die Patienten über 26 Wochen mit 3 mg GLIM in Kombination mit ROSI 4 mg ($n = 56$), ROSI 8 mg ($n = 59$) oder Placebo ($n = 57$) behandelt.

Ergebnisse: Zu Studienbeginn bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen: Alter 62,8 Jahre, BMI $29,2$ kg/m², Diabetesdauer 6,7 Jahre, HbA_{1c} 8,1 %, Nüchternplasmaglukose (FPG) 186 mg/dl (jeweils Mittelwert). Nach 26 Wochen wurde der HbA_{1c}-Wert mit GLIM plus ROSI 4 mg bzw. 8 mg statistisch signifikant vs. Baseline ($-0,63$ %, $p = 0,0002$ bzw. $-1,17$ %, $p < 0,00001$) und vs. Placebo ($-0,55$ %, $p = 0,03$ bzw. $-1,10$ %, $p = 0,0001$) verbessert. 43 % bzw. 68 % der Patienten mit ROSI 4 mg bzw. 8 mg erreichten am Ende der Studie einen HbA_{1c}-Wert < 7 %, verglichen mit 32 % der Patienten mit GLIM allein. Auch der FPG-Wert wurde mit GLIM plus ROSI 4 mg bzw. 8 mg statistisch signifikant vs. Baseline (-21 mg/dl, $p = 0,002$ bzw. -43 mg/dl, $p < 0,00001$) und vs. Placebo (-18 mg/dl, $p = 0,0877$ bzw. -40 mg/dl, $p = 0,0001$) reduziert. Unter GLIM plus ROSI 4 mg bzw. 8 mg kam es zu einer leichten Gewichtszunahme ($+0,9$ kg, n. s., bzw. $2,0$ kg, $p = 0,006$), während das Gewicht unter GLIM allein konstant blieb. 5 (2,9 %) Patienten hatten im Studienverlauf ein schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis (SUE), 2 Patienten unter GLIM + Placebo und 3 unter GLIM + ROSI 4 mg, wobei kein SUE in Zusammenhang mit Flüssigkeitsretention oder Hypoglykämie stand.

Schlussfolgerung: Die Therapie mit Rosiglitazon in Kombination mit Glimperid ist effektiver als Glimperid allein und dabei sicher und gut verträglich. Mit nur zwei Tabletten pro Tag konnte bei der Mehrzahl der Patienten eine gute Blutzuckereinstellung erreicht werden.

Grundlagenforschung Typ-2-Diabetes

V-52

Palmitat induziert, im Gegensatz zu ungesättigten Fettsäuren, die Expression von Interleukin-6 in humanen Myotuben über eine Proteasom-abhängige Aktivierung von Nuclear Factor kappa B

* Weigert C.⁽¹⁾, Brodbeck K.⁽¹⁾, Machicao F.⁽¹⁾, Häring H.⁽¹⁾, Schleicher E.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Med. Klinik IV, Tübingen

Fragestellung: Erhöhte Konzentrationen an zirkulierendem Interleukin-6 (IL-6), Insulin und auch an freien Fettsäuren (FFA) sind mit gestörter Insulinwirkung in Adipösen und Typ-2-Diabetikern assoziiert. Ein kausaler Zusammenhang zwischen erhöhten FFA im Plasma und den IL-6 Spiegeln wurde jedoch noch nicht gezeigt. Da sich Insulinresistenz u. a. im Skelettmuskel manifestiert, untersuchten wir in humanen Myotuben, ob die IL-6 Expression durch FFA reguliert wird.

Material und Methoden: Humane Myotuben wurden mit versättigten und ungesättigten FA kultiviert, die IL-6 mRNA und Protein-Konzentration mittels RT-PCR und ELISA gemessen, beteiligte Signalwege durch entsprechende Inhibitoren untersucht und die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B mittels EMSA und Westernblot. Der Effekt von IL-6 auf die Myotuben und die Insulinwirkung wurden durch phosphospezifische Antikörper in Westernblots getestet.

Ergebnisse: Gesättigte FA wie Palmitat ab einer Konzentration von 0.25 mM induzieren die IL-6 mRNA-Expression und Protein-Sekretion über einen Proteasom-abhängigen Mechanismus, der zu einer raschen und chronischen Aktivierung von NF- κ B führt. Insulin, Glukose oder ungesättigte FA zeigen keinen aktivierenden Effekt, im Gegenteil, Linoleat als ungesättigte FA verhindert sogar die Palmitat-induzierte IL-6-Produktion. Da die Blockade des Palmitatmetabolismus durch den Acyl-CoA-Synthetase-Hemmer Triacsin C die IL-6-Expression nicht reduziert, scheint Palmitat per se für die Effekte verantwortlich zu sein. Humane Myotuben sind zudem Zielzellen für IL-6, gezeigt als Phosphorylierung von STAT-3, jedoch hat – im Gegensatz zu Leberzellen – IL-6 keinen hemmenden Einfluss auf die Insulin-stimulierte Assoziation von Insulinrezeptorsubstrat-1 mit der PI-3-Kinase.

Schlussfolgerung: Somit induzieren Stoffwechselmarker wie gesättigte FA die IL-6-Expression in Myotuben, wobei unmetabolisierte FA als Signalmoleküle wirken. Daher könnte die Zusammensetzung der zirkulierenden FA die IL-6-Expression beeinflussen.

V-53

Abschwächung der Insulinsignalübertragung durch Phosphorylierung von Insulinrezeptor-Substrat-1 an Serin 318

* Lehmann R.⁽¹⁾, Moeschel K.⁽¹⁾, Oeckinghaus A.⁽¹⁾, Beck A.⁽¹⁾, Weigert C.⁽¹⁾, Schleicher E.⁽¹⁾, Häring H.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Universitätsklinik, Innere Medizin 4, Tübingen

Fragestellung: Die Hyperinsulinämie-induzierte Serinphosphorylierung von Insulinrezeptor-Substrat-1 (IRS-1) durch Protein-Kinase (PKC)-zeta schwächt die Insulinsignalübertragung ab. Unlängst wurde von uns Serin (S)-318 in IRS-1 als eine Haupt-*in-vitro*-Phosphorylierungsstelle von PKC-zeta identifiziert. Fragestellung: (1) welche Insulin-stimulierten Signalübertragungswege werden durch pS-318 beeinflusst; und (2) sind S-318 und S-307 unabhängige Insulin-vermittelte Phosphorylierungsstellen in IRS-1?

Material und Methoden: Durch Mutation von S-318 \rightarrow Ala in IRS-1 wurde der Einfluss auf die Insulinsignalübertragung untersucht. Zur Untersuchung der S-318-Phosphorylierung in Zell-extrakte von BHK-Zellen, die stabil den Insulinrezeptor exprimieren, sowie in Hepatomazellen (HepG2) stellten wir einen polyklonalen Phospho-spezifischen Antikörper her.

Ergebnisse: (1) Die Untersuchung der durch pS-318 beeinflussten Signalübertragungswege zeigte, dass die Mutation von S-318 zu Alanin die PKC-zeta-vermittelte Hemmung der Insulinrezeptor/IRS-1-Wechselwirkung, die abgeschwächte Tyr-Phosphorylierung von IRS-1, sowie die reduzierte Phosphorylierung von Thr-308 in PKB/Akt und die abgeschwächte Phosphorylierung von Thr-202/Tyr-204 in ERK-2 aufhob. (2) Bei der Phosphorylierung von S-318 beobachteten wir einen signifikanten Anstieg nach 60 min Insulin-Stimulation. Im Gegensatz dazu verminderte sich die Tyr-Phosphorylierung von IRS-1 bei zunehmender pS-318. Bei pS-307 stellten wir von 2 min nach 60 min eine ähnlich Zunahme fest. Allerdings detektierten die Antikörper gegen pS-318 und pS-307 Proteine mit unterschiedlichem Molekulargewicht, was durch unterschiedliche IRS-1-Subfraktionen bedingt sein könnte. Außerdem konnten wir mit Hilfe der S-318 zu Ala-Mutanten zeigen, dass die Phosphorylierung von S-307 unabhängig von pS-318 ist.

Schlussfolgerung: Unsere Ergebnisse weisen auf unabhängige Rollen der Phosphorylierung von S-318 und S-307 hin. Außerdem scheint die pS-318 von IRS-1, mindestens zum Teil, zur Hyperinsulinämie-bedingten Hemmung der Insulinsignalübertragung beizutragen.

V-54

Hormonelle Regulation des neuartigen Adipokins „Monocyte Chemoattractant Protein“ (MCP)-1 in 3T3-L1 Adipozyten

* Fasshauer M.⁽¹⁾, Kralisch S.⁽¹⁾, Klier M.⁽¹⁾, Lössner U.⁽¹⁾, Blüher M.⁽¹⁾, Klein J.⁽²⁾, Paschke R.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig, ⁽²⁾ Universität Lübeck, Medizinische Klinik I, Lübeck

Fragestellung: In den letzten Jahren sind verschiedene fettzellseziernierte Proteine, sogenannte Adipokine, beschrieben worden, die potentiell molekulare Bindeglieder für Insulinresistenz und Adipositas sind. Kürzlich wurde das inflammatorische Protein „Monocyte Chemoattractant Protein“ (MCP)-1 als neuartiges Adipokin charakterisiert. Es wird im Fettgewebe bei Adipositas und Insulinresistenz vermehrt exprimiert und vermindert die Insulinsensitivität von 3T3-L1 Adipozyten. Die MCP-1-Expression in Fettzellen wird durch „Tumor Necrosis Factor“ (TNF) α und Insulin stimuliert.

Methodik: Um die hormonelle Regulation von MCP-1 und die beteiligten Signalwege genau zu charakterisieren, wurden 3T3-L1-Adipozyten für unterschiedliche Zeiten mit verschiedenen Insulinresistenz-induzierenden Hormonen behandelt. Die MCP-1 mRNA-Expression wurde mittels quantitativer Echtzeit-RT-PCR bestimmt.

Ergebnisse: Neben Insulin und TNF α stimulierten auch Wachstumshormon (GH) und Interleukin (IL)-6 die MCP-1-Expression zeitabhängig maximal 8-fach (GH) und 2,5-fach (IL-6) während das Glukokortikoid Dexamethason eine Inhibition der MCP-1-mRNA-Synthese auf 25 % des Ausgangswertes bewirkte. Die Stimulation von MCP-1 durch GH und IL-6 war dosisabhängig, wobei signifikante Effekte erstmals sichtbar waren bei 0,5 ng/ml GH und 30 ng/ml IL-6. Durch Einsatz verschiedener pharmakologischer Inhibitoren konnte des Weiteren nachgewiesen werden, dass Janus Kinase 2 und p44/42 Mitogen-aktivierte Protein (MAP)-Kinase die positiven Effekte sowohl von GH als auch von IL-6 bezüglich der MCP-1-Synthese medieren.

Schlussfolgerungen: Unsere Daten zeigen eine sensitive Regulation des inflammatorischen Chemokins MCP-1 durch Insulinresistenz-modulierende Hormone. Sie stützen damit das Konzept von MCP-1 als ein neuartiges, die Insulinsensitivität vermindernendes Adipokin, das eine Rolle in der Entstehung von Insulinresistenz und Adipositas spielen könnte.

V-55

Störungen im Energiestoffwechsel als pathophysiologische Ursache der Adipositasprädisposition bei der New-Zealand Obese (NZO) Maus

* Jürgens H.⁽¹⁾, Schürmann A.⁽¹⁾, Kluge R.⁽¹⁾, Klaus S.⁽²⁾, Joost H.⁽¹⁾, Tschöp M.⁽³⁾

⁽¹⁾ Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Pharmakologie, Nuthetal,

⁽²⁾ Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Energiestoffwechsel, Nuthetal,

⁽³⁾ University of Cincinnati, Department of Psychiatry, Obesity Research Center, Cincinnati, OH, USA

Fragestellung: Die New-Zealand Obese (NZO)-Maus, die eine polygenetisch bedingte Adipositas mit Typ-2-Diabetes entwickelt, ist ein ideales Tiermodell zur Untersuchung der Mechanismen der Adipositasentstehung und der Pathogenese des me-

tabolischen Syndroms. Ziel unserer Untersuchung war es, in der NZO-Maus bereits vor der Entwicklung der Adipositas Störungen im Energiestoffwechsel zu identifizieren, die als kausale Pathomechanismen in Frage kommen.

Material und Methoden: Von je 5 Männchen des NZO- und C57BL/6J-Stamms wurde im Alter von 7–8 Wochen Körpergewicht und -zusammensetzung und Nahrungsaufnahme bestimmt. Mittels indirekter Kalorimetrie wurden Thermoneutralzone und Gesamtenergieumsatz erfasst und mit einem Telemetrie-System die kontinuierliche Messung von Körpertemperatur und lokomotorischer Aktivität durchgeführt. Zur Identifizierung eventueller Thermogenesestörungen wurden die Messungen auch unter Kälteexposition (+4 °C) durchgeführt.

Ergebnisse: Die Körpertemperatur der NZO-Mäuse war im Vergleich zu C57BL/6J-Mäusen (B6) im 24h-Mittel um ca. 1 °C niedriger (NZO: 36,68 \pm 0,19 °C, B6: 37,61 \pm 0,30 °C, $p < 0,05$). Auch der Gesamtenergieumsatz der NZO-Maus war niedriger als der der B6-Kontrolle ($p = 0,02$, NZO: 1,51 \pm 0,04 kJ \cdot d⁻¹ \cdot g⁻¹, B6: 1,69 \pm 0,04 kJ \cdot d⁻¹ \cdot g⁻¹) und deutet ebenfalls auf eine reduzierte Thermogenese hin. Während der über 24 h gemessene Respiratorische Quotient (RQ) zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede aufwies, ließ bei der NZO-Maus ein RQ > 1 in der nachtaktiven Phase eine gesteigerte Lipogenese vermuten. Die lokomotorische Aktivität unterschied sich bei 22 °C nicht signifikant, allerdings schien die NZO-Maus die Aktivität bei 4 °C steigern zu müssen, um einen Körpertemperaturabfall zu verhindern.

Schlussfolgerung: Geringere Körperkerntemperatur und der niedrigere Gesamtenergieumsatz deuten auf eine Thermogenese-störung als pathophysiologische Ursache der Adipositasprädisposition bei der NZO-Maus hin.

