

FREIE VORTRÄGE

Schwangerschaft

V-1

Risikofaktoren für postpartalen Diabetes mellitus bei Patientinnen mit Gestationsdiabetes: 11-Jahres Follow-up der Prospektiven Deutschen Gestationsdiabetes Studie

* Löbner K.⁽¹⁾, Knopff A.⁽¹⁾, Baumgarten A.⁽¹⁾, Moellenhauer U.⁽¹⁾, Marienfeld S.⁽¹⁾, Garrido-Franco M.⁽¹⁾, Bonifacio E.⁽¹⁾, Ziegler A.-G.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Krankenhaus München-Schwabing, Institut für Diabetesforschung, München

Fragestellung: Patientinnen mit Gestationsdiabetes (GDM) stellen eine Hochrisiko-Population für die Entwicklung eines postpartalen Diabetes dar. Die vorliegende Studie untersucht die Diabetes-Inzidenz bei Patientinnen mit vorangegangenem GDM und analysiert Risikofaktoren mit dem Ziel, Prädiktionsmodelle zu erstellen.

Material und Methoden: Eine repräsentative Kohorte von 303 Patientinnen mit GDM wurden von 1989 bis 1999 rekrutiert, Folgeuntersuchungen und OGTT fanden nach Entbindung sowie 9 Monate und 2, 5, 8, und 11 Jahre post partum statt (Drop-out 19 %, Median Follow-up bei Patientinnen ohne Diabetes 9,5 Jahre). Mittels Life-Table- und Cox-Analysen wurde untersucht, ob biometrische Faktoren wie postpartaler Body-Mass-Index (BMI), Insulinbehandlung in der Schwangerschaft, Alter und Schwangerschaftsdauer sowie serologische Marker wie Autoantikörper gegen GAD (GADab) und IA-2 (IA-2ab) und high sensitive C-reaktives Protein (hsCRP) mit einem erhöhten Diabetesrisiko assoziiert sind.

Ergebnisse: 133 (44 %) der Patientinnen mit GDM entwickelten während des Beobachtungszeitraums Diabetes. 31 von insgesamt 32 antikörper-positiven Patientinnen entwickelten Diabetes, ein Großteil (75 %) im ersten Jahr post partum. Antikörpernegative Patientinnen entwickelten Diabetes langsamer mit einem kumulativen 8-Jahres-Risiko von 39 %. Bei Antikörper-Negativität waren Insulinbehandlung während der Schwangerschaft (Odds ratio 5,7 versus Diät, $p < 0.001$) und BMI > 30 (Odds ratio 2,5; $p < 0.001$) unabhängige Risikofaktoren. hsCRP war mit BMI assoziiert und kein unabhängiger Risikofaktor. Alle anderen Faktoren waren nicht signifikant.

Schlussfolgerung: Antikörper, Insulinbedarf und BMI ermöglichen eine Risikoabschätzung und eine Differenzierung in Typ-1- und Typ-2-Diabetes. Fast alle Patientinnen mit IA-2ab bzw. GADab entwickelten Diabetes. 89 % aller Antikörper-negativen Patientinnen mit postpartalem Diabetes könnten mit einem Modell identifiziert werden, das BMI und Insulinbedarf einschließt. Das 8-Jahres-Risiko in der Negativgruppe betrug nur 11 %. Bei Hochrisiko-Patientinnen wären engmaschige Kontrollen des OGTT sinnvoll.

V-2

Erhöhtes Geburtsgewicht und Adipositas der Eltern stellen bei Gestationsdiabetes unabhängige Risikofaktoren für Übergewicht in der Kindheit dar

* Schäfer-Graf U.⁽¹⁾, Pawliczak J.⁽¹⁾, Passow D.⁽¹⁾, Hartmann R.⁽²⁾, Rossi R.⁽³⁾, Bühner C.⁽⁴⁾, Harder T.⁽⁵⁾, Plagemann A.⁽⁶⁾, Vetter K.⁽¹⁾, Kordonouri O.⁽²⁾

⁽¹⁾ Vivantes Klinikum Berlin-Neukölln, Klinik für Geburtsmedizin, Berlin, ⁽²⁾ Charité, Campus Virchow-Klinikum, Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Berlin, ⁽³⁾ Vivantes Klinikum Berlin-Neukölln, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Berlin, ⁽⁴⁾ Universitäts-spital beider Basel, Neonatologie, Basel/Schweiz, ⁽⁵⁾ Charité, Campus Virchow-Klinikum, Klinik für Geburtsmedizin, Berlin

Fragestellung: Ein gestörtes intrauterines Milieu als Folge eines Gestationsdiabetes (GDM) kann zu Übergewicht und Diabetes bei den Kindern führen. Ziel der Studie war die Untersuchung (1) der somatischen Entwicklung von Kindern aus Schwangerschaften mit GDM und (2) des Zusammenhangs von antenatalen mütterlichen und fetalen Parametern und dem Gewicht der Eltern mit der somatischen Entwicklung im Kindesalter.

Methoden: Bei 324 Schwangerschaften mit GDM wurden maternale Parameter, Glukosewerte und der fetale Abdominalumfang (AU) bei Diagnose und im Verlauf der Schwangerschaft erhoben. Größe und Gewicht der Kinder wurden bei Geburt und bei einer Follow-up Untersuchung (FU) im Alter von 5.4 (2.5–8.5) Jahren gemessen. Zusätzlich wurden die Daten der Vorsorgeuntersuchungen bei 6, 12 und 24 Monaten und der elterliche Body-Mass-Index (BMI) bei FU verwendet. Für den BMI wurden Standard-Deviation-Scores (SDS) anhand altersentsprechender Normalwerte berechnet.

Ergebnisse: Zu allen Zeitpunkten war der BMI der Kinder signifikant erhöht (+0.82 SDS bei Geburt, +0.56 bei 6, +0.35 bei 12, +0.32 bei 24 Monaten und +0.66 bei FU, $p < .001$). Der BMI bei Geburt korrelierte mit dem BMI bei FU ($r = 0.27$, $p < .001$). 37 % der Kinder mit einem BMI ≥ 90 . Perzentile bei Geburt waren bei FU übergewichtig, im Vergleich zu 25 % bei normalem Geburtsgewicht ($p = 0.022$). Als antenatale Parameter waren AU und postprandiale Glukosewerte im 3. Trimenon mit dem BMI bei FU assoziiert ($r = 0.22$ und $r = 0.18$, $p < .01$). Unabhängige Prädiktoren für den kindlichen BMI waren der BMI bei Geburt, der aktuelle BMI der Mutter und der BMI des Vaters ($r = 0.42$, $p < .001$). Bei normalgewichtigen Eltern mit BMI $< 30 \text{ kg/m}^2$ waren 20 % der Kinder übergewichtig, im Gegensatz zu 69 % bei Adipositas beider Elternteile ($p < .001$).

Schlussfolgerung: Kinder von Müttern mit GDM haben sowohl bei Geburt als auch im weiteren Verlauf ihrer Kindheit eine erhöhte Rate an Übergewicht. Die Entwicklung wird beeinflusst durch intrauterines Wachstum und Ernährungszustand der Eltern. Beratung der Eltern und Kontrolle der späteren kindlichen Entwicklung wird empfohlen.

V-3

Prävalenz einer Glukosetoleranzstörung und Adipositas von Kindern im Alter von 6 Jahren nach Gestationsdiabetes (GDM) der Mutter in der Indexgravidität

* Hunger-Dathe W.⁽¹⁾, Mosebach N.⁽²⁾, Sämann A.⁽¹⁾, Müller U. A.⁽¹⁾, Wolf G.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinikum, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽²⁾ Hufeland Krankenhaus GmbH, Bad Langensalza

Fragestellung: Es sollte die Prävalenz einer iGT und Übergewicht bei Kindern in Abhängigkeit vom mütterlichen Glukosestoffwechsel (GSW) während der Gravidität analysiert werden.

Material und Methoden: Das Studienkollektiv rekrutierte sich aus 226 Geburten von Müttern mit GDM (1994–2000): Bei 129 (57,1 %) Kindern (Alter 6 ± 2 J.; BMI 16 ± 3 kg/m²) erfolgten oGTT, BMI- u. RR-Bestimmung; die Ergebnisse wurden mit Schwangerschaftsdaten korreliert. Bei 53 Kindern (23,5 %) war ausschl. eine Kontrolle des GSW beim Pädiater erfolgt. 1 Kind (0,4 %) war verstorben; von 43 Kindern (19 %) lag keine Information vor.

Ergebnisse: Kein Kind zeigte mit 6 Jahren eine iGT/iFG. Auch Kinder, deren Mütter keine strenge Normoglykämie in der Gravidität erreicht hatten, zeigten einen oGTT-Normalbefund. Nüchternblutglukose der Kinder korrelierte positiv mit dem Körperfettanteil ($r = 0,233$; $p = 0,02$). 15,3 % Kinder waren übergewichtig (BMI-Percentile > 90 – 97 : 9,0 %; > 97 : 6,3 %). Übergewichtige Kinder zeigten perinatal keine höhere Morbiditätsrate; jedoch häufiger eine Makrosomie als normgewichtige Kinder (30 % vs. 16 %, n. s.). Mütter, deren Kind mit 6 J. übergewichtig war, zeigten im oGTT bei GDM-Diagnose höhere Blutglukose- (n. s.) und höhere relative HbA_{1c}-Werte ($1,07 \pm 0,2$ vs. $0,99 \pm 0,1$ bei Normgewicht, $p < 0,05$). Nach Therapieeinleitung erreichten diese Mütter bis zu Geburt eine strenge Normoglykämie, vergleichbar mit Müttern normgewichtiger Kinder. 6 J. nach GDM zeigten sich positive Korrelationen zwischen BMI-Kind und BMI-Mutter ($r = 0,324$; $p < 0,001$) und zwischen postpartaler Gewichtszunahme der Mutter und BMI-Kind ($r = 0,212$; $p < 0,05$); Mütter von adipösen Kindern hatten einen höheren BMI (32 ± 8 kg/m² vs. 25 ± 5 kg/m²; $p = 0,02$). Postpartaler BMI der Mutter zeigte in einer multivariaten Analyse den stärksten Einfluss auf Übergewicht des Kindes ($F = 7,89$, $p = 0,007$).

Schlussfolgerung: Risiken für das Kind sind bei GDM kalkulierbar; Langzeitkomplikationen können vermieden werden. Ein nachweisbarer Einflussfaktor auf kindliches Übergewicht war Ernährungsgewohnheit der Mutter; ersichtlich am BMI und Gewichtszunahme der Mutter nach GDM.

V-4

Diagnostik und Therapie des Gestationsdiabetes – eine Umfrage unter niedergelassenen Frauenärzten/innen in Berlin und Sachsen-Anhalt

* Lüke C.⁽¹⁾, Kemper I.⁽²⁾, Siebert G.⁽³⁾, Henschen S.⁽⁴⁾, Bühling K. J.⁽²⁾

⁽¹⁾ Johanniter-Krankenhaus Genthin-Stendal GmbH, Klinik für Innere Medizin, Betriebsteil IV, Genthin, ⁽²⁾ Charité Campus Virchow-Klinikum, Klinik für Geburtsmedizin, Berlin, ⁽³⁾ DRK-Kliniken Westend, Biomathematik, Berlin, ⁽⁴⁾ Johanniter-Krankenhaus Genthin-Stendal GmbH, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtsmedizin, Stendal

Fragestellung: Die Leitlinien empfehlen ein generelles Screening auf Gestationsdiabetes (GDM) in der Schwangerschaft, das bis-

her noch nicht in die Mutterschaftsrichtlinien aufgenommen worden ist. Die Entscheidung, ob und wie eine Patientin auf einen GDM untersucht werden muß, unterliegt daher der subjektiven Bewertung dieser Krankheit durch den behandelnden Frauenarzt. Einige Frauenärzte bieten ein Screening als IGeL an, die Durchführung ist somit an die finanzielle Situation der Schwangeren gebunden. Aufgrund dieser unklaren Situation wurde eine Bestandsaufnahme zum Diagnose- und Therapieverhalten der niedergelassenen Kollegen/innen in Berlin und Sachsen-Anhalt durchgeführt.

Material und Methoden: Insgesamt wurden 708 Fragebögen mit Fragen zur Diagnostik und Therapie an niedergelassene Frauenärzte/innen verschickt (267 in Sachsen-Anhalt, 441 in Berlin).

Ergebnisse: Es wurden 251 Fragebögen zurückgesandt (Berlin 152 [35 %], Sachsen-Anhalt 99 [37 %]). 90 % der Befragten sprachen sich für eine Aufnahme in die Mutterschaftsrichtlinien aus. Trotz dieser großen Zustimmung führen derzeit nur 36 % der Berliner und 37,4 % der Sachsen-Anhaltiner Kollegen/innen dies routinemäßig durch. Auffallend war, dass bei beiden Umfragen 30 % der Gynäkologen/innen von einer Häufigkeit des GDM unter 1 % ausgingen und damit die tatsächliche Inzidenz deutlich unterschätzten. Bei den verschiedenen Screeningverfahren bevorzugten in Berlin 51 %, in Sachsen-Anhalt nur 24,5 % die Trockenmethode. Die Präsenz eines eigenen Praxislabors war bei beiden Umfragen vergleichbar (Berlin 36 % vs. Sachsen-Anhalt 32 %), ebenso die Durchführung des 50g- bzw. 75g-Tests. Der 50g-Test wird von den meisten Gynäkologen/Innen ab einem Wert von 140 mg/dl als zu hoch bewertet (Berlin 68 %, Sachsen-Anhalt 75 %). Beim OGTT sehen 56 % in Sachsen-Anhalt und 54,6 % in Berlin den oberen Grenzwert für den Nüchternblutzucker bei 90 mg/dl.

Schlussfolgerung: In der Diagnostik und Therapie des GDM zeigt sich eine Heterogenität, vor allem beim Vergleich der Versorgung in der Großstadt zur ländlichen Region, die nur durch die Umsetzung einheitlicher Leitlinien zu beseitigen ist.

V-5

Untersuchung von Insulinsekretion und Insulinresistenz bei postpartalen Patientinnen mit Gestationsdiabetes

Jahner K.⁽¹⁾, *Wiesner T. D.⁽¹⁾, Stumvoll M.⁽¹⁾, Paschke R.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinikum Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig

Einleitung: Die Konversionsrate vom GDM zum T2DM liegt abhängig von ethnischer Herkunft und Beobachtungszeitraum bei 2,6 bis über 70 % (1). Ob alleinige Insulinsekretionsstörung oder Insulinresistenz oder beides dafür verantwortlich sind, konnte aufgrund verschiedener ethnischer Gruppen und der nicht gleichzeitigen Bestimmung von Resistenz und Sekretion nicht beantwortet werden. Es wird beschrieben, dass bei GDM postpartal bereits Störungen der Insulinsekretion und Insulinwirkung bei normalen Nüchternblutglukosewerten vorliegen. Diese T2DM-Pathomechanismen gehen möglicherweise der Entwicklung einer abnormen Glukosetoleranz nach der Schwangerschaft um Monate bis Jahre voraus. Somit sollte bei Frauen mit GDM postpartal gleichzeitig die Insulinresistenz als auch die Insulinsekretion untersucht werden. In dieser Studie sind erstmals beide Charakterisierungsverfahren gleichzeitig bei kaukasischen Frauen angewendet worden.

Fragestellung: Sind bei postpartalen, kaukasischen Patientinnen mit GDM Veränderungen in der Insulinresistenz und/oder der Insulinsekretion messbar?

Methode: Wir untersuchten postpartal 11 Frauen im Alter von 21–45 Jahren ($35,5 \text{ Jahre} \pm 6,1$), die während einer vorangegangenen Schwangerschaft (20 ± 14 Monate postpartum) einen Gestationsdiabetes hatten, und charakterisierten diese mit dem oGTT zur Beurteilung der β -Zell-Funktion und dem Euglykämisch-Hyperinsulinämischen Clamp.

Ergebnisse: 3 von 11 Patientinnen hatten eine gestörte Glukosetoleranz im oGTT (27%). In einem Fall (1/11) lag eine Insulinresistenz vor, alle anderen waren hoch insulinsensibel. Der insulinogene Index zeigt nur in einem Fall eine Störung der Insulinsekretion.

Wir konnten in unserem kleinen Kollektiv bei 27% der Patientinnen eine Störung der Glukosestoffwechsellage (IGT) feststellen. Diese ließ sich aber nur in einem Fall auch in Störungen der Insulinsekretion und Insulinwirkung nachweisen. Somit konnten in unserem Kollektiv keine T2DM-typischen Veränderungen gefunden werden. Die Ergebnisse dieser Pilotstudie müssen in einem größerem Kollektiv überprüft werden.

1 Kim et al. 2002

V-6

Klinische und biochemische Risikofaktoren für Gestationsdiabetes

*Weber S.⁽¹⁾, Kucic A.⁽¹⁾, Badenhoop K.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Med. Klinik I, Frankfurt am Main

Fragestellung: Gestationsdiabetes (GDM) ist eine erstmals in der Schwangerschaft (Sch) aufgetretene Glukosetoleranzstörung. Aufgrund der bislang unzureichenden Betreuung der Patientinnen (P) mit GDM und der deutlich erhöhten Komplikationsrate

haben wir ein ambulantes Schulungsprogramm (SP) entwickelt und die Daten der 93 geschulten P im Hinblick auf klinische und biochemische Risikofaktoren ausgewertet.

Methodik: Das SP mit psychologischer Betreuung umfaßt 8x45 Min., ist auf 8 P beschränkt u. gliedert sich in 5 Themen: Diabetes und GDM, Blutzucker (BZ)-Selbstkontrolle, Ernährung in der Sch, Insuline (I) und praktische Übungen. Eine Anamnese, Untersuchung, Blutentnahme und Evaluation mittels Fragebögen wurde durchgeführt.

Ergebnisse: Das Alter der P lag bei $32,1 \pm 5$ Jahren, GDM wurde in der Sch-Woche $27,4 \pm 5,6$ diagnostiziert. 65 P (69,9%) wurden diätetisch, 28 P (30,1%) mit Insulin (17 mit Normal(N)-I u. NPH-I, 10 mit NI, 1 mit NPH-I) behandelt. 49 P (52,7%) hatten eine positive Familienanamnese. Bei 84 P (90,3%) handelt es sich um eine GDM-Erst-, bei 9 P (9,7%) um eine Zweitdiagnose. 75 P (80,6%) hatten bislang keine, 16 P (17,2%) 1 und 2 P (2,2%) 2 Fehlgeburten. Im 75g oGTT betrug der Nüchtern-BZ $86,8 \pm 15,2$ mg/dl, der 1h-BZ $181,2 \pm 26,4$ mg/dl, der 2h-BZ $137,9 \pm 33,2$ mg/dl. Der HbA_{1c} war bei 2 P (2,3%) erhöht ($> 6,1\%$, mittlerer HbA_{1c} : $5,1 \pm 0,5\%$). 59 P (63,4%) haben entbunden, 44 (74,6%) vaginal, 15 (25,4%) per Sectio. Der mittlere 25OH-VitaminD (VD)-Spiegel betrug 18,4 ng/ml ($\pm 12,5$ ng/ml). 21 der 72 P (29,2%) hatten einen VD-Mangel (≤ 10 ng/ml), 28 der 72 P (38,9%) hatten eine VD-Insuffizienz ($> 10 + \leq 20$ ng/ml), insgesamt 49 P (68,1%) mit VD-Spiegeln ≤ 20 ng/ml.

Schlussfolgerung: Der hohe Anteil an VD-Insuffizienz und -Mangel kann zu der Pathogenese des GDM beitragen. Es fand sich eine hohe Akzeptanz des SP mit deutlicher Verbesserung der Lebensqualität, der Versorgung während der Sch als auch des Neugeborenen. Durch eine Ernährungsumstellung wurden bei 69,9% der P adäquate BZ-Werte erreicht. Bei 74,6% fand die vaginale Entbindung komplikationslos statt.

Transkriptionelle Regulation des Stoffwechsels

V-7

Fettsäure-induzierte differenzielle Regulation der Expression von Peroxisome Proliferator-activated Receptor- γ Coaktivator (PGC)-1 α und β in in vitro differenzierten humanen Skelettmuskelzellen

* Staiger H.⁽¹⁾, Staiger K.⁽¹⁾, Machicao F.⁽¹⁾, Häring H.-U.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universität Tübingen, Medizinische Klinik, Innere Medizin IV, Tübingen

Fragestellung: PGC-1 ist ein Coaktivator von Transkriptionsfaktoren, welche metabolisch bedeutsame Prozesse wie Gluconeogenese, Fettsäureoxidation, oxidative Phosphorylierung, Thermogenese und Mitochondriogenese stimulieren. Die Regulation der PGC-1-Expression durch Metaboliten ist unbekannt. Wir untersuchten deshalb, ob wichtige nicht-veresterte Fettsäuren (NEFA) die Expression von PGC-1 α und β in humanen in vitro differenzierten Skelettmuskelzellen (Myotuben) modulieren können.

Material und Methoden: Humane Myotuben wurden mit 0,5 mM Myristat (C14:0), Palmitat (C16:0), Stearat (C18:0), Palmitoleat (C16:1 n-7), Oleat (C18:1 n-9) oder Linoleat (C18:2 n-6) behandelt. Die mRNA-Expression von PGC-1 α und β wurde mittels RT-PCR, cAMP-Bildung mittels EIA quantifiziert.

Ergebnisse: Humane Myotuben exprimieren basal 28-mal mehr PGC-1 β - als α -mRNA ($13,33 \pm 2,86$ vs. $0,47 \pm 0,08$ fg/ μ g Total-RNA, N = 5). Die mRNA-Expression von PGC-1 α wird durch ungesättigte NEFA (UFA) 2-3-fach induziert ($p < 0,05$ für Oleat und Linoleat, N = 5). Gesättigte NEFA (SFA) haben dagegen keine modulierende Wirkung auf PGC-1 α . Außerdem wird der Effekt von Linoleat nicht durch Palmitat neutralisiert. Da keine der getesteten NEFA cAMP-Bildung stimuliert, ist der induktive Effekt der UFA unabhängig von der cAMP-PKA-CREB-Achse, dem für Hunger, Kälte, Glucagon und Catecholamine beschriebenen Signalweg der PGC-1 α -Induktion. Die mRNA-Expression von PGC-1 β wird weder durch UFA noch durch SFA induziert. Tendenziell bewirkt Behandlung mit SFA zunehmender Kettenlänge eine Abnahme der PGC-1 β -mRNA.

Schlussfolgerung: NEFA regulieren die Expression von PGC-1 α und β differenziell: PGC-1 α wird von UFA induziert und PGC-1 β von SFA tendenziell reprimiert. Da PGC-1 in Muskelzellen Fettsäureoxidation und oxidative Phosphorylierung stimuliert, könnte dieser Befund darauf hinweisen, dass UFA der Einlagerung intramyozellulärer Lipide und der Lipid-induzierten Insulinresistenz entgegenwirken, während SFA dies nicht vermögen oder diese pathologischen Prozesse sogar begünstigen.

V-8

SREBP-1 a induces lipotoxicity in human liver cells by affecting proteins involved in β -oxidation

* Hartwig S.⁽¹⁾, Lehr S.⁽¹⁾, Avci H.⁽¹⁾, Knebel B.⁽¹⁾, Jacob S.⁽¹⁾, Haak C.⁽¹⁾, Susanto F.⁽¹⁾, Mueller-Wieland D.⁽¹⁾, Kotzka J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut fuer Klinische Biochemie und Pathobiochemie, Duesseldorf

Aim: Sterol Regulatory Element Binding Protein (SREBP)-1 a is a transcription factor, which is a major player in lipid metabolism and insulin action.

Material and Methods: We have generated human liver cells (HepG2) over-expressing active SREBP-1 a constitutively called SREBP-1 a (+). These cells show massive intracellular lipid accumulation. To elucidate the effect of SREBP-1 a on lipid metabolism at the level of the cellular protein network, we have analyzed the protein pattern of mitochondria using the novel technique two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE). Mitochondria were enriched by sub-cellular fractionation using differential and isopycnic centrifugation. Proteins of isolated organelles were labeled with Cy-dyes and separated on 2-D gels.

Results: The 2D-gels revealed more than 100 protein spots, which were significantly different in their abundance between wild type and SREBP-1 a (+) cells. MALDI mass spectrometry showed that 68 % of identified proteins belong to mitochondria. In SREBP-1 a (+) cells, several enzymes involved in lipid metabolism were significantly altered, suggesting that cellular lipid metabolism is rather triggered to accumulation of fatty acids than to its degradation. To test a possible functional relevance of these findings intracellular fatty acid (FA) patterns were analyzed by gas chromatography. The results showed a significant increase in total fatty acid content with a shift in composition to long-chain unsaturated FAs.

Conclusions: The detected protein differences might be an explanation for the observed intracellular lipid accumulation and might link SREBP-1 a to features like steatosis hepatis.

V-9

Einfluss des PPAR- δ -Agonisten GW501 516 auf die mitochondriale Substratselektion und den PI3K/PKB-Signalweg im isolierten Rattenmuskel

* Brunmair B.⁽¹⁾, Dörig J.⁽¹⁾, Gras F.⁽¹⁾, Waldhäusl W.⁽¹⁾, Fürsinn C.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Klinik für Innere Medizin III, Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel, Wien

Fragestellung: Agonisten des PPAR- δ verbessern bei Versuchstieren Glukose- und Lipidhomöostase, in der Klinik hofft man auf eine Einsatzmöglichkeit bei Fettstoffwechselstörungen. Diese Wirkungen dürften zumindest teilweise Folge direkter Effekte

am Skelettmuskel sein, wo Fettsäureutilisation und Mitochondrienbiogenese ansteigen. Ziel der vorliegenden Studie war eine Analyse der Bedeutung von muskulärem PPAR- δ in Hinblick auf den Glukosestoffwechsel, das mitochondriale Uncoupling Protein-3 (UCP-3; als Indikator der Mitochondrienbiogenese) und den Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K)-Proteinkinase B/Akt (PKB)-Signalweg, der direkt die Mitochondrienfunktion moduliert.

Material und Methoden: Frisch isolierte Skelettmuskelpreparate gesunder Ratten wurden über 25 h in Anwesenheit von 1 $\mu\text{mol/l}$ des selektiven PPAR- δ -Agonisten GW501 516 (GW) inkubiert, während der letzten Stunde wurde unter Stimulation mit 100 nmol/l Insulin die mitochondriale Substratoxidation gemessen. Weiters wurde mittels Immunoblotting der Effekt von GW auf UCP-3, PI3K sowie phosphorylierte (=aktivierte) und nicht-phosphorylierte PKB bestimmt.

Ergebnisse: GW steigerte die mitochondriale Fettsäureoxidation um +38 % bei gleichzeitiger Hemmung der Glukoseoxidation um -49 % (Kontrolle vs. GW; CO_2 -Produktion in $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$: aus Palmitat, 77 ± 5 vs. 106 ± 8 , $p < 0.001$; aus Glukose, 2115 ± 139 vs. 1082 ± 93 , $p < 0.001$). Diese ausgeprägte Verschiebung der Substratselektion war ebenso wie die erhöhte Expression von UCP-3 (+12.0 \pm 4.7 %; $p < 0.025$) mutmaßlich Ausdruck einer PPAR- δ -medierten Mitochondrienbiogenese. Gleichzeitig stimulierte GW die Expression der PI3K (+16.0 \pm 7.7 %; $p < 0.02$) und steigerte die phosphorylierte Form der PKB (+32.5 \pm 9.6 %; $p < 0.005$), nicht aber deren nicht-phosphorylierte Form (+8.9 \pm 5.3 %; ns).

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse zeigen, dass PPAR- δ -Aktivierung im isolierten Skelettmuskel zu einer deutlichen Verschiebung der mitochondrialen Substratselektion von Glukose zu Fettsäuren führt, und weisen auf eine gleichzeitige Aktivierung des PI3K/PKB-Signalweges hin.

V-10

Steuerung des hepatischen Fettstoffwechsels durch den transkriptionellen Receptor Hes-1

* Lemke U.⁽¹⁾, Künstlin V.⁽¹⁾, Herzig S.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Krebsforschungszentrum, A170, Heidelberg

Aktuelle Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation WHO erwarten eine Verdopplung der Zahl der weltweit betroffenen Diabetes-Typ-II-Patienten bis 2025. Ein veränderter Fettstoffwechsel – insbesondere Übergewicht – trägt zum Ausbruch der Krankheit bei, die molekularen Hintergründe dafür sind jedoch unklar.

Störungen des Fettstoffwechsels bei Diabetes liegen häufig Veränderungen der Genaktivität von Schlüsselenzymen des Lipidmetabolismus zugrunde. Die an der Regulation dieser Gene beteiligten Transkriptionsfaktoren sind jedoch weitgehend unbekannt.

Wir haben den basischen Helix-Loop-Helix Transkriptionsrepressor Hes-1 als ein Regulationsprotein im Fettstoffwechsel der Leber identifiziert. Hes-1 hemmt Glucagon-abhängig die Expression des nukleären Hormonrezeptors PPAR γ , der die Fettspeicherung nach Insulin-Stimulus induziert. Eine Veränderung der Lipidspeicherung führt zur Anhäufung freier Fettsäuren, die zur Ausbildung zellulärer Insulin-Resistenz in periphe-

ren Geweben beitragen. Unter dauerhaftem Glucagon-Stimulus kann übermäßig exprimiertes Hes-1 die Unterdrückung der Fettspeicherung verursachen und daher zur Ausbildung peripherer Insulin-Resistenz und Diabetes Typ II beitragen.

In dieser Studie soll die Rolle von Hes-1 im Leberstoffwechsel diabetischer Mäuse untersucht werden.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Hes-1 Überexpression in HepG2-Zellen zu einer Verringerung der Expression von PPAR γ 1 führt, wohingegen die Expression des fettgewebsspezifischen PPAR γ 2 unter denselben Bedingungen induziert wird. Interessanterweise ist ein anomales PPAR γ 1/PPAR γ 2-Verhältnis Kennzeichen einer insulin-resistenten Leber bei Diabetes. Um die biologische Rolle von Hes-1 bei der Ausbildung eines diabetischen Phänotyps zu untersuchen, wurden Hes-1 RNAi- und Überexpressions-Adenoviren konstruiert und erfolgreich in vivo in wt- und diabetischen Mausmodellen getestet. Weiterführende Studien diabetischer Genexpressionsprofile in Maus-Modellen werden die Rolle von Hes-1 bei der Ausbildung diabetischer Dyslipidämie abschließend klären.

V-11

PPAR gamma activating Angiotensin Receptor Blockers exhibit differential cofactor recruitment and induce altered gene expression in 3T3-L1 adipocytes

* Schupp M.⁽¹⁾, Clemenz M.⁽¹⁾, Gineste R.⁽²⁾, Witt H.⁽³⁾, Janke J.⁽⁴⁾, Hellebois S.⁽²⁾, Hen-nuyer N.⁽⁵⁾, Ruiz P.⁽³⁾, Unger T.⁽¹⁾, Staels B.⁽⁵⁾, Kintscher U.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Charité-Universitätsmedizin Berlin, Center for Cardiovascular Research (CCR), Berlin, ⁽²⁾ GENFIT, Parc Eurasante, Loos, Fr, ⁽³⁾ Max-Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, ⁽⁴⁾ Charité-Universitätsmedizin, HELIOS Klinikum Berlin, Franz Volhard Klinik, Berlin, ⁽⁵⁾ UR 545 INSERM, Institut Pasteur de Lille and the Faculté de Pharmacie, Département d'Atherosclerose, Lille, Fr

The nuclear transcription factor Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPARgamma) is a major regulator of lipid and glukose metabolism. PPARgamma activation by the synthetic ligands, thiazolidinediones (TZDs), results in insulin sensitization and lowers blood glukose. Recently, a subset of Angiotensin Type 1 Receptor Blockers (ARBs) has been identified as PPARgamma activating compounds.

Introduction: In order to get mechanistic insight into the activation we studied the kind of interaction between the PPARgamma-Ligand binding domain and the ARBs, and investigated the impact of these compounds on gene expression in 3T3-L1 adipocytes.

Material and Methods: We used partial trypsin digestion of the recombinant receptor for testing ligand binding, and GST-pull down and Fluorescence resonance energy transfer (FRET)-assays to detect protein-protein interaction. Transient transfection assays were used to confirm results in COS-7 cells with ectopic TIF-2 expression. Furthermore, we carried out gene expression profiling using Agilent-Oligochips in 3T3-L1 adipocytes treated with ARBs and the TZD Pioglitazone.

Results: Irbesartan and Telmisartan released the corepressor NCOR and recruited the coactivator DRIP205 to PPARgamma in a concentration dependent manner. Surprisingly, Telmisartan did not recruit TIF-2, a coactivator implicated in the PPARgamma mediated lipid uptake and storage which was confirmed in cells due to the lack of increased transactivation of Telmisartan with ectopic TIF-2 expression. Gene expression profiling

showed a large overlap of genes regulated by TZDs and ARBs but also revealed differentially expressed genes in regard to fat cell function.

Conclusions: Certain ARBs are ligands with a selective PPAR-gamma activation providing the molecular basis for a dissociation of beneficial PPARgamma-mediated effects such as insulin sensitization from side effects (e.g. weight gain) elicited by TZD-activation. These data may also help to design future ligands which exhibit antidiabetic action without the use-limiting side effects of TZDs.

V-12

Kernrezeptor Co-Faktor RIP140: Typ-II-Diabetes-Kandidatengen

* Krones-Herzig A.⁽¹⁾, Metzger D.⁽¹⁾, Ziegler A.⁽¹⁾, Herzig S.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Krebsforschungszentrum, Molekulare Stoffwechselkontrolle, Heidelberg

Angesichts der steigenden Zahl von Patienten mit Insulin-resistentem Typ-II-Diabetes stellt die Charakterisierung molekularer Therapie-Strategien ein vordringliches Forschungsziel dar. Wesentliche Ursachen für vaskuläre Komplikationen diabetischer Patienten sind Hyperglykämie and Dyslipidämie, die Hauptmerkmale der diabetischen Pathophysiologie.

Die Hormon-abhängige Regulation transkriptioneller Co-Faktoren wurde von uns als neuer Kontrollpunkt des hepatischen Glu-

kose- und Lipidstoffwechsels identifiziert und scheint dadurch an der Aufrechterhaltung systemischer Insulin-Sensitivität beteiligt zu sein.

Neuste Befunde demonstrieren die durch Hunger induzierte Aktivierung des transkriptionellen Co-Factors Receptor Interacting Protein 140 (RIP140) in der Leber von Mäusen. Die physiologische Bedeutung von RIP140 für den Leber-Metabolismus ist bislang aber unbekannt und sollte hier untersucht werden.

Unsere Ergebnisse zeigten, dass die RIP140-mRNA-Expression in diabetischen db/db Mäusen und in Insulin-Rezeptor-Knock-out-Mäusen im Vergleich zu gesunden Tieren stark erhöht ist. Funktionelle Versuche in kultivierten Hepatozyten konnten nachweisen, dass eine Überexpression von RIP140 die Promoteraktivität von Schlüsselgenen des hepatischen Cholesterinstoffwechsels inhibiert. Promotor-Mutationsanalysen zeigten, dass die Wirkung von RIP140 hierbei über die Promotor-Bindungsstelle des Kernrezeptors LXR, dem wesentlichen molekularen Cholesterin-Sensor, vermittelt wird. Tatsächlich konnte eine direkte Interaktion von RIP140 mit LXR in der Leber von Mäusen in vivo nachgewiesen werden.

Unsere Studien deuten darauf hin, dass der transkriptionelle Co-Faktor RIP140 einen neuen Kontrollpunkt des hepatischen Cholesterinstoffwechsels darstellt, dessen Überexpression entscheidend zur diabetischen Dyslipidämie beitragen könnte. Als neues Kandidatengen der Typ-II-Diabetes-Prädisposition könnte RIP140 damit in weiteren Studien als Prototyp neuer Zielmoleküle für die Therapie dieser Krankheit etabliert werden.

Neue Medikamente

V-13

Insulin-Antikörper, induziert durch inhalatives Insulin, beeinflussen die pharmakodynamischen und -kinetischen Eigenschaften von Insulin nicht

* Heise T.⁽¹⁾, Tusek C.⁽¹⁾, Stephan J.-A.⁽¹⁾, Krasner A.⁽²⁾, Landschulz W. H.⁽²⁾, Sha S.⁽³⁾, Becker R. H. A.⁽⁴⁾, Bott S.⁽¹⁾

⁽¹⁾Profil Institut für Stoffwechselforschung GmbH, Neuss, ⁽²⁾Pfizer, Inc., New London, USA, ⁽³⁾Pfizer, Inc., Groton, USA, ⁽⁴⁾Aventis Pharma Deutschland GmbH, Clinical Pharmacology, Frankfurt

Fragestellung: Bislang ist unklar, welchen Einfluß Insulin-Antikörper (IAK) auf die Blutzuckereinstellung und die Wirkdauer von Insulin haben. In dieser prospektiven, randomisierten Studie wurde erstmals der Einfluß von durch Behandlung mit inhalativem Insulin induzierten IAK auf die pharmakodynamischen (PD) und pharmakokinetischen (PK) Insulin-Eigenschaften systematisch untersucht.

Material und Methoden: 45 Typ-1-Diabetiker (mittleres Alter 37 Jahre, BMI 25 kg/m², HbA_{1c} 7,2 %) wurden randomisiert mit einer intensivierten Insulintherapie mit täglich zwei Injektionen NPH-Insulin und präprandialer Gabe von entweder s.c. Normalinsulin (SC) oder inhalativem Insulin (INH) über 24 Wochen behandelt. Vor und 12 und 24 Wochen nach Behandlungsbeginn wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen standardisierte Mahlzeitentests (präprandiale Blutzucker (BZ)-Stabilisierung bei 130 mg/dl, Messung von BZ und Insulinkonzentrationen über 6 Stunden nach Einnahme der Mahlzeit (450 kcal, 73 g Kohlenhydrate, 11 g Lipide)) und Glukose-Clamp-Versuche (Clamplevel 130 mg/dL, iv Insulingabe von 0.2 mU/kg/min, Clampdauer 12 h) durchgeführt.

Ergebnisse: IAK (MW + SD) stiegen unter INH im Behandlungszeitraum von 24 Wochen um 98 ± 140 µU/mL an, blieben aber unter SC fast unverändert (Δ 2 ± 5 µU/mL). Dagegen fanden sich keine signifikanten Unterschiede in den untersuchten PK- und PD-Parametern (Werte nach 24 Wochen: Maximaler postprandialer BZ 135,6 ± 14,1 (INH) vs. 138,5 ± 11,0 (SC) mg/dl, Flächen unter den BZ-Kurven bis 2 Stunden (AUC₀₋₁₂₀) 12 855 ± 2726 vs. 12 977 ± 2445 mg*min/dl, Flächen unter den Glukoseinfusionsraten-Kurven bis 2 Stunden 222,2 ± 141,3 vs. 279,2 ± 126,7 mg/kg, alle NS).

Schlussfolgerung: In dieser systematischen Untersuchung fanden sich keine Hinweise auf einen klinisch relevanten Effekt der unter Behandlung mit inhalativem Insulin auftretenden Insulin-Antikörper: Sowohl Insulin-Pharmakodynamik und -Pharmakokinetik als auch die postprandiale Blutzuckerkontrolle blieben unbeeinflusst.

V-14

Stoffwechselkontrolle unter ICT bei Langzeit-T2DM. Eine vierjährige prospektive Therapieinterventionsstudie

* Neumann C.⁽¹⁾, Zschau S.⁽¹⁾, Irsigler A.⁽¹⁾, Dölpl B.⁽¹⁾, Göke B.⁽²⁾, Woerle H. J.⁽²⁾

⁽¹⁾Diabetologische Schwerpunktpraxis, München, ⁽²⁾Klinikum Großhadern, Medizinische Klinik II, München

Im Verlauf des Typ-2-Diabetes (T2DM) kommt es sehr häufig zu einer kontinuierlichen Verschlechterung der Glukoseregulation (UKPDS).

Ziel dieser 4-jährigen, prospektiven Therapieinterventionsstudie war es zu klären, inwieweit bei Langzeit-T2DM durch Umstellung auf ICT eine andauernde gute (HbA_{1c} < 6,5 %) Stoffwechseleinstellung erzielt werden kann.

Methoden: Eingeschlossen wurden 60 T2DM (Alter 64,3 ± 1,2, DM-Laufzeit 11,1 ± 1,3 Jahre), die unter OAD und CT unzureichend therapiert waren (HbA_{1c} > 7,5 %). Im Rahmen einer intensiven, strukturierten Schulung erhielten alle Patienten NPH-Insulin zur Nacht sowie 3 x präprandial Lispro (n = 24), Aspart (n = 20) bzw. Normalinsulin (n = 16). Die Analoga wurden zur Mahlzeit, Normalinsulin 30 min. präprandial injiziert. Erfasst wurden vor Therapieumstellung und alle 6 Monate bis zum Studienende nach 4 Jahren HbA_{1c}, Lipidprofil, BMI, Hypoglykämierate sowie Gesamtinsulinbedarf. Die Gruppen unterschieden sich initial nicht bezüglich der erfassten Parameter.

Ergebnisse: HbA_{1c} und Triglyceride konnten innerhalb von 6 Monaten von initial 9,0 ± 0,2 auf 6,1 ± 0,1 % bzw. 228 ± 18 auf 158 ± 17 mg/dl, gesenkt und über den gesamten Studienzeitraum konstant gehalten werden (im Mittel 6,1 ± 0,1, p < 0,001, bzw. 160 ± 11 mg/dl p < 0,05). HDL und LDL-Cholesterin zeigten keine Änderungen (48 ± 2 bzw. 118 ± 4 mg/dl). Es kam es zu einer nur geringen, jedoch signifikanten Gewichtszunahme (28,2 ± 0,6 auf 28,7 ± 0,9 nach vier Jahren, p < 0,05). Der Insulinbedarf blieb unverändert (0,9 ± 0,1 vs. 0,8 ± 0,1 IE/kg). Die Hypoglykämieraten waren niedrig (2,8 ± 0,7 events/pat.years) und nicht unterschiedlich.

Zusammenfassung: Bei T2DM, die mit OAD und CT unzureichend behandelt sind, ermöglicht Schulung und Umstellung auf ICT eine anhaltend sehr gute Stoffwechseleinstellung bei geringem Hypoglykämierisiko ohne nennenswerte Gewichtszunahme. Analoga und Normalinsulin erwiesen sich als gleichwertig, wenn unterschiedliche Spritz-Ess-Abstände eingehalten werden.

V-15

Liraglutide in Kombination mit Metformin bei Typ-2-Diabetes: Im Vergleich zu Glimepirid signifikante Verbesserung der Stoffwechselkontrolle und Gewichtsreduktion

* Nauck M. A.⁽¹⁾, Hompesch M.⁽²⁾, Filipczak R.⁽³⁾, Le T. T. D.⁽⁴⁾, Nielsen L.⁽⁴⁾, Zdravkovic M.⁽⁴⁾, Gumprecht J.⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Diabeteszentrum, Bad Lauterberg, ⁽²⁾ Profil Institut für Stoffwechselforschung, Neuss, ⁽³⁾ NZOZ Gudent SC, Rawa Mazowiecka, Polen, ⁽⁴⁾ Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Dänemark, ⁽⁵⁾ Klinik für Innere Medizin und Diabetologie, Zabrze, Polen

Fragestellung: Liraglutide (NN2211) ist ein GLP-1-Derivat zur täglichen s. c. Einmalgabe. Die Studie untersuchte Effekte auf Stoffwechsel- und Gewichtskontrolle von Liraglutide als Monotherapie bzw. in Kombination mit Metformin (MET) im Vergleich zu einer MET-Monotherapie und einer Kombination von MET + Glimepirid (GLIM).

Material und Methoden: 144 Pat. mit Typ-2-Diabetes (63 % m, Durchschnittsangaben (\pm SD): Alter 56 (\pm 9) Jahre, Nüchtern-Serumglukose (NSG) 13,3 (\pm 2,6) mmol, HbA_{1c} 9,4 (\pm 1,0) %, Gewicht 93 (\pm 13) kg) wurden nach 2–6 wöchiger MET Titration auf 2x1 g pro Tag bei einer NSG von > 9 mmol randomisiert und 5 Wochen doppelblind behandelt. Die Liraglutide-Dosis wurde von 0,5 mg wöchentlich um 0,5 mg auf maximal 1x2 mg/Tag erhöht.

Ergebnisse: Bei Liraglutide + MET vs. MET allein kam es zu einem Absinken der NSG von -3,90 mmol/l (95 % KI: -5,0; -2,9) bzw. einer Gewichtsreduktion von -0,4 kg (-1,2; 0,3). Bei Liraglutide + MET vs. MET + GLIM sank die NSG um -1,25 mmol/l (-2,3; -0,3) sowie das Körpergewicht um -2,9 kg (-3,6; -2,1). Bei Monotherapie sank die NSG unter Liraglutide vs. MET um -1,37 mmol/l (-2,4; -0,3) bei einer Gewichtsabnahme von -0,4 kg (-1,1; 0,4). Bei vergleichbaren Ausgangswerten zeigten nur Pat. mit Liraglutide + MET nach 5 Wochen einen durchschnittlichen HbA_{1c} Rückgang um mehr als einen Prozentpunkt (-1,1; 95 % KI: -1,3; -0,8). Unter Liraglutide traten auch in Kombination keine laborchemisch bestätigten Hypoglykämien auf. Übelkeit (Monotherapie: 19,4 %, Kombination: 33,3 %) als häufigste gastrointestinale Nebenwirkung (GI-NW), führte bei nur 4 % (3/74) der mit Liraglutide behandelten Pat. zum Studienabbruch.

Schlussfolgerung: (1) Nach Titration kann Liraglutide mit bis zu 2 mg pro Tag dosiert werden. (2) Liraglutide + MET führt im Vergleich zu GLIM + MET zu besserer Stoffwechselkontrolle. (3) Mit Liraglutide behandelte Pat. verloren Gewicht (-2,4 %) im Gegensatz zu den GLIM-Pat., die zunahm (+0,9 %). (4) GI-NW traten häufig, meistens vorübergehend auf, wurden aber als akzeptabel betrachtet und standen der Weiterbehandlung mit Liraglutide nur selten entgegen.

V-16

Vergleich der Mitogenität von Insulin Glargin und Humaninsulin in menschlichen Brustepithelzellen

* Staiger K.⁽¹⁾, Hennige A. M.⁽¹⁾, Schweitzer M. A.⁽²⁾, Staiger H.⁽¹⁾, Häring H.-U.⁽¹⁾, Kellerer M.⁽³⁾

⁽¹⁾ Universität Tübingen, Med. Klinik IV, Tübingen, ⁽²⁾ Aventis Pharma, Deutschland, Bad Soden am Taunus, ⁽³⁾ Marienhospital, Zentrum für Innere Medizin I, Stuttgart

Fragestellung: Bestimmte Insulinanaloga (AspB10) verursachen durch eine veränderte Wirkung an Insulin- und IGF-1-Rezeptoren Mamma-Karzinome in Nagetieren. Das zunehmend eingesetzte Insulinanalogon Glargin [LANTUS®], das eine erhöhte Affinität zum IGF-1-Rezeptor aufweist, induzierte einen erhöhten Thymidineinbau in malignen Osteosarkomzellen. Im Gegensatz dazu zeigte Insulin Glargin keinen veränderten Thymidineinbau in nicht-malignen Zellen. Um die mitogene Potenz von Insulin Glargin weiter zu erfassen, untersuchten wir seine proliferations-fördernde Wirkung in normalen, nicht-maligne transformierten Brustepithelzellen und Mamma-Karzinom-Zellen.

Material und Methoden: Zellen einer normalen Brustepithelzelllinie (MCF-10) und Zellen einer menschlichen Mamma-Karzinom-Zelllinie (MCF-7) wurden durch Serumentzug (über 24 h bzw. 48 h) arretiert. Dann wurden die Zellen mit Normalinsulin oder Insulin Glargin in verschiedenen Konzentrationen (10, 50, 100 nM) 20 h lang behandelt und die Proliferationsrate wurde mittels 3[H]Thymidineinbau bestimmt.

Ergebnisse: Die Behandlung von MCF-10- und MCF-7-Zellen mit Normalinsulin oder Insulin Glargin führte zu einer signifikanten Zunahme der Proliferationsrate. Allerdings war auch in sehr hohen Konzentrationen kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Normalinsulin und Insulin Glargin im 3[H]Thymidineinbau detektierbar.

Schlussfolgerung: Zusammenfassend ergibt sich aus unseren in-vitro-Daten kein Hinweis darauf, dass Insulin Glargin im Vergleich zu Normalinsulin ein erhöhtes mitogenes Potenzial in normalen Brustepithelzellen oder Mamma-Karzinom-Zellen aufweist.

V-17

Optimierter Gewichtsverlauf bei Jugendlichen und Adoleszenten mit Typ-1-Diabetes unter Langzeittherapie mit Insulin Lispro

* Herwig J.⁽¹⁾, Scholl-Schilling G.⁽¹⁾, Khodaverdi S.⁽¹⁾, Böhles H.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Klinik für Kinderheilkunde I, Pädiatrische Diabetologie, Frankfurt

Fragestellung: Jugendliche Typ-1-Diabetiker nehmen oft übermäßig an Gewicht zu und entwickeln häufig Übergewicht. Das kurzwirkende Insulinanalogon Lispro könnte die Umsetzung der Diätetik erleichtern und den Gewichtsverlauf günstig beeinflussen.

Material und Methoden: Wir verglichen in einer offenen, kontrollierten, prospektiven Studie den Langzeiteffekt von Insulin Lispro (LI) und Normalinsulin (NI) auf Stoffwechselqualität, Hypoglykämie-Frequenz und Gewichtsverlauf von Jugendlichen und Adoleszenten mit Typ-1-Diabetes. Die Patienten mit ICT injizierten LI präprandial ohne oder NI mit Spritz-Eß-Abstand,

als Basalinsulin 2 x täglich NPH-Insulin, bei Dawn-Phänomen zinkverzögertes Insulin.