V-56

Adiponectin weist keinen anti-lipoapoptotischen Effekt in humanen Inseln auf.

* Staiger K.⁽¹⁾, Staiger H.⁽¹⁾, Brendel M.⁽²⁾, Brandhorst D.⁽²⁾, Winter D.⁽²⁾, Bretzel R.⁽²⁾,

Häring H.⁽¹⁾, Kellerer M.⁽³⁾

⁽¹⁾ UKT, Med. Klinik IV, Tübingen, ⁽²⁾ Universität Gießen, Innere Medizin III, Gießen,

⁽³⁾ Marienhospital, Innere Medizin I, Stuttgart

Fragestellung: Fettsäure-induzierte Apoptose (Lipoapoptose) von Beta-Zellen spielt bei der Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 eine wichtige Rolle. Dem Adipokin Leptin werden eine Verminderung der basalen Apoptoserate sowie anti-lipoapoptotische Effekte zugeschrieben. Wir untersuchten hier, ob humane Inseln Rezeptoren für das Adipokin Adiponectin (AdipoR1 und AdipoR2) exprimieren und ob Adiponectin ähnlich wie Leptin eine Verminderung der Apoptoserate hervorruft.

Material und Methoden: Humane Inseln wurden aus drei verschiedenen Organspendern isoliert. Die Expression der Adiponectin-Rezeptor-mRNA in humanen Inseln wurde mittels RT-PCR bestimmt. Apoptose wurde mittels Zellzyklusanalyse (sub-G1-Bildung) gemessen.

Ergebnisse: Humane Inseln exprimieren im Mittel 2,3fach mehr AdipoR2- als AdipoR1-mRNA (852 versus 369 fg/mg Total-RNA). Behandlung humaner Inseln mit Palmitat (1 mM, 72 h)

fürte annähernd zu einer Verdopplung der Apoptoserate. Inkubation der Inselzellen mit Stearat (1 mM, 72 h) induzierte einen über 3fachen Anstieg der basalen Apoptoserate. Behandlung humaner Inseln mit Adiponectin (10 µg/ml, 72 h) reduzierte die basale Apoptoserate nicht signifikant ($16 \pm 3,2\%$ versus $19 \pm 6,4\%$ sub-G1-Zellen) und schützte nicht vor Palmitat- oder Stearat-induzierter Apoptose.

Schlussfolgerung: Humane Inseln exprimieren beide Adiponectin-Rezeptoren. Dies spricht dafür, dass Adiponectin eine Rolle in humanen Inseln spielt. Adiponectin hat jedoch keinen Effekt auf die basale Apoptoserate und auch keine anti-lipoapoptotische Wirkung. Die Funktion von Adiponectin in humanen Inseln bedarf daher weiterer Untersuchungen.

V-57

Phosphorylierung von SREBP-1 durch Insulin und PDGF

*Kotzka J.⁽¹⁾, Avci H.⁽¹⁾, Knebel B.⁽¹⁾, Lehr S.⁽¹⁾, Müller-Wieland D.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Forschungsinstitut, Klinische Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf

Fragestellung: Sterol Regulatory Element Binding Protein (SREBP)-1 ist ein entscheidender Regulator des intrazellulären Lipidstoffwechsels und der Insulinsensitivität. Wir konnten zeigen, dass SREBP-1 den Effekt von Insulin und PDGF auf die LDL-Rezeptor-Genexpression vermittelt und ein direktes Substrat der MAP-Kinasenfamilie ERK zu sein scheint. In vitro konnten wir direkt zeigen, dass die transaktive N-terminale (NT) Domäne von SREBP-1 a durch ERK1 und ERK2 phosphoryliert wird. Die Hauptphosphorylierungsstelle wurde als Serin 117 identifiziert. Demzufolge zeigen wir in dieser Studie direkte Hinweise dafür, dass SREBP-1 auch in intakten Zellen phosphoryliert und transaktiviert wird.

Material und Methoden: Nach Inkubation humaner Hepatoma-HepG2 Zellen mit Insulin oder PDGF für 45 Minuten wurden die Proteine von nukleären Extrakten durch SDS-PAGE in Western Blotting mittels eines SREBP-1-Antikörpers untersucht.

Ergebnisse: Insulin oder PDGF führten entsprechend einer Phosphorylierung zu einer signifikant geringeren Migration der nukleären NT-Domäne von SREBP-1 im SDS-PAGE. Dieser Effekt von Insulin und PDGF wurde durch den PI 3-Kinaseinhibitor Wortmannin nicht beeinflusst, aber durch den Inhibitor des ERK-MAP-Kinasenwege PD 98 059 vollkommen aufgehoben. Zur Verifizierung wurden HepG2-Zellen transient mit der NT-Domäne von SREBP-1 a transfiziert. Inkubation von Zellen mit Insulin und PDGF, die die Wildtyp-Domäne von SREBP-1 a überexprimierten, führte zu einer signifikanten retardierten Migration bzw. Phosphorylierung dieser Domäne im SDS-PAGE. Die Insulin- oder PDGF-induzierte Phosphorylierung wurde durch die Mutation der von uns zuvor identifizierten ERK-spezifischen Hauptphosphorylierungsstelle Serin 117 zu Alanin komplett aufgehoben. Weitere funktionale Untersuchungen zeigten, dass die Phosphorylierung von SREBP-1 a mit einer Aktivierung dieses Transkriptionsfaktors einhergeht.

Schlussfolgerung: Wir zeigen erstmalig, dass SREBP-1 durch Insulin nicht nur transkriptional, sondern auch auf der posttranslationalen Ebene reguliert wird, nämlich durch Phosphorylierung.

V-58

Depot-specific differences in adipose tissue gene expression in fasted and random-fed C57Bl/6 mice

Kralisch S.⁽¹⁾, Fasshauer M.⁽²⁾, Kahn C.⁽³⁾, Paschke R.⁽²⁾, *Blüher M.⁽¹⁾

⁽¹⁾IZKF Leipzig, N03, Leipzig, ⁽²⁾Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig, ⁽³⁾Joslin Diabetes Center, Boston, USA

Objective: Visceral and subcutaneous adipose tissue display important metabolic differences that underlie the association of visceral fat with insulin resistance, type-2-diabetes and the risk of cardiovascular disease. The molecular differences contributing to these differences and the effect of fasting on gene expression changes are not completely understood.

Methods: To define a more complete set of alterations in gene expression in visceral and subcutaneous adipose tissue from 16 h fasted and random-fed mice, we have used a genomics approach. Gene expression analysis was performed using 10 mg of c-RNA isolated from subcutaneous and epididymal fat pads of three-month-old C57Bl/6 mice and hybridized to Affymetrix oligonucleotide microarrays (MG U74A-v2 chips).

Results: Of the 12,488 genes represented on the chip, 58 genes were identified as fat depot-specific changed (22 genes at least 3 fold higher in subcutaneous fat and 36 genes at least 3 fold higher in epididymal fat), including leptin, carnitine palmitoyl transferase 2, TGFβ, angiotensinogen, PKC β and δ, suggesting fat-depot specific differences in the adipocyte secretory function, but also in adipocyte metabolism. Analysis further revealed 85 genes that were regulated by the fasting state, including glucose regulated protein 58, 11-β hydroxysteroid dehydrogenase, carnithine acetyltransferase, pyruvate decarboxylase, fatty acid synthase, and pyruvate kinase 3. In addition to these expected differences in metabolic genes in function of the feeding state, β-actin, glutathione peroxidase 4, and β3-adrenergic receptor were identified as significantly regulated genes by fasting, suggesting a previously unrecognized role of these genes in metabolic processes.

Conclusions: Our data show new intrinsic differences in gene expression between visceral and subcutaneous adipose tissue, which are in addition regulated by fasting and in a depot-specific manner.

V-59

Reduktion des Glukose Uptakes bei Co-Kultivierung von humanen Kontrolladipozyten mit Adipozyten von Typ-2-Diabetikern

*Hennigs N.⁽¹⁾, Schwarzloh B.⁽¹⁾, Hansen-Algenstaedt N.⁽²⁾, Greten H.⁽¹⁾, Algenstaedt P.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Zentrum für Innere Medizin, Hamburg,

⁽²⁾Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Kernklinik und Poliklinik für Orthopädie, Hamburg

Fragestellung: In den letzten Jahren konnten zahlreiche, vom Fettgewebe sezernierte Adipozytokine identifiziert werden, die eine zentrale Rolle bei der Entstehung von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes spielen. Ziel der Studie war es zu untersuchen, ob diese Adipozytokine einen direkten Einfluss auf den Glukose Uptake gesunder Fettzellen ausüben.

Material und Methoden: Subkutanes Fettgewebe von Typ-2-Diabetikern und Kontrollpersonen wurde intraoperativ entnommen und Primärkulturen angelegt. Während der gesamten Differenzierung wurden Adipozyten von Typ-2-Diabetikern und Kontrollen in DMEM mit 10 % FCS bei 37 °C und 5 % CO₂ kultiviert. Nachfolgend wurden die Zellen für 12 Stunden in serum- und glukosefreiem Medium gehalten und nach 30-minütiger Stimulation mit und ohne 100 nM Insulin der Glukose Uptake gemessen. Adiponectinkonzentrationen wurden mittels RIA im Überstand detektiert.

Ergebnisse: Bei Co-Kultivierung von Kontrolladipozyten mit Kontrolladipozyten (Kon/Kon) stieg der Glukose Uptake nach Insulinstimulation signifikant an. Die Glukoseaufnahme nach Kultivierung von Typ-2-Adipozyten zeigte erwartungsgemäß nur einen geringen Anstieg. Bei gleichzeitiger Kultivierung von Adipozyten von Typ-2-Diabetikern und Kontrollen konnte hingegen (Typ 2/Kon) ein signifikant verminderter Anstieg ($p = 0,014$) des Glukose Uptakes von Kontrolladipozyten gemessen werden. Adiponectinspiegel im Überstand aller Zellen waren unterhalb der Nachweisgrenze.

Schlussfolgerung: In diesem humanen Adipozytenmodell konnten wir erstmals zeigen, dass Adipozyten von Typ-2-Diabetikern tatsächlich in der Lage sind, Insulinresistenz in gesunden Adipozyten zu induzieren. Adiponectin scheint hier nicht der entscheidende Faktor zu sein. Die genauen Mechanismen, die dazu beitragen, müssen in weiteren Untersuchungen identifiziert werden.

V-60

Reduktion der Adiponectin-mRNA-Expression in humanen Primäradipozyten nach Inkubation mit TNF- α

Hector J.⁽¹⁾, Schwarzloh B.⁽¹⁾, Hennigs N.⁽¹⁾, Greten H.⁽¹⁾, Algenstaedt P.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Zentrum für Innere Medizin, Hamburg

Fragestellung: In den letzten Jahren konnten zahlreiche, vom Fettgewebe sezernierte Adipozytokine identifiziert werden, die eine zentrale Rolle bei der Entstehung von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes spielen. Adiponectin, eines der adipozytären Hormone, wird besonders mit erhöhter Insulinsensitivität und mit antidiabetischen Eigenschaften in Zusammenhang gebracht. Ziel der Studie war es, neue Regulationsmechanismen aufzudecken, die der Expression von Adiponectin und seinen Rezeptoren unterliegen.

Material und Methoden: Viszerales Fettgewebe wurde intraoperativ entnommen und Primärkulturen wurden angelegt. Die Differenzierung der Adipozyten erfolgte in DMEM mit 10 % FCS bei 37 °C und 5 % CO₂ mit entsprechenden Differenzierungsmedien. Anschließend wurden die Zellen für 48 Stunden mit und ohne TNF- α inkubiert. Die mRNA wurde nach einem Standardprotokoll isoliert und nach Herstellung der cDNA wurden real time PCRs mit entsprechenden Primern für Adiponectin und seine Rezeptoren durchgeführt.

Ergebnisse: Nach 48-stündiger TNF- α -Inkubation konnte eine signifikante Hochregulation der mRNA-Expression des AdipoR1 in humanen Primäradipozyten im Vergleich zu den Zellen, die nicht mit TNF- α vorbehandelt waren, gemessen werden. Die mRNA Expression von Adiponectin war in den mit TNF- α vorbehandelten Zellen versus der unbehandelten Zellen signifikant reduziert.

Schlussfolgerung: Anhand dieses humanen Adipozytenmodells konnten wir erstmals zeigen, dass Adiponectin und seine Rezeptoren durch TNF- α reguliert werden. Dies bestätigt die Hypothese, dass Zytokine wie TNF- α die Expression von adipozytären Hormonen tatsächlich beeinflussen können, und gibt erste Erklärungsansätze über potentielle Regelkreisläufe im Fettgewebe. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um diese Mechanismen näher zu charakterisieren.

Typ-1-Diabetes

V-61

Eine erniedrigte Elastase-1-Messung im Stuhl ist kein sicherer Hinweis für eine exokrine Pankreasinsuffizienz bei Typ-1-Diabetikern

* Hahn J.⁽¹⁾, Bochnig S.⁽¹⁾, König H.⁽²⁾, Sporleder B.⁽²⁾, Maisonneuve P.⁽³⁾, Lowenfels A.⁽⁴⁾, Kerner W.⁽¹⁾, Lankisch P.⁽²⁾

⁽¹⁾Klinikum Karlsburg, Klinik für Diabetes und Stoffwechselerkrankungen, Karlsburg, ⁽²⁾Städtisches Klinikum Lüneburg, Lüneburg, ⁽³⁾European Institute of Oncology, Milan, Italy, ⁽⁴⁾New York Medical College, Valhalla, NY, USA

Fragestellung: Neuere Untersuchungen mit einem indirekten Pankreasfunktionstest, der Elastase-1-Messung im Stuhl, haben gezeigt, dass eine exokrine Pankreasinsuffizienz bei Typ-1-Diabetikern sehr häufig ist und in einem Bereich liegt, der eine Enzymsubstitution erforderlich macht (u. a. Am J Gastroenterol 98, 2003: 2672). Ziel der Studie ist der Vergleich der Ergebnisse der Bestimmung der fäkalen Elastase-1 bei Typ 1-Diabetikern mit dem Sekretin-Cerulein-Test (SCT), dem „Goldstandard“ der exokrinen Pankreasfunktionsdiagnostik.