Ergebnisse: 62 Patienten (Alter $16,8 \pm 3,5$ Jahre) wurden unter LI über $3,7 \pm 1,7$ Jahre, 60 Patienten in der NI-Gruppe (Alter $15,6 \pm 3,0$ Jahre) über $3,6 \pm 1,7$ Jahre beobachtet ohne signifikante Unterschiede bezüglich prandialer oder basaler Insulindosis, Frequenz leichter oder schwerer Hypoglykämien und Stoffwechseleinstellung. Der HbA_{1c} stieg unter LI von $7,5 \pm 1,2$ auf $7,7 \pm 1,3$ %, unter NI allerdings von $7,7 \pm 1,2$ auf $8,2 \pm 1,9$ % ($p=0,31$) an, der BMI unter LI von $23,3 \pm 3,8$ auf $24,1 \pm 3,7$ kg/m^2 , unter NI von $22,3 \pm 3,7$ auf $24,2 \pm 3,9$ kg/m^2 . 60 % der LI-Patienten blieben normalgewichtig, der Anteil übergewichtiger NI-Patienten stieg von 25,0 % auf 43,3 % an. Bei altersentsprechender Einteilung in Unter-, Normal- und Übergewicht zeigten 25 % der NI-Patienten eine Übergewichtsentwicklung, aber nur 4,8 % der LI-Patienten (Mantel-Haenszel-CHI-Quadrat-Test: $p=0,0049$; Fisher's Exakt-Test: $p=0,006$). In der NI-Gruppe war die Änderung des BMI mit einem Median von 7,6 % größer als in der LI-Gruppe mit 2,5 % (signifikante prozentuale Änderung des BMI zwischen beiden Gruppen, $p=0,01$).

Schlussfolgerung: Jugendliche und Adoleszenten mit Typ-1-Diabetes zeigen eine gute Akzeptanz einer ICT mit Lispro-Insulin mit tendenziell besserer Stoffwechseleinstellung. Eine Lispro-Therapie scheint eine bessere Gewichtskontrolle mit weniger Übergewichtsproblemen zu ermöglichen.

V-18

DP IV-inhibitor P32/98 therapy on blood glucose control and islet function in (fa/fa) Zucker rats with impaired glucose tolerance

* Berg S.⁽¹⁾, Augstein P.⁽¹⁾, Altmann S.⁽¹⁾, Kühn-Wache K.⁽²⁾, Heine P.⁽¹⁾, Heins J.⁽²⁾, Demuth H.-U.⁽²⁾, Salzsieder E.⁽¹⁾, Freyre E.-J.⁽¹⁾

⁽¹⁾Institut für Diabetes'Gerhardt Katsch' Karlsruhe, Karlsruhe/ Germany, ⁽²⁾Probiodrug AG, Halle, Saale/ Germany

Introduction: Early intervention in patients with IGT may delay manifestation of type-2-diabetes and prevent related complications. In (fa/fa) Zucker rats (ZR), an animal model for IGT and diabetes, the effectiveness of Dipeptidyl-Peptidase IV-inhibitor therapy with P32/98 on incipient (i) and manifest (m) impaired glucose tolerance (IGT) in vivo and on pancreatic islet function in vitro were investigated.

Material and Methods: ZR with iIGT (10 weeks old) and mIGT (20 weeks) were fed ad libitum and administered P32/98 (21,61 mg/kg b. w.) or placebo (CO-fatty; n = 10 per group) once daily orally at 05:00 p. m. before the dark phase (06:00 p. m. – 06:00 a. m.) for six and three weeks, respectively. Body weight (b. w.), morning blood glucose and insulin, oral glucose tolerance tests (OGTT; 2 g glucose/kg b. w.), day-night profiles of blood glucose and plasma parameters were monitored. Afterwards, glucose responsiveness of isolated islets and islet morphology were analysed.

Results: P32/98 tended to lower body weight gain and food intake in iIGT only. It declined morning blood glucose more efficiently in ZR with mIGT than with iIGT. Day-night blood glucose profile was nearly normalised in iIGT and improved in mIGT ZR. Glucose tolerance curves of OGTT

after P32/98 pre-medication were declined with less insulin in iIGT and mIGT ZR than in CO-fatty rats. This effect was, however, more prominent in iIGT than in mIGT ZR. Fatty acids were significantly declined by P32/98.

Glucose stimulated insulin secretion of isolated pancreatic islets was, however, unchanged. Insulin content of the pancreas or islets was not changed by the DP IV-inhibitor. Intestine growth (small and large) was the same as in the CO-fatty rats.

P32/98 increased the number of β -cells/ mm^2 islet area of ZR with mIGT.

Conclusions: ZR with iIGT profit more than ZR with mIGT from once daily oral P32/98 administration. Sparing of insulin to cope with deteriorated glucose tolerance is suggested as the beneficial lasting effect of the DP IV-inhibitor P32/98. The DP IV-inhibitor has no side effect on intestine growth.

V-19

Identifikation spezifischer Basalratenmuster bei der Insulinpumpenbehandlung (CSII) des Diabetes mellitus (DM) Typ 1 im Kindes- und Jugendalter durch ein nicht supervidiertes Clusteranalyseverfahren anhand von 1242 „DPV-Wiss“-dokumentierten Patienten

* Odendahl R.⁽¹⁾, Sandra O.⁽¹⁾, Wagner V.⁽¹⁾, Kremke B.⁽¹⁾, Petersen M.⁽¹⁾, Hiort O.⁽¹⁾, Holl R.⁽²⁾, Holterhus P.-M.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Lübeck, ⁽²⁾Universität Ulm, Zentralinstitut für Biomedizinische Technik, Ulm

Fragestellung: Die CSII stellt eine etablierte Therapie des DM Typ 1 im Kindes- und Jugendalter dar. Die Basalrate (BR) spiegelt die individuelle, zirkadiane Insulinsensitivität wider, die klassischerweise durch ein Dawn- und Duskphänomen charakterisiert ist. Beobachtungen an pädiatrischen Patienten zeigen hingegen, dass viele 24h-BR-Verläufe diesem Insulinverteilungsmuster nicht entsprechen. In einer vorangehenden Studie ließen sich durch eine nicht supervidierte Clusteranalyse 4 unterschiedliche BR-Verläufe bei 108 Kindern und Jugendlichen nachweisen. Ziel der aktuellen Untersuchung war eine Überprüfung dieser Beobachtung an allen im DPV-Wiss erfassten pädiatrischen CSII-Patienten.

Methodik: Erfassung der letzten DPV-Wiss-dokumentierten BR von 1242 Patienten (Alter 0–18 Jahre). Angabe der Schwankung um die mittlere BR in %. Unsupervidierte Clusteranalyse nach Eisen. Statistische Assoziation biometrischer Charakteristika mit Einzelclustern (Alter, Geschlecht, Diabetesdauer, BMI-SDS, Tagesinsulindosis/kg KG, Verhältnis Bolus/Basis-Insulin).

Ergebnisse: Demaskierung differenter BR-Muster (insgesamt 7). Am häufigsten Dawn/Dusk-Muster (708 Patienten, mittleres Alter $14,9 \pm 2,4$ J.). Diese Patienten waren signifikant älter, hatten eine signifikant längere Diabetesdauer, einen signifikant höheren BMI-SDS und einen signifikant höheren HbA_{1c} als alle anderen Patienten. 117 Patienten wiesen eine BR mit einzig hohem Insulinbedarf in der ersten Nachthälfte auf und waren jünger als alle übrigen Patienten ($8,9 \pm 4,3$ Jahre).

Schlussfolgerungen: Die Ergebnisse bestätigen und erweitern die vorangegangene Untersuchung. Die deutlich differenten BR-Verläufe sprechen für relevante Unterschiede im zirkadianen Basal-

insulinbedarf, z. B. durch eine unterschiedliche Insulinsensitivität. BR-Muster waren mit alters-, entwicklungs- und diabetes-spezifischen Faktoren assoziiert. Unsere Ergebnisse könnten einer Systematisierung bei der Findung optimaler, individueller BR für Kinder und Jugendliche dienen.

Danksagung: G. Discher, B. Heidtmann, E. Lang, R. Lepler, C. Lippelt

V-20

Exenatide reduzierte HbA_{1c} und Gewicht über 82 Wochen bei Patienten mit Typ-2-Diabetes in Kombination mit Metformin

Kim D.⁽¹⁾, Trautmann M. E.⁽²⁾, *Herrmann K.⁽¹⁾, Stonehouse A.⁽¹⁾, Han J.⁽¹⁾, Bicsak T. A.⁽¹⁾, Kolterman O. G.⁽¹⁾, Taylor K.⁽¹⁾

⁽¹⁾Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, USA, ⁽²⁾Lilly Forschung GmbH, Hamburg

Fragestellung: Exenatide (Exendin-4) ist ein Inkretin-Mimetikum mit glukoregulatorischen Eigenschaften. Diese post-hoc-Analyse untersuchte den Einfluss einer Behandlung mit Exenatide über 82 Wochen (WO) auf HbA_{1c} und Gewicht bei Patienten mit Type-2-Diabetes (T2DM), die mit Metformin (MET) keine adäquate Stoffwechselkontrolle erreicht hatten.

Material und Methoden: Diese Auswertung umfasst eine Patientengruppe (N = 118; 10 µg: N = 46, 5 µg: N = 33 und Placebo (PBO): N = 39), die nach einer 30-WO PBO-kontrollierten Studie an einer 52-WO Open-Label (OLE) Anschlußstudie teilnahmen (68 % M, Alter 55 ± 10 J, BMI 34,0 ± 5,7 kg/m², HbA_{1c} 8,2 ± 1,0 %, MW ± SD). Während der 30-WO PBO-kontrollierten Phase erhielten 336 Patienten randomisiert PBO oder 5 µg oder 10 µg Exenatide SC BID, mit einer 4-WO 5 µg Initiationsphase für die 10 µg Gruppe. 225 der 272 (83 %) in Frage kommenden Patienten setzten ihre Exenatide-Behandlung in der OLE-Phase fort (erste 4 Wo 5 µg, danach 10 µg); MET-Therapie wurde ebenfalls während der gesamten Studie fortgeführt.

Ergebnisse: Über 30-WO senkte Exenatide den HbA_{1c} (10 µg: -1,0 ± 0,2 %, 5 µg: -1,0 ± 0,2 % vs. PBO: -0,1 ± 0,1 %, MW ± SE). Für 82 WO mit 10 µg Exenatide BID behandelte Patienten zeigten anhaltende HbA_{1c}-Reduktion vergl. zur Baseline (BL) von -1,2 ± 0,2 % (95 % CI: -1,5 bis -0,8 %), vergl. mit -1,3 ± 0,2 % (95 % CI: -1,6 bis -1,0 %) für Patienten, die zwischen WO 0–30 PBO und danach Exenatide erhalten hatten. 57 bzw. 62 % der Patienten in der 10 µg-Gruppe mit BL HbA_{1c} > 7 % (n = 23), erreichten HbA_{1c} = 7 % in WO 30 bzw. 82. Zwischen BL und WO 30 reduzierte Exenatide das Gewicht (10 µg: -3,7 ± 0,9 kg, 5 µg: -3,0 ± 0,7 kg vs. PBO: -0,4 ± 0,4 kg). 82 WO mit 10 µg BID Exenatide behandelte Patienten zeigten eine Gewichtsreduktion von -4,8 ± 1,2 kg (95 % CI: -7,3 bis -2,3 kg), vergl. mit Patienten, die bis WO 30 PBO erhielten: -3,3 ± 0,7 kg (95 % CI: -4,8 bis -1,8 kg). Die am häufigsten beobachteten unerwünschten Ereignisse, Übelkeit, Erkältung und Durchfall, waren meistens leicht bis moderat.

Schlussfolgerung: Bei Patienten mit T2DM bewirkte Exenatide eine langanhaltende Reduktion im HbA_{1c} und stetige Gewichtsabnahme über 82 Wochen.

V-21

Zeit-Wirk-Profile von Insulinglulisin (GL), Insulinlispro (IL) und Humaninsulin (HI) bei fettleibigen Probanden

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

⁽¹⁾Aventis Pharma Deutschland GmbH, ein Unternehmen der sanofi-aventis Gruppe, DMPK/Clinical Pharmacokinetics, Frankfurt am Main, ⁽²⁾Aventis Pharma Deutschland GmbH, ein Unternehmen der sanofi-aventis Gruppe, Clinical Discovery & Human Pharmacology, Frankfurt am Main, ⁽³⁾Aventis Pharma Deutschland GmbH, ein Unternehmen der sanofi-aventis Gruppe, Medical Department, Bad Soden am Taunus

Die Absorption von s. c. appliziertem HI ist bei Fettleibigkeit deutlich verzögert. Diese Studie vergleicht die Pharmakokinetik (PK) und Pharmakodynamik (PD) von HI, IL und dem schnell- und kurzwirksamen Humaninsulinanalogon GL in fettleibigen, nicht-diabetischen Probanden (n = 18).

Untersucht wurde die Abhängigkeit der PK- und PD-Profile vom Körpermassenindex (BMI) und der Hautdicke. Die Probanden (n = 9 in Gruppe 1: BMI 30,0–34,9 kg/m²; n = 9 in Gruppe 2: BMI 35,0–40,0 kg/m²) erhielten doppelblind randomisiert einzelne s. c.-Injektionen von 0,3 IE/kg GL, IL oder HI während eines maximal 10-stündigen, manuell-adjustierten euglykämischen Clampexperiments.

Die Probanden wiesen im Mittel einen BMI von 34,7 kg/m² (Spanne 30,1–40,0 kg/m²), bei einer Hautdicke von 36,9 mm (Spanne 18–59 mm) auf. Die initialen Glukose-Infusionsraten (GIR-AUC_{0–1h} und AUC_{0–2h}) und die maximale GIR (GIR_{max}) waren höher für GL und IL (p < 0.05) im Vergleich zu HI. Die kumulierte Glukoseverwertung (GIR-AUC_{0-clamp end}) war hingegen für alle drei Insuline gleich. Die Zeit bis zum Erreichen der ersten 20 % der GIR-AUC_{0-clamp end} (GIR-t_{20% AUC}) war kürzer für GL und IL im Vergleich zu HI (p < 0.05). IL zeigte ein gegenüber GL leicht verzögertes Wirkungsprofil, erkennbar durch kleinere Teil-AUCs und eine längere GIR-t_{20% AUC} (p < 0.05). Die PK-Daten bestätigen die gegenüber HI schnellere und kürzere Wirkung von GL. Für GL zeigte sich, im Unterschied zu IL und RHI, keine signifikante Korrelation zwischen Zeitwert bis zum Erreichen vom Wirkungsmaximum und zunehmender Hautdicke oder zunehmender BMI (GIR-t_{max}, Pearson's CC p < 0.05). Dies lässt zumindest bei fettleibigen Patienten auf eine im Vergleich zu IL und HI geringere Abhängigkeit der GL-Absorptionsgeschwindigkeit von Hautdicke und BMI schließen.

Insulinglulisin zeigt auch in fettleibigen Probanden ein schnelles und kurzes Wirk-Profil, das im Vergleich zu IL und RHI konsistenter über den BMI-Bereich 30–40 kg/m² und Hautdickenbereich 18–59 mm aufrechterhalten wird.

V-22

Die intraindividuelle Variabilität des Nüchtern-Blutzuckers korreliert mit der Häufigkeit von Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetikern, die mit Insulindetemir und NPH-Insulin behandelt werden

Heller S.⁽¹⁾, Kim H.⁽²⁾, *Draeger E.⁽³⁾

⁽¹⁾University of Sheffield, Clinical Sciences Centre, Sheffield, Großbritannien, ⁽²⁾Novo Nordisk, Clinical Statistics, Glaxo, Dänemark, ⁽³⁾Novo Nordisk, Clinical Development, Zürich, Schweiz

Fragestellung: Frühere Studien haben bereits auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Hypoglykämien und der hohen Variabilität der Wirkung herkömmlicher Insulinpräparationen, wie z. B. NPH-Insulin, hingewiesen. Wir untersuchten, ob eine Korrelation zwischen dem Auftreten von Hypoglykämien und der intraindividuellen Variabilität des Nüchtern-Blutzuckers be-

steht, und ob sich dabei das neue basale Insulinanalogon Insulindetemir von NPH-Insulin unterscheidet.

Material und Methoden: Die Meta-Analyse schließt vier multinationale, offene, randomisierte Phase-III-Studien bei Typ-1-Diabetikern ein. Diese wurden im Rahmen eines Basis-Bolus-Schemas über einen Zeitraum von 16 Wochen bis 6 Monaten mit Insulindetemir (IDet; n=1336) oder NPH-Insulin (NPH; n=814) in Kombination mit präprandialem Normalinsulin oder Insulin Aspart behandelt. Eine Hypoglykämie wurde definiert als das Auftreten von hypoglykämischen Symptomen mit oder ohne einen gemessenen Blutzucker von unter 2,8 mmol/l.

Ergebnisse: Der Vergleich der Hypoglykämieinzidenzen ergab für IDet eine zu erwartende Reduktion um 5,26 Ereignisse pro Patient und Jahr gegenüber NPH (IDet: 47; NPH: 52 Ereignisse; $p=0,0332$). Der mittlere Variationskoeffizient für die intraindividuelle Variabilität der selbst gemessenen Nüchtern-Blutzuckerwerte war für IDet niedriger als für NPH (30,9 vs. 33,6 %, Differenz 2,7 %, $p=0,001$). Für beide Insulinpräparate besteht eine klare Korrelation zwischen der Hypoglykämieinzidenz und dem Variationskoeffizienten des Nüchtern-Blutzuckers mit einem Umrechnungsfaktor von 1,02 ($p<0,0001$). Damit lässt sich aus der Differenz der intraindividuellen Variabilität von 2,7 % zwischen Insulindetemir und NPH eine um ca. drei (2,77) Ereignisse pro Patient und Jahr niedrigere Hypoglykämieinzidenz für Insulindetemir ableiten.

Schlussfolgerung: Das gegenüber NPH reduzierte Hypoglykämierisiko lässt sich zu einem erheblichen Teil (ca. 53 %) mit der unter IDet verringerten intraindividuellen Variabilität der Nüchtern-Blutzuckerwerte erklären.

V-23

Pramlintide senkte in einer klinischen Open-Label Studie HbA_{1c}, Körpergewicht und Insulindosis bei Patienten mit Typ-1-Diabetes, die Stoffwechselziele mit Insulintherapie nicht erreichten

*Limmer J.⁽¹⁾, Guthrie R.A.⁽²⁾, Karl D.M.⁽³⁾, Wang Y.⁽¹⁾, Lorenzi G.⁽¹⁾

⁽¹⁾Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, USA, ⁽²⁾University of Kansas, School of Medicine, Wichita, KS, USA, ⁽³⁾Oregon Health Sciences University, Portland, OR, USA

Fragestellung: In doppel-blinden, plazebo-kontrollierten Studien senkte Pramlintide (PRAM), ein Amylin-Analogon, HbA_{1c}, Gewicht und postprandiale Blutzucker (BZ)-Exkursionen, wenn es als Zusatztherapie zu Insulin bei Patienten mit Typ-1-Diabetes (T1DM) verabreicht wurde. Diese multizentrische, Open-Label-Studie untersuchte den Einfluss von PRAM auf HbA_{1c}, Gewicht, Insulingebrauch, 7-Punkte-Glukoseprofil und Verträglichkeit in der klinischen Praxis.

Material und Methoden: Patienten mit T1DM (N=265, Alter 43 ± 11 J, BMI 29 ± 5 kg/m², HbA_{1c} $8,0 \pm 1,1$ %, Diabetesdauer 21 ± 10 J, MW \pm SD) begannen PRAM-Behandlung durch Titration von 15 bis 60 µg (je nach Verträglichkeit) mit empfohlener 30 % bis 50 % Reduktion im prandialem Insulin. Die Mehrzahl der Patienten erreichte eine PRAM-Langzeitdosis von 30 oder 60 µg (TID/QID). Nach PRAM -Behandlungsbeginn passten die Patienten ihre Insulindosis der gewünschten Stoffwechselkontrolle an.

Ergebnisse: Nach 26 Wochen zeigten sich signifikante ($P<0,05$) Reduktionen im mittleren HbA_{1c}, Gewicht und Gebrauch von kurzwirksamem Insulin von 0,18 %, 3,0 kg, bzw. 22 %. Nach Mahlzeiten war die postprandiale BZ-Konzentration geringer (12 bis 21 mg/dL). Die am häufigsten beobachteten unerwünschten Ereignisse waren Übelkeit (38 % leicht/moderat, 2 % schwer) und Erbrechen (8 % leicht/moderat, <1 % schwer). Die Ereignisrate (ER) schwerer Hypoglykämie war 0,23. Die Antworten auf einem nicht-validierten Fragebogen zeigten, dass sich viele Patienten besser fühlten. Sie gaben Verbesserungen in BZ-Kontrolle, Gewicht und der Fähigkeit zur Diabeteskontrolle an. Die Dosis-Eskalation von PRAM bis zu 60 µg als Zusatztherapie zu Insulin senkte HbA_{1c}, Gewicht, Insulindosis und die täglichen BZ-Schwankungen. Die Inzidenz von Übelkeit und die ER schwerer Hypoglykämien waren niedriger als in vorhergehenden PBO-kontrollierten Langzeit-Studien, in denen die Insulindosis zu Therapiebeginn nicht reduziert und PRAM nicht hochtitriert wurde.

Schlussfolgerung: Aufgrund der HbA_{1c}- und gewichts-senkenden Qualitäten könnte PRAM eine potentielle Therapieoption für Patienten mit T1DM darstellen.

V-24

Insulindetemir in Kombination mit oralen Antidiabetika führt bei vergleichbarer Verbesserung der Glykämiekontrolle bei Patienten mit Typ-2-Diabetes zu einem geringeren Hypoglykämierisiko und einer geringeren Gewichtszunahme als NPH-Insulin

Hermansen K.⁽¹⁾, Derezinski T.⁽²⁾, Kim H.⁽³⁾, *Gall M.-A.⁽⁴⁾

⁽¹⁾Aarhus University Hospital, Department of Endocrinology and Metabolism, Aarhus, Dänemark, ⁽²⁾NZOZ Eskulap, Out-Patient-Clinic, Gniewkowo, Polen, ⁽³⁾Novo Nordisk, Bagsvaerd, Dänemark, ⁽⁴⁾Novo Nordisk, Sorgenfri, Dänemark

Fragestellung: Ziel dieser multizentrischen, randomisierten, offenen Parallelgruppen-Studie war der Vergleich von Glykämiekontrolle, Hypoglykämierisiko und Gewichtsentwicklung unter einer 24-wöchigen Behandlung mit Insulindetemir (IDet) oder NPH-Insulin (NPH). Die Gabe des Basalinsulins erfolgte als Zusatz zu einer bestehenden Therapie mit ein oder zwei oralen Antidiabetika bei insulinnaiven Patienten mit Typ-2-Diabetes.

Material und Methoden: Eingeschlossen in die Studie waren 475 Frauen und Männer mit einer mittleren Diabetesdauer von $9,7 \pm 6,4$ Jahren und einem mittleren BMI von $28,9 \pm 3,6$ kg/m². Die Patienten injizierten IDet oder NPH morgens und abends unter Beibehaltung der OAD-Therapie.

Ergebnisse: Der HbA_{1c} sank um 1,8 %-Punkte in der IDet-Gruppe und 1,9 %-Punkte in der NPH-Gruppe und war nach 24 Wochen Behandlung in beiden Gruppen vergleichbar (IDet: 6,6 %, NPH: 6,5 %, mittlere Differenz 0,1 %-Punkte, n. s.). Mehr als 70 % der Patienten in beiden Gruppen erreichten einen HbA_{1c} von ≤ 7 %, wobei eine signifikant höhere Anzahl von Patienten in der IDet-Gruppe diesen HbA_{1c} ohne Hypoglykämien in den letzten 12 Therapiewochen erreichte (IDet 25,7 %, NPH 15,5 %, $p<0,01$). Die Nüchtern-Plasmaglukose unterschied sich nicht signifikant zwischen IDet (6,6 mmol/l) und NPH (6,3 mmol/l). Das Risiko von Hypoglykämien insgesamt sowie das von nächtlichen (23:00–6:00 h) Ereignissen war 47 % bzw. 55 % niedriger mit IDet als mit NPH ($p<0,001$). Die intraindividuelle Variabi-

lität der vor dem Frühstück und dem Abendessen gemessenen Plasmaglukose war unter IDet signifikant geringer als unter NPH (SD: 1,32 vs. 1,44 mmol/l, $p < 0,001$). Nach 24 Wochen war die Gewichtszunahme unter IDet um 1,6 kg geringer als unter NPH (1,2 vs. 2,8 kg, $p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Die Behandlung mit IDet als „add-on“-Therapie zu OAD weist im Vergleich zu NPH eine geringere intraindividuelle Variabilität der Plasmaglukose vor dem Frühstück und dem Abendessen, ein geringeres Hypoglykämierisiko sowie eine geringere Gewichtszunahme auf. Dies wird erreicht bei vergleichbarer Verbesserung der glykämischen Kontrolle.

Metabolismus und Metabolisches Syndrom

V-25

Die Bedeutung einer endothelialen Dysfunktion für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes mellitus. Ergebnisse der MONICA/KORA Augsburg Fall-Kohorten-Studie 1984–2002

Thorand B.⁽¹⁾, *Baumert J.⁽¹⁾, Chambless L.⁽²⁾, Meisinger C.⁽³⁾, Kolb H.⁽⁴⁾, Döring A.⁽¹⁾, Löwel H.⁽³⁾, Koenig W.⁽⁵⁾

⁽¹⁾ GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Institut für Epidemiologie, Neuherberg, ⁽²⁾ University of North Carolina at Chapel Hill, School of Public Health, Chapel Hill, NC, USA, ⁽³⁾ Zentralklinikum Augsburg, KORA-Herzinfarktregister, Augsburg, ⁽⁴⁾ Deutsches Diabetes Zentrum, Klinische Abteilung, Düsseldorf, ⁽⁵⁾ Medizinische Universitätsklinik Ulm, Innere Medizin II – Kardiologie, Ulm

Fragestellung: Eine endotheliale Dysfunktion spielt möglicherweise eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des Typ-2-Diabetes mellitus (T2D). Ziel der Studie war es daher, zu untersuchen, ob erhöhte Konzentrationen von systemischen Markern einer endothelialen Dysfunktion (lösliches E-Selektin (sE-Selektin), lösliches ICAM-1 (sICAM-1), von-Willebrand-Faktor (vWF)) Prädiktoren für einen inzidenten T2D sind.