Material und Methoden: Bei 32 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 wurde ein SCT und 2 Elastase-1-Bestimmungen (Methoden: S = ScheboTech, Wetztenberg; B = Bioserv, Rostock) vorgenommen. Der SCT wurde als pathologisch bewertet, wenn ein oder mehrere Parameter pathologisch waren: Bikarbonatkonzentration < 70 mmol/l, Bikarbonatmenge < 5.5 mmol/30 min, Amylase < 12,000 U/30 min und Lipase < 21,000 U/30 min. Entsprechend den Vorgaben der Hersteller wurde bei einem Wert der fäkalen Elastase-1 < 200 µg Elastase-1/g Stuhl auf eine exokrine Pankreasinsuffizienz geschlossen.

Ergebnisse: Der SCT fiel bei 12 von 32 Patienten (37.5 %) pathologisch aus. Die Messung der Elastase-1 ergab pathologische Werte bei 15 von 31 (48.4 %; S) bzw. 9 von 32 (28.1 %; B) Patienten. Bei einem normalen SCT wurden bei 12 (S) bzw. 15 (B) Patienten normale Elastase-1-Werte sowie bei 8 (S) bzw. 5 (B) Patienten erniedrigte Elastase-1-Werte gemessen. Bei 12 Patienten mit pathologischem SCT fanden sich normale Werte für die fäkalen Elastase-1 in 4 (S) bzw. 8 (B) Fällen. Nur 7 (S) bzw. 4 (B) Patienten hatten einen pathologischen SCT und erniedrigte Elastase-1-Werte. Der Vergleich der Testergebnisse (S/B) ergab: Sensitivität 64 %/33 %; Spezifität 60 %/75 %; positiver Vorhersagewert 47 %/44 %; negativer Vorhersagewert 75 %/65 %.

Schlussfolgerung: Die Bestimmung der fäkalen Elastase-1 ist keine zuverlässige Methode zur Erkennung einer exokrinen Pankreasinsuffizienz bei Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 1. Eine Pankreasenzymsubstitution sollte nicht aufgrund niedriger Elastase-1-Werte erfolgen.

V-62

Prävalenz eines Polyglandulären Autoimmunsyndroms (PAS) bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (Dm1)

* Hunger-Dathe W.⁽¹⁾, Madani S.⁽¹⁾, Kloos C.⁽¹⁾, Müller U. A.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin III, 07 740 Jena

Das Auftreten von mehreren Autoimmunendokrinopathien in Verbindung mit nichtendokrinen Autoimmunerkrankungen (AIEK) wird als PAS bezeichnet.

Fragestellung: Ziel dieser Studie war die Prävalenzerhebung pathologischer AAK-Titer (Hypophysitis, Adrenalitis, Thyreopathie, Perniziosa, Sprue) in Abhängigkeit mit einer klinisch relevanten AIEK bei Patienten mit Dm1.

Material und Methoden: In einer Routinekonsultation erfolgte 2003 bei 115 Patienten mit Dm1 (Alter 44 J. ± 13; Dm-Manifestationsalter 27 J. ± 14; Dm-Dauer 17 J. ± 12; BMI 26 ± 3 kg/m²; HbA_{1c} 7,7 ± 1,1 % (NB 3,78–5,54 %)) ein AAK-Screening und bei pathologischem AAK-Titer eine Diagnostik hinsichtlich o. g. AIEK.

Ergebnisse: 44 % zeigten pathologische AAK hinsichtlich einer Immuntyreopathie, wobei bei 17 % eine Autoimmunthyreoiditis und bei 2 % ein Morbus Basedow bereits behandelt wurden. Eine Autoimmunadrenalitis bestand bei 1 % der Patienten, wobei wir nur bei diesem 1 % erhöhte AAK gegen Nebennierenrinde fanden. 13 % zeigten einen pathologischen AAK für eine perniziöse Anämie, dabei wiesen 4 % eine manifeste Perniziosa auf. 3 % der Patienten zeigten mindestens doppelt erhöhte Hypophysen-AAK, wobei 1 % der Patienten bereits wegen einer HVL-Insuffizienz behandelt wurden. Für eine Sprue typisch erhöhte AAK zeigten 20 % der Patienten. Bei 2 % war die Diagnose bereits bekannt. Bei weiteren 2 % bestätigte die nachfolgend veranlasste Dünndarmbiopsie die Diagnose. Insgesamt zeigten 59 % der Patienten mit Dm1 pathologisch erhöhte AAK. 24 % hatten mindestens eine zweite klinisch manifeste AIEK, wobei 3 % der Patienten ein PAS mit ≥ 3 AIEK aufwiesen.

Schlussfolgerung: In unserer Untersuchung zeigten mehr als die Hälfte der Patienten neben dem Dm1 mindesten einen weiteren pathologischen AAK-Titer, der jedoch keinen sicheren Rückschluss für eine klinisch relevante AIEK zuließ. Dennoch bestätigte sich bei 1/4 der Patienten mit Dm1 mindestens eine weitere AIEK. Bei Patienten mit Dm1 sollte an ein PAS gedacht werden, insbesondere wenn weitere endokrine bzw. eine nicht-endokrine AAK hochpathologische Titer aufweisen.

V-63

Intra-individuelle Variabilität von Basalinsulinen: Vorteile von Insulin Detemir gegenüber NPH-Insulin und Insulin Glargin bei Patienten mit Typ-1-Diabetes

* Heise T.⁽¹⁾, Nosek L.⁽¹⁾, Bilmann Rønn B.⁽²⁾, Endahl L.⁽²⁾, Heinemann L.⁽¹⁾, Kapitza C.⁽¹⁾, Draeger E.⁽²⁾

⁽¹⁾ Profil Institut für Stoffwechselforschung GmbH, Neuss, ⁽²⁾ Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Dänemark

Fragestellung: Wir verglichen in einer doppelblinden Studie die intra-individuelle Variabilität der Wirkung von Insulin Detemir mit der von NPH-Insulin und Insulin Glargin (Lantus®).

Material und Methoden: 54 Typ-1-Diabetiker (32 Männer, 22 Frauen, Alter 38 ± 10 Jahre (MW \pm SD); BMI 24 ± 2 kg/m²; HbA_{1c} $7,5 \pm 1,2$ %) wurden in die Studie eingeschlossen und nahmen an jeweils 4 Glukose-Clamp-Versuchen teil (Zielblutzucker 100 mg/dl). Die Patienten erhielten in einem Parallelgruppendesign entweder 0,4 E/kg Insulin Detemir, Insulin Glargin oder NPH-Insulin an 4 verschiedenen Versuchstagen. Die Pharmakodynamik wurde bestimmt als die zur Aufrechterhaltung des Zielblutzuckers erforderlichen Glukoseinfusionsraten (GIR über 24 h), die Pharmakokinetik als Serum-Insulinkonzentrationen (INS über 28 h nach Injektion). Als Maß für die Variabilität wurde der Variationskoeffizient (CV) aus den vier individuellen Tagesprofilen eines Patienten mit Hilfe einer ANOVA berechnet.

Ergebnisse: Der CV für Insulin Detemir war für die Flächen unter den GIR-Profilen (GIR-AUC) in den ersten 12 und über die gesamten 24 Stunden sowie für die maximale GIR signifikant niedriger als die von NPH-Insulin und Insulin Glargin (GIR-AUC_{0-12h} 27 vs. 59 vs. 36 % (Detemir vs. NPH vs. Glargin), GIR-AUC_{0-24h} 27 vs. 68 vs. 48 %, GIR_{max} 23 vs. 46 vs. 36 %, jeweils $p < 0,001$ für Detemir vs. NPH oder Glargin). Auch in Bezug auf die Pharmakokinetik wies Insulin Detemir die geringste Variabilität der drei Basalinsuline auf (INS-AUC_{0-12h} 15 vs. 26 vs. 34 %, INS-AUC_{0-unendl} 14 vs. 28 vs. 33 %).

Schlussfolgerung: Dieser systematische Vergleich der Variabilität von Basalinsulinen zeigt, dass die Wirkung von Insulin Detemir weniger variabel und damit besser vorhersagbar ist als die von Insulin Glargin und NPH-Insulin. Insulin Detemir könnte somit im Vergleich zu Insulin Glargin und NPH-Insulin eine stabilere Diabeseinstellung mit geringeren Blutzuckerschwankungen und eine Reduktion des Hypoglykämierisikos ermöglichen.

V-64

Evaluation des pharmakokinetischen und glukodynamischen Profils des neuen rasch wirkenden Human-Insulinanalogons Insulin Glulisin nach subkutaner abdominaler, deltoider und femoraler Injektion.

Frick A.⁽¹⁾, Becker R.⁽²⁾, Schweitzer M.⁽³⁾, *Fürst-Recktenwald S.⁽³⁾

⁽¹⁾ Aventis Pharma Deutschland GmbH, Klinische Pharmakokinetik, Frankfurt am Main, ⁽²⁾ Aventis Pharma Deutschland GmbH, Klinische Entwicklung und Pharmakologie, Frankfurt am Main, ⁽³⁾ Aventis Pharma Deutschland GmbH, Medical Affairs Diabetologie und Metabolismus, Bad Soden

Fragestellung: Insulin Glulisin, ein neues prandiales Human-Insulinanalogon, hat verglichen mit humanem Normalinsulin bei gleicher Gesamt-Wirkung einen schnelleren Wirkeintritt und eine kürzere Wirkdauer. In dieser Studie wurde der durch einen

Wechsel der Injektionsstellen zwischen Oberschenkel, Oberarm und Bauchdecke bedingte Einfluss auf die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik untersucht und die absolute Bioverfügbarkeit erfasst.

Material und Methoden: In dieser monozentrischen, randomisierten, offenen, 4-fach Crossover-Studie wurde Insulin Glulisin i. v. im Bolus und subkutan (s. c.) zu je 0,1 IE/kg Körpergewicht in den Oberschenkel, den Oberarm und die Bauchdecke von 16 gesunden, männlichen Probanden (Alter 19–28 Jahre, Body-Mass-Index 21–26 kg/m²) im Rahmen eines euglykämischen Clamp-Versuches injiziert. Bestimmt wurden die maximale Serumkonzentration (C_{max}), die Zeit bis zum Erreichen von C_{max} (T_{max}), die maximale Glukose-Infusions-Rate (GIR_{max}), die Zeit bis zum Erreichen von GIR_{max} (t_{max}), die Fläche unter den Serumkonzentrations- und GIR-Zeit-Kurven bis zum Clamp-Ende ($AUC_{0-Clamp-Ende}$), die mittlere Verweilzeit MRT und die Wirkdauer (t_a).

Ergebnisse: Unabhängig von der subkutanen Injektionsstelle waren die absolute Bioverfügbarkeit und Gesamt-Glukose-Utilisation identisch bei vergleichbaren Zeit-Profilen für Absorption und Wirkung. Insgesamt zeigte die abdominale Injektion eine etwas schnellere Absorption und Wirkung als die femorale, während die deltoide Gabe Profile zwischen beiden ergab.

Schlussfolgerung: Nach subkutaner Injektion in Oberschenkel, Oberarm und Bauchdecke zeigt Insulin Glulisin bei unbeeinflusster absoluter Bioverfügbarkeit und Gesamtwirkung ähnlich schnelle Absorptions- und Wirkprofile, wobei sich bei abdominalen Gabe das insgesamt rascheste Profil einstellt.

V-65

Einfluss von Pramlintide auf postprandiale Glukoseexkursionen und Marker für oxidativen Stress bei Patienten mit Typ-1-Diabetes

* Limmer J.⁽¹⁾, Ceriello A.⁽²⁾, Frias J.⁽¹⁾, Wang Y.⁽¹⁾, Ruggles J.⁽¹⁾, Kolterman O.⁽¹⁾, Piconi L.⁽²⁾, Maggs D.⁽¹⁾, Weyer C.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, USA, ⁽²⁾ Universität Udine, Pathologie und Medizin, Udine, Italien

Fragestellung: Bei Diabetikern ist oxidativer Stress (OS) in der postprandialen Phase erhöht und hat mikro- sowie makrovasculäre Komplikationen zur Folge. Diese Studie untersuchte den Einfluss von Pramlintide (PRAM), einem Analogon des natürlich auftretenden Betazellhormons Amylin, auf OS-Marker während der postprandialen Phase.

Material und Methoden: In einer randomisierten, einfach-blinden, Placebo (PBO)-kontrollierten Cross-over-Studie nahmen 18 Patienten mit Typ-1-Diabetes (Alter: 38 ± 15 J, Diabetesdauer 22 ± 12 J, HbA_{1c} $9,4 \pm 1,7$ %) an zwei standardisierten Mahlzeiten-Tests teil. Zusätzlich zu ihrer präprandialen Injektion von Normalinsulin ($7,2 \pm 0,9$ U [PRAM] und $7,5 \pm 1,0$ U [PBO] zum Zeitpunkt $t = -30$ Min) erhielten die Patienten eine subkutane Injektion von PRAM ($60 \mu\text{g}$ zum Zeitpunkt $t = 0$ Min) oder PBO ($t = -15$ Min). Die Plasma-Konzentrationen von Glukose und verschiedenen Markern für OS (Nitrotyrosin [NT], oxydiertes LDL Cholesterol [oxLDL-C], und „Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter“ [TRAP] wurden zu Studienbeginn und während der 4-stündigen postprandialen Phase ermittelt.

Ergebnisse: Verglichen mit PBO reduzierte PRAM signifikant den postprandialen Anstieg, gemessen an der inkrementalen AUC 0–4Std wie folgt: Glukose ($>100\%$, $-0,6 \pm 2,5$ vs. $11,0 \pm 2,9$ mmol/L·h; $P < 0,001$), NT ($>100\%$, $0,07 \pm 1,4$ vs. $5,3 \pm 2,2$ μ mol/L·h, $P < 0,014$) und oxLDL-C ($>100\%$, $-4,3 \pm 3,4$ vs. $19,4 \pm 6,0$ U/L·h, $P < 0,002$). PRAM verhinderte den Verbrauch von TRAP ($>100\%$, $-0,79 \pm 73,3$ vs. $-200 \pm 89,4$ μ mol/L·h, $P < 0,021$). Korrelationsanalysen zeigten einen signifikanten Zusammenhang zwischen den Glukose-Änderungen und den Veränderungen der OS Marker ($P < 0,001$ für alle Korrelationen). Leichte bis mittelgradige Hypoglykämien und leichte Übelkeit waren die am häufigsten beobachteten unerwünschten Ereignisse.

Schlussfolgerung: Die Reduktionen in den postprandialen Glukoseexkursionen, die durch den Zusatz von PRAM zu Normalinsulin bei Typ-1-Diabetes erzielt wurden, waren mit einer signifikanten Reduktion von oxidativem Stress verbunden.

V-66

Störung der Schlaf-assoziierten Gedächtnisbildung durch eine kurzzeitige nächtliche Hypoglykämie bei Typ-1-Diabetes Patienten und gesunden Personen

* Schultes B.⁽¹⁾, Gais S.⁽²⁾, Chara K.⁽¹⁾, Colmorgen C.⁽¹⁾, Oltmanns K.⁽²⁾, Kern W.⁽¹⁾, Merl V.⁽¹⁾, Peters A.⁽¹⁾, Fehm H.⁽¹⁾, Born J.⁽²⁾

⁽¹⁾Medizinische Klinik I, Universität zu Lübeck, Lübeck, ⁽²⁾Institut für Neuroendokrinologie, Universität zu Lübeck, Lübeck

Fragestellung: Nächtliche Hypoglykämien treten häufig bei Patienten mit Typ-1-Diabetes (T1DM) auf. Im nächtlichen Schlaf werden zuvor akquirierte Informationen konsolidiert und somit Gedächtnis gebildet. Vor diesem Hintergrund stellten wir die Hypothese auf, dass nächtliche Hypoglykämien die Gedächtnisbildung während des Schlafs beeinträchtigen.

Material und Methoden: Achtzehn Patienten mit T1DM (9 Frauen) und 16 gesunde Personen (8 Frauen) wurden 2-mal im Schlaflabor untersucht. Während einer Nacht wurde die Plasmaglukosekonzentration konstant über 70 mg/dl gehalten (Kontroll-Nacht). In der anderen Nacht wurde kurze Zeit nach dem Einschlafen der Probanden die Plasmaglukosekonzentration mittels Insulininfusion linear über einen Zeitraum von einer Stunde bis auf 40 mg/dl abgesenkt und direkt anschließend wieder in den Normalbereich gebracht (Hypoglykämie-Nacht). Am nächsten Morgen wurden am Abend zuvor erlernte Wortpaare abgefragt (Wortpaar-Assoziation-Test), akustisch evozierte Potenziale (AEP) abgeleitet und 2 Aufmerksamkeitstests durchgeführt.

Ergebnisse: In Bezug auf die Ergebnisse der AEPs sowie der Aufmerksamkeitstests zeigten sich bei der morgendlichen Testung keine Unterschiede zwischen der Kontroll-Nacht und der Hypoglykämie-Nacht. Während nach der Kontroll-Nacht ein deutlicher Zuwachs an erinnerten Wortpaaren gefunden wurde ($+1,7 \pm 0,5$ im Vergleich zur Leistung am Vorabend), war dies nach der Hypoglykämie-Nacht nicht der Fall ($+0,4 \pm 0,5$; $p = 0,022$ vs. Kontroll-Nacht). Dieses Ergebnis war unabhängig vom Vorliegen eines T1DM bei den untersuchten Probanden ($p = 0,287$).

Schlussfolgerung: Die Daten belegen erstmals, dass bereits eine

sehr kurz andauernde nächtliche Hypoglykämie die Gedächtnisbildung im Schlaf beeinträchtigt. Diese Beobachtung erscheint von hoher klinischer Relevanz z. B. in Bezug auf schulische oder berufliche Leistungen von Patienten mit T1DM.

V-67

Kontinuierliches Glukosemonitoring nach dem Mikro-dialyseverfahren (GlucoDay) im klinischen Einsatz: Genauigkeit und Akzeptanz

* Kubiak T.⁽¹⁾, Kuhr B.⁽²⁾, Wörle B.⁽²⁾, Hermanns N.⁽¹⁾, Haak T.⁽¹⁾

⁽¹⁾Diabetes Zentrum Mergentheim, Forschungsinstitut der Diabetes-Akademie, Bad Mergentheim, ⁽²⁾Diabetes Zentrum Mergentheim, Diabetesklinik, Bad Mergentheim

Fragestellung: Messgenauigkeit und Akzeptanz des minimalinvasiven Glukosemonitoring-Systems GlucoDay (Menarini Diagnostics) sollte im klinischen Einsatz untersucht werden.

Material und Methoden: N = 29 stationär behandelte Diabetespatienten wurden untersucht (Typ-1-Diabetes N = 25 [86 %]; Alter [M \pm SD] 46.9 ± 2.2 J.; Geschlecht männl. N = 18 [62 %], Diabetesdauer [M \pm SD] 22.7 ± 12.7 J., HbA_{1C} [M \pm SD] 8.0 ± 2.1 %). Das System sollte dabei 48 Stunden getragen werden. Als Referenz dienten Blutglukosebestimmungen nach der Hexokinase-Methode. Die Applikation des Systems erfolgte unter örtlicher Betäubung. Zur Untersuchung der Akzeptanz bei den Probanden wurde ein standardisierter Fragebogen vorgegeben. Die Genauigkeitsanalyse erfolgte durch die Clarke-Error-Grid-Analyse (EGA), das Consensus EGA und weitere Parameter der Übereinstimmung zwischen Sensor und Referenz.

Ergebnisse: Eine Tragezeit von 42.8 ± 10.3 h wurde erreicht. 16.3 ± 9.6 Referenzmessungen liegen pro Patient vor. **Genauigkeit:** Die Error-Grid-Analysen belegen eine gute klinische Genauigkeit des Sensors (Clarke EGA: Zone A: 67 %; Zone B: 30 %; Zone C: 1 %; Zone D: 2 %; Zone E: 0 %; Consensus EGA: Zone A: 71 %; Zone B: 24 %; Zone C: 4 %; Zone D: 0 %; Zone E: 0 %). Mit einer Korrelation von $r = 0.80$ ($p < 0.01$), und einer mittleren absoluten Abweichung $MAD = 22.4 \pm 30.2$ % ist die Übereinstimmung des Sensors mit der Referenzmethode als befriedigend bis gut zu bewerten. **Akzeptanz:** Das Legen der Sensorkanüle wurde als weitgehend schmerzfrei empfunden (1.1 ± 0.4 ; fünfstufige Skala, 1 = „völlig schmerzfrei“, 5 = „sehr schmerzhaft“), der Tragekomfort dagegen als ungenügend eingeschätzt (3.6 ± 1.5 , 1 = „sehr angenehm“, 5 = „sehr unangenehm“). 28 (96.5 %) der Probanden würden noch mal an einer Untersuchung mit dem Monitoringsystem teilnehmen.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse belegen eine gute Messgenauigkeit des GlucoDay-Systems im klinischen Einsatz. Das Legen des Systems wird von fast allen Patienten als völlig schmerzfrei beschrieben. Eine Verbesserung des Tragekomforts scheint sinnvoll.

V-68

Die Behandlung mit Insulin Detemir ermöglicht flexible Injektionszeiten bei Patienten mit Typ-1-Diabetes* Pieber T.⁽¹⁾, Grill V.⁽²⁾, Kristensen A.⁽³⁾, Draeger E.⁽⁴⁾⁽¹⁾ Medizinische Universitätsklinik, Diabetologie und Stoffwechsel, Graz, Österreich, ⁽²⁾ Regionsykehuset, Trondheim, Norwegen, ⁽³⁾ Novo Nordisk A/S, Glaxo, Dänemark, ⁽⁴⁾ Novo Nordisk, Zürich, Schweiz

Ziel: Das lang dauernde und reproduzierbare Wirkprofil von Insulin Detemir (ID) legt nahe, dass dieses Basalinsulin auch am frühen Abend injiziert werden kann und trotzdem eine ausreichende Insulinwirkung während der Nacht und in den frühen Morgenstunden gewährleistet. Das Ziel dieser Studie war der Vergleich zweier verschiedener Injektions-Regime mit ID und einer NPH-Therapie bei Patienten mit Typ-1-Diabetes.

Methode: Multinationale, 16wöchige, randomisierte, offene Parallelgruppenstudie mit 400 Patienten mit Typ-1-Diabetes (Durchschnittsalter 40 Jahre, Diabetesdauer 15 Jahre, BMI 25,2 kg/m², HbA_{1c} 8,07 %). Die Patienten injizierten 2x/Tag ID, entweder morgens und vor dem Abendessen (IDM+A n=139) oder morgens und zur Nacht (IDM+N n=129) oder NPH morgens und zur Nacht (n=132). Alle Patienten erhielten präprandial Insulin Aspart.

Ergebnisse: Nach 16 Wochen Behandlung sank der HbA_{1c} in allen Gruppen um ca. 0,4 % und war bei allen drei Therapien vergleichbar (IDM+A 7,67 %, IDM+N 7,65 %, NPH 7,73 %, p=0,6). Niedrigere Nüchtern-Plasmaglukosewerte (PG) als bei NPH wurden sowohl bei IDM+A (9,8 vs. 11,1 mmol/l, p<0,006) als auch bei IDM+N (9,1 vs. 11,1 mmol/l, p<0,001) erreicht, während die beiden ID-Gruppen sich nicht unterscheiden (p=0,15). Bei beiden ID-Gruppen war die intra-individuelle Variabilität der selbst gemessenen PG niedriger (SD bei IDM+A 2,5 und IDM+N 2,6 mmol/l) als bei NPH (SD 3,1 mmol/l, p<0,001). Die Glukose-Schwankungen waren während einer 24stündigen, kontinuierlichen Glukose-Messung unter ID (beide Gruppen vereint) geringer als bei NPH (46,5 zu 54,3 mmol/l*h p=0,04). Nach 16 Wochen war das mittlere Körpergewicht bei ID niedriger als bei NPH (IDM+A -0,6 kg, p<0,001; IDM+N +0,1 kg, p=0,050; NPH +0,7 kg). Keine Unterschiede im Hypoglykämie-Risiko.

Schlussfolgerung: Die Behandlung mit Insulin Detemir führte zu niedrigeren und weniger variablen Glukosewerten verglichen mit NPH. Insulin Detemir kann je nach individuellem Bedarf des Patienten bei vergleichbarer Glukosekontrolle entweder morgens und abends oder morgens und zur Nacht injiziert werden.

V-69

β-Hydroxybutyrat-Grenzwerte für die Ketoazidosekorrektur bei der Insulinpumpentherapie* Reichel A.⁽¹⁾, Rietzsch H.⁽¹⁾, Köhler H.⁽¹⁾, Heinze H.⁽¹⁾, Schulze J.⁽¹⁾⁽¹⁾ Universitätsklinikum Dresden, Medizinische Klinik und Poliklinik III, Dresden

Fragestellung: Die diabetische Ketoazidose (DKA) erfordert ein anderes Korrekturregime als die kurzfristige Hyperglykämie, ist von dieser durch den Patienten aber mit alleiniger Blutzucker-selbstkontrolle nicht zu unterscheiden. Für die Erkennung einer DKA steht Patienten ein Test für die direkte Beta-Hydroxybutyrat(β-OHB)-Messung im Blut zur Verfügung (Xtra-Keton-Streifen; Fa. Abbot GmbH Diagnostika). Sichere Grenzwerte konnten bisher für Schulungsprogramme nicht angegeben werden, da β-OHB auch bei physiologischen Stoffwechselluständen (Fasten, physische Belastung) bis zu bestimmten Grenzwerten nachweisbar ist und keine Korrekturmaßnahmen erfordert. Die β-OHB-Grenzwerte für die Ketoazidosekorrektur sollten anhand der Korrelation zu Parametern des Säure-Basen-Status sowie der Lipolyse mit ausreichender diagnostischer Sensitivität und Spezifität ermittelt werden.

Material und Methoden: Während des standardisierten Pumpenausfalltest (unterbrochene Insulininfusion 23.00 bis 8.00 Uhr, danach Insulingabe zur Rekompensation) wurden 12 Typ-1-Diabetiker mit CSII (m/w: 6/6; Alter: 18–51 a; C-Pept. 0–0,07 nmol/l; HbA_{1c}: 6,0–7,9 %) mit der Bestimmung von Blutzucker (stündlich), β-OHB (Xtra-Keton und EIA), freie Fettsäuren (FFA), Blut-pH, Basenüberschuss (BE) und Standardbikarbonat (HCO₃) (jeweils zweistündlich) untersucht.

Ergebnisse: β-OHB mit Xtra-Keton und Enzym-Immuno-Assay zeigten die erforderliche enge und signifikante Korrelation ($\kappa=0,940$, p<0,01), ebenso β-OHB (Xtra-Keton-Streifen) mit dem pH ($\kappa=-0,709$); dem HCO₃- ($\kappa=0,809$); dem BE ($\kappa=-0,781$); dem ΔBE ($\kappa=-0,612$) und den FFS ($\kappa=0,647$; alles p<0,01). Aus diesen Korrelationen ergibt sich für einen Grenzwert von 1,0 mmol/l eine diagnostische Spezifität von 97,7 % und eine diagnostische Sensitivität von 83,7 %, bei 0,5 mmol/l 73,4 % bzw. 93,0 %.

Schlussfolgerung: Wir empfehlen zur Übernahme in die Programme für die Schulung von CSII-Patienten den β-OHB-Grenzwert von 1,0 mmol/l für die Entscheidung zur Ketoazidosekorrektur und 0,5 mmol/l für kurzfristige Kontrollen.

Folgeerkrankungen

V-70

Glyoxalase-I als endogener Schutz vor Advanced Glycation End Product (AGE)-Formation und oxidativen Stress in *Caenorhabditis elegans*

* Morcos M.⁽¹⁾, Sayed A.⁽¹⁾, Pfisterer F.⁽¹⁾, Hutter H.⁽²⁾, Thornalley P.⁽³⁾, Ahmed N.⁽³⁾, Miftari N.⁽¹⁾, Möhrlen F.⁽⁴⁾, Hamann A.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Nawroth P.⁽¹⁾

⁽¹⁾Medizinische Universitätsklinik, Endokrinologie und Stoffwechsel, Heidelberg, ⁽²⁾Max Planck Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg, ⁽³⁾University of Essex, Department of Biological Sciences, Colchester, Essex, England, ⁽⁴⁾Universität Heidelberg, Biologische Fakultät, Heidelberg

Fragestellung: Untersuchungen zur Lebenserwartung war bislang kein Schwerpunkt der experimentellen Diabetesforschung. Ein ideales Modellsystem hierfür ist *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) mit einer Lebensspanne von max. 30 Tagen. Glyoxalase I (Gly1) baut Vorstufen bestimmter „Advanced Glycation End Products“ (AGEs) wie Methylglyoxal (MG) ab. Es wird in dieser Studie sowohl der Effekt einer Gly1-Überexpression hinsichtlich der Bildung von (i) MG-AGEs (Methylglyoxal-H1 und Carboxyethyllysine, CEL) und (ii) Sauerstoffradikalen (ROS, gemessen als Bildung von Nitrotyrosin, NT), sowie (iii) der Lebensspanne untersucht.