Material und Methoden: Basierend auf Daten von 7936 Männern und Frauen im Alter von 35–74 Jahren, die zwischen 1984 und 1995 an mindestens einer der drei MONICA Augsburg Surveys teilgenommen hatten, wurde eine Fall-Kohorten-Studie durchgeführt. Alle bis zum 31. 12. 2002 diagnostizierten inzidenten T2D-Fälle wurden eingeschlossen. Bei 532 Fällen mit inzidentem T2D sowie bei 1712 nicht diabetischen Personen wurden Serum-Konzentrationen von sE-Selektin und sICAM-1 gemessen. Plasma-vWF-Konzentrationen konnten nur bei 199 Fällen und 598 nicht diabetischen Personen gemessen werden. Die Analyse der Marker erfolgte mittels ELISA. Die Auswertung wurde u. a. mit Cox-Proportional-Hazards-Modellen durchgeführt.

Ergebnisse: Erhöhte sE-Selektin Konzentrationen waren sowohl bei Männern als auch bei Frauen mit einem erhöhten T2D-Risiko verbunden. Nach Adjustierung für die bekannten Risikofaktoren für T2D ergab ein Vergleich des obersten mit dem untersten Terzil einen Hazard Ratio von 2.56 (95 % Konfidenzintervall (KI): 1.81–3.63) für Männer und 1.69 (1.10–2.62) für Frauen. Erhöhte sICAM-1 Konzentrationen waren ebenfalls mit einem erhöhten T2D-Risiko verbunden. Eine Adjustierung für weitere bekannte Risikofaktoren führte jedoch insbesondere bei Frauen zu einer deutlichen Abschwächung der Assoziation (HR (95 % KI) für Terzil 3 vs. Terzil 1: Männer: 1.50 (1.06–2.12); Frauen: 1.14 (0.74–1.77)). Erhöhte vWF-Konzentrationen waren nicht mit dem T2D-Risiko assoziiert.

Schlussfolgerung: Diese prospektiven bevölkerungsbezogenen Daten legen nahe, dass einer endothelialen Dysfunktion eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des T2D zukommt.

V-26

Der mitochondriale Energieumsatz ist umgekehrt proportional zur Wachstumsrate von Tumoren: der 'missing link' zwischen metabolischem Syndrom und Krebsinzidenz?

*Schulz T.J.⁽¹⁾, Thierbach R.⁽²⁾, Isken F.⁽³⁾, Voigt A.⁽²⁾, Drewes G.⁽²⁾, Pomplun D.⁽¹⁾, Spranger J.⁽³⁾, Möhlig M.⁽³⁾, Pfeiffer A.⁽⁴⁾, Steinberg P.⁽⁵⁾, Ristow M.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, Nuthetal, ⁽²⁾ Universität, Potsdam, ⁽³⁾ Charité, Campus Benjamin Franklin, Berlin, ⁽⁴⁾ Charité und Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Berlin, ⁽⁵⁾ Universität Potsdam, Ernährungstoxikologie, Nuthetal

Fragestellung: Epidemiologische Daten legen eine Induktion von Tumorerkrankungen durch Typ-2-Diabetes und metabolisches Syndrom nahe. Ein ursächlicher Mechanismus ist nicht bekannt. Der mitochondriale Intermediärstoffwechsel innerhalb des Zitratzyklus ist der zentrale Schrittmacher des zellulären Energieumsatzes und ist bei Typ-2-Diabetikern signifikant reduziert. Es sollte untersucht werden, ob durch die gezielte Unterbrechung des Zitratstoffwechsels im Mausmodell, oder die Induktion der mitochondrialen Energieumwandlung Tumorstoffwechsel induziert bzw. inhibiert werden kann.

Material und Methoden: Unter Verwendung der Cre-loxP-Technologie wurde das murine Frataxin-Gen spezifisch in Hepatozyten der Maus inaktiviert. Parallel wurde unter Verwendung eines eukaryonten Transfektionsplasmids das humane Frataxin-Gen in verschiedenen humanen Karzinom-Zelllinien (MIP101, DLD2, HT29, u. a.) stabil überexprimiert.

Ergebnisse: Der knock-out für Frataxin in Hepatozyten verursacht eine vermehrte Inzidenz von Lebertumoren: innerhalb von 24 Wochen entwickeln mehr als 50 % der knock-out-Tiere solche Tumoren und sterben daran (Kontrollgruppe: <2 %). Als mechanistischer Hintergrund werden ein verminderter Energieumsatz, eine erhöhte Apoptoserate sowie eine erhöhte Proliferationsrate in der Leber von knock-out-Mäusen gezeigt.

Die stabile Überexpression von Frataxin in verschiedenen Karzinom-Zellen führt zu einer vermehrten Respiration dieser. Diese führt zu einer signifikant verminderten Wachstumsrate. Nackmausimplantate mit entsprechend modifizierten Zellen zeigen ein signifikant reduziertes Tumorstoffwechsel im Vergleich zu Kontrolltransfektanten.

Molekulare Daten legen eine Regulation der Phänomene über p38-MAP-Kinase und cdk4 einerseits, und Bax und Caspase-3 andererseits nahe.

Schlussfolgerung: Wie 1924 von Otto Warburg als Hypothese formuliert, kann hier gezeigt werden, dass die Aktivität des mitochondrialen Energiestoffwechsels umgekehrt proportional zur Wachstumsrate von Tumoren ist. Somit könnte das Mitochondrion den missing link zwischen Typ-2-Diabetes und gesteigerter Tumorzinsidenz darstellen.

V-27

Inkubation mit TNF- α führt zu einer signifikanten Reduktion der Adiponectin-Expression in humanen Primäradipozyten

* Hector J.⁽¹⁾, Schwarzloh B.⁽¹⁾, Beil U.⁽¹⁾, Algenstaedt P.⁽¹⁾

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

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

Methodik: Viszerales Fettgewebe von Kontrollpersonen wurde intraoperativ entnommen und Primärkulturen wurden angelegt. Nach Differenzierung der Adipozyten 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. Zusätzlich wurden mittels Western-Blot die Proteinkonzentration für Adiponectin AdipoR1 und R2 bestimmt. Entsprechende Inhibierung durch den Einsatz von TNF- α -Antikörper wurden ebenfalls durchgeführt.

Ergebnisse: Nach 48-stündiger TNF- α -Inkubation war die mRNA- und Protein-Expression von Adiponectin in TNF- α -vorbehandelten Zellen versus un behandelter Zellen signifikant reduziert (um 61 % bzw. 57 %). Zusätzlich wurde eine signifikante Hochregulation der mRNA-Expression des AdipoR1 (44 %) in humanen Primäradipozyten im Vergleich zu den un behandelten Zellen gemessen. Dieser Effekt konnte durch Zugabe eines TNF- α -Antikörpers aufgehoben werden.

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 beeinflussen können, und bietet erste Erklärungsansätze über potentielle Regelkreisläufe im Fettgewebe.

V-28

Hyperandrogenämie unter Fettsäureinfusion – noch vor Entstehen einer Insulinresistenz?

* Mai K.⁽¹⁾, Bobbert T.⁽¹⁾, Kullmann V.⁽¹⁾, Maser-Gluth C.⁽²⁾, Bähr V.⁽¹⁾, Spranger J.⁽¹⁾, Pfeiffer A. F.⁽¹⁾, Diederich S.⁽³⁾

⁽¹⁾ Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Abt. f. Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin, Abt. f. Klinische Ernährung, Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Bergholz-Rehbrücke, Berlin, ⁽²⁾ Ruprecht-Karls-Universitätsklinikum, Steroid-Labor, Pharmakologisches Institut, Heidelberg, ⁽³⁾ Endokrinologikum, Berlin

Fragestellung: Die im Rahmen des PCO-Syndroms auftretende Insulinresistenz gilt als ätiologisch bedeutsam für die vermehrte adrenale bzw. ovarielle Androgenbildung. Die Mobilisation von freien Fettsäuren (FFA) wird als ein wichtiger Faktor bei der Entstehung der Insulinresistenz angesehen. Ziel der Untersuchung war zu klären, ob Fettsäuren eigenständig die adrenale Andro-

genbildung beeinflussen können und in welchem zeitlichen Zusammenhang die adrenale Androgenbildung und das Auftreten einer Insulinresistenz stehen.

Material und Methoden: In einer randomisierten Studie erfolgte bei 6 gesunden männlichen Probanden (Alter $27,8 \pm 2,6$ Jahre, BMI $27,5 \pm 3,1$ kg/m²) eine Fettsäure/Heparin-Infusion bzw. Kochsalz/Heparin-Infusion über 6 Stunden im cross-over-Design. 4 Stunden nach Infusionsbeginn wurde parallel ein euglykämischer hyperinsulinämischer Clamp durchgeführt. Basal, nach 2 und 4 Stunden sowie im Steady State wurden die adrenalen Androgene DHEA und Androstendion bestimmt.

Ergebnisse: Unter Fettsäure-Infusion kam es zu einem Anstieg der FFAs. Weiterhin war 4 Stunden nach Beginn der Fettsäureinfusion eine im Vergleich zur Kochsalzinfusion verminderte Insulinsensitivität zu beobachten (GIR $4,1 \pm 2,2$ mg/kg/min vs. $6,0 \pm 2,6$ mg/kg/min; $p < 0,005$). Entsprechend der Tagesrhythmik war unter Kochsalzinfusion ein Abfall von DHEA und Androstendion zu beobachten. Unter Fettsäureinfusion war dieser Abfall nicht so ausgeprägt, was zu im Vergleich zur Kochsalzinfusion höheren DHEA- ($17,7 \pm 6,5$ vs. $12,8 \pm 6,3$; $p < 0,05$) und Androstendion-Leveln ($1,8 \pm 0,4$ vs. $1,5 \pm 0,3$; $p < 0,05$) schon 2 Stunden nach Infusionsbeginn führte. Die mittels Clamp induzierte Hyperinsulinämie hatte keinen weiteren Einfluss auf die Androgenlevel.

Schlussfolgerung: FFAs führen zu einer vermehrten adrenalen Androgenbildung, welche noch vor Einsetzen der Insulinresistenz (typischerweise nach ca. 4 Stunden Fettsäureinfusion) aufzutreten scheint. Dies legt nahe, dass die FFAs unabhängig von der Insulinresistenz eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Hyperandrogenämie im Rahmen des PCO besitzen könnten. Unterstützt durch DDG-Projektförderung.

V-29

Gewebe/Zelltyp-spezifische Wirkungen von Interleukin-6 auf metabolische Signalwege

* Weigert C.⁽¹⁾, Hennige A.⁽¹⁾, Lehmann R.⁽¹⁾, Brodbeck K.⁽¹⁾, Häring H. U.⁽¹⁾, Schleicher E.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Med. Klinik IV, Tübingen

Fragestellung: Körperliche Aktivität führt zu einer verbesserten Insulinsignalfunktion. Dabei wird vom Skelettmuskel Interleukin-6 (IL-6) produziert. Andererseits kann IL-6 in Leber und Fettgewebe Insulinresistenz auslösen. Es stellt sich daher die Frage nach möglicherweise gewebe- bzw. zelltypspezifischen Wirkungen von IL-6 auf die Insulinsignalfunktion und den Metabolismus.

Material und Methoden: Es wurden humane Myotuben und L6 Myotuben verwendet, um die kurzfristige (bis 90 min) und langfristige (24 h bis Tage) Wirkung von IL-6 auf metabolische Signalwege zu untersuchen, u. a. auf die Insulin-induzierte Phosphorylierung von Signalmolekülen (Akt/PKB, GSK-3, IRS-1), auf Glukoseaufnahme und Glykogensynthese, und auf die Expression von Signalmolekülen (IRS-1, Glukosetransporter, SOCS-3). Zusätzlich wurden in vivo die Effekte von IL-6 in Geweben von C57Bl/6-Mäusen (Muskel, Leber) untersucht.

Ergebnisse: Im Gegensatz zu den Ergebnissen mit Leberzellen fanden wir keine negative Beeinflussung von Insulinsignalwegen in Myotuben. Im Gegenteil, die durch IL-6 allein induzierte Phosphorylierung der Akt/PKB an Ser-473 führt zu einer verbesserten Insulinwirkung auf die Phosphorylierung von Akt/PKB, von GSK-3 und auf die Glykogensynthese. Die durch IL-6 stark erhöhte Expression von SOCS-3 in der Leber, die teilweise für den Insulinresistenzeffekt von IL-6 verantwortlich gemacht wird, ist im Skelettmuskel vergleichsweise gering. Zudem führt IL-6 zu einer schnellen Phosphorylierung der AMP-abhängigen Kinase und des Substrates Acetyl-CoA Carboxylase in Myotuben und in vivo, so dass IL-6 die beta-Oxidation von Fettsäuren zu aktivieren scheint.

Schlussfolgerung: Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir in Myotuben oder Skelettmuskel keine der in Leber oder Fettgewebe beschriebenen negativen Effekte von IL-6 auf die Insulinwirkung finden konnten, sondern dass IL-6 dort gewebespezifisch als Insulinsensitizer wirken kann. Dies deutet auf eine neue metabolische Funktion des bei Muskularbeit produzierten IL-6 hin, insbesondere auf eine Aktivierung des katabolen Stoffwechsels.

V-30

Unzureichende Behandlung des cardiometabolischen Syndroms bei Typ-2-Diabetes: Basisdaten der Diabetes in Germany (DIG)-Studie

* Ott P.⁽¹⁾, Benkel I.⁽¹⁾, Köhler C.⁽¹⁾, Hanefeld M.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Zentrum für Klinische Studien der GWT der TU Dresden mbH, Forschungsbereich Stoffwechsel und Endokrinologie, Dresden

Einleitung: Mit 2,1-fach erhöhten Kosten gegenüber den durchschnittlichen Ausgaben für GKV-Versicherte ist der Diabetes die größte und teuerste Volkskrankheit. Nur etwa 27 % dieser Kosten entfallen auf die medikamentöse Therapie, während 50 % durch Krankenhausaufenthalte bei Komplikationen des Diabetes verursacht werden. Bis heute existieren keine nationalen Daten, wie die Ursachen für diese Komplikationen – Diabetes, Fettstoffwechselstörung, Hypertonie und verstärkte Gerinnungsneigung – therapiert werden und mit welchem Erfolg. Die Ausgangsdaten von DIG liefern hierzu aktuelle Befunde.

Patienten und Methodik: DIG ist eine prospektive Vierjahres-Studie.

4020 Patienten aus 238 Praxen wurden deutschlandweit eingeschlossen (Typ-2-Diabetiker, 35 bis unter 80 Jahre alt). Es wurden neben Daten zur Therapie und den bestehenden Begleiterkrankungen Nüchternblutzucker, postprandialer Blutzucker, HbA_{1c}, Blutdruck sowie Blutfette erfasst. Es werden Daten zur Therapie vorgestellt.

Ergebnisse: 15 % wurden diätetisch behandelt, 42 % mit oralen Antidiabetika und 43 % erhielten Insulin. Bei 36,5 % lag der HbA_{1c} unter 6,5 %, bei 20,4 % bis 7 %, bei 14,4 % bis 7,5 % und bei 28,6 % über 7,5 %.

39 % erhielten einen CSE-Hemmer und 6 % ein Fibrat. Die Zielwerte hinsichtlich Dyslipidämie bzw. Hypercholesterolämie erreichten nur jeweils 12 %.

74 % wurden antihypertensiv behandelt (31 % ACE-Hemmer, 24 % Beta-Blocker, 19 % Diuretika, 14 % Ca-Antagonisten, 12 % andere Med.; 65 % Monotherapie oder Zweikombination).

Lediglich 14 % waren suffizient behandelt, 20 % waren unbehandelt und 60 % hypertensiv trotz Therapie.

32 % erhielten Thrombozytenaggregationshemmer (TAH). Auch im Rahmen der sekundären Prävention bei Patienten nach kardiovaskulärem Ereignis waren nur 36,1 % mit TAH therapiert.

Diskussion: In dieser Erhebung zeigten sich erhebliche Defizite der Therapie des cardio-metabolischen Syndroms (besonders bezüglich Fettstoffwechsel und Gerinnungsprophylaxe) bei dieser Hochrisikopopulation.

V-31

Unterschiedlicher Zusammenhang von Plasmaadiponektin mit Insulinsensitivität und Leberfettgehalt bei adipösen vs. schlanken Menschen

* Kantartzis K.⁽¹⁾, Fritsche A.⁽¹⁾, Schäfer S.⁽¹⁾, Tschirner O.⁽¹⁾, Thamer C.⁽¹⁾, Haap M.⁽¹⁾, Stumvoll M.⁽¹⁾, Häring H.-U.⁽¹⁾, Stefan N.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universität Tübingen, Innere Abteilung, Tübingen

Niedrige Adiponektinplasmaspiegel sagen eine Verschlechterung der Insulinsensitivität und Typ-2-Diabetes voraus. Es ist jedoch unklar, ob das Ausmaß an Übergewicht den Zusammenhang zwischen Adiponektin und Insulinsensitivität beeinflusst.

Wir untersuchten die Assoziation zwischen Plasmaadiponektin und Insulinsensitivität (OGTT, n = 900 und euglykämischer hyperinsulinemischer Clamp, n = 300) bei unterschiedlichem Grad der Adipositas (% Körperfett) in Querschnittsanalysen bei normal glukosetoleranten Probanden. Davon hatten 122 Daten über den Leberfettgehalt (Kernspin-Spektroskopie) und 108 Probanden hatten follow-up-Daten.

In Querschnittsanalysen war der Plasmaadiponektinspiegel, adjustiert für Alter und Geschlecht, positiv mit Insulinsensitivität (OGTT und Clamp, beide $p < 0.0001$) und negativ mit % Körperfett (OGTT und Clamp beide $p < 0.0001$) und Leberfett ($p < 0.0001$) assoziiert. Die Assoziation von Adiponektin mit Insulinsensitivität und Leberfettgehalt hing allerdings vom Ausmaß der Adipositas ab [Insulinsensitivität: Adiponektin*%Körperfett $p < 0.0001$ (OGTT) und $p = 0.002$ (Clamp); Leberfett: Adiponektin*%Körperfett $p = 0.01$]. Der Zusammenhang von Adiponektin mit Insulinsensitivität und Leberfettgehalt war somit stärker bei Probanden mit ausgeprägter Adipositas. Von den Faktoren, die bekanntermaßen die Insulinsensitivität und/oder die Plasmaadiponektinkonzentration regulieren (TNF- α , IL-6, FFA) beeinflusste nur IL-6 den Zusammenhang zwischen Adiponektin*%Körperfett auf die Insulinsensitivität [$p = 0.03$, (OGTT) und $p = 0.08$ (Clamp)] und auf den Leberfettgehalt ($p = 0.03$).

In longitudinalen Analysen sagte der Plasmaadiponektinspiegel eine Änderung der Insulinsensitivität (OGTT) nur in adipösen (n = 54, $p = 0.03$) aber nicht in schlanken Probanden (n = 54, $p = 0.68$) voraus.

Plasmaadiponektin scheint vor allem bei adipösen Menschen die Insulinsensitivität zu beeinflussen. In schlanken Menschen antagonisiert IL-6 möglicherweise Effekte von Adiponektin auf die Insulinsensitivität. Diese Ergebnisse könnten wichtig für Interventionsstudien zur Vermeidung des Typ-2-Diabetes sein.

V-32

Assoziation erhöhter Chemokin-Konzentrationen im Serum mit gestörter Glukosetoleranz und Typ-2-Diabetes – Ergebnisse des KORA Survey 2000

* Herder C.⁽¹⁾, Haastert B.⁽²⁾, Müller-Scholze S.⁽¹⁾, Koenig W.⁽³⁾, Thorand B.⁽⁴⁾, Holle R.⁽⁵⁾, Kolb H.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Deutsche Diabetes-Klinik, Düsseldorf, ⁽²⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Biometrie und Epidemiologie, Ulm, ⁽³⁾ Medizinische Universitätsklinik, Abteilung Innere Medizin II, Ulm, ⁽⁴⁾ GSF, Institut für Epidemiologie, Neuherberg, ⁽⁵⁾ GSF, Institut für Gesundheitsökonomie und Management im Gesundheitswesen, Neuherberg

Fragestellung: Chemokine spielen in vielen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen eine zentrale Rolle als Immunmediatoren. Chemokine vermitteln möglicherweise die Infiltration von Makrophagen ins Fettgewebe bei Adipositas und könnten daher an der Entwicklung Adipositas-assoziiierter Erkrankungen wie zum Beispiel Typ-2-Diabetes (T2D) beteiligt sein. Mit dieser Arbeit sollte die Hypothese geprüft werden, daß eine gestörte Glukosetoleranz (IGT) und T2D mit veränderten Serumkonzentrationen verschiedener Chemokine assoziiert sind.

Material und Methoden: Von 1653 Teilnehmern des populationsbasierten KORA Survey 2000 im Raum Augsburg im Alter zwischen 55 und 74 Jahren wurden Seren aller Personen mit T2D (n = 236), IGT (n = 242) sowie 244 normoglykämischer Kontrollen auf die Konzentrationen von IL-8 (Interleukin-8), RANTES (Regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted), IP-10 (Interferon- γ -inducible protein-10) und Eotaxin getestet.

Ergebnisse: Systemische RANTES-Konzentrationen waren in den IGT- und T2D-Gruppen im Vergleich zu den Kontrollen erhöht, während IL-8-Konzentrationen nur in den T2D-Patienten höher waren als bei Kontrollpersonen (jeweils $p < 0,001$). IP-10- und Eotaxin-Spiegel unterschieden sich nicht signifikant zwischen den drei Gruppen. Eine Adjustierung für Alter, Geschlecht, Body Mass Index, Bluthochdruck, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Harnsäure, C-reaktives Protein und Interleukin-6 hatte nur einen geringen Effekt auf die Ergebnisse.

Schlussfolgerung: Diese Studie legt nahe, daß RANTES und IL-8, nicht aber IP-10 oder Eotaxin, unabhängig von Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms eine Rolle bei der Entstehung eines T2D spielen könnten. Chemokine stellen neue immunologische Risikofaktoren dar, die nicht im Zusammenhang mit CRP oder IL-6 stehen.

V-33

Analyse von Adipozytokinen nach Co-Kultivierung humaner Kontrolladipozyten mit Adipozyten von Typ-2-Diabetikern

* Algenstaedt P.⁽¹⁾, Hennigs N.⁽¹⁾, Schwarzloh B.⁽¹⁾, Beil U.⁽¹⁾

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

Adipositas ist der häufigste Risikofaktor für die Entwicklung von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes. In den letzten Jahren konnten zahlreiche, vom Fettgewebe sezernierte Adipozytokine identifiziert werden, die eine zentrale Rolle in der Pathogenese einnehmen. Ziel der Studie war es zu untersuchen, ob und welcher dieser Adipozytokine von Typ-2-Diabetikern einen direkten Einfluss auf gesunde Fettzellen ausüben können.

Methodik: 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 co-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. Adiponectin-, Resistin- und Leptin-Konzentrationen wurden mittels RIA oder ELISA im Überstand detektiert. TNF- α und IL-6 wurden mittels Western Blot Analysen bestimmt.

Ergebnisse: Bei gleichzeitiger Kultivierung von Adipozyten von Typ-2-Diabetikern und Kontrollen konnte (Typ 2/Kon) ein signifikant verminderter Anstieg ($p = 0,014$) des Glukose-Uptakes von Kontrolladipozyten gemessen werden. Dieser konnte mit Zugabe von Ciglitazone während der Differenzierung tendenziell aufgehoben werden. In den co-kultivierten Überständen waren TNF- α , Resistin und IL-6 nicht nachweisbar. Der Adiponectin-Spiegel im Überstand aller Zellen war nicht signifikant verändert. Der Leptinspiegel war bei den co-kultivierten Kontrollüberständen diskret erhöht ($p < 0,055$).

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. TNF- α , IL-6 sowie auch Resistin, Leptin und Adiponectin scheinen hierbei jedoch eine untergeordnete Rolle zu spielen. Bisher noch unbekannte Faktoren müssen in Zukunft durch weitere Untersuchungen im Überstand analysiert werden.

V-34

Insulinsekretion und Insulinresistenz nach Pankreastransplantation

* Dieterle C.⁽¹⁾, Hierl F.-X.⁽¹⁾, Schmauss S.⁽¹⁾, Arbogast H.⁽²⁾, Illner W.-D.⁽²⁾, Veitenhansl M.⁽¹⁾, Jauch K.-W.⁽²⁾, Land W.⁽²⁾, Landgraf R.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Klinik der LMU, Diabeteszentrum, München, ⁽²⁾ Chirurgische Klinik, Klinikum Großhadern, Transplantationschirurgie, München

Fragestellung: Nach erfolgreicher Pankreastransplantation (PTX) sind die Nüchternglukose- und HbA_{1c}-Spiegel normalisiert. Dennoch zeigen einige Patienten bei erfolgreicher PTX eine eingeschränkte oder diabetische Glukosetoleranz (GT). Glukosetoleranzstörungen sind prognostisch ungünstig für das Langzeitüberleben des Transplantates. In dieser Studie sollte die Häufigkeit von Einschränkungen der GT nach erfolgreicher PTX bestimmt werden, und untersucht werden, ob Störungen der GT durch Insulinresistenz oder durch eine Insulinsekretionsstörung bedingt sind.

Material und Methoden: Es wurden 167 Typ-1-Diabetiker 3 Monate nach erfolgreicher Nieren/PTX untersucht. Neben der Messung der Nierenfunktion, HbA_{1c} und Nüchternglukose, wurde ein OGTT kombiniert mit einer iv Argininbelastung durchgeführt. Zuletzt wurden BMI, Nüchterninsulin und HOMA-IR als Marker für eine Insulinresistenz bestimmt. Zum Untersuchungszeitpunkt hatte kein Patient eine Insulintherapie.

Ergebnisse: HbA_{1c} und Nüchternglukose war bei allen Patienten normal. Trotzdem zeigten 26 % eine gestörte und 10 % eine diabetische GT. Patienten mit diabetischer oder eingeschränkter GT

hatten höhere Nüchternblutglukose und HbA_{1c}-werte (Nüchternblutglukose: 96 ± 13 mg/dl vs. 85 ± 11 mg/dl vs. 78 ± 11 mg/dl, $p < 0.001$; HbA_{1c}: 5.4 ± 0.2 % vs. 4.9 ± 0.1 % vs. 4.7 ± 0.1 %, $p < 0.01$). Die Insulinsekretion war bei diabetischer oder gestörter GT signifikant reduziert. Auch die Arginin-stimulierte Insulinsekretion war bei diesen Patienten reduziert, wobei die Unterschiede nicht signifikant waren. BMI, basales Insulin und der HOMA-IR zeigten keine Unterschiede bei Patienten mit normaler im Vergleich zu gestörter oder diabetischer GT.

Schlussfolgerung: 36 % der Transplantatempfänger zeigen im OGTT keine normale GT. Verschiedene Faktoren nach PTX können eine Insulinresistenz verursachen (z. B. systemische Insulindrainage des Transplantates, Immunsuppression). Bei Patienten, die eine Störung der GT nach PTX zeigten, war die Insulinresistenz nicht ausgeprägter als bei Patienten mit normaler GT. Es zeigte sich vielmehr eine reduzierte sekretorische Kapazität des transplantierten Pankreas.

V-35

Unterbrechung des α -Tocopherol-Transport-Proteins modifiziert den Kohlenhydratstoffwechsel in der Maus

Pomplun D.⁽¹⁾, Bumke-Vogt C.⁽²⁾, Landes N.⁽²⁾, Pflüger P.⁽²⁾, Glaubitz M.⁽²⁾, Boden C.⁽²⁾, Jochen S.⁽³⁾, Möhlig M.⁽³⁾, Brigelius-Flohé R.⁽²⁾, Pfeiffer A.⁽³⁾, *Ristow M.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, Nuthetal,

⁽²⁾ Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Potsdam-Rehbrücke, ⁽³⁾ Charité, Campus Benjamin Franklin, Berlin

Fragestellung: Das α -Tocopherol-Transfer-Protein (α -TTP) mediiert den hepatischen Einbau von α -Tocopherol in VLDL und dadurch die Umverteilung von α -Tocopherol in die verschiedenen Gewebe. Die Ablation dieses Proteins in der Maus verursacht Infertilität und wurde zuvor mit einer gesteigerten Inzidenz von atherosklerotischen Veränderungen assoziiert.

Material und Methoden: Wir haben diese α -TTP-defizienten Tiere bezüglich etwaiger Veränderungen des Glukose-Stoffwechsels untersucht. Dies erfolgte durch die Bestimmung basaler, d. h. nüchterner, sowie postprandialer Stoffwechselformen, und nachfolgend durch Glukosebelastungs- sowie Insulinsensitivitätstests. Entsprechende Mäuse wurden durch klassische Zucht mittels Verpaarung von jeweils heterozygoten Elterntieren generiert, und nachfolgend für die Präsenz des Knock-outs mittels genomischer PCR, RT-PCR und Immunoblotting gegen α -TTP typisiert. Tiere wurden durch eine Standard-Diät (200 mg/kg RRR- α -Tocopherol, Hersteller: Ssniff) ernährt und unter Bedingungen entsprechend der FELASA gehalten.

Ergebnisse: Knock-out-Tiere wurden jeweils mit genetisch unveränderten (d. h. Wildtyp-)Geschwistern gleichen Alters und Geschlechts bezüglich des metabolischen Phänotyps verglichen. Diese Untersuchungen ergaben signifikant erniedrigte Nüchtern-Blutglukose-Spiegel, signifikant erniedrigte postprandiale Blutglukose-Spiegel, und eine signifikant erhöhte Glukosemetabolisierung im intraperitonealen Glukosetoleranztest in Knock-out-Tieren, welche von einer verbesserten Insulinsekretion begleitet wurde.

Schlussfolgerung: Ein Mangel an α -TTP und die damit verbundenen Störungen des Vitamin-E-Stoffwechsels führen zu signifikanten Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels.

V-36

Einfluss von angeborenen und erworbenen Risikofaktoren auf die Insulinsensitivität und Präatherosklerose in jungen Erwachsenen im Übergang von Heranwachsenden zu Erwachsenen

* Bär F.⁽¹⁾, Füllert S.⁽¹⁾, Volz D.⁽¹⁾, Volz N.⁽¹⁾, Karg S.⁽¹⁾, Schneider F.⁽²⁾, Zuchhold H.-D.⁽³⁾, Lübben G.⁽⁴⁾, Vetter G.⁽⁵⁾, Konrad T.⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Institut für Stoffwechselforschung Frankfurt, Akad. Lehrinrichtung des Fachbereiches Medizin der J. W. Goethe-Universität, Frankfurt am Main, ⁽²⁾ Institut für Stoffwechselforschung Frankfurt Akad. Lehrinrichtung der J. W. Goethe-Universität, Datenmanagement/Statistik, Frankfurt am Main, ⁽³⁾ Institut für Stoffwechselforschung Frankfurt Akad. Lehrinrichtung der J. W. Goethe-Universität, Labor, Frankfurt am Main, ⁽⁴⁾ Takeda Pharma, Aachen, ⁽⁵⁾ Institut für Stoffwechselforschung Frankfurt Akad. Lehrinrichtung der J. W. Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Fragestellung: Wir untersuchten die Auswirkung von positiver Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen (CVD), Dyslipidämie, Type 2 Diabetes mellitus (DM2) und Lebensstil auf die Insulinsensitivität (SI) und die Präatherosklerose in jungen Erwachsenen (im Alter von 15 bis 25 Jahren).

Material und Methoden: In einer Kohorte von jungen, gesunden Probanden ($n = 203$, 20.4 ± 3.6 Jahre, 23.4 ± 3.53 kg/m²) wurde mit Hilfe des EU-Risk-Study-Lebensstilfragebogens der Lebensstil und die Familienanamnese erfasst. OGTT wurden mit dem Stummvoll- und Matsuda-Index ausgewertet. Die endotheliale Funktion wurde durch die Fluss-vermittelte Dilatation der A. brachialis (FMD) gemessen. Die Intima-Media-Dicke (IMD) der Aorta (IMDa) und der A. carotis communis (ACC), des Bulbus (ACB) und der A. carotis interna (ACI) wurden als Marker der Präarteriosklerose gemessen.

Ergebnisse: Eine positive Familienanamnese für CVD ($n = 77$) beeinträchtigt FMD (3.93 ± 3.42 % vs. 4.85 ± 3.45 %; $p < 0.05$). Familiäre Dyslipidämie ($n = 144$) beeinflusst die SI (Stummvoll; 10.25 ± 2.00 vs. 10.73 ± 1.98 $\mu\text{mol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1} \times \text{pM}^{-1}$; $p = 0.07$), endothelialer Dysfunktion (4.10 ± 3.24 % vs. 5.59 ± 3.82 %; $p < 0.05$) und IMDa (0.58 ± 0.16 mm vs. 0.54 ± 0.13 mm; $p = 0.07$) und ACC (0.48 ± 0.073 mm vs. 0.45 ± 0.062 ; $p < 0.05$). Probanden mit positiver Familienanamnese für Hypertonus ($n = 139$; IMDa 0.59 ± 0.15 mm vs. 0.54 ± 0.15 mm; $p = 0.055$). Raucher waren insulinresistent (Matsuda 5.34 ± 2.36 vs. 6.02 ± 2.73 $\text{mg} \times \text{dl}^{-1} \times \text{min}^{-1}$; $p = 0.07$), hatten eine niedrige FMD (6.56 ± 3.70 vs. 8.02 ± 4.29 %; $p < 0.05$) und eine höhere IMT in der ACC (0.48 ± 0.07 vs. 0.46 ± 0.073 mm; $p = 0.054$) und ACB (0.52 ± 0.091 vs. 0.48 ± 0.11 ; $p < 0.05$).

Schlussfolgerung: Eine positive Familienanamnese für CVD und DM2 scheinen eine schwache Auswirkung auf die Insulinsensitivität und Präatherosklerose bei Erwachsenen in der Entwicklungsphase von Heranwachsenden zum Adulten zu haben. Dyslipidämie in der Familie und Rauchen sind die stärksten Einflussfaktoren in dieser Gruppe.

Insulinsekretion

V-37

Herstellung insulin-produzierender Zellen aus adulten Stammzellen für die Zelltherapie des Diabetes mellitus

* Seissler J.⁽¹⁾, Wohlrab U.⁽¹⁾, Schmiegelt D.⁽¹⁾, Rütter R.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Deutsche Diabetes-Klinik, Leibniz Institut an der Universität Düsseldorf, Düsseldorf

Fragestellung: Unsere Arbeitsgruppe hat in vorangehenden Arbeiten zeigen können, dass aus adultem Pankreasgewebe Zellen mit Stammzeleigenschaften (APSCs) isoliert und expandiert werden können. Ziel der vorliegenden Studie war es, die Mechanismen der Differenzierung in insulinproduzierende Beta-Zellen zu analysieren und den Effekt der Zelltherapie bei diabetischen Mäusen zu untersuchen.

Material und Methoden: Die Untersuchungen wurden exemplarisch an dem APSC-Klon mJ5.3 durchgeführt. Für die Induktion der Differenzierung wurden die Kulturbedingungen (Medium, Serumkonzentration, definierte Wachstumsfaktoren) variiert und die Zellen zu unterschiedlichen Zeitpunkten durch RT-PCR, FACS und Immunhistologie charakterisiert. Zusätzlich wurden die Zellen durch eine lentivirale Transduktion mit EGFP markiert und unter die Nierenkapsel von streptozotizin-diabetischen C57/Bl6-Mäusen (BZ > 400 mg/dl) transplantiert.

Ergebnisse: Die mJ5.3-Zellen exprimieren vor der Differenzierung stammzellassozierte Marker (u. a. Nestin, BCRP1, Sox1) und Beta-Zell-Progenitormarker (Pdx1, Glut2, CK19), sind aber Hormon-negativ. Durch eine Änderung der Kulturbedingungen konnte die Expression des Beta-Zell-Progenitormarkers Ngn3 und von Proinsulin induziert werden. Nach der Transplantation in diabetische Mäuse war eine Reduktion der Blutzuckerspiegel (BZ < 200 mg/dl) über einen Zeitraum von bis zu 8 Wochen zu verzeichnen.

Schlussfolgerung: Stammzellen können aus dem adulten Pankreas isoliert werden und in vitro in insulin-produzierende Zellen differenzieren. Die Ergebnisse der Transplantationsexperimente belegen, dass die Zellen auch in vivo Insulin produzieren und zu einer Verbesserung der BZ-Spiegel führen. Die hier beschriebenen APSCs sind eine neue Quelle für die Generierung von Beta-Zellen und könnten die Grundlage für eine zukünftige Zellersatztherapie des Diabetes mellitus darstellen.

V-38

Annexin V schützt humane Inseln vor human Islet amyloid polypeptide (IAPP) induzierter Apoptose

* Ritzel R. A.⁽¹⁾, Jayasinghe S.⁽²⁾, Butler P. C.⁽³⁾, Langen R.⁽²⁾

⁽¹⁾ Universität Heidelberg, Medizinische Klinik I, Heidelberg, ⁽²⁾ USC, Zhilka Neurogenetic Institute, Los Angeles, USA, ⁽³⁾ UCLA, Larry L. Hillblom Islet Research Center, Los Angeles, USA

Die Inselmorphologie beim Typ-2-Diabetes ist durch ein Beta-zelldefizit, eine gesteigerte Betazellapoptose und Amyloidablagerungen aus Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) gekennzeichnet. Humanes IAPP (h-IAPP) kann in Oligomere aggregieren, die mit Membranen interagieren und Apoptose induzieren. Für das Alzheimer beta-Protein wird ein ähnlicher Toxizitätsmechanismus vermutet, der durch Annexin V (AnV), das mit Phosphatidylserin (PS) in Membranen interagiert, blockiert werden kann.

Fragestellung: Wird AnV in humanen Inseln exprimiert? Schützt AnV humane Inseln vor h-IAPP induzierter Apoptose? Welches ist der Mechanismus der protektiven Wirkung von AnV?

Methoden: Humane Inseln wurden mit Western-Blot untersucht (AK gegen AnV) und für 48 h mit h-IAPP (40 µM) ± AnV (1 µM) inkubiert. Vier Vesikelpopulationen (PS-Anteil 0, 1, 10 und 30 %) wurden in Leakage-Assays mit h-IAPP (40 µM) ± AnV (1 µM) untersucht. Mit Thioflavin T-Bindungsassays wurde die Aggregation von h-IAPP ± AnV analysiert.

Ergebnisse: AnV ist in humanen Inseln in hoher Konzentration nachweisbar. Die h-IAPP induzierte Apoptose in humanen Inseln wird durch AnV um ~50 % reduziert (p < 0.01). Die Permeabilisierung von Vesikeln durch h-IAPP wird durch PS konzentrationsabhängig gesteigert (p < 0.001). Bei 0 und 1 % PS-Anteil blockiert AnV die h-IAPP induzierte Membrandestabilisierung (p < 0.01), während bei 10 und 30 % PS AnV keinen Effekt besitzt (p = n. s.). Thioflavin-Assays zeigen, daß AnV auch direkt die Aggregation von h-IAPP blockieren kann.

Schlussfolgerungen: Die vorliegenden Daten bestätigen, daß h-IAPP eine Permeabilisierung von Membranen induziert. PS dient dabei möglicherweise als eine bevorzugte Bindungsstelle. AnV antagonisiert die membrandestabilisierende Wirkung von h-IAPP und schützt humane Inseln vor h-IAPP induzierter Apoptose. AnV kann dabei direkt mit h-IAPP interagieren, bei hohen PS-Konzentrationen dominiert jedoch die Interaktion von h-IAPP mit PS. AnV, das in humanen Inseln exprimiert wird, bietet möglicherweise einen neuen Ansatzpunkt, um die erhöhte Betazellapoptoserate bei Typ-2-Diabetes zu reduzieren.

V-39

Labelling of secretory granules by fluorescent insulin fusion proteins

* Hatlapatka K.⁽¹⁾, Baltrusch S.⁽²⁾, Elsner M.⁽²⁾, Jörns A.⁽²⁾, Chow R. H.⁽³⁾, Michael D.⁽³⁾, Gunzer M.⁽⁴⁾, Rustenbeck I.⁽¹⁾

⁽¹⁾ University of Braunschweig, Institute of Pharmacology and Toxicology, Braunschweig, ⁽²⁾ Medical School, Institute of Clinical Biochemistry, Hannover, ⁽³⁾ Keck USC School of Medicine, Department of Physiology and Biophysics, Los Angeles, U. S. A., ⁽⁴⁾ GBF-German Research Center for Biotechnology, Immunodynamics, Braunschweig

Objective: TIRF microscopy permits the selective visualization of secretory granules in the vicinity of the plasma membrane but requires the specific labelling of the secretory granules. The expression of fluorescent insulin fusion proteins appears as the method of choice permitting a multitude of applications.

Material and methods: The human proinsulin gene was inserted into the pEGFP-N1 vector upstream of the EGFP gene. This construct was then inserted into a lentiviral expression vector and the subcellular localization was characterized. Similarly, the fluorescent DsRed1-E5 protein, which changes fluorescence with time, was excised from the primer vector, and exchanged against the EGFP moiety of the above EGFP insulin fusion protein.

Results: Expressing the EGFP insulin fusion protein in INS-1E cells using a liposomal transfection system resulted in a marked punctate fluorescence pattern. A dynamic change in this pattern could be observed by TIRF microscopy after a potassium depolarization. While a selective labelling of secretory granules appeared in principle possible we sought to ascertain this observation also for the use of viral vectors. The use of a lentiviral transfection system resulted in a punctate fluorescent pattern of INS-1E cells. Immunohistochemically, there was a clear colocalization of c-peptide and EGFP-insulin fluorescence suggesting a correct targeting of this construct. After liposomal transfection of MIN6 cells with the DsRed1-E5-insulin fusion protein, a green fluorescence typical for the newly synthesized protein could be observed, however, the red fluorescence typical for the aged DsRed1-E5 protein was too weak to permit reproducible measurements.

Conclusions: The lentiviral transfection of the EGFP-insulin fusion protein results in a correct targeting of the construct and may be used for TIRF measurements of insulin granule movements and release. The expression of DsRed-insulin fusion proteins is also possible with correct targeting, but suffers currently from a low intensity of the aged protein.

V-40

Beeinflussung der elektrischen Aktivität K_{ATP} -Kanal-defizienter B-Zellen des Pankreas durch Insulin und intrazelluläre Ca^{2+} -Speicher

* Düfer M.⁽¹⁾, Haspel D.⁽¹⁾, Krippeit-Drews P.⁽¹⁾, Aguilar-Bryan L.⁽²⁾, Bryan J.⁽³⁾, Drews G.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universität Tübingen, Pharmazeutisches Institut, Pharmakologie und Toxikologie, Tübingen, ⁽²⁾ Baylor College of Medicine, Department of Medicine, Houston, ⁽³⁾ Baylor College of Medicine, Department of Molecular and Cellular Biology, Houston

Fragestellung: Für Wildtyp B-Zellen wurde ein Einfluss von Insulin auf K_{ATP} -Kanäle und Ca^{2+} -Speicher des endoplasmatischen Retikulums (ER) beschrieben. In SUR1-KO B-Zellen, die keine

funktionstüchtigen K_{ATP} -Kanäle mehr exprimieren, können Oszillationen des Membranpotentials (V_m) durch Veränderung der intrazellulären Ca^{2+} -Homöostase reguliert werden. Es wurde untersucht, ob Insulin einen Effekt auf die elektrische Aktivität K_{ATP} -Kanal-defizienter B-Zellen durch Beeinflussung intrazellulärer Ca^{2+} -Speicher hat.

Material und Methoden: Membranpotential und Ionenströme wurden mit der Patch-clamp-Technik, $[Ca^{2+}]_c$ fluoreszenzoptisch gemessen.

Ergebnisse: In SUR1-KO B-Zellen wurde während einer durch ein Spannungsprotokoll aufgeprägten Depolarisation, die eine sog. burst-Phase mit Ca^{2+} -Aktionspotentialen nachahmt, ein K^+ -Strom von 5.0 ± 0.6 pA induziert ($n=20$), der durch $50-100 \mu M$ D600 hemmbar war ($n=4$; $P < 0.01$). Die Depletion der Ca^{2+} -Speicher des ERs durch $10 \mu M$ Cyclopiazonsäure (CPA) führte zu einer transienten Zunahme dieses Stroms von 5.0 ± 1.3 auf 6.8 ± 0.7 pA ($n=4$; $P < 0.05$). SUR1-KO B-Zellen zeigen in V_m regelmäßige Oszillationen. Durch $200-400$ nM Insulin wurden die Phasen, in denen V_m hyperpolarisiert ist, verlängert (40 ± 11 s vs. 51 ± 9 s; $n=4$; $P < 0.05$) und V_m hyperpolarisierte um 3.8 ± 0.9 mV ($n=4$). Im Unterschied zu WT B-Zellen induzierte Insulin jedoch keine Zunahme des K^+ Stroms während einer aufgeprägten burst Phase ($n=3$). Nach Blockade des Ca^{2+} -Einstroms in SUR1-KO B-Zellen durch D600, stieg $[Ca^{2+}]_c$ bei Gabe von 400 nM Insulin nicht an, wohingegen $10 \mu M$ CPA $[Ca^{2+}]_c$ von 31 ± 6 auf 94 ± 9 nM erhöhte ($n=4$; $P < 0.001$).

Schlussfolgerung: In K_{ATP} -Kanal-defizienten B-Zellen lassen sich – ähnlich wie in WT B-Zellen – durch Depletion intrazellulärer Ca^{2+} -Speicher Ca^{2+} -abhängige K^+ Ströme aktivieren. Insulin übt auch in SUR1-KO B-Zellen durch Induktion eines hyperpolarisierenden Stroms einen Rückkopplungsmechanismus auf die elektrische Aktivität aus. Eine Beteiligung intrazellulärer Ca^{2+} -Speicher konnte hierfür jedoch nicht nachgewiesen werden.

V-41

Interference of sulfonylureas with the stoichiometry of potassium channel opener action

* Schwanstecher C.⁽¹⁾, Schulz M.⁽¹⁾, Gross I.⁽¹⁾, Schwanstecher M.⁽¹⁾

⁽¹⁾ TU Braunschweig, Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Braunschweig

Introduction: Drugs modulating insulin release are critical in prevention and therapy of type-2-diabetes and both sulfonylureas (e.g. glibenclamide) and potassium channel openers (e.g. pinacidil) exert their therapeutic effect by interaction with pancreatic β -cell sulfonylurea receptors (SUR1). In this study we focussed on the functional interference of the binding sites for these drugs.

Material and Methods: For this purpose we constructed a SUR1 based chimera with high affinity for pinacidil but low sensitivity for glibenclamide. SUR1 isoforms and pore-forming $K_{IR}6.2$ subunits were transiently coexpressed in COS1-cells to form recombinant pancreatic β -cell ATP-sensitive potassium channels (K_{ATP} channels).

Results: Following transient coexpression of the chimera with native SUR1 (cDNA ratios of 1:1 or 10:1), pinacidil sensitivity

of recombinant channels was analyzed using the inside-out configuration of the patch-clamp technique. In the absence of sulfonylureas, concentration-activation curves were consistent with a model assuming that channel opening is mediated by binding of pinacidil to just one of the four potassium channel opener sites per K_{ATP} complex. Channel block induced by glibenclamide (100 nM), however, strongly reduced the potency of pinacidil to activate the currents.

Conclusions: We conclude that occupation of just one of the four sulfonylurea sites per K_{ATP} complex is sufficient to prevent channel opening through potassium channel openers.

V-42

Kaliumkanal-Inhibitoren verhindern die Dexamethason-bedingte Hemmung der Insulinsekretion.

* Ullrich S.⁽¹⁾, Ranta F.⁽¹⁾, Berchtold S.⁽¹⁾, Seebohm G.⁽¹⁾, Lang F.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Universität Tübingen, Institut für Physiologie, Tübingen

K^+ -Kanäle beeinflussen die Glukose-induzierte Insulinsekretion. Ein Schließen von K_{ATP} -Kanälen depolarisiert die β -Zelle. Dadurch werden Ca^{2+} -Kanäle geöffnet und durch den Ca^{2+} -Einstrom die Insulinsekretion stimuliert. Anschließende Öffnung von K^+ -Kanälen beendet den Ca^{2+} -Einstrom und die Insulinsekretion. Die β -Zelle exprimiert spannungsaktivierte K_v -Kanäle, welche das Membranpotential beeinflussen. Glucocorticoide hemmen die Insulinsekretion. In Myozyten wurde gezeigt, dass Dexamethason (Dex) $K_v1.5$ -Kanäle aktiviert. Ziel dieser Studie war, zu untersuchen, inwieweit Dex über eine Veränderung von K_v -Kanalaktivitäten die Insulinsekretion beeinflusst. Die mRNA und funktionelle Expression von K_v -Kanälen wurde in INS-1 Zellen und in Mausinseln mittels RT-PCR bzw. Patch-Clamp Ganzzelleableitung quantifiziert. Die Glukose-induzierte Insulinsekretion wurde nach einer 30-min-Inkubation mit einem ELISA Assay bestimmt.

In INS-1 Zellen und Mausinseln erhöhte eine 4h-Dex-Behandlung (100 nM) selektiv die $K_v1.5$ -mRNA-Konzentration 7- bzw. 4-fach. Die mRNA-Konzentrationen von $K_v2.1$, $K_v2.2$ und $K_v3.2$ wurden nicht verändert. Zusätzlich induzierte Dex die Expression von SGK1, einer Serum- und Glucocorticoid-induzierbaren Kinase. Diese Kinase aktiviert Ionenkanäle, so auch $K_v1.5$ -bedingte K^+ -Ströme. In INS-1 Zellen wurde nach Dex-Behandlung ein signifikant höherer Anteil von K_v -Strömen durch 4-Aminopyridine (4-AP), einem K^+ -Kanalhemmstoff, gehemmt. Dex hemmte die Glukose-stimulierte Insulinsekretion in INS-1-Zellen um 60 % und in Mausinseln um 70 %. Die Hemmung von K_v -Kanälen durch 5 mM 4-AP und 10 mM TEA oder 0.3 μ M MSD-D, einem spezifischen $K_v1.5$ Kanalhemmstoff, verhinderte diesen Dex-Effekt. Wurden INS-1-Zellen durch 30 mM extrazellulärem KCl in Anwesenheit des K_{ATP} -Kanal-Öffners Diazoxide depolarisiert gehalten, war der hemmende Effekt von Dex auf die Insulinsekretion aufgehoben. Somit hemmen Glucocorticoide die Insulinsekretion u. a. durch eine Aktivierung von $K_v1.5$ -Kanälen. Die Hemmung dieser Kanäle stellt die Glukosesensitivität der Insulinsekretion wieder her.