Material und Methoden: Gly1-überexprimierende *C. elegans* wurden durch Transformation mit dem *C. elegans* Gly1-Homolog hergestellt. Zur Inhibition der Gly1-Genexpression wurde Gly1-RNAi verwendet. Die Bestimmung von MG-H1 und CEL erfolgte mit HPLC, von NT mittels ELISA. Der Effekt einer Hyperglykämie auf Lebenszeit und ROS-Formation wurde zusätzlich untersucht. Glukose wurde hierfür in die Nahrungsquelle gegeben, so dass die Konzentration in Gesamtextrakten von *C. elegans* 300 mg/dl betrug.

Ergebnisse: Eine Gly1-Überexpression reduzierte nach 12 Tagen die Bildung von CEL (0,1 vs. 0,13 mmol/mol arg, $p < 0.05$), MG-H1 (0,25 vs. 0,45 mmol/mol arg, $p < 0.05$) und NT (2 vs. 10 nM N pro *C. elegans*, $p < 0.001$). Eine Hyperglykämie führte nach 12 Tagen zu einer signifikant höheren NT-Formation (19 vs. 10 nM NT pro *C. elegans*, $p < 0.001$) und reduzierte die Lebensspanne. Dieser lebensverkürzende Effekt konnte durch eine Gly1-Überexpression aufgehoben werden. Bei Euglykämie verlängerte eine Gly1-Überexpression die Lebensspanne, welche umgekehrt durch Gly1-RNAi verkürzt wurde.

Schlussfolgerung: Eine Gly1-Überexpression verringert die Formation von AGEs und ROS, verlängert die Lebensdauer von *C. elegans* und hebt die lebensverkürzenden Effekte einer Hyperglykämie auf. Dies weist auf eine Rolle für Gly1 als Schlüsselenzym in der Kontrolle der sauerstoffradikalvermittelten zellulären Antwort auf die Alters- oder Hyperglykämie induzierte Radikalenbildung hin.

V-71

Ein neuer Mechanismus für die gesteigerte Leukozytenrekrutierung beim Diabetes.

* Chavakis T.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Al-Fakhri N.⁽²⁾, Schneider D.⁽³⁾, Linn T.⁽³⁾, Witte S.⁽⁴⁾, Nagashima M.⁽⁵⁾, Morser J.⁽⁵⁾, Arnold B.⁽⁶⁾, Preissner K.⁽⁷⁾, Nawroth P.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, ⁽²⁾JLU-Gießen, Institut für klinische Chemie, Gießen, ⁽³⁾JLU-Gießen, 3. Medizinische Klinik und Poliklinik, Gießen, ⁽⁴⁾Universität Heidelberg, Medizinische Biometrie, Heidelberg, ⁽⁵⁾Berlex Biosciences, Richmond, California, ⁽⁶⁾DKFZ Heidelberg, Molekulare Immunologie, Heidelberg, ⁽⁷⁾JLU-Gießen, Biochemisches Institut, Gießen

Fragestellung: Beim Diabetes mellitus kommt es zu einem proinflammatorischen Phänotyp der Gefäßwand mit gesteigerter Leukozytenrekrutierung und akzelerierter Atherosklerose, wobei die Mechanismen zum größten Teil unklar sind. Die Leukozyteninteraktion mit der Gefäßwand wird durch das Selektin-vermittelte „Rolling“ und den nachfolgenden stabilen adhäsiven Interaktionen, vermittelt vor allem durch die leukozytären $\beta 2$ -Integrine (unter anderem Mac-1) und deren endothelialen Counter-Rezeptoren (v. a. ICAM-1), kontrolliert. RAGE (receptor for advanced glycation endproducts) ist hochreguliert beim Diabetes und vermittelt z. T. die endotheliale Dysfunktion. Hier wurde die Rolle von RAGE bei der gesteigerten Leukozytenrekrutierung untersucht.

Methodik: Studien der Leukozytenadhäsion und -migration in vitro und in vivo, insbesondere unter Zuhilfenahme von transgenen Mäusen.

Ergebnisse: Im akuten Mausmodell der Thioglykollat-induzierten Peritonitis zeigten RAGE-defiziente Mäuse eine deutlich verminderte Leukozytenrekrutierung. Verglichen mit nicht-diabetischen Wild-type-Mäusen wurde in diabetischen Wild-type-Mäusen eine gesteigerte Leukozytenrekrutierung ins entzündete Peritoneum beobachtet. RAGE ist verantwortlich für die Diabetes-bedingte gesteigerte Leukozytenrekrutierung, da dieses Phänomen in diabetischen RAGE-defizienten Mäusen abwesend war und durch lösliches RAGE inhibiert werden konnte. In vitro, RAGE-abhängige Leukozytenadhäsion ans Endothel wurde durch eine direkte Interaktion von RAGE mit dem $\beta 2$ -Integrin Mac-1 aber nicht mit LFA-1 oder mit $\beta 1$ -Integrinen vermittelt. Eine direkte Bindung von rekombinantem RAGE an isoliertes Mac-1 konnte weiterhin gezeigt werden. Die RAGE-Mac-1-Interaktion wurde durch den pro-inflammatorischen RAGE-Liganden, S100, aktiviert. Diese Ergebnisse wurden auch mit Hilfe von $\beta 2$ -Integrin- und RAGE-transfizierten Zellen bestätigt.

Schlussfolgerungen: Die RAGE-Mac-1-Interaktion beschreibt einen neuen Pathway für die gesteigerte Leukozytenrekrutierung beim Diabetes, die u. a. die akzelerierte Atherosklerose beim Diabetes erklären könnte.

V-72

Exogenous insulin decreases gene expression in bone of spontaneously diabetic BB ratsFollak N.⁽¹⁾, Klötting N.⁽²⁾, *Klötting I.⁽²⁾⁽¹⁾Medical Faculty, University of Greifswald, Department of Orthopedic Surgery, Greifswald, ⁽²⁾Medical Faculty, University of Greifswald, Department of Laboratory Animal Science, Karlsburg

Aim: It is well known that type-1-diabetes is associated with a decrease in bone mass and delayed healing of fractures in humans and in animal models, which is largely explained by diminished or affected gene expression. Using well- and poorly-compensated diabetic BB/O(ttawa) K(arlsburg) rats spontaneously developing insulin-dependent type-1-diabetes, it was clearly shown that the metabolic state of rats markedly influenced the extent of delayed bone healing in the early period. To establish mechanisms to explain deficient fracture healing in poorly compensated BB/OK rats, we studied the expression of 8 genes involved in bone repair (Bmp1, Bmp2, Bglap, Vegf, Il-1 b, Tgfb1, Yy1, Sp1).

Methods: Six age-matched non-diabetic BB/OK males were compared with 12 diabetic BB/OK males which were either well compensated (n=6) by implanting osmotic insulin pumps or were poorly compensated (n=6) by one daily application of 1 IU insulin. After 4 weeks of insulin treatment, the tibial bone was harvested, excluding all cartilaginous and soft tissue. The tibias were snap frozen and pulverized; the total RNA was extracted, transcribed into complementary DNA, and used for real-time PCR (ABIPrism7000).

Results: There were no significant differences between well- and poorly-compensated rats in terms of age, blood glucose values, and body weight at diabetes onset. Four weeks later, the metabolic state was significantly different between well- and poorly-compensated rats. The relative gene expression was generally reduced by 50 % or more in diabetic vs. non-diabetic animals. In addition, the relative expression was significantly reduced by a factor of 3 in well- vs. poorly-compensated rats, except for Tgfb1, which was comparable in both diabetic groups.

Conclusion: In this study, we provide a first evidence that diabetes in general and insulin in particular affect bone gene expression in spontaneously diabetic BB/OK rats, which may be responsible for the delayed bone defect healing in the poorly-compensated diabetic state.

V-73

Reduktion des Kollateralarterienwachstums bei diabetischen Mäusen*Jost M.⁽¹⁾, Bergmann C.⁽²⁾, Neumeister H.⁽²⁾, Meder B.⁽²⁾, Roth H.⁽³⁾, Buschmann I.⁽²⁾, Hoefel I.⁽⁴⁾⁽¹⁾BioVision AG, Hannover, ⁽²⁾Arbeitsgruppe experimentelle und klinische Arteriogenese, Zentrale Klinische Forschung, Freiburg, ⁽³⁾Phoenix X-ray Systems, Stuttgart, ⁽⁴⁾Perfusion Technologies GmbH, Freiburg

Ziel: Diabetiker zeigen häufig ein gesteigertes Gefäßwachstum (z. B. diab. Retinopathie). Jedoch ist der natürliche Rettungsmechanismus nach Arterienverschluss, eine Proliferation prä-existent angelegter Kollateralen hin zu wandstarken Arterien (Arteriogenese), bei Diabetikern vermutlich gestört. In dieser Arbeit

untersuchten wir daher das Wachstum von Kollateralarterien im Hinterlauf von diabetischen Mäusen, um ein Modell zur Messung der Arteriogenese bei einer gestörten Glukosehomöostase zu etablieren.

Methodik: Bei 8 diabetischen Mäusen (C57BLK/sJ-Rjdb/db) und 8 Kontrolltieren (C57BLK/sJ) wurde die re. Femoralarterie ligiert und nach 7 d die Perfusion mit Hilfe von unterschiedlich fluoreszierenden Mikrosphären bei 6 verschiedenen Druckstufen (60–110 mmHg) gemessen. Muskelproben (~0,3 g) wurden aus dem Hinterlauf entnommen, um die Anzahl der Mikrosphären durchflusszytometrisch zu ermitteln. Zusätzlich wurden post mortem Angiographien mittels Nanofokus-Röntgeninspektion (NF-RI) erstellt und BMI und Glukosespiegel der Tiere bestimmt.

Ergebnis: Die diabetischen Mäuse (19 Wochen alt) zeigten einen erhöhten BMI ($0,57 \pm 0,07$ vs. $0,29 \pm 0,09$ g/cm²; $p < 0,001$) und Glukosespiegel ($512,00 \pm 51,79$ vs. $153,6 \pm 16,60$ mg/dl; $p < 0,001$). Im Vergleich zum unligierten Hinterlauf zeigten die Diabetes-Tiere eine $31,6 \pm 6,6$ %ige Wiederherstellung der Perfusion, wohingegen die Kontrollmäuse eine $54,12 \pm 4,5$ %ige Perfusionsrate zeigten ($p < 0,001$). Mit Hilfe der NF-RI ließen sich prä-existente Kollateralen (bis 15 µm) sowie die daraus hervorgehenden funktionell wichtigen Kollateralgefäße (15–100 µm) darstellen.

Schlussfolgerung: Das Diabetes-Maushinterlaufmodell eignet sich zur Evaluierung des Kollateralarterienwachstums bei pathologisch erhöhten Glukosespiegeln, wobei die Arteriogenese gegenüber Kontrollmäusen signifikant erniedrigt ist. Ergänzend zur Messung hämodynamischer Parameter erlaubt die NF-RI eine Visualisierung der Kollateralarterien. Die Wirkung pro-arteriogenere Substanzen zur Verbesserung der Kollateralisierung lässt sich damit in diesem Modell ermitteln.

V-74

Effekt von Dextlipotam auf die experimentelle diabetische Retinopathie*Lin J.⁽¹⁾, Bugert P.⁽¹⁾, Dietrich N.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽²⁾, Nawroth P.⁽²⁾, Brownlee M.⁽³⁾, Hammes H.⁽¹⁾⁽¹⁾Klinikum Mannheim, 5. Medizinische Klinik, Mannheim, ⁽²⁾Klinikum Heidelberg, Abteilung Innere Med. 1, Heidelberg, ⁽³⁾Albert Einstein College of Medicine, Diabetes Research Center, Bronx, New York, NY, USA

Hyperglykämie-induzierte mitochondriale Überproduktion von reaktiven Sauerstoffradikalen (ROS) ist in der Pathogenese der diabetischen Gefäßschäden bedeutsam. Experimentelle Hemmung von ROS mit klassischen Antioxidantien haben bestenfalls moderate Ergebnisse auf die experimentelle Retinopathie gezeigt. Dextlipotam (R-(+)- α -Liponsäure) bietet sich aufgrund seiner mitochondrialen Verteilung und der Selbstreduktion aufgrund des niedrigen Redoxpotentials an. Wir untersuchten den Effekt von Dextlipotam auf die experimentelle diabetische Retinopathie in drei Gruppen von männlichen Wistar-Ratten (Diabetesinduktion mit 65 mg/kg KG) mittels quantitativer Retinamorphometrie: 1. Nicht-diabetische Kontrollen (N; n=5, Körpergewicht (KG) 477 ± 50 g; BZ $91,8 \pm 5,4$ mg/dl; HbA_{1c} $6,12 \pm 1,81$ %); 2. unbehandelte diabetische Kontrollen (D; n=8; KG 320 ± 64 g; BZ $564 \pm 84,6$ mg/dl; HbA_{1c} $12,2 \pm 1,35$ %) und 3. diabetische Kontrollen, behandelt mit 60 mg Dextlipotam i.p. über 30 Wochen (D-T; n=8; BW 280 ± 30 ;

BZ $588 \pm 28,8$ mg/dl; HbA_{1c} 12.2 ± 1.35 %). Parameter der quantitativen Retinamorphometrie waren azelluläre Kapillaren (AK) und Perizytenzahl. Retinaler oxidativer Stress wurde mit Oxyblot™ und mit CML im Western Blot qualitativ beurteilt. Die Zahl azellulärer Kapillaren war nach 30-wöchiger Diabetesdauer signifikant erhöht (D $57,1 \pm 10,6$ AK/mm² Retinafläche (RF) vs. N $19,8 \pm 5,1$ AK/mm² RF; $p < 0.001$). Behandlung mit Dexlipotam führte zur 88 %-igen Reduktion von AK (D-T $24,5 \pm 2,1$ AK/mm² RF; $p < 0,001$ vs. D). Der Perizytenverlust wurde durch Dexlipotam signifikant gehemmt: N 1940 ± 137 P/mm² Kapillarfläche (KF); D 1294 ± 94 P/mm² KF; D-T 1656 ± 134 P/mm² KF; $p < 0.01$). CML und oxidativ modifizierte Proteine wurden ebenfalls deutlich reduziert. Diese Daten zeigen, dass Dexlipotam retinalen oxidativen Stress reduziert und der Entwicklung der experimentellen Retinopathie im Tiermodell vorbeugt.