V-43

LXR/RXR activation with T0901317 and 9-cis-retinoic acid inhibits insulin secretion and induces apoptosis in pancreatic β -cells

* Brenner M. B.⁽¹⁾, Zitzer H.⁽²⁾, Wente W.⁽¹⁾, Sewing S.⁽²⁾, Gromada J.⁽¹⁾, Efanov A. M.⁽¹⁾
⁽¹⁾Lilly Research Laboratories, Beta Cell Research, Hamburg, ⁽²⁾Lilly Research Laboratories, Molecular Biology, Hamburg

Introduction: Liver X receptors (LXRs) belong to the nuclear hormone receptor family of transcription factors that are essential in regulating the expression of proteins involved in the control of cholesterol homeostasis. LXRs function as heterodimers with retinoid X receptors (RXRs), activated by ligands for either receptor. Besides the naturally occurring hydroxycholesterols synthetic LXR agonists have been described. Recently, LXR activation by the synthetic ligand T0901317 (T0) has been shown to improve insulin sensitivity and stimulate insulin secretion. The objective of the present study was to examine the effects of LXR/RXR hyperactivation on insulin secretion and apoptosis of pancreatic β -cells.

Material and Methods: Insulin secretion was measured from Wistar rat pancreatic islets. Apoptosis in rat pancreatic islet cells and insulinoma MIN6 cells was detected by measuring caspase-3/7 activity and DNA fragmentation (ELISA). Gene expression was examined by RT-PCR. Protein expression was shown by immunoblotting.

Results: Pancreatic islets and insulin secreting cells express both LXR α and LXR β isoforms. Long term incubation (72 h) of rat pancreatic islets with 1 μ M T0 and 10 μ M of the RXR agonist 9-cis-retinoic acid (9cRA) decreased glucose-stimulated (16.7 mM) insulin secretion ($P < 0.001$). Incubation of MIN6 cells with 9cRA and T0 increased caspase-3/7 activity and DNA fragmentation by 150 % ($P < 0.001$). Palmitic acid synergized with LXR/RXR agonists in further stimulation of caspase activity and DNA fragmentation. The combination of palmitic acid with LXR/RXR agonists induced a 150 % increase in caspase-3 mRNA expression as well as a strong elevation in sterol regulatory element binding protein-1 c (SREBP-1 c) protein levels.

Conclusions: In conclusion, chronic hyperactivation of LXRs can produce an impairment in β -cell function possibly through strong induction of lipogenesis.

V-44

Glucose-dependent expansion of pancreatic beta-cells by the protein p8 in vitro and in vivo

* Páth G.⁽¹⁾, Opel A.⁽¹⁾, Rothhammer V.⁽¹⁾, Gehlen M.⁽¹⁾, Limbert C.⁽¹⁾, Romfeld L.⁽¹⁾, Hügl S.⁽¹⁾, Brendel M. D.⁽²⁾, Bretzel R. G.⁽²⁾, Seufert J.⁽¹⁾
⁽¹⁾University of Würzburg, Medizinische Klinik II und Poliklinik, Würzburg, ⁽²⁾University of Giessen, Medizinische Klinik III und Poliklinik, Giessen

There is a controversy whether neogenesis from precursor cells present in ducts and islets of Langerhans or replication of beta-

cells is the major source of newly formed beta-cells. In particular, molecular mediators of pancreatic beta-cell mass expansion are poorly defined. Here we report on beta-cell expansion properties of the nuclear protein p8, a member of the HMG-I/Y transcription factor family. We previously demonstrated expression of p8 in beta-cells and observed that glucose mediated INS-1 beta-cell expansion is strictly correlated to a preceding induction of p8 protein expression. In this study INS-1 beta-cells stably overexpressing p8 protein (p8-INS-1) were generated. We find that p8 overexpression enhances INS-1 cell proliferation (3fold) without loss of mRNA expression of beta-cell phenotype related genes like PDX-1, proinsulin, GLUT2, glucokinase and amylin. Moreover, functionally mass expanded p8-INS-1 cells maintained insulin content and secretion and displayed no change in glucose stimulated insulin responses. Adenoviral overexpression of p8 in primary human islets led to 3fold induction of cell proliferation, which cumulated in a 7fold amplification of cell numbers within one week of culture. Transplantation of these p8 transduced human islets under the kidney capsule of immunosuppressed streptozotocin diabetic mice normalized hyperglycemia more efficiently than in mice transplanted with mock transduced control islets. This was a result of p8 enhanced islet growth in vivo as verified by continuously rising human C-peptide serum levels and significantly elevated insulin content of p8 transduced grafts in kidney explants nine days after transplantation. We conclude that p8 overexpression induces expansion of beta-cells in vitro and in vivo without loss of phenotype and function. These results establish p8 as a molecular tool for amplification of mature beta-cells for therapeutic strategies to treat diabetes mellitus.

V-45

Freie Fettsäuren erhöhen die intrazelluläre Calciumkonzentration über eine Aktivierung von GPR40 in Betazellen

* Schnell S.⁽¹⁾, Kolbe E. W.⁽¹⁾, Schöfl C.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, Hannover

Kürzlich wurde ein G-Protein-gekoppelter-Rezeptor, namentlich GPR40, entdeckt, der von einer Reihe mittel- und langkettiger Fettsäuren aktiviert wird und dessen Aktivierung zu einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration ($[Ca^{2+}]_i$) in GPR40 exprimierenden CHO-Zellen führt. Freie Fettsäuren verursachen einen Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ und stimulieren die Insulinfreisetzung aus pankreatischen Betazellen. Wir haben eine potentielle Rolle von GPR40 bei der Erzeugung der von freien Fettsäuren ausgelösten Signale in pankreatischen Betazellen untersucht. Die Expression von GPR40 in INS-1 Zellen wurde auf mRNA-Ebene mittels RT-PCR und gegen Ratten-GPR40 spezifischen Primern bestimmt. In einzelnen Fura-2 beladenen INS-1 Zellen wurde die $[Ca^{2+}]_i$ nach Stimulation mit verschiedenen Fettsäuren gemessen. GPR40 ist in INS-1 Zellen exprimiert. Dies konnte mit RT-PCR nachgewiesen werden. Die Stimulation einzelner INS-1 Zellen mit 100 μ M Laurin-, Myristin-, Palmitin-, Stearin-, Öl-, Linol-, α - oder γ - Linolensäure verursachte einen Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ in Form eines initialen Peaks mit anschließender Plateauphase in Anwesenheit von Glukose (5 mM). Den stärksten Effekt auf den Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ hatte Palmitinsäure (100 μ M) mit 172 ± 44 nM ($n = 10$), während Stearinsäure (100 μ M) von den zuvor genannten Fettsäuren mit 15 ± 7 nM ($n = 8$) den geringsten Effekt zeigte. Capronsäure hingegen hatte bis zu Konzentrationen von 300 μ M keinen Einfluss auf die $[Ca^{2+}]_i$. Diese Beobachtungen sind denen, die mit Ratten-GPR40 transfizierten CHO-Zellen gemacht wurden, sehr ähnlich. Eine Auswahl mittel- und langkettiger Fettsäuren stimuliert den Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ in insulinsekretierenden INS-1-Zellen. Dies geschieht sehr wahrscheinlich über eine Aktivierung des G-Protein-gekoppelten Rezeptors GPR40, der in INS-1-Zellen exprimiert wird. Angesichts der bedeutenden Rolle eines Anstiegs der $[Ca^{2+}]_i$ bei der Insulinfreisetzung ist es denkbar, dass Fettsäureinduzierte Veränderungen der $[Ca^{2+}]_i$ über eine Aktivierung von GPR40 zur Regulation der durch Fettsäuren induzierten Insulinfreisetzung beitragen.

Qualitätskontrolle/Psychologie

V-46

Ist eine evidenzbasierte antihyperglykämische Therapie stationär behandelter Typ-2-Diabetiker möglich?

* Ziehl S.⁽¹⁾, Poltorak P.⁽¹⁾, Grandt D.⁽¹⁾, Häuser W.⁽¹⁾, Häuser W.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Klinikum Saarbrücken, Medizinische Klinik I, Saarbrücken

Fragestellung: Evidenzbasierte Leitlinien gründen sich auf kontrollierte Studien und Expertenwissen. Kontrollierte Studien schließen häufig multimorbide bzw. ältere Patienten aus. Wir überprüften, inwieweit die evidenzbasierten Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft DDG zur antihyperglykämischen Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 für die Behandlung stationär behandelter Typ-2-Diabetiker anwendbar ist.

Methodik: Analyse der im Literaturverzeichnis der DDG-Leitlinien (Diabetes und Stoffwechsel 12/2003, Supplement 2, 29–31) enthaltenen klinischen Studien bzgl. Ein- und Ausschlusskriterien. Alle während der Monate August und September 2003 in die beiden medizinischen Kliniken eines Krankenhauses der Maximalversorgung aufgenommenen medikamentös behandelten Typ-2-Diabetiker wurden erfasst. Aktuelle diabetesassoziierte sowie diabetesunabhängige Erkrankungen, HbA_{1c}, BZ-Werte und aktuelle Medikation wurden der Krankenakte entnommen.

Ergebnisse: 100/125 Literaturstellen enthielten klinische Studien der Evidenzklassen I–III. 41 Studien schlossen Patienten mit Nierenerkrankungen, 39 mit Lebererkrankungen, 16 mit anderen schweren Erkrankungen und 15 mit diabetischer Retinopathie aus. Weitere häufige Ausschlusskriterien waren ein Lebensalter > 75 Jahre in 37 Studien, HbA_{1c}-Werte > 7,5 % in 23 Studien sowie deutliches Übergewicht, meistens definiert durch den Broca-Index, in 24 Studien sowie Therapie mit Kortison in 10 und Diuretika in 4 Studien (Mehrfachnennungen). Bei 153/982 Patienten (15,5 %) der Patienten lag ein medikamentös behandelter Diabetes mellitus Typ 2 vor, der Median des Lebensalters lag bei 73 (Spannweite 25–95) Jahre. Von 138/153 der Patienten konnten die medizinischen und Versorgungsdaten erhoben werden. Auf 89 Patienten konnten die Leitlinien wegen fortgeschrittener Herz-, Leber- und Nierenerkrankungen, auf 84 wegen Diuretikatherapie, auf 59 wegen des Lebensalters > 75 Jahre und auf 8 wegen Kortisontherapie nicht angewendet werden.

Schlussfolgerung: Eine evidenzbasierte Behandlung stationär behandelter Typ-2-Diabetiker ist nur selten möglich.

V-47

Evaluation der Ergebnisqualität von 20 Schulungszentren für Typ-1-Diabetes durch die Arbeitsgemeinschaft für klinische Diabetologie (AKD) in 2004

* Sämman A.⁽¹⁾, Hemann D.⁽²⁾, Teßmann D.⁽³⁾, Jecht M.⁽⁴⁾, Haak T.⁽⁵⁾, Kloos C.⁽¹⁾, Müller U. A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Friedrich Schiller Universität Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, ⁽²⁾ Franziskus Hospital, Diabetologie, Köln, ⁽³⁾ Medizinische Klinik, Diabetologie, Passau, ⁽⁴⁾ Havelhöhe Medizinische Klinik, Diabetologie, Berlin, ⁽⁵⁾ Diabetesklinik, Bad Mergentheim

Fragestellung: Aufgabe der Arbeitsgemeinschaft für Klinische Diabetologie (AKD) der Deutschen Diabetesgesellschaft ist die kontinuierliche Weiterentwicklung der Qualitätssicherung der strukturierten Schulung und Behandlung von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und 2. Die AKD ist aus der Fusion der Arbeitsgemeinschaft für Strukturierte Diabetestherapie (ASD) mit der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Diabeteskliniken (ADDDK) 2003 hervorgegangen. Die AKD evaluiert in den Mitgliedseinrichtungen die Struktur-, Prozess- und Ergebnisqualität bei der Behandlung von Patienten mit Diabetes mellitus und entwickelt neue Strukturen zur Verbesserung und Standardisierung der Diabetestherapie.

Material und Methoden: Die Beurteilung der Struktur- und Prozessqualität erfolgt durch jeweils 3-tägige passive und aktive Hospitationen. Die Überprüfung der Ergebnisqualität erfolgt durch die Nachuntersuchung einer Stichprobe aller in einem bestimmten Zeitraum geschulten und behandelten Patienten mit Typ 1 (n = 30). Es werden HbA_{1c}-Wert incl. Normbereich, Anzahl schwerer Hypoglykämien, Ketoazidosen sowie von Krankenhausentlassungen innerhalb einer Frist von 12 Monaten vor und nach Schulung dokumentiert.

Ergebnisse: Zur Jahrestagung 2003 wurden 20 Evaluationen mit 846 Patientendatensätzen vorgestellt. Das mittlere Lebensalter aller Patienten betrug 39,2 Jahre, die mittlere Diabetesdauer 14,3 Jahre: Der mittlere adjustierte HbA_{1c}-Wert aller Patienten betrug 7,83 % vs. 7,32 % (Schulung vs. Nachuntersuchung, p < 0,001); pro Patientenjahr kam es zu 0,35 vs. 0,14 schweren Hypoglykämien (p < 0,001) und zu 0,09 vs. 0,04 schweren Ketoazidosen (p < 0,001).

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse der Nachuntersuchung geschulter Patienten mit Typ-1-Diabetes in 20 Diabeteszentren zeigten, dass die verwendeten evaluierten und strukturierten Schulungsprogramme sowohl bei unkomplizierten Patienten als auch bei Problempatienten eine hohe Effektivität aufweisen. Der seit 12 Jahren verwendete Datensatz enthält keine Details zur Therapie und den Komplikationen. Der Datensatz wurde deshalb an den DDG-Datensatz angeglichen.

V-48

Profitieren Patienten mit Typ-1-Diabetes und häufigen schweren Hypoglykämien von der Teilnahme am Standardbehandlungsprogramm? – 12 Jahresergebnisse der Arbeitsgemeinschaft für klinische Diabetologie (AKD)

* Sämman A.⁽¹⁾, Kloos C.⁽¹⁾, Müller U. A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Friedrich Schiller Universität Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena

Fragestellung: Patienten mit häufigen schweren Unterzuckerungen sind eine besondere Herausforderung für die strukturierte Diabetestherapie. Viele Einrichtungen bieten dafür ein Hypoglykämiewahrnehmungstraining an. Unklar ist, ob Patienten mit Typ-1-Diabetes und mit häufigen schweren Hypoglykämien auch von der Teilnahme am Standardgruppenschulungsprogramm (strukturiertes Schulungs- und Behandlungsprogramm für Typ-1-Diabetes mit intensiver Insulintherapie) profitieren.

Material und Methoden: Zur Evaluation der Ergebnisqualität der Mitgliedseinrichtungen der AKD wird alle 3 Jahre eine nicht selektierte Stichprobe aller geschulten Patienten 12 Monate nach Schulung nachuntersucht. Analysiert wurden DCCT-adjustiertes HbA_{1c} und Anzahl an schweren Hypoglykämien 1 Jahr vor und nach Teilnahme an einem strukturierten Schulungs- und Behandlungsprogramm. Patienten mit 3 oder mehr schweren Hypoglykämien im Jahr vor Schulung wurden mit Patienten mit weniger als 3 Hypoglykämien verglichen.

Ergebnisse: Im Untersuchungszeitraum 1993 bis 2004 wurden 190 Evaluationen mit 9583 nachuntersuchten Patienten durchgeführt. 341 Patienten (3,6 %) hatten 3 oder mehr schwere Hypoglykämien im Jahr vor Schulung. Davon hatten 56 % der Patienten 1 Jahr nach Schulung keine, 20,2 % eine und 9,1 % zwei schwere Hypoglykämien.

Schwere Hypos pro Jahr < 3/≥ 3

Patienten [n] 9242/341

Alter [a] 38.1 (14.0)/38.5 (13.2) ns

Diabetesdauer [a] 1 3.2 (10.9)/18.7 (11.1) < 0.001

HbA_{1c} bei Schulung [%] 8.1 (2.0)/7.4 (1.9) < 0.001

HbA_{1c} bei Nachuntersuchung [%] 7.3 (1.6)/7.2 (1.5) 0.001

Hypos vor Schulung* 0.16 (0.46)/6.1 (9.6) < 0.001

Hypos nach Schulung* 0.1 (0.55)/1.4 (0.29) < 0.001

Ketoazidosen vor Schulung* 0.09 (0.46)/0.12 (0.48) ns

Ketoazidosen nach Schulung* 0.03 (0.29)/0.05 (0.26) ns

*Ereignisse/Patient/Jahr, (SD)

Schlussfolgerung: Das Standardbehandlungsprogramm für intensiviertere Insulintherapie führt auch bei Risikopatienten mit häufigen schweren Hypoglykämien zu einer Reduktion der Hypoglykämien um mehr als 75 %. Ein direkter Vergleich mit dem Hypoglykämiewahrnehmungstraining fehlt.

V-49

Charakteristika des immun-medierten Diabetes (Typ-1-DM/LADA) mit Manifestation im Erwachsenenalter: Ergebnisse der ADBW-End1-Studie

* Born B.⁽¹⁾, Boehm B.⁽²⁾, Beischer W.⁽³⁾, Dapp A.⁽⁴⁾, Haak T.⁽⁵⁾, Nastoll M.⁽⁶⁾, Holl R.⁽⁶⁾
⁽¹⁾ Steinebergklinik, Innere Medizin, Reutlingen, ⁽²⁾ Universität Ulm, Innere Medizin I, Ulm, ⁽³⁾ Bürgerhospital, Innere Medizin, Stuttgart, ⁽⁴⁾ Kreiskrankenhaus Spaichingen, Innere Medizin, Spaichingen, ⁽⁵⁾ Diabetesklinik, Bad Mergentheim, ⁽⁶⁾ Universität Ulm, ZIBMT, Ulm

Fragestellung: Auch im höheren Alter können Diabetespatienten bei Manifestation β -Zell-spezifische Antikörper aufweisen. Wenn nach initial vermutetem Typ-2-Diabetes rasch ein Sekundärversagen mit Insulinpflichtigkeit auftritt, liegt ev. ein LADA-Diabetes vor.

Material und Methoden: Innerhalb der ADBW, der Baden-Württemberger Regionalgesellschaft der DDG, wird seit Ende 2002 eine standardisierte Dokumentation Diabetes-relevanter Befunde sowie eine zentralisierte Bestimmung von Inselzell-Antikörpern (Immunfluoreszenz) sowie von GAD und IA2-Antikörpern (ELISA) bei Erwachsenen mit Verdacht auf Autoimmundiabetes durchgeführt.

Ergebnisse: Bis November 2004 wurden von 60 Institutionen in Baden-Württemberg insgesamt 285 Erwachsene (Alter > 15 Jahre) mit klinischem Verdacht auf immun-medierten Diabetes auf das Vorliegen von β -Zell-Antikörpern untersucht. Bei 150 Patienten (52,6 %) ergab sich ein positiver Befund: GAD-AK wurden bei 89,9 % dieser Gruppe gefunden, ICA bei 62,8 % und IA2-AK bei 50 %. Das mittlere Manifestationsalter betrug 36,5 Jahre, 16 Prozent waren älter als 50 Jahre, der älteste Patient 89 Jahre alt. Der Body-Mass-Index betrug im Mittel 22,5 kg/m², 18,6 % der Patienten waren übergewichtig (BMI > 25 kg/m²). Eine Hyperventilation fand sich bei 4 % der Patienten, ein Koma bei 0,7 %, während bei 32,5 % eine Urinacetonausscheidung und bei 3 % eine metabolische Azidose (pH-Wert < 7,2) vorlag. 16,7 % der Patienten gaben an, dass mindestens ein erstgradiger Verwandter an einem Typ-2-Diabetes erkrankt sei (4,7 %: Typ-1-Diabetes). Bei 7 Patienten bestand zusätzlich eine autoimmunologische Schilddrüsenerkrankung. Der initial gemessene Blutzucker (379 ± 17 mg/dl) und der HbA_{1c} (11,1 ± 0,2 %) unterschieden sich nicht von 135 Patienten ohne β -Zell-AK (mittl. Alter: 43 Jahre, BZ: 402 ± 22 mg/dl, HbA_{1c}: 11,0 ± 0,32 %).

Schlussfolgerung: Ein immun-mediierter Diabetes kommt auch im höheren Alter nicht selten vor. Klinisch/anamnestisch unterscheiden sich erwachsene Patienten mit neumanifestiertem Typ-1-DM/LADA nicht von Patienten mit klassischem Typ-2-Diabetes.

V-50

Realistische individuelle Therapiezielsetzung bei Umstellung auf Insulinpumpentherapie

* Reichel A.⁽¹⁾, Rietzsch H.⁽¹⁾, Köhler H.-J.⁽¹⁾, Röthig K.⁽¹⁾, Schulze J.⁽¹⁾, Bornstein S. R.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Universitätsklinikum Dresden, Medizinische Klinik III, Dresden

Fragestellung: Welche Glykämieziele sind bei Umstellung auf Insulinpumpentherapie in Abhängigkeit von der vorher erreichten Stoffwechsellage realistisch?

Material und Methoden: 93 Typ-1-Diabetiker, aufeinander folgend im Zeitraum von 4 Jahren von ICT auf CSII umgestellt, wurden kontinuierlich in unserer Ambulanz weiter betreut. Wir ermittelten den Verlauf der Glykämie vor und nach 1, 2, 3 und 4 Jahren CSII. Die statistische Auswertung (einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen) erfolgte für die Gesamtkohorte sowie unterteilt nach dem HbA_{1c} vor Umstellung: Gruppe 1) < 7,0 %, Gruppe 2) 7,0–9,0 % und Gruppe 3) > 9,0 %.

Ergebnisse: In der Gesamtkohorte wurde zu allen Zeitpunkten eine signifikante Verbesserung des HbA_{1c} verzeichnet (1 Jahr (n=93) 8,25 % vs. 7,30 %; 2 Jahre (n=68) 8,26 % vs. 7,32 %; 3 Jahre (n=40) 8,25 % vs. 7,56 %; 4 Jahre (n=18) 8,63 % vs. 7,96 %; alles p < 0,05). Patienten mit HbA_{1c} < 7 % vor CSII verbesserten sich nur im zweiten Jahr signifikant: (1 Jahr (n=14) 6,46 % vs. 6,25 %; 2 Jahre (n=9) 6,48 % vs. 6,14 %**); 3 Jahre (n=6) 6,50 % vs. 7,08 %; 4 Jahre (n=2) 6,80 % vs. 6,45 %; **p < 0,01). Die Gruppe mit Ausgangswerten HbA_{1c} 7,0–9,0 % konnte bis zum dritten Jahr eine signifikante Senkung erreichen: (1 Jahr (n=60) 7,95 % vs. 7,17 %***; 2 Jahre (n=45) 7,92 % vs. 7,32 %***; 3 Jahre (n=26) 7,95 % vs. 7,25 %***; 4 Jahre (n=10) 7,93 % vs. 7,78 %; *** p < 0,001). Die absolut größte Verbesserung erzielten Patienten mit Ausgangswerten > 9 %, ohne jedoch das angestrebte Glykämieziel zu erreichen (1 Jahr (n=19) 10,54 % vs. 8,49 %***; 2 Jahre (n=14) 10,52 % vs. 8,10 %***; 3 Jahre (n=8) 10,54 % vs. 8,94 %*; 4 Jahre (n=6) 10,30 % vs. 8,75 %*; * p < 0,05; *** p < 0,001).

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse sollen für die im DMP Diabetes mellitus Typ-1 geforderte Erarbeitung realistischer Therapieziele zwischen Arzt und Patienten dienen. In der Routinebetreuung erreichen Patienten der Gruppe 3 keine ausreichend gute Glykämie, die Umstellung auf CSII verbessert den HbA_{1c} trotzdem um ca. 2 % und damit die Krankheitsprognose. Die Differenzierung der Therapieprobleme dieser Patienten soll in weiteren Untersuchungen erfolgen.

V-51

Oraler Glukosetoleranztest – ein besserer Screeningtest als HbA_{1c} und/oder Blutzuckertagesprofile bei kardiovaskulären Risikopatienten

* Oechslen M.⁽¹⁾, Tappert C.⁽²⁾, Gasiorek K.⁽³⁾

⁽¹⁾ Klinikum Hoyerswerda, Sektion Diabetologie 3. Medizinische Klinik, Hoyerswerda,

⁽²⁾ Klinikum Hoyerswerda, Institut für Laboratoriumsmedizin, Hoyerswerda, ⁽³⁾ Klinikum Hoyerswerda, 3. Medizinische Klinik, Hoyerswerda

Fragestellung: Es sollte die Frage geklärt werden, ob die großzügige Indikationsstellung zu einem oralen Glukosetoleranztest (oGTT) in einem Gebiet mit geringer Dichte an diabetologischen SPP eine weiterreichende Detektierung nicht erkannter Diabetiker in einem Risikokollektiv ermöglicht, als die alleinige Durchführung von BZ-Tagesprofilen und die Bestimmung des HbA_{1c}.

Material und Methoden: Wir führten bei Patienten, bei denen eine Glukosestoffwechselstörung bis zum Zeitpunkt der Aufnahme in unserem Haus unbekannt war, einen oGTT durch. Eingeschlossen wurden Patienten, die notfallmäßig mit einer Diagnose des kardiovaskulären Formkreises aufgenommen wurden. Patienten mit dringendem Verdacht auf das Vorliegen einer malignen Grunderkrankung, Pankreopathologie oder systemi-

schen Infektionen wurden bei der Auswertung der gewonnenen Daten nicht berücksichtigt.

Ergebnisse: Nach Beherrschung der Akutsituation, die zur stationären Einweisung geführt hatte, und nachdem mindestens zwei vollständige Blutzuckertagesprofile vorlagen, die keinen Wert über 200 mg/dl (10,9 mmol/l) aufwiesen.

248 oGTT wurden im Zeitraum zwischen 1.1. 2004 bis zum 31.12. 2004 durchgeführt, 227 waren verwertbar. Davon wiesen 70 (31 %) einen pathologischen 2-Stunden-Wert auf, 33 (14,5 %) zusätzlich bereits einen pathologischen Nüchternwert. Nach Filterung der Daten nach Hauptdiagnose fanden sich in einer Gruppe mit Patienten, die wegen einer gleichwie gestalteten Erkrankung aus dem Kardiovaskulären Formenkreis aufgenommen wurden, 56 (80 %) mit einem pathologischen oGTT bei normalen BZ-Tagesprofilen und normalem HbA_{1c}. Davon 18 (25 %) mit einem komplett pathologischen Test. Das HbA_{1c} des Kollektives lag im Normbereich des häuslichen Labors (MW 4,5 %).

Schlussfolgerung: Damit wird die mögliche Bedeutung des oGTT im Bezug auf postprandial auftretende Hyperglykämien hervorgehoben und außerdem legen die Daten der vorliegenden Erhebung die routinemäßige Durchführung eines oGTT bei Patienten nahe, die mit einer Erkrankung des kardiovaskulären Formenkreises in einem Gebiet mit geringer Dichte an diabetologischen SPP stat. aufgenommen werden.

V-52

Ergebnisse der DAWN-Studie – Deutschland

* Kulzer B.⁽¹⁾, Landgraf R.⁽²⁾, Hermanns N.⁽³⁾

⁽¹⁾ Diabetes Zentrum Mergentheim, Bad Mergentheim, ⁽²⁾ Diabeteszentrum Klinikum der Universität München, Endokrinologie und Diabetologie, München, ⁽³⁾ Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Mergentheim (FIDAM), Mergentheim

Fragestellung: DAWN („Diabetes Ansichten, Wünsche und Nöte“) ist die erste weltweite (13 Länder) Studie zu psychosozialen Aspekten von Diabetes. Insgesamt wurden 5400 Patienten und 3850 „Healthcare Professionals“ befragt.

Material und Methoden: In Deutschland wurden 496 zufällig ausgewählte Patienten [197 Typ 1 (D1), 176 Typ 2 mit Insulin (D2I), 123 Typ-2-Diabetes ohne Insulin (D2)], und 350 Behandler (200 Allgemeinmediziner (A), 50 Diabetesspezialisten (D) sowie jeweils 50 Krankenschwestern (K)/ Diabetesberaterinnen (DB) persönlich oder telefonisch interviewt (ca. 40 Minuten).

Ergebnisse: Diabetes wird sowohl von den Diabetesspezialisten (D) (80 %), in geringerem Ausmaß auch von den Allgemeinmedizinern (A) (57 %) als ein bedeutsames Gesundheitsproblem angesehen. Allerdings werden mehr Anstrengungen zur Diabetesprävention durch Lebensstiländerung (D: 94 %; A: 92,9 %), bessere Schulungsformen (D: 62 %; A: 67 %) und ein besseres Verständnis der psychologischen Konsequenzen des Diabetes (D: 44 %; A: 48,5 %) als notwendig erachtet. Die Sorge vor Komplikationen (D: 74 %; A: 83,1 %), Hypoglykämien (D: 54 %; A: 86,8 %), Gewichtsprobleme (D: 76 %; A: 70,8 %) und bei Typ-2-Diabetikern die Angst vor Insulin (D: 56 %; A: 72 %) werden als die größten diabetesbezogenen Belastungen bei Patienten wahrgenommen. Hingegen wird die Bedeutung depressiver Störungen unterschätzt (D: 6,1 %; A: 12,6 %). Patienten berichten vor al-

lem über psychologische Probleme bei der Diagnosestellung (D1: 53 %, D2: 55,7 %, D2I: 60 %), Gewichtsprobleme (D1: 39 %, D2: 74 %, D2I: 72 %), Sorgen über Komplikationen (D1: 38 %, D2: 46 %, D2I: 61 %) und Hypoglykämien (D1: 38 %, D2: 35 %, D2I: 42 %). Trotz vieler wahrgenommener diabetesbezogener psychosozialer Belastungen werden Patienten nur selten an Fachleute wie Psychologen, Psychotherapeuten, Psychiater überwiesen (< 2 %).

Schlussfolgerung: Eine bessere Integration psychosozialer Konzepte in die Diabetestherapie erscheint dringend erforderlich, um den Wünschen und Nöten der betroffenen Menschen mit Diabetes gerecht werden zu können.

V-53

Die Akutwirkung moderater Hyperglykämie im Vergleich zu Euglykämie auf Stimmung und kognitive Funktionen von Typ-2-Diabetes-Patienten

* Pais I.⁽¹⁾, Peters A.⁽¹⁾, Hallschmid M.⁽²⁾, Kern W.⁽¹⁾, Born J.⁽²⁾, Schultes B.⁽¹⁾

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

Fragestellung: Der Einfluss moderater Hyperglykämie auf die Stimmung und die kognitiven Funktionen von Typ-2-Diabetes-(T2DM-)Patienten ist bislang unzureichend untersucht worden.

Material und Methoden: Wir testeten 15 T2DM-Patienten in einem einfach-blinden, balancierten Experiment während einer 90-minütigen Euglykämie (90 mg/dl) und einer ebenso langen Hyperglykämie (190 mg/l). Um mögliche Insulineffekte auszuschließen, wurde unter beiden Versuchsbedingungen die gleiche Insulindosis infundiert. Die momentane Stimmung wurde in 14 Dimensionen mittels einer Eigenschaftswörterliste erfasst. Die kognitive Testung umfasste einen Kurzzeitgedächtnistest (Wortwiedergabe) sowie einen modifizierten Stroop-Test, der neutrale und essensbezogene Stimuli zur Messung der selektiven Aufmerksamkeit beinhaltete.

Ergebnisse: Die moderate Hyperglykämie war im Vergleich zur Euglykämie mit tendenziell verbesserter Stimmung (7.9 ± 1.0 vs. 6.5 ± 1.1 ; $p = 0.06$) sowie vermindertem Ärger (0.2 ± 0.2 vs. 0.4 ± 0.2 ; $p = 0.08$) verbunden. In den anderen Dimensionen der Eigenschaftswörterliste (alle $p > 0.12$) sowie in den Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsstests ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Bedingungen (alle $p > 0.5$).

Schlussfolgerung: Unsere Daten zeigen, dass eine moderate Hyperglykämie im Vergleich zu einer Euglykämie bei Patienten mit T2DM die Stimmung, das Kurzzeitgedächtnis sowie die Aufmerksamkeit nicht negativ beeinflusst, sondern im Gegenteil zu einer leichten Stimmungsaufhellung zu führen scheint.

V-54

Evaluation von strukturierten Ferienfreizeiten als Beitrag zur Qualitätssicherung in der Versorgung von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus

* Bartus B.⁽¹⁾, Föhl A.⁽²⁾, Kühnle A.⁽²⁾, Weidemeyer S.⁽³⁾, Zieher S.⁽⁴⁾, Zieher U.⁽⁴⁾

⁽¹⁾Olgahospital, Stuttgart, ⁽²⁾Klinikum Memmingen, Memmingen, ⁽³⁾KKH Böblingen, Böblingen, ⁽⁴⁾Schwerpunktpraxis Marktheidenfeld, Marktheidenfeld

Fragestellung: Strukturierte Ferienfreizeiten für Kinder und Jugendliche mit Diabetes mellitus haben eine spezifische inhaltliche Konzeption (z. B. erlebnispädagogischer Ansatz) und werden von einem interdisziplinären Team (z. B. Ärzte, Diabetesberater, Sportlehrer) betreut. Wieweit die Teilnahme an strukturierten Freizeiten auch das Wissen über den Diabetes und seine Behandlung verändern kann, wurde bei zwei Freizeiten für Kinder und Jugendliche mit Diabetes mellitus untersucht.

Material und Methoden: Bei den Teilnehmern von zwei 6-tägigen erlebnispädagogischen Freizeiten wurde ihr diabetesbezogenes Wissen zu Beginn und am Ende der Freizeit mit dem Kinderdiabetesbogen „KiDiBo“ (Klare u. Bartus 2000) erfasst. Der Fragebogen hat 4 Skalen mit 21 Items, die das Wissen über den Diabetes und seine Behandlung im multiple-choice Modus abfragen. Erfasst wird die Häufigkeit richtiger und falscher Antworten. Die Datenanalyse erfolgte mit dem Statistikpaket SPSS Vers. 12.0.

Ergebnisse: Da sich die Teilnehmer beider Freizeiten (30 bzw. 29 Kinder) im Alter, Diabetesdauer, Insulintherapie und im Wissenstest nicht signifikant voneinander unterschieden, wurden sie zu einer Untersuchungsgruppe (N = 59) zusammengefasst. Das mittlere Alter lag bei $11,3 \pm 1,2$ Jahren (9–14 Jahre), die Diabetesdauer betrug $4,3 \pm 2,8$ Jahre. Eine CSII fand sich bei 24 Kindern. Im Wissenstest kam es im prä-post-Vergleich zu einer signifikanten Zunahme richtiger Antworten und zu einer Abnahme falscher Antworten ($p < 0.0001$). Dieser Effekt war besonders ausgeprägt in den Bereichen „Hypoglykämie und Vorbeugung“ ($p < 0.0001$) und „Hyperglykämie und Azeton“ ($p < 0.0001$).

Schlussfolgerung: Die Teilnahme an erlebnispädagogischen Freizeiten kann zu einer Zunahme des Wissens über die Diabetesbehandlung führen. Damit nehmen diese Freizeiten eine wichtige Funktion in der Versorgungsstruktur von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus ein. Um ihre Wirksamkeit weiter zu dokumentieren, sollten regelmäßige Evaluationen erfolgen, ohne allerdings den eigentlichen Erlebnis- und Erholungswert der Freizeiten damit zu mindern.

Genetik Typ-2-Diabetes

V-55

The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with testosterone serum levels and insulin sensitivity in men

* Müssig K.⁽¹⁾, Schäfer S.⁽¹⁾, Machicao F.⁽¹⁾, Stefan N.⁽¹⁾, Häring H.-U.⁽¹⁾, Fritsche A.⁽¹⁾
⁽¹⁾ University Hospital of Tübingen, Department of Endocrinology, Metabolism and Pathobiochemistry, Tübingen

Aims: Hypogonadism in men is associated with characteristics of the metabolic syndrome, such as insulin resistance, visceral obesity, hyperinsulinemia, dyslipidemia, and type-2-diabetes. Testosterone treatment of overweight men with low testosterone levels improves insulin sensitivity. However, the underlying mechanisms are still not fully understood. The cytokine interleukin-6 (IL-6) is a potential mediator between sex steroids and glucose metabolism.

Methods: We therefore studied the association of the -174 G/C polymorphism in the IL-6 gene with serum testosterone levels and insulin sensitivity in 107 non-diabetic metabolically healthy men. Insulin sensitivity was calculated as proposed by Matsuda.

Results: We found that the -174 G/C polymorphism affected serum testosterone levels (CX: 556 ± 20 ng/dl vs. GG: 655 ± 27 ng/dl; $p = 0.03$). We also found a positive correlation between serum testosterone levels and insulin sensitivity ($R^2 = 0.38$; $p = 0.0001$). Subjects carrying the -174 C allele had lower insulin sensitivity compared to -174 G homozygotes (CX vs. GG: 21.4 ± 1.4 vs. 27.3 ± 1.9 arbitrary units; $p = 0.02$). Additionally, we found a significant negative correlation between serum testosterone and serum IL-6 levels ($R^2 = 0.09$; $p = 0.006$), which disappeared after adjusting for BMI. In a cohort of 73 women and 69 men the -174 G/C polymorphism tended to be associated with higher serum IL-6 levels (CX: 0.92 ± 0.12 ng/dl vs. GG: 0.70 ± 0.08 ng/dl; $p = 0.06$).

Conclusion: In conclusion, our results indicate that the -174 G/C variant is associated with lower testosterone levels and lower insulin sensitivity in men. This could be one of the mechanisms how this variant in the IL-6 gene may influence insulin sensitivity in men.

V-56

The Pro387Leu variant of Protein Tyrosine Phosphatase-1B (PTP-1B) is not associated with diabetes mellitus type 2 in a German population

Berthold I.⁽¹⁾, *Giannakidou E.⁽¹⁾, Müller-Wieland D.⁽²⁾, Faust M.⁽¹⁾, Kotzka J.⁽²⁾, Berthold H.⁽³⁾, Krone W.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Klinik II der Universität zu Köln, Köln, ⁽²⁾ Deutsches Diabetes Zentrum, Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf, ⁽³⁾ Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft, Berlin

Objectives: Diabetes mellitus type 2 (DM-2) is a complex disorder with a strong genetic background. Protein tyrosine phosphatase-1B (PTP-1B) dephosphorylates the β subunit of the insulin receptor, therefore represents a potential candidate gene to be involved in the polygenic pathogenesis of DM-2. Recently a Pro387Leu variant of the PTP-1B gene has been associated with an increased risk of DM-2 in a Danish population. Reports from China and Finland failed to confirm this association.

Design: Purpose of the present study was to examine for the first time the possible association between the presence of DM-2 and the Pro387Leu polymorphism in a German Caucasian population. A total of 836 subjects (age 20 to 92 yrs) participated in the study. The presence of the Pro387Leu variant of the PTP-1B gene was investigated using PCR restriction fragment-length polymorphism in 402 subjects with DM-2 (231 men, 171 women, age 63.1 ± 10.8 yrs, BMI 28.7 ± 5.1 kg/m²) and in 434 normoglycemic age- and sex-matched control subjects (248 men, 186 women, age 64.4 ± 6.5 yrs, BMI 26.5 ± 3.7 kg/m²).

Results: Nine subjects were found to be carrying the Pro387Leu polymorphism in the control and nine in the diabetic group (allelic frequency 0.99 % in both groups). A meta-analysis on published data of > 3000 subjects including our own did not find an association between the polymorphism and DM-2. The polymorphism had also no significant influence on the presence of atherosclerotic disease, while the influence of other known cardiovascular risk factors could be confirmed. Among the controls there were no significant differences in BMI, HDL and LDL cholesterol or blood pressure between the groups with or without the Pro387Leu polymorphism. The same was true for the diabetic group. Pro387Leu carriers had significantly higher triglycerides, both diabetics and controls.

Conclusions: The present data suggest that in a German Caucasian population the Pro387Leu polymorphism of the PTP-1B gene is not associated with DM-2 but may play a role in other metabolic phenotypes.

V-57

Reduced neuronal insulin response in the human cerebral cortex in carriers of Gly972Arg in IRS-1

*Tschritter O.⁽¹⁾, Preissl H.⁽²⁾, Klösel B.⁽²⁾, Thamer C.⁽¹⁾, Schäfer S.⁽¹⁾, Heller E.⁽¹⁾, Häring H.-U.⁽¹⁾, Birbaumer N.⁽²⁾, Fritsche A.⁽¹⁾
⁽¹⁾Medizinische Universitätsklinik, Abteilung für Endokrinologie, Stoffwechsel und Pathobiochemie, Tübingen, ⁽²⁾Eberhard-Karls-Universität, Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie, Tübingen

Introduction: Insulin receptors and IRS-1 are widely distributed in neurons and neuroendocrine cells. In humans, the common polymorphism Gly972Arg in IRS-1, which is associated with type-2 diabetes, does not reduce insulin sensitivity of skeletal muscle and liver but beta cell function. In a previous study using magnetoencephalography (MEG) we detected insulin effects in the human cerebral cortex, which were deteriorated in obese subjects. Insulin action in the human CNS may also be deteriorated by this polymorphism.

Material and Methods: In 11 carriers of the arginine allele (X/Arg) and in a well-matched group of 11 wild type controls (Gly/Gly) we analysed evoked and spontaneous cortical activity under basal conditions, during a 2-step hyperinsulinemic euglycemic clamp (I) and during saline infusion (S) by using a 151 channel MEG system. Evoked brain activity was recorded during an auditory mismatch setting.

Results: All parameters of evoked cortical activity were similarly influenced by insulin in X/Arg and in Gly/Gly. Beta waves of spontaneous cortical activity were stimulated by insulin (compared to saline) in Gly/Gly (delta basal -13.1 ± 5.9 , delta 2nd step 15.4 ± 7.5 , $p = 0.03$), but not in X/Arg (delta basal 1.3 ± 8.5 , delta 2nd step -11.2 ± 11.0 , $p = 0.06$). The difference of changes between both conditions (I vs. S) was still significantly lower in X/Arg after correction for BMI (Gly/Gly 28.6 ± 11.1 , X/Arg -12.5 ± 6.0 , $p = 0.0006$).

Conclusions: In summary, the Gly972Arg polymorphism in IRS-1 reduced the insulin effect on neuronal activity of the cortex in vivo. Therefore, additionally to reduced insulin secretion, insulin resistance of the brain may be an important pathogenic factor of type-2 diabetes by which this polymorphism elevates diabetes risk.

V-58

The -1645 C polymorphism in the promoter of the Kv1.3 (voltage-gated potassium channel) gene is associated with insulin resistance and low glucose tolerance.

*Machicao F.⁽¹⁾, Stefan N.⁽¹⁾, Tschritter O.⁽¹⁾, Häring H. U.⁽¹⁾, Fritsche A.⁽¹⁾
⁽¹⁾Universität Tübingen, Medizinische Klinik IV und Klinische Chemie, Tübingen, Germany

Aim/hypothesis Kv1.3 is expressed in lymphocytes, CNS, kidney, liver, skeletal muscle, testis etc. It participates in cellular processes such as apoptosis, cell volume regulation, and T cell stimulation. Protein kinase C increases and tyrosine kinase inhibits Kv1.3 channel activity. Kv1.3 is highly expressed in the olfactory bulb, and it appears to mediate a large fraction of the outward current detected in these neurons, which also express the insulin receptor (IR). In animal models, the KV1.3 channel has been found to be important in regulating glucose homeostasis and

body weight. Kv1.3 knock-out mice gain less weight and are less obese when fed a high-fat diet. Furthermore, they show increased peripheral insulin sensitivity. We, therefore, examined whether mutations in the KV1.3 gene exist and whether they are associated with alterations of glucose homeostasis.

Material and Methods: We screened the promoter and the coding region of the human KV1.3 gene for mutations by direct sequencing. Data from a total of 552 non-diabetic subjects who participated in the ongoing Tübingen Family Study for type-2 diabetes were analyzed. Of these, 307 had undergone a hyperinsulinemic euglycemic clamp.

Results: We identified 3 SNPs in the promoter region (-845 A/G, -1645 T/C and -2069 G/A, allelic frequency of the minor allele of 8, 41 and 16 %, respectively). The -1645 C allele was associated with higher post-prandial blood glucose concentrations measured in the 2 hr OGTT ($p = 0.03$) even after adjustment for sex, age and BMI ($p = 0.01$) In addition, it was associated with lower insulin sensitivity measured during the clamp ($p = 0.04$, adjusted for sex, age and BMI). In contrast, SNP -845 A/G and -2069 G/A was not associated with any of the metabolic parameters tested.

Conclusions: We have shown that a variant in the promoter of the KV1.3 gene predicts alterations in glucose tolerance and insulin sensitivity. Therefore, the KV1.3 channel may represent a candidate for type-2-diabetes.

V-59

Polymorphismen im Gen des intestinalen Fettsäure-bindungsprotein 2 (FABP2) – Assoziationsstudien und funktionelle Analysen

Klapper M.⁽¹⁾, Fisher E.⁽²⁾, Boeing H.⁽²⁾, Schrezenmeier J.⁽³⁾, *Döring F.⁽¹⁾
⁽¹⁾Uni Kiel, FG Molekulare Ernährung, Kiel, ⁽²⁾DIFE, Epidemiologie, Nuthetal, ⁽³⁾BFEL, Standort Kiel, PBE, Kiel

FABP2 wird vor allem im Duodenum, Jejunum und Ileum exprimiert und ist für die Bindung von resorbierten Fettsäuren verantwortlich. Weiterhin konnten wir in-vitro zeigen, dass FABP2 mRNA und FABP2 Protein in speziellen Intestinalzellen exprimiert wird. Im Exon 2 befindet sich ein SNP (A54T), der bei Frauen mit Adipositas und Typ-2-Diabetes assoziiert ist. Der Promotor des FABP2 weist stromaufwärts vom Translationsstart Polymorphismen in Position -19, -79, -108, -260, -471 und -778 SNPs auf, die im kompletten Linkage-Disequilibrium stehen. Kürzlich wurde von uns gezeigt, dass Träger des seltenen Promotor-Haplotyps ein ca. 2-fach erniedrigtes Risiko hinsichtlich der Ausprägung des Diabetes Typ 2 aufweisen. Auf der Grundlage dieser Befunde haben wir eine funktionelle Charakterisierung des Promotors durchgeführt. Hierzu wurde aus genomischer DNA von homozygoten Trägern Promotor-Fragmente von -836 bp bis -1bp des Haplotyps A bzw. B mittels PCR amplifiziert. Die PCR-Fragmente wurden in den pSEAP2-basic Vektor kloniert, um deren Promotoraktivität durch einen Reporterassay mittels der Sezernierten Alkalischen Phosphatase (SEAP) zu analysieren. Die resultierenden Konstrukte Haplotyp-A-SEAP und Haplotyp-B-SEAP wurden transient in intestinalen FABP2-exprimierenden Zellen (CaCo-2) transfiziert. Als interne Kontrolle wurde ein Luciferaseexpressionsvektor (pGL3) cotransfiziert. 5 Tage nach Transfektion erfolgte der

enzymatische Aktivitätsnachweis der ins Medium sezernierten Alkalischen Phosphatase bzw. nach Lyse der Zellen die Bestimmung der Luciferaseaktivität. In transient transfizierten Caco-2 Zellen weist der Haplotyp A des FABP2 Promotors eine Aktivität von $40.42\% \pm 7.3$ (Mittelwert \pm SEM, $n = 3$, $p = 0,0012$) des Haplotyp B auf. Als Negativkontrolle dienten Hela-Zellen, die kein FABP2 exprimieren. In diesen Zellen war keine Reporteraktivität messbar.

V-60

Assoziation eines Polymorphismus im FABP1 mit Metabolischem Syndrom

* Möhlig M.⁽¹⁾, Mähler A.⁽¹⁾, Osterhoff M.⁽¹⁾, Rochlitz H.⁽¹⁾, Weickert M. O.⁽¹⁾, Rudovich N. N.⁽¹⁾, Ristow M.⁽¹⁾, Spranger J.⁽¹⁾, Pfeiffer A. F. H.⁽¹⁾

⁽¹⁾ DIfE Potsdam- Rehbrücke und Charité-Universitätsmedizin Berlin, Abtlg Klinische Ernährung, Nuthetal und Berlin

Fragestellung: Weltweit ist eine Zunahme des Metabolischen Syndroms zu beobachten. Der Insulinresistenz, die teilweise durch Änderungen des hepatischen Fettsäurestoffwechsels bedingt ist, wird eine zentrale Bedeutung bei der Entstehung des Metabolischen Syndroms zugeschrieben. Das hepatische fettsäurebindende Protein (FABP1) ist beteiligt am hepatischen Lipidstoffwechsel und wir haben daher untersucht, ob ein Polymorphismus (A277G), der zu einem Aminosäureaustausch führt, mit dem Metabolischen Syndrom assoziiert ist.

Material und Methoden: Die Studienkohorte bestand aus 555 Probanden (Alter 18–86 J., BMI 16–50 kg/m²). Die Blutuntersuchung erfolgte bei allen Teilnehmern nüchtern und es wurde stets ein OGTT durchgeführt, wenn kein Diabetes bekannt war oder die Nüchtern-BZ-Werte nicht die Kriterien für Diabetes erfüllten. Bei allen Probanden wurde eine ausführliche Anthropometrie durchgeführt und der Blutdruck wurde in sitzender Position gemessen. Das Metabolische Syndrom wurde nach NCEP Kriterien diagnostiziert. DNA wurde aus Blut extrahiert und der Polymorphismus wurde mit der Primerelongationsmethode untersucht. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS; Signifikanzen wurden zweiseitig berechnet.

Ergebnisse: 130 Teilnehmer (56 Männer, 74 Frauen) hatten ein Metabolisches Syndrom, wobei die Geschlechtsverteilung nicht signifikant unterschiedlich war ($p = 0.15$). Unter den Probanden mit Metabolischem Syndrom fanden sich 51,5 % mit Genotyp AA und 48,5 % mit AG oder GG. Diese Verteilung war signifikant unterschiedlich ($p = 0,012$) von den Probanden ohne Metabolisches Syndrom (39,1 % AA, 60,9 % AG oder GG). Die logistische Regression zeigte auch nach Adjustierung für Geschlecht, Alter und Rauchen eine signifikante Protektion des G-Allels (0,62, 95 % KI: 0,42–0,93).