V-75

Protein kinase C epsilon is a negative regulator of high-glucose-induced renal glomerulosclerosis and fibrosis via a TGFβ1-dependent mechanism

* Meier M.⁽¹⁾, Park J.⁽¹⁾, Holtz M.⁽¹⁾, Gueler F.⁽¹⁾, Leitges M.⁽²⁾, Menne J.⁽³⁾, Haller H.⁽¹⁾
⁽¹⁾Med. Hochschule Hannover, Abt. Nephrologie, Hannover, ⁽²⁾MPI für exp. Endokrinologie, Hannover, ⁽³⁾Phenos GmbH, Hannover

Objective: Protein kinase C (PKC) represents a key regulator in the development of diabetic nephropathy whereas the specific role of various PKC isoforms remains elusive. Previously, we have demonstrated that PKC-epsilon-expression was increased in the kidney, mainly in renal tubules, from streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Therefore, we now investigated the in-vivo role of PKC-epsilon in the development of diabetic nephropathy by means of homozygous PKC-epsilon deficient knock out (KO) mice in an experimental diabetic STZ-mouse model.

Material and methods: We studied PKC-epsilon KO mice compared to C57BL/6J wild type (WT) mice in nondiabetic (group 1: WT, n=11 and group 3: KO, n=9) and diabetic condition (group 2: WT, n=5 and group 4: KO, n=8). Hyperglycemia was induced in 8 week old mice by a streptozotocin (STZ) model (50 mg/kg BW on day 1 to 5, i. p.). Ten days after the first injection animals were hyperglycemic with glucose levels > 350 mg/dl and persisted after 8 weeks (WT: 7.8 ± 0.9 vs. 20.3 ± 6.6 mmol/l; KO: 7.9 ± 1.1 vs. 22.1 ± 7.3 mmol/l; $p < 0.05$). Mice were then sacrificed and kidneys removed.

Results: Body weight in the non-diabetic groups was higher at the end of the study, probably due to glucosuria in the diabetic groups. Light microscopy showed more severe glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis in diabetic PKC-epsilon KO compared to diabetic WT mice. Interestingly, this effect was already observed in PKC-epsilon KO mice under non-diabetic conditions. Semi-quantitative analysis by immunohistochemistry revealed a significant increase of glomerular TGFβ1 and tubulointerstitial fibronectin and collagen IV expression in PKC-epsilon KO compared to WT mice which was further aggravated in the diabetic state.

Conclusions: Our data suggest that PKC-epsilon, in contrast to other classical isoforms such as PKC α and β, exerts protective functions in the development of diabetic renal hypertrophy.

V-76

Der -174G → C-Polymorphismus im Interleukin-6-Promotor ist assoziiert mit diabetischer Retinopathie bei Patienten mit Typ-2-Diabetes

* Rudofsky G.⁽¹⁾, Schlimme M.⁽¹⁾, Reismann P.⁽¹⁾, van Eynatten M.⁽¹⁾, Grafe I.⁽¹⁾, Tafel J.⁽¹⁾, Humpert P.⁽¹⁾, Nawroth P.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Hamann A.⁽¹⁾
⁽¹⁾Universität Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg

Fragestellung: Inflammation ist eine Schlüsselkomponente bei der Entstehung des Typ-2-Diabetes und der Entwicklung diabetischer Folgeschäden. Varianten in Genen, die für Zytokine und andere Inflammediatoren kodieren, können für die Entstehung diabetischer Folgeschäden prädisponieren. In dieser Studie wurde die Assoziation eines funktionell relevanten Polymorphismus (174 G → C) im Interleukin-6-(IL-6)-Promotor, der zu erhöhten IL-6-Spiegeln führt, mit mikrovaskulären Spätschäden untersucht.

Material und Methoden: Der Polymorphismus wurde mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und anschließender NlaIII-Restriktionsanalyse an 335 Patienten mit Typ-2-Diabetes mit einem Alter von über 60 Jahre untersucht.

Ergebnisse: Von den 335 untersuchten Patienten waren 28,7 % (n = 96) Träger zweier Wildtypallele (CC); 66,3 % (n = 222) waren heterozygot (CG) und 5,0 % (n = 17) homozygot (GG) für den Polymorphismus. Bei homozygoten Patienten fand sich ein signifikant gehäuftes Auftreten von diabetischer Retinopathie verglichen mit heterozygoten Merkmalsträgern oder Patienten mit 2 Wildtypallelen (Odds Ratio 2.63; 95 % Konfidenzintervall (CI), 1.27 to 3.35; $P = 0.04$). Bei den anderen mikrovaskulären Komplikationen (Nephropathie, Neuropathie) zeigte sich kein signifikanter Effekt.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse zeigen eine Assoziation zwischen dem -174G → C-Polymorphismus im IL-6-Promotor und diabetischer Retinopathie bei Typ-2-Diabetikern. Diese Daten unterstreichen die Hypothese, dass chronische Inflammation zur retinalen Schädigung beim Diabetes beitragen und IL-6 im Rahmen dieses Mechanismus eine Rolle spielen könnte.

V-77

α-Liponsäure senkt die UCP2- und UCP3-mRNA-Expression in vitro

* Schlimme M.⁽¹⁾, Schlotterer A.⁽¹⁾, Tafel J.⁽¹⁾, Morcos M.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Nawroth P.⁽¹⁾, Hamann A.⁽¹⁾
⁽¹⁾Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg

Fragestellung: Diabetes und die Entwicklung von Folgeschäden gehen mit erhöhtem oxidativen Stress sowie vermehrter Inflammation einher. Die Uncoupling-Proteine (UCPs) haben wesentliche Bedeutung für die Verminderung der mitochondrialen Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), wohingegen Antioxidantien, wie α-Liponsäure (α-LA) und N-Acetylcystein (NAC), ein günstiger Effekt für die Verminderung des oxidativen Stress zugeschrieben wird. Es wurde daher in verschiedenen Zellkulturmodellen untersucht, ob α-LA und NAC die Expression von UCPs und proinflammatorischen Zytokinen regulieren können.

Material und Methoden: C2C12-Myotuben als Modell für Muskelzellen sowie HIB1B- und 3T3L1-Adipozyten als Modelle für

weiße bzw. braune Fettzellen wurden nach Differenzierung für 24 h mit 0, 1, 10, 100 und 1000 μM α -LA bzw. mit 0, 0,1, 1, 10 mM NAC behandelt und spezifische mRNAs mit quantitativer Real-Time-PCR gemessen.

Ergebnisse: α -LA behandelte HIB1B zeigten bei 1000 μM eine Erhöhung der IL6-mRNA um 100 % ($p < 0,01$). Bei 100 und 1000 μM wurde eine Erniedrigung der UCP2-mRNA um 40 % und 50 % (beide $p < 0,001$) und der UCP3-mRNA um 60 % und 70 % (beide $p < 0,001$) festgestellt, UCP1- und TNF α -mRNA wiesen keine Änderungen auf. 3T3L1-Zellen zeigten mit 1000 μM α -LA eine Erniedrigung der UCP3-mRNA um 75 % ($p < 0,001$); UCP1- und TNF α -Expression änderten sich nicht. NAC bewirkte keine Änderung der mRNA der untersuchten Gene. C2C12 zeigten bei 100 und 1000 μM α -LA eine Erniedrigung der UCP3-mRNA um 80 % und 82 % (beide $p < 0,001$). Die UCP2-mRNA verringerte sich bei den gleichen Konzentrationen um 30 % und 50 % (beide $p < 0,05$).

Schlussfolgerung: α -LA führte in 3 untersuchten Zellmodellen zu einer Verringerung der UCP2- und UCP3-Expression, während NAC keinen derartigen Effekt hatte. α -LA kann selbst als milder Entkoppler der Atmungskette wirken. Diese Funktion wird offenbar nicht über UCP2 und UCP3 vermittelt, sondern könnte sogar zu einem kompensatorisch geringeren Bedarf für die Expression und Entkopplerfunktion von UCP2 und UCP3 führen.

V-78

Zusammenhang von MMP-3-Serumwerten und Intima-media-Dicke bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2

* Stock J.⁽¹⁾, Rittig K.⁽¹⁾, Marx N.⁽²⁾, Balletshofer B.⁽¹⁾, Häring H.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universitätsklinik Tübingen, Innere Medizin, Abt. IV Endokrinologie, Stoffwechselerkrankungen, Pathobiochemie und Vaskuläre Medizin, Tübingen, ⁽²⁾Universitätsklinik Ulm, Innere Medizin Abt II, Kardiologie, Ulm

Hintergrund: Studien bei Patienten mit Typ-2-Diabetes zeigten erhöhte Serumwerte für Matrix-Metalloproteinasen (MMP) 2, –8 und –9. Zudem exprimieren Endothelzellen und Makrophagen unter hyperglykämischen Bedingungen in-vitro vermehrt MMP 1, –2 und 9.

Matrix-Metalloproteinasen wird eine wichtige Rolle bei der Schädigung der extrazellulären Matrix und dem damit konsekutiv verbundenen dauerhaften Umbau der Gefäßwand zugesprochen. Eine erhöhte Intima-Media-Dicke (IMT) gilt als morphologischer Frühatherosklerose-Parameter in-vivo. In verschiedenen Studien ist eine Korrelation für erhöhte Werte der IMT und akuten vaskulären Ereignissen demonstriert worden. Die Prävalenz akut vaskulärer Ereignisse als Spätfolge von Umbauprozessen der arteriellen Gefäßwand ist bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 signifikant höher als bei Nicht-Diabetikern. Über die Korrelation zwischen Serumwerten von Matrix-Metalloproteinasen und Werten der IMT bei Typ-2-Diabetikern ist jedoch wenig bekannt.

Methoden: Hierfür wurden die Serumwerte für MMP-3 und MMP-9 sowie die IMT der Arteria carotis communis bei 53 Patienten mit Typ-2-Diabetes untersucht (Männer/Frauen: 34/19, Durchschnittsalter: 64.2 ± 1.3 Jahre. HBA_{1c} 7.5 ± 0.2). Serumwerte für MMP wurden mittels ELISA bestimmt. Die IMT wurde im B-Modus hochauflösenden Ultraschalls mit einer 13 MHz Sonde gemessen (ATL HDI 3000).

Ergebnisse: In einer multivariaten, linearen Regressionsanalyse zeigte sich, auch nach Bereinigung für Alter und Geschlecht, ein signifikanter Zusammenhang zwischen MMP3-Serumwerten und IMT ($p = 0,007$). Für MMP-9 war dies nicht der Fall. BMI, HBA_{1c} , Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin korrelierten nicht mit MMP-Serumwerten.

Fazit: In dieser Studie zeigte sich ein signifikant, unabhängiger Zusammenhang von MMP-3 Serumwerten und IMT bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. Dies unterstützt die Annahme, dass MMP-3 eine relevante Bedeutung im Prozess der Atherosklerosepathogenese und damit dem Risiko vaskulärer Ereignisse zukommt.

V-79

Characterisation of the human glutamine: fructose-6-phosphate aminotransferase (GFAT) promoter: Effect of single nucleotide polymorphisms in porcine mesangial cells

* Burt D.⁽¹⁾, Weigert C.⁽¹⁾, Brodbeck K.⁽¹⁾, Schleicher E.⁽¹⁾

⁽¹⁾Med. Klinik IV, Department of Endocrinology, Tuebingen

Glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT), is the rate-limiting enzyme of the hexosamine biosynthetic pathway, which has been demonstrated to be involved in mediating some of the adverse effects of glucose including upregulation of factors important in the pathogenesis of diabetic nephropathy. However, there is little information regarding the transcriptional regulation of GFAT.

Aims: In porcine mesangial cells (PMC), 1) to characterise, 2) to analyse possible regulation and 3) to search for potential polymorphisms, in the human GFAT promoter.

Methods: Identification of transcription start sites and regions of interest in the human GFAT promoter was performed using RLM-RACE and deletion construct analysis respectively. To examine regulation of GFAT transcriptional activity, PMC were stimulated with high glucose (25 mM), glucose oxidase (1 mU/ml), PMA (0.1 μM), angiotensin II (100 nM), TNF alpha (1 nM) and glucosamine (4 mM) for 24 hours and GFAT promoter activity was measured by luciferase reporter gene assay. Sequencing was used to identify possible polymorphisms. Differences in binding of transcription factors to regions of the human GFAT promoter was analysed by EMSA.

Results: RLM-RACE detected multiple transcription start sites. Progressive 5' deletion of the human GFAT promoter construct increased GFAT promoter activity while progressive 3' deletion of the GFAT promoter construct decreased promoter activity. Treatment of PMC with any of the stimuli tested did not modulate GFAT promoter activity. Two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the human GFAT promoter were identified at position –1412 (C to G) and –913 (G to A). In a population of 100 patients with type II diabetes, the CC and GG genotype frequencies of the –1412 CC and GG SNP were 74 and 2.5 % respectively. The GG genotype and AA genotype frequencies of the –913 G/A SNP were 12.3 and 36 % respectively. Polymorphic construct analysis showed a 1.4 fold increase in GFAT promoter activity in constructs containing a G at position –1412 compared to a C ($p < 0.05$), while the point substitution at –913 had no

effect. EMSA did not reveal any differences in binding of nuclear factors to regions containing the different SNPs.

Conclusion: These results suggest that regulation of GFAT activity is unlikely to be mainly at the transcriptional level. The SNP at position -1412 has a functional effect on human GFAT promoter activity.

V-80

Angiopietin-2-Expression in der Retina und seine Rolle in der retinalen Angiogenese

* Feng Y.⁽¹⁾, vom Hagen F.⁽¹⁾, Lin J.⁽¹⁾, Wagner P.⁽²⁾, Hoffmann S.⁽³⁾, Deutsch U.⁽²⁾, Hammes H.-P. 1

⁽¹⁾ Klinikum Mannheim, 5. Medizinische Klinik, Mannheim, ⁽²⁾ Max-Planck-Institut für Vaskularbiologie, Institut für Zellbiologie, Münster, ⁽³⁾ Klinikum Mannheim, Zentrum für Medizinische Forschung, Mannheim

Die diabetische Retinopathie ist die häufigste mikrovaskuläre Komplikation bei Diabetes Mellitus. Der Perizytenverlust im Gefäßnetz der Retina stellt das erste morphologische Zeichen der Hyperglykämie-bedingten mikrovaskulären Schädigung dar. Kurz vor dem Beginn des Perizytenverlustes wird Angiopietin-2 hochreguliert. In zwei transgenen Mauslinien untersuchten wir den Einfluss von Angiopietin-2 auf den Perizytenverlust und die Angiogenese. Bei der Ang2-LacZ knock-in Maus ist das Reporter-gen LacZ hinter den Angiopietin-2 (Ang-2) Promotor kloniert und bei der mOpsin-hAng2 Maus ist humanes Ang-2 unter der Kontrolle von dem Maus-Opsin-Promotor überexprimiert. In der Retina von Ang2-LacZ Mäusen untersuchten wir die Expression von Ang-2 in einer Kolo-kalisation von β -Galaktosidase und Lektin (Gefäße). Die Experimente ergaben, dass Ang-2 in der Ganglionzellschicht und in der inneren Körnerschicht exprimiert wird. Ang2 wird auch in den Endothelzellen des retinalen Gefäßnetzes exprimiert. In der Retina von mOpsin-hAng2 Mäusen wurde die Angiogenese sowohl im physiologischen Prozess, als auch im Modell der frühgeborenen Retinopathie (ROP Modell) analysiert. Die Untersuchung des physiologischen Prozesses in Lektin-gefärbten whole mount Retina-Präparaten vom 10. postnatalen Tag ergab bei den transgenen Tieren eine verstärkte Sprouting-Angiogenese im tiefen Kapillarnetz. Im oberen Kapillarnetz war kein Unterschied zwischen den transgenen und den Wildtyp-Kontrollen feststellbar. In Retinadigestionspräparaten wurde die Perizytenzahl in der Retina analysiert. Die Perizytenzahl verringert sich etwa um 17% in den Ang-2-überexprimierenden Retinae. Die Angiogenese-Zählung in Retinaschnitten aus dem ROP-Modell ergab eine vermehrte Neovaskularization. Unsere Daten deuten darauf hin, dass Angiopietin-2 auch bei der physiologischen Gefäßentwicklung eine Rolle spielt, und dass die Überexpression von Ang-2 in der Retina einen Perizytenverlust induziert.

V-81

Rosiglitazone hemmt die Aktivierung humaner tubulärer Epithelzellen in vitro

* Morcos M.⁽¹⁾, Sayed A.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Hamann A.⁽¹⁾, Yard B.⁽²⁾, Schneider J.⁽¹⁾, Dehmel B.⁽³⁾, Seidel D.⁽³⁾, van der Woude F.⁽²⁾, Nawroth P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Universitätsklinik, Endokrinologie und Stoffwechsel, Heidelberg

⁽²⁾ Universitätsklinikum Mannheim, V. Medizinische Klinik, Mannheim,

⁽³⁾ GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG, München

Fragestellung: Angiotensin-II (AT-II) und „Advanced Glycation end Products“ (AGEs) sind an der Entwicklung tubulärer Schäden im Rahmen einer diabetischen Nephropathie beteiligt. Beide aktivieren in proximalen tubulären Epithelzellen der Niere (pTEC) den redox-sensitiven Transkriptionsfaktor „Nuclear Factor kappa B“ (NF- κ B) sowie in Folge NF- κ B-kontrollierte, proinflammatorische Gene wie Interleukin-6 (IL-6). Rosiglitazone (RG) hemmt in Endothelzellen die AT-II induzierte Bildung proinflammatorischer Mediatoren sowie die Expression des AT-II-Rezeptors Typ 1. Ziel dieser Studie ist es, die Effekte von RG auf die AT-II- und AGE- induzierte Aktivierung von NF- κ B und IL-6-Freisetzung in humanen pTEC zu untersuchen.

Material und Methoden: Primärkultur humaner pTEC wurde mit AT-II, AGE-albumin sowie RG über 5 Tage inkubiert, die NF-B Aktivierung mit Westernblot (WB) und „Electrophoretic Mobility Shift Assays“ (EMSA) bestimmt und die NF- κ B-Untereinheiten durch die entsprechenden Antikörper charakterisiert. PTEC wurden mit einem NF- κ B gesteuerten Reporterplasmid transient transfiziert, die transkriptionelle Aktivität als Maß der Luciferaseexpression (relative Luc-units) bestimmt und IL-6 mittels ELISA im Überstand gemessen. Für RG wurde eine Dosis-Wirkungskurve erstellt und der zeitliche Verlauf des Hemmeffektes evaluiert.

Ergebnisse: RG reduzierte in EMSA und WB dosisabhängig (10 μ M-100 μ M) die AT-II und AGE-albumin induzierte NF- κ B-Aktivierung (Untereinheiten p50 und p65). 75 μ M RG reduzierte die transkriptionelle NF- κ B-Aktivität nach AGE-albumin (4500 auf 2000 rel.Luc-Units, $p < 0.0001$) und AT-II Stimulation (5300 auf 3000 rel.Luc-units $p < 0.0001$), sowie die IL-6 Freisetzung nach AGE-albumin (700 auf 200 pg/ml, $p < 0.0001$), und nach AT-II Stimulation (1000 auf 320 pg/ml, $p < 0.0001$). Der Hemmeffekt von RG war über den gesamten Zeitraum vorhanden.

Schlussfolgerung: RG reduziert in humanen pTEC in vitro die AT-II- und AGE-albumin-induzierte Aktivierung von NF- κ B und die Freisetzung von IL-6, was auf einen antiinflammatorischen Effekt von RG hindeutet.

Stammzellen/Betazelle

V-82

Beta-Zell-Phänotyp, Funktion und Sensitivität gegenüber Zytokin-induzierter Apoptose sind erhalten in GAD-65 Autoantigen-supprimierten INS-1 Zellen

* Lazariotou M.⁽¹⁾, Siegmund D.⁽²⁾, Wajant H.⁽²⁾, Laubner K.⁽¹⁾, Seufert J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Poliklinik der Universität, Stoffwechsel, Endokrinologie und Molekulare Medizin, Würzburg, ⁽²⁾ Medizinische Poliklinik der Universität, Molekulare Innere Medizin, Würzburg

Das Enzym Glutamatdecarboxylase (GAD) stellt ein zentrales Autoantigen in der frühen Immunpathogenese des Diabetes mellitus Typ 1 dar. Transgene Suppression der GAD-Expression in Beta-Zellen des endokrinen Pankreas in der „non obese diabetic“ (NOD) Maus verhindert vollständig die Entwicklung der Erkrankung (1). Suppression der GAD-Expression könnte somit als Strategie zu Verhinderung des Wiederauftretens der autoimmunen Insulinitis in transplantierten Beta-Zellen bei Patienten mit Typ-1-Diabetes mellitus nach Pankreasinseltransplantation dienen. Neuere Studien zeigen zusätzlich, dass Apoptose zum Beta-Zelltod bei autoimmunem Diabetes mellitus beiträgt. Ziel dieser Studie ist die funktionelle und phänotypische Charakterisierung von Insulin-produzierenden Beta-Zellen mit supprimierter Expression von GAD-65. GAD-65-Expression wurde in der Ratten Beta-Zelllinie INS-1 durch stabile Transfektion von Vektoren zur konstitutiven Überexpression einer Antisense-mRNA für die Isoform GAD-65 supprimiert. Durch RT-PCR konnte eine signifikante Suppression der endogenen GAD-65 mRNA Expression von über 90 % gezeigt werden. In INS-1 Zelllinien mit stabiler GAD-65 Antisense-Expression wurde Glukose-induzierte Insulinsekretion (Insulin RIA), Beta-Zell-spezifische Genexpression (RT-PCR für Insulin, BETA2, Glucokinase, GLUT2, PDX-1, Pax-4) und Zytokin (IL-1beta, TNFalpha, IFNgamma, Mix) induzierte Apoptose untersucht. Es fand sich keine signifikante Alteration dieser Parameter durch supprimierte GAD-65-Expression im Vergleich zu Kontrollzellen. Zusammenfassend zeigen diese Befunde, dass durch forcierte Reduktion der Expression des Autoantigens GAD-65 keine Veränderung des Beta-Zell-Phänotyps, der Funktion Insulin-produzierender Zellen und der Sensitivität gegenüber Zytokin-induzierter Apoptose eintritt. Diese Erkenntnis stellt eine wichtige Grundlage für die Generierung GAD-supprimierter transplantierbarer Beta-Zellen mit erhaltener Transplantatfunktion im Rahmen der Pankreas-Inseltransplantation dar. 1. Yoon JW, et al. (1999) Science 284: 1183–1187.

V-83

p8 is Associated with Glucose-induced Pancreatic Beta-Cell Growth and Enhances Proliferation of Adult hMSC-TERT Stem Cells

* Päch G.⁽¹⁾, Rothhammer V.⁽¹⁾, Opel A.⁽¹⁾, Seufert J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Poliklinik der Universität, Stoffwechsel, Endokrinologie und Molekulare Medizin, Würzburg

Aim: Transplantation of pancreatic beta-cells can restore insulin production in type -1-diabetics but is limited by a lack of donor organs. Generation of beta-cells from human pancreatic islet-derived nestin-positive stem cells (N + SC) represents a novel strategy to support availability of transplant material. Since growth of cultured primary N + SC is limited, we are testing the proliferation associated protein p8 as a candidate for expansion of these cells in vitro.

Methods: p8 mRNA and protein expression was investigated with RT-PCR and immunohistochemistry (IHC). p8 expression in INS-1 beta-cells during 25 mM glukose-induced growth was quantified by Western blot analysis (WBA) after 3, 24, 48, 72, 96, 120, and 144 hrs in culture. In parallel, cell numbers were assessed at time points indicated. IHC and WBA were performed using a peptide-derived polyclonal monospecific rabbit p8 antiserum. Growth of human bone marrow stem cells (hMSC-TERT) transfected with a CMV promoter driven p8-IRES-GFP or IRES-GFP (mock) vector was measured by FACS counting of GFP-positive cells.

Results: p8 is expressed in all principle pancreatic differentiated cell types and N + SC. Glucose-induced p8 expression in INS-1 beta-cells increased rapidly to a maximum after 48 h and then decreased continuously to a stable level. Cell numbers displayed an identical but delayed time course (maximum after 96 h). In addition, overexpression of p8 in hMSC-TERT cells resulted in significantly increased cell growth as compared to mock transfected controls.

Conclusion: These data indicate 1) p8 is a glucose-induced mediator of pancreatic beta-cell growth without oncogenic properties in vivo and 2) overexpression with p8 is well suited to enhance growth of adult stem cells in vitro. In combination with our previously presented nestin-specific vectors, p8 may be a tool to expand human pancreatic islets-derived N + SC. The activity of these vectors will be silenced by differentiation-induced phenotype switch from N + SC to nestin-negative beta-cells, thereby avoiding uncontrolled cell growth.

V-84

Die Bedeutung einer mitochondrialen Katalaseüberexpression für den Schutz vor iNOS-vermittelter Beta-Zelltoxizität von Zytokinen*Gurgul E.⁽¹⁾, Lortz S.⁽¹⁾, Tiedge M.⁽¹⁾, Lenzen S.⁽¹⁾⁽¹⁾Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover

Fragestellung: Oxidativer Stress and Stickstoffmonoxid (NO) spielen eine bedeutende Rolle im Prozess der Autoimmunzerstörung der Beta-Zellen des Pankreas im Autoimmundiabetes. Insulinproduzierende Zellen zeichnen sich durch einen geringen Gehalt an antioxidativen Enzymen aus. Dies gilt insbesondere für die Wasserstoffperoxid-inaktivierenden Enzyme Katalase und Glutathionperoxidase. Stabile mitochondriale Überexpression von Katalase in insulinproduzierenden RINm5F-Zellen schützt vor der zytotoxischen Wirkung von IL-1beta und einem Zytokinmix bestehend aus IL-1beta, TNF-alpha und IFN-gamma. Vergleichend wurden diese Untersuchungen auch an Zellen durchgeführt, bei denen die Katalase im Zytosol überexprimiert wurde.

Material und Methoden: Wir haben den Einfluss dieser Überexpression auf die zytokinvermittelte Expression von iNOS und die NO-Produktion untersucht. NF-κB sowie iNOS-Promoter-Aktivierung wurden mittels SEAP Reporter-Gen-Assays gemessen, iNOS-Protein-Expression durch Western Blotting und Nitritproduktion durch den Griess Assay.

Ergebnisse: In Kontrollzellen führte Zytokinexposition zu einer signifikanten Aktivierung von NF-κB und des iNOS-Promoters sowie der iNOS-Protein-Expression und der Nitritproduktion. Mitochondriale Überexpression der Katalase führte zu einer signifikanten Verminderung all dieser Zytokinwirkungen. Im Gegensatz dazu hatte eine zytoplasmatische Überexpression der Katalase kaum derartige antagonistische Effekte. Diese Überexpression reduzierte die stimulierte Nitritproduktion nur nach längeren Inkubationszeiten von 48 und 72 h, während mitochondriale Überexpression bereits nach 24 h Inkubation signifikante Effekte zeigte.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse belegen, dass eine mitochondriale Überexpression der Katalase in insulinproduzierenden Zellen die zytokinvermittelte NO-Produktion antagonisiert und damit zum Schutz vor der Beta-zelltoxischen Wirkung der Zytokine beiträgt. Wir postulieren daher, dass der verbesserte mitochondriale antioxidative Abwehrstatus eine zentrale Rolle bei der NF-κB und iNOS-Aktivierung in insulinproduzierenden Zellen spielt.

V-85

EGFP-tagging of insulin to label secretory granules in insulin-secreting cells*Hatlapatka K.⁽¹⁾, Elsner M.⁽²⁾, Baltrusch S.⁽²⁾, Rustenbeck I.⁽¹⁾⁽¹⁾Institute of Pharmacology and Toxicology, Technical University of Braunschweig, Braunschweig, ⁽²⁾Institute of Clinical Biochemistry, Hannover Medical School, Hannover

Objective: To study the regulation of exocytosis in insulin secretion the labelling of secretory granules appears desirable for two reasons: i) to measure exocytosis itself, i. e. the release of the content of secretory granules and ii) to measure the mobility of

secretory granules prior to release in response to insulinotropic stimuli.

Material and methods: The most straightforward approach is to label the secretory granules by expressing an insulin-EGFP fusion protein. However, earlier attempts to produce such a fusion protein have met with limited success and a recently published version of such a fusion protein is not generally available and only incompletely described. Our aim was thus to construct an insulin-EGFP fusion protein which is targeted to the secretory granules and is sufficiently fluorescent to allow detection by conventional microfluorimetry as well as confocal and TIRF microscopy. The human preproinsulin gene was inserted into the pEGFP-N1 vector (Clontech) upstream of the EGFP gene. Consequently, EGFP was expressed at the C-terminus of the insulin A-chain separated by a spacer of seven amino acids.

Results: When this construct was expressed in INS-1E cells a marked punctate fluorescence was observable after two days, whereas the pEGFP-N1 vector alone produced a homogenous fluorescence. When INS-1E cells expressing the insulin-EGFP fusion protein were permeabilized by digitonin, the fluorescent pattern was practically unchanged, whereas the cells expressing EGFP alone completely lost their fluorescence. Furthermore, challenging the INS-1E cells with glucose led to a marked redistribution of the punctate fluorescence pattern suggesting that the fluorescent insulin had in fact reached the granule pool.

Conclusions: Thus, our present insulin-EGFP fusion protein may become a valuable tool to further elucidate physiological and pharmacological regulation of insulin secretion.

V-86

Der SDF1-3'A Genotyp fördert die Mobilisation von adulten Stammzellen nach Blutzuckereinstellung*Humpert P.⁽¹⁾, Neuwirth R.⁽¹⁾, Voronko O.⁽¹⁾, Rudofsky G.⁽¹⁾, von Eynatten M.⁽¹⁾, Hamann A.⁽¹⁾, Nawroth P.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾⁽¹⁾Universitätsklinikum Heidelberg, Medizinische Klinik 1, Heidelberg

Fragestellung: Im Rahmen des vorgestellten Projektes wird der Einfluss von Blutzuckerkontrolle sowie des SDF1-Genotyps auf die Mobilisation von CD34/133-positiven pluripotenten Vorläuferzellen in den Kreislauf bei entgleisten Typ-2-Diabetikern untersucht. Diese Zellen differenzieren in verschiedenen Zelltypen aus und können in vivo an der Gewebsregeneration teilnehmen.

Material und Methoden: Bei 11 Patienten mit entgleistem Typ-2-Diabetes wurde vor und 4 Wochen nach Blutzuckereinstellung die Anzahl peripher zirkulierender CD34/133-positiver Zellen im FACS bestimmt. Der SDF1-Genotyp wurde wie vorbeschrieben (PCR und Restriktionsanalyse) bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben, t-Test und Multivariatanalyse.

Ergebnisse: Die Senkung des HbA_{1c} von im Mittel 10,2 % auf 8,7 % (t-Test, p < 0,05) ging in der Gruppe mit einem signifikanten Anstieg der zirkulierenden CD34/133-positiven Progenitorzellen um im Mittel 65,6 % (SD 62,7, Wilcoxon-Test p < 0,01) einher. Bei einer gesunden Kontrollgruppe veränderte sich die Vorläufer-Zellzahl im gleichen Zeitraum nicht signifikant (n = 5). Bei 8 von 11 Patienten erfolgte eine Insulintherapie (6 intensi-

viert). Da der relative Anstieg der Vorläuferzellen nicht mit der HbA_{1c} -Differenz korrelierte ($R = 0,16$), wurden die Patienten auf einen möglichen Einfluss des SDF1-3A/G-Genotyp untersucht. Träger dieses Allels zeigten einen signifikant höheren Anstieg der Progenitor-Zellzahl im Vergleich zum SDF1-3G/G-Genotyp (103,5 % vs. 23,6 %, t-Test $p = 0,02$) bei statistisch vergleichbarer Senkung des HbA_{1c} (1,4 vs. 1,5, t-Test $p = 0,83$).

Schlussfolgerung: Medikamentöse Blutzuckereinstellung und Insulintherapie bei entgleisten Typ 2-Diabetikern mobilisiert CD34/133-positive Vorläuferzellen in den peripheren Kreislauf. Der SDF1-3A/G-Genotyp führt bei gleicher HbA_{1c} -Senkung zu einer deutlich gesteigerten Mobilisation dieser Zellen. Es kann anhand der vorliegenden Daten noch nicht geklärt werden, ob diese Beobachtung Folge der Blutzuckersenkung oder Medikamenten-/Insulinwirkung ist.

V-87

Glukokinaseregulation durch posttranslationale Translokationsprozesse in Beta-Zellen des Pankreas und der Leber

* Baltrusch S.⁽¹⁾, Lenzen S.⁽¹⁾, Tiedge M.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover

Fragestellung: Die glukoseinduzierte Insulinsekretion in den Beta-Zellen des Pankreas und der Glukosemetabolismus der Leber verlangen einen sensitiven Regulator des Zellstoffwechsels. Diese Funktion erfüllt die Glukokinase (GK), die in der Lage ist, Glukose entsprechend der extrazellulären Konzentration an den Stoffwechsel der Zelle zu koppeln. Damit kommt der Regulation der GK-Aktivität eine wesentliche Bedeutung zu. Neben dem GK-Aktivator PFK2 existiert ein leberspezifisches GK-Regulatorprotein (GRP). Als Inhibitor der GK vermittelt es gleichzeitig eine Translokation des Enzyms in den Nukleus. Es war das Ziel dieser Studie zu klären, welche Funktion Translokationsprozesse für die GK-Regulation besitzen.

Material und Methoden: Hierzu wurden Fluoreszenzfusionsproteine des GRP, der GK und einer inaktiven GK-Mutante generiert und in COS-1- und MIN6-Zellen sowie Hepatozyten exprimiert. Die Proteinlokalisierung wurde bei 5,5 und 25 mM Glukose fluoreszenzmikroskopisch bestimmt.

Ergebnisse: Sowohl die GK als auch die GK-Mutante war in COS-1-Zellen unabhängig von der Glukosekonzentration zytoplasmatisch lokalisiert, wobei eine perinukleäre Anreicherung vorlag. In Hepatozyten zeigte sich dagegen bei 5,5 mM Glukose eine überwiegend nukleäre Lokalisation der GK, nicht aber der GK-Mutante. Die gleiche GK-Lokalisierung konnte in COS-1- und MIN6-Zellen detektiert werden, in denen auch das GRP exprimiert wurde. In insulinproduzierenden MIN6-Zellen konnte bei 5,5 mM Glukose eine zytoplasmatisch inhomogene Verteilung, bei 25 mM Glukose eine homogene Verteilung der GK beobachtet werden. Wurde die GK mittels eines nukleären Importsignals in den Zellkern von COS-1 Zellen transportiert, war die GK nur bei 25 mM Glukose auch im Zytoplasma lokalisiert.

Schlussfolgerung: GK-Translokationsprozesse werden in den Beta-Zellen des Pankreas und der Leber glukoseabhängig reguliert und integrieren sich damit in die Enzymaktivitätsmodulation. Die zytoplasmatische Bereitstellung der GK durch das Sub-

strat Glukose ist somit ein wichtiges Element für die Regulation der Glukosensensorfunktion.

V-88

Expression Betazell-spezifischer Gene und Morphologie von murinen embryonalen Stammzellen während der Differenzierung zu insulinproduzierenden Zellen

* Naujok O.⁽¹⁾, Francini F.⁽¹⁾, Tiedge M.⁽¹⁾, Jörns A.⁽²⁾, Lenzen S.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover,

⁽²⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Anatomie, Hannover

Fragestellung: Embryonale Stammzellen der Maus (D3 mESC) wurden entsprechend dem Lumelsky-Protokoll (Science 18, 1389–1394, 2001) zu insulinproduzierenden Zellen differenziert. Während dieses Differenzierungsprozesses durchliefen die Stammzellen verschiedene Entwicklungsstadien.

Material und Methoden: In diesen 5 Stadien wurden anhand quantitativer Real-Time PCR-Analysen die Änderungen im Genexpressionsprofil wichtiger Betazell-spezifischer Gene als auch embryonaler Gene untersucht. Neben den Änderungen in der Genexpression während der Differenzierung konnten auch eine Reihe von morphologischen Charakteristika bestimmt werden. Diese wurden mittels Lichtmikroskopie und Elektronenmikroskopie dokumentiert.

Ergebnisse: Im Anfangsstadium waren die Zellen positiv für Oct4 und Pdx1, zeigten aber keine signifikante Expression von Insulin oder anderen pankreatischen Hormonen. EM-Analysen konnten belegen, dass die Zellen in diesem frühen Stadium überwiegende Charakteristika embryonaler Stammzellen aufwiesen. In den Stadien 2–3 zeigten die Zellen deutliche Differenzierungsmerkmale neuronaler Zelltypen, während sich in den Stadien 4–5 Merkmale insulinproduzierender Zellen entwickelten. Diese Zellen exprimierten Insulin, aber auch Glukagon und Somatostatin. Durch in situ RT-PCR-Analyse konnte gezeigt werden, dass ca. 50 % der Zellen in Stadium 5 Insulin exprimierten. Weitere Differenzierungsmerkmale waren die Ausbildung von RER und Golgi-Apparat. Zusätzlich zu den Hormonen exprimierten die Zellen den $K_{IR}6.2$ und Sur1. Im Gegensatz dazu nahm die Glut2-Glukosetransporter-Expression von Stadium 2 zu Stadium 5 kontinuierlich ab. Etwa 10 % der Zellen waren zu Beginn der Differenzierung nekrotisch bzw. apoptotisch. Diese Zelltodrate erhöhte sich signifikant in Stadium 5.

Schlussfolgerung: Diese Ergebnisse zeigen, dass mESC, welche entsprechend dem Lumelsky-Protokoll differenziert wurden, Charakteristika insulinproduzierender Zellen entwickeln. Eine Optimierung der Zellkulturbedingungen wird eine Reduktion der Zelltodrate und eine Erhöhung der Insulinexpression ermöglichen.

V-89

Limited expansion and improved survival of primary human β -cells by adenoviral overexpression of IRS-2 and cAMP elevation*Hörsch D.⁽¹⁾, Schrader J.⁽¹⁾, Brendel M.⁽²⁾, Jahr H.⁽²⁾, Burks D.⁽³⁾⁽¹⁾ Philipps-Universität Marburg, Endokrinologie, Marburg, ⁽²⁾ Justus-Liebig Universität, Endokrinologie, Giessen, ⁽³⁾ University of Salamanca, Cell Biology, Salamanca, Spain

Mass and function of pancreatic β -cells in type 2 diabetes mellitus is not sufficient to maintain euglycemia, especially during the course of the disease. Therapeutic intervention to increase β -cell growth and delay programmed cell death has the potential to improve glucose control without the need to administer exogenous insulin. The adaptorprotein IRS-2 has been shown to be essential for β -cell survival and function, and IRS-2 expression in β -cells is increased by camp elevation.

We examined whether adenoviral infection of human primary β -cells with IRS-2 increases IRS-2 expression, survival and proliferation. Additionally, β -cells were treated with IBMX and Forskolin to elevated intracellular cAMP. Human primary β -cells were maintained in culture as single cells or cellular aggregates for up to 4 weeks with or without Matrigel-coated culture plates.

Overexpression of IRS-2 could be achieved by adenoviral infection with an MOI of 50 to 100 and IRS-2 over-expression was maintained for 48 to 72 h post infection. Thus, primary β -cells were infected every 4 days with IRS-2 during culture. Overexpression of IRS-2 in human primary β -cells increased survival of β -cells at 4 weeks of culture and also induced proliferation of β -cells, which was further increased by culture on Matrigel coated plates and cAMP elevation. However, proliferation of β -cells was not sufficient for prolonged cultivation and expansion of β -cells, which may require transient expression of cell cyclus dependent kinases such as Cyclin D1 and cdk-4.

Supported by JDRE.

V-90

Insulin receptor substrate(IRS)-1 regulates food intake and energy homeostasis*Schubert M.⁽¹⁾, Surjo D.⁽²⁾, Arnt S.⁽²⁾, Baudler S.⁽³⁾, Schubert D.⁽¹⁾, Alber J.⁽³⁾, White M.⁽⁴⁾, Krone W.⁽¹⁾, Brüning J.⁽³⁾⁽¹⁾Innere Medizin der Universität zu Köln, Klinik II und Poliklinik, Köln, ⁽²⁾Zentrum für Anatomie der Universität zu Köln, Institut II, Köln, ⁽³⁾Center of Molecular Medicine Cologne (CMMC), Institut für Genetik, Köln, ⁽⁴⁾Joslin Diabetes Center, Harvard Medical School, Boston, USA

The receptors for insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1R) are tyrosine kinases that mediate phosphorylation of the insulin receptor substrates (IRSs), including IRS-1–4. IRS-1 is widely expressed and mediates insulin action in most tissues. Phosphorylated IRS proteins activate multiple signaling pathways, including the phosphatidylinositol 3 kinase and extracellular signal-regulated kinase (ERK) cascades that directly regulate various physiological processes. *In vivo* IRS-1 is essential for body growth. *In vitro* it has been shown that IRS-1 is critical for adipocyte differentiation. In order to investigate the physiological role of IRS-1 for energy homeostasis we analysed IRS-1 knockout (IRS-1^{-/-}) mice with respect to energy expenditure, spontaneous activity and expression of various proteins involved in the regulation of energy consumption. We found that IRS-1^{-/-} mice gain less weight during aging compared to wild-type (WT) mice. During aging white adipose tissue increases significantly more in WT-mice than in IRS-1^{-/-} mice. However, spontaneous activity was unchanged in these mice. Surprisingly, IRS-1^{-/-} mice have an about 50 % increased food intake. Indirect calorimetry revealed a significantly increased energy expenditure in these animals. Biochemical investigations of the liver, muscle, white and brown fat showed a significant increase of UCP-2 (uncoupling protein 2) expression in brown adipose tissue as possible molecular basis of this phenotype. Thus, IRS-1 signalling integrates body growth, food intake and energy expenditure.