Schlussfolgerung: In der MeSy-BePo-Kohorte zeigte sich das G-Allel des FABP1 A277G Polymorphismus mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit des Vorliegens eines Metabolischen Syndroms assoziiert. Die prädiagnostische Bedeutung dieses Befundes sollte daher an weiteren prospektiven Studien untersucht werden.

V-61

Genetische Varianten im Calpain-10- und Interleukin-6-Gen sind mit dem Polyzystischen Ovarialsyndrom assoziiert

* Hahn S.⁽¹⁾, Vollmert C.⁽²⁾, Lamina C.⁽²⁾, Mann K.⁽¹⁾, Janssen O. E.⁽¹⁾, Illig T.⁽²⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinik Essen, Klinik für Endokrinologie, Essen, ⁽²⁾ GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Institut für Epidemiologie, Neuherberg

Fragestellung: Das Polyzystische Ovarialsyndrom (PCOS), die häufigste endokrine Erkrankung geschlechtsreifer Frauen, ist mit einer erhöhten Typ-2-Diabetes mellitus (T2DM)-Prävalenz assoziiert, so dass ein gemeinsamer genetischer Hintergrund vermutet wird. DNA-Varianten im Calpain-10-Gen (*CAPN10*) sowie im Interleukin-6-Gen (*IL6*) gehen mit einem erhöhten Risiko für T2DM einher, so dass diese als Kandidatengene des PCOS von Interesse sind.

Material und Methoden: Bei 146 PCOS-Patientinnen (mittleres Alter 27 Jahre, BMI 30,2 kg/m²) und 606 populationsbasierten Kontrollen der KORA-Studie (mittleres Alter 32 Jahre, BMI 24,7 kg/m²) erfolgte die Genotypisierung der DNA-Varianten UCSNPs: -44, -43, -56, -Ins/Del19, -58, -63, und -22 im *CAPN10* sowie der *IL6*-Promotor-SNPs: -598, -573, -174 mittels MALDI-TOF MS Technik (Mass Array System, Sequenom, San Diego). Die Genotypisierungsergebnisse aller SNPs folgten dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Die statistische Auswertung wurde für Alter und BMI korrigiert.

Ergebnisse: Eine Assoziation des *CAPN10* mit PCOS fand sich für SNP-56, wobei der Genotyp AA im Vergleich zu GG ein Odds Ratio (OR) von 2,91 (CI = 1,5–5,6) zeigte. Die mit dem SNP-56 zu 99 % korrelierte Ins/Del19-Variante wies eine um ein OR von 2,98 (CI = 1,55–5,73) erhöhte Assoziation der 22- vs. 33-Allel-Träger mit PCOS auf. Die Haplotypenanalyse ergab im *CAPN10*-Gen sechs Haplotypen mit einer Frequenz > 5 %, wobei nur der Haplotyp TGG3AGCA (Frequenz 21 %) signifikant mit PCOS assoziiert war ($p = 0,03$). Hinsichtlich der *IL6* SNPs fand sich eine signifikante Assoziation mit PCOS ($p = 0,0004$) bei -598_GA/-174_GC-Trägern im Vergleich zu -598_AA/-174_CC-Allel-Trägern.

Schlussfolgerung: Zusammenfassend zeigte sich sowohl für die *CAPN10* UCSNPs -56 und -19, als auch für die *IL6* SNPs -598 und -174 eine Genotyp-abhängige Assoziation mit PCOS.

V-62

SNP 44 in CAPN10 is associated with monophasic glucose tolerance shape and thus with the evolution of the disease

* Schwarz P.⁽¹⁾, Towers W.⁽²⁾, Fischer S.⁽¹⁾, Julius U.⁽¹⁾, Hanefeld M.⁽³⁾, Bornstein S.⁽¹⁾, Schulze J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ TU Dresden, Endokrinologie, Dresden, ⁽²⁾ Centre of Genome Research, Molecular Biology, Pretoria/South Africa, ⁽³⁾ Zentrum Klinische Studien, Dresden

Introduction: The Calpain 10 (*CAPN10*) variant SNP 44 was found to be associated with T2DM as well as with measures of oral glucose tolerance. The aim of this investigation was to determine the relationships between the genotypes of SNP 44 and parameters of glucose tolerance.

Material and Methods: 1557 probands with increased risk to the development of type-2-diabetes mellitus underwent a 75 g oral glucose tolerance test. 632 probands repeated the test after three years following the same protocol. We distinguished between “monophasic”, “biphasic”, and unclassified glucose shapes. Association analysis was performed for clinical parameters and glucose tolerance describing indices for the initial investigation and with regard to the change of glucose tolerance status during follow up.

Results: 1015 patients were diagnosed with normal glucose tolerance (NGT), 146 probands presented with an impaired fasting glucose (IFG), 235 showed impaired glucose tolerance (IGT) and 161 individuals had T2DM. Subjects newly diagnosed with type-2-diabetes and the genotype 1.1 presented with significant elevated insulin values at 30, 60 and 90 minutes ($p=0.04$, $p=0.01$, $p=0.04$). A biphasic glucose shape index was significantly associated with normal glucose tolerance ($p=0.008$) and the fact to remain in the glucose tolerance group ($p<0.0001$) during follow up. A significant association with the 1.1 genotype and shape index for the probands with NGT ($p=0.03$) was found. Adjusting the analysis for plasma glucose AUC revealed significant association of the 1.1 genotype with a monophasic shape in the stages of NGT, IGT/ IFG and overall analysis ($p=0.03$, $p=0.02$, $p=0.02$).

Discussion: We report further evidence that the CAPN10 1.1 genotype is associated with a monophasic shape of glucose tolerance. This effect constitutes a complex mechanism rather than a direct association with secretion of insulin or insulin resistance. As this genetic lesion occurs before the onset of the T2DM phenotype it may be involved in the pathogenesis of this disorder and thus may be important for diabetes prevention.

V-63

Die Übertragung des QTL *Nidd/SJL* auf den Inzuchtstamm C57BL/6 beweist das Vorliegen eines Diabetesgens in der SJL-Maus

* Scherneck S.⁽¹⁾, Kluge R.⁽¹⁾, Schmolz K.⁽¹⁾, Vogel H.⁽¹⁾, Schürmann A.⁽¹⁾, Joost H.-G.⁽¹⁾
⁽¹⁾Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, Abteilung Pharmakologie, Potsdam-Rehbrücke

Hintergrund: Die NZO-Maus entwickelt ein komplexes Krankheitsbild aus Adipositas, Hyperglykämie und Hyperinsulinämie, welches das metabolische Syndrom beim Menschen widerspiegelt. Um die genetischen Ursachen dieses Phänotyps näher zu untersuchen, wurde ein Rückkreuzungsmodell mit der normalgewichtigen SJL-Maus etabliert. Nach Durchführung einer Kopplungsanalyse wurde neben einer Vielzahl von QTL ein Suszeptibilitätslocus für Hyperglykämie und Hypoinsulinämie (*Nidd/SJL*) auf dem distalen Mauschromosom 4 identifiziert. Erstaunlicherweise stammt das diabetogene Allel aus dem SJL-Genom und ist für 60 % der gesamten Diabetesprävalenz verantwortlich.

Material und Methoden: Um den chromosomalen Bereich des QTL einzugrenzen, wurden rekombinant-kongene Mauslinien (RCS) gezüchtet. Der Locus wurde durch mehrfache Rückkreuzung auf den Stamm C57BL/6 übertragen, wodurch verschiedene Rekombinanten erhalten wurden. Da der diabetogene Effekt von *Nidd/SJL* nur auf einem adipösen Hintergrund wirksam ist, wurde eine Reporterkreuzung mit der NZO-Maus durchgeführt.

Ergebnisse: Nach einem Zeitraum von 22 Wochen entwickelten 70 % der Träger des homozygoten SJL-Allels eine Hyperglykämie, während die Träger des korrespondierenden NZO-Allels nur zu 36 % betroffen sind. Die Blutglukosewerte waren signifikant höher als in der Kontrollgruppe (369 ± 36 mg/dl vs. 233 ± 14 mg/dl, MW \pm SEM, $p < 0.002$). Weiterhin zeigten die Träger des SJL-Allels im Zeitverlauf einen dramatischen Gewichtsverlust, der durch die Manifestation des Diabetes mellitus begründet ist.

Schlussfolgerung: Wir konnten zeigen, dass durch die Übertragung des QTL *Nidd/SJL* auf den Stamm C57BL/6 nach anschließender Reporterkreuzung Diabetes ausgelöst wird. Dieses Ergebnis beweist, dass in diesem Locus im SJL-Stamm ein Diabetesgen vorliegt und die Strategie der positionellen Klonierung erfolgreich ist. Nach Einengung des kritischen Bereichs des QTL werden wir Gene in polymorphen Abschnitten sequenzieren und Expressionsprofile erstellen, um das für den Phänotyp verantwortliche Gen zu identifizieren.

Ernährung und Sport

V-64

Effekte von Ernährungs- und Bewegungstherapie auf die morphologischen und funktionellen Marker der vaskulären Dysfunktion bei adipösen Kindern

* Tafel J.⁽¹⁾, Lichtenstein S.⁽¹⁾, Grulich-Henn J.⁽²⁾, Morcos M.⁽¹⁾, Rudofsky jr. G.⁽¹⁾, Grafe I.⁽¹⁾, Hörster F.⁽¹⁾, Kaese V.⁽¹⁾, Hoffmann G.⁽²⁾, Nawroth P. P.⁽¹⁾, Hamann A.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, ⁽²⁾ Universitätsklinikum Heidelberg, Pädiatrie, Heidelberg

Fragestellung: Zahlreiche Studien zeigen einen Anstieg der Prävalenz von Adipositas im Kindesalter, die wiederum mit einem erhöhten Risiko für spätere arteriosklerotische Folgeerkrankungen verbunden ist. Die Messung der Fluss-assoziierten Vasodilatation (FAD) und der Intima-Media-Dicke (IMT) sind frühe funktionelle bzw. morphologische Marker für die vaskuläre Dysfunktion. Pathologische Veränderungen können bereits im Kindesalter auftreten, nicht adäquat belegt ist jedoch ein möglicher Nutzen einer frühzeitigen Adipositasstherapie auf die FAD und IMT. Diese Studie sollte daher den Effekt eines interdisziplinären ambulanten Adipositasstherapie-Programms für Kinder auf die Marker der vaskulären Dysfunktion (FAD und IMT) sowie biochemischen Risikofaktoren evaluieren.

Material und Methoden: 30 Kinder im Alter von 12–16 Jahren mit einem BMI > 97. Perzentile wurden in das 24-wöchige Interventionsprogramm in Gruppen mit max. 10 Teilnehmern eingeteilt. Das Programm beinhaltet Einheiten zum Ernährungs-, Verhaltens- und Bewegungstraining. Die Blutabnahmen und Messung der FAD und IMT erfolgten am Anfang bzw. nach Abschluß des Programms. Zur statistischen Berechnung wurde der Wilcoxon-Test angewendet.

Ergebnisse: Nach Abschluß des Programms kam es zu einer signifikanten Reduktion des BMI von initial 32,39 auf 30,97 kg/m² ($p = 0,013$) sowie des SDS-BMI von 2,45 auf 2,32 ($p = 0,0007$). Die FAD nahm signifikant von 5,94 % auf 7,06 % ($p = 0,011$) zu, die IMT von 0,457 auf 0,398 mm ($p = 0,000046$) ab. Des Weiteren kam es zu einem signifikanten Abfall von Nü-Ins. ($p = 0,0015$), Nü-BZ ($p = 0,0052$), HbA_{1c} ($p = 0,019$), Ges.-Chol. ($p = 0,0042$) und LDL ($p = 0,003$).

Schlussfolgerung: Die Studie konnte zeigen, dass bereits adipöse Kinder Zeichen einer vaskulären Dysfunktion aufweisen. Bei der Mehrzahl dieser Kinder kam es neben einer signifikanten Reduktion des BMI und SDS-BMI zu einer signifikanten Verbesserung der ITM und FAD sowie der vaskulären Risikofaktoren. Diese Daten deuten darauf hin, dass bei adipösen Kindern die Umstellung der Ernährungs- und Bewegungsgewohnheiten eine Verbesserung bereits vorhandener vaskulärer Schädigungen bewirkt.

V-65

Einfluss von Extrem-Ultramarathon auf Glykämiekontrolle und kardiovaskuläre autonome Funktionsparameter bei Typ-1-Diabetes im Vergleich zu stoffwechselgesunden Sportlern

* Finkernagel H.⁽¹⁾, Doppelmayr M.⁽²⁾, Beneke R.⁽³⁾, Leithäuser R.⁽³⁾, Herrmann M.⁽⁴⁾, Pumprla J.⁽⁵⁾, Howorka K.⁽⁵⁾, Thomas A.⁽⁶⁾
⁽¹⁾ Diabetol. Schwerpunktpraxis, Bad Berleburg, ⁽²⁾ Paris-Lodron-Universität Salzburg, Salzburg, ⁽³⁾ University of Essex, Department of Biological Sciences, Colchester, UK, ⁽⁴⁾ Medtronic-MiniMed, Düsseldorf, ⁽⁵⁾ Medizinische Universität Wien, Zentrum f. Biomedizinische Technik und Physik, Wien, ⁽⁶⁾ DIA REAL GmbH, Dresden

Fragestellung: Bisher liegen keine Erfahrungen vor, wie sich Glykämie und Herzratenvariabilität (HRV) bei diabetischen Extremsportlern im Vergleich zu stoffwechselgesunden Läufern während eines extrem langen Ultralaufes (Distanz: 216 km, max. Höhenunterschiede: 2500 m, Temperaturen: > 55 °C) verhalten. Zwölf Ultramarathonläufer ohne und mit Typ-1-Diabetes wurden daher diesbezüglich untersucht.

Methodik: Der Glukoseverlauf wurde kontinuierlich (72 h) mit CGMS gemessen. Aussagen zur sympathovagalen Balance wurden durch Kurzzeit-Spektralanalyse der Herzratenvariabilität (HRV) mit dem Monitor TF5 vor, während und nach dem Lauf periodisch gewonnen. Mittels Urindiagnostik erfolgte die Bestimmung von Keton- und Albuminexkretion. Psychometrische Tests erfolgten im Abstand von 21 km. Nach jeweils 41,195 km wurde venöses Blut abgenommen zur Bestimmung metabolischer Parameter und zellulärer Integrität.

Ergebnisse: Durch die verstärkte Muskelaktivität kommt es während des Laufes zu erhöhtem Glukoseverbrauch offensichtlich durch gesteigerte Insulinsensitivität. Im Gegensatz zur konstanten Glykämie bei gesunden Läufern sind Blutzuckerschwankungen selbst beim lauferfahrenen Typ-1-Diabetiker auffallend. Die sympathovagale Balance war vor dem Lauf deutlich verschoben in Richtung Sympathikusaktivität. Während der Extrembelastung blieb sie weiterhin erhöht, mit Zeichen einer deutlich supprimierten Herzratenvariabilität. Nach dem Lauf war die zunehmende Parasympathikotonie auffallend. Dieser HRV-Verlauf trat konsistent bei Diabetes ähnlich jenem der Gesunden auf, was auf die mögliche volle physiologische Adaptation an Extrembelastung auch bei Diabetes hindeutet.

Schlussfolgerungen: Ultramarathonlauf führt bei Trainierten trotz instabiler Glykämiekontrolle bei Typ-1-Diabetes zur ähnlichen autonomen sympathovagalen Adaptation an Extrembedingungen wie bei stoffwechselgesunden Sportlern.

V-66

Adiponectin oligomers and physical activity: relation to lipid metabolism and insulin sensitivity

* Bobbert T.⁽¹⁾, Wegewitz U.⁽²⁾, Brechtel L.⁽³⁾, Freudenberg M.⁽²⁾, Mai K.⁽¹⁾, Möhlig M.⁽¹⁾, Diederich S.⁽⁴⁾, Rochlitz H.⁽¹⁾, Pfeiffer A.⁽¹⁾, Spranger J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Charité-University medicine Berlin, Campus Benjamin Franklin and German Institute of Human Nutrition, Dept. of Endocrinology, Diabetes and Nutrition, Berlin, ⁽²⁾ German Institute of Human Nutrition, Dept. of Clinical Nutrition, Potsdam, ⁽³⁾ Humboldt University Berlin, Dept. of Sports Medicine, Berlin, ⁽⁴⁾ Endokrinologium Berlin, Endokrinologie, Berlin

Introduction: Physical activity is known to protect against cardiovascular disease and diabetes. Beneficial effects of physical exercise are partially mediated by increased insulin sensitivity, which in turn may be affected by a modulated release of adipocytokines, such as adiponectin. Total adiponectin levels were not associated with physical activity in various studies. However adiponectin circulates in three different oligomers, which also have distinct biological function. The role of these oligomers in physical activity has not been determined yet.

Material and Methods: 8 healthy men participated in an acute exercise intervention, 38 healthy individuals participated in a cross-sectional analysis on the effect of chronic exercise intervention. After an overnight fast, blood samples were taken after 20 minutes rest. After 45 minutes cycling at 50 Watt, intensity was increased for 25 Watt all 3 minutes until physical exhaustion. Additionally 8 healthy women and 11 healthy men volunteered to investigate the effect of chronic exercise. These individuals were all highly trained and were compared to a BMI-, age and sex-matched control group with moderate or low physical activity. Blood samples were taken of the highly trained individuals at 3 different time points with different training intensities. Adiponectin was determined by ELISA, oligomers were detected by non-reducing, non-heat denaturing Western blot.

Results: Insulin sensitivity and HDL acutely improved in the treadmill test ($p < 0,001$; $p = 0,03$). In contrast, total adiponectin and oligomers were unchanged by acute exercise. LDL was lower in the chronic exercise group ($p = 0,03$). Although we found higher insulin sensitivity, higher HDL levels and lower total cholesterol levels in the chronic exercise group, these differences were not significant. Total adiponectin levels and oligomers were not different between these two groups and were also unaltered by different training intensities. However, total adiponectin and HMW oligomers correlated quite close with HDL-cholesterol ($r = 0,459$; $p = 0,009$).

Conclusions: We conclude that physical activity does not directly affect adiponectin. However, our data suggest that HMW adiponectin may affect circulating HDL.

V-67

Einfluß des Trainingszustandes auf den Blutzucker Verlauf bei körperlicher Aktivität

* Sunke M.⁽¹⁾, Hermanns N.⁽²⁾, Tornuß B.⁽²⁾, Haak T.⁽²⁾

⁽¹⁾ Johann Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt, ⁽²⁾ Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Mergentheim (FIDAM), Mergentheim

Fragestellung: Insulindosisanpassungen bei körperlicher Aktivität berücksichtigen bisher primär die Intensität der Belastung. Der Einfluß des Trainingszustandes auf den Blutzuckerlauf

hat bisher wenig Aufmerksamkeit erfahren. Ziel dieser randomisierten, cross-over-Studie war die Überprüfung der Auswirkungen einer unterschiedlichen körperlichen Leistungsfähigkeit auf den Blutzucker bei verschiedenen Belastungsstufen.

Material und Methoden: An dieser Studie nahmen 20 männliche Typ-1-Diabetiker teil (HbA_{1c} $8,4 \pm 2,6\%$; Alter $33,3 \pm 9,5$ J.; $0,55 \pm 0,1$ IE/kg). Entsprechend der Leistung bei Erreichen der anaeroben Schwelle (Laktat > 4 mmol/l) wurde die Leistungsfähigkeit der Probanden klassifiziert (hoch vs. niedrig). An zwei Tagen wurden die Probanden 40 Minuten lang in randomisierter Reihenfolge mit einer niedrigen (30 % der VO_2 -max) und einer mäßigen (50 % der VO_2 -max) körperlichen Anstrengung belastet. Die Insulintherapie war an beiden Untersuchungstagen identisch. Unabhängige Variablen waren die Belastungsintensität (niedrig vs. mäßig) und die körperliche Leistungsfähigkeit (hoch vs. niedrig), die abhängige Variable der Blutzuckerabfall während der Belastung.

Ergebnisse: Erwartungsgemäß führte eine höhere Belastung zu einem signifikant stärkeren Blutzuckerabfall (niedrig $\Delta 28,1 \pm 46,3$ mg/dl; mäßig $\Delta 70,4 \pm 46,3$ mg/dl; $p = 0,018$). In beiden Belastungsbedingungen war der Blutzuckerabfall bei körperlich leistungsfähigeren Probanden signifikant stärker ($D 61,2 \pm 36,7$ mg/dl) als bei den weniger leistungsfähigen ($D 37,3 \pm 36,7$ mg/dl; $p = 0,049$). Es gab keine signifikante Interaktion zwischen Belastungsintensität und körperlicher Leistungsfähigkeit ($p = 0,697$).

Schlussfolgerung: Bemerkenswert ist der stärkere Blutzuckerabfall bei körperlich leistungsfähigeren Probanden, welcher evtl. durch eine höhere Insulinsensitivität bei körperlich aktiven Personen erklärt werden kann. Das Ergebnis spricht dafür, nicht nur die erwartete Intensität und Dauer der körperlichen Anstrengung, sondern auch den individuellen Trainingszustand für die Insulindosisanpassung bei körperlicher Bewegung zu berücksichtigen.

V-68

Einfluss von regelmäßigem Sport auf kardiovaskuläre Risikofaktoren bei Kindern mit Diabetes mellitus Typ 1: Eine multizentrische Auswertung von 18 392 Patienten aus 179 Zentren

* Herbst A.⁽¹⁾, Kordonouri O.⁽²⁾, Schmidt F.⁽³⁾, Schwab K. O.⁽⁴⁾, Holl R. W.⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Uni-Kinderklinik, Bonn, ⁽²⁾ Charité, Berlin, ⁽³⁾ Uni-Kinderklinik, Halle, ⁽⁴⁾ Uni-Kinderklinik, Freiburg, ⁽⁵⁾ Universität Ulm, ZIBMT für die DPV-Wiss-Initiative, Ulm

Fragestellung: Untersuchung des Einflusses regelmäßigen Sporttreibens auf kardiovaskuläre Risikofaktoren (Lipoproteine, BMI-SDS, Blutdruck, HbA_{1c}) an einer großen Zahl von pädiatrischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (T1DM).

Methode: Die DPV-Dokumentation erlaubt eine longitudinale Auswertung anonymisierter Verlaufsdaten an einem großen Kollektiv von pädiatrischen Patienten mit T1DM. Daten von Patienten, deren sportliche Aktivität über mindestens 12 Monate dokumentiert war, wurden untersucht.

Ergebnisse: Daten von insgesamt 18 392 pädiatrischen Patienten (9564 Jungen, 8828 Mädchen, Alter $0,2-19,9$ Jahre, Mittel $12,8$ Jahre, mittlere Diabetes-Dauer $4,8$ Jahre) aus 179 Zentren

konnten ausgewertet werden. Die Häufigkeit des regelmäßigen Sportes lag zwischen 0–9× pro Woche (Mittelwert 1,26×/Wo). 37,9 % der Patienten zeigten eine Dyslipidämie mit Erhöhung von Gesamtcholesterin (Chol), LDL oder Triglyceriden (TG) bzw. Erniedrigung von HDL. 9,8 % hatten erhöhte Blutdruckwerte. Mädchen wiesen höhere Werte für Chol, LDL und HDL auf als Jungen. Die multivariate Analyse ergab, dass häufigeres Sporttreiben mit höherem HDL, niedrigeren TG sowie niedrigeren diastolischen Blutdruckwerten assoziiert ist. Chol, LDL und TG korrelierten positiv mit BMI, Alter und HbA_{1c}. Die Häufigkeit schwerer Hypoglykämien war unabhängig von der Frequenz der sportlichen Aktivität. Bei Mädchen war häufigeres Sporttreiben mit niedrigerem BMI-SDS assoziiert. Bei Adoleszenten (> 10 Jahre) war der Anteil der Raucher niedriger in der Gruppe häufigerer sportlicher Aktivität. Häufiges Sporttreiben stellte einen der Haupteinflussfaktoren für niedrigen HbA_{1c} dar.

Schlussfolgerung: Regelmäßiges Sporttreiben beeinflusst auch bei pädiatrischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 die kardiovaskulären Risikofaktoren Lipoproteinwerte, Gewicht und Blutdruck günstig und ist assoziiert mit einer besseren Stoffwechseleinstellung. Ein Risiko für das Auftreten schwerer Hypoglykämien besteht auch bei häufigem Sporttreiben nicht.

V-69

Langzeiteffekt der strukturierten Behandlung und Schulung bei Kindern und Jugendlichen mit Übergewicht und Adipositas

* Radón S.⁽¹⁾, Mittelstedt C.⁽¹⁾, Kramer G.⁽¹⁾, Schiel R.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Inselklinik Heringsdorf, Haus Gothensee, Fachklinik für Diabetes und Stoffwechselerkrankungen, Seeheilbad Heringsdorf

Fragestellung: Übergewicht und Adipositas sind Hauptrisikofaktoren für Stoffwechsel- und kardiovaskuläre Erkrankungen. Bei Kindern und Jugendlichen nehmen sie drastisch zu. In unserer Klinik wird, orientiert an den Leitlinien, regelmäßig ein strukturiertes Behandlungs- und Schulungsprogramm (mit Elternschulung, SBSP) durchgeführt von Ärzten, Psychologen, Pädagogen, Ernährungsberatern und Sporttherapeuten. Ziel der Untersuchung war die Evaluation des SBSP.

Material und Methoden: 04–12/2004 nahmen 57 Kinder und Jugendliche (Alter 14,2 ± 2,4 J., BMI 30,3 ± 4,4 kg/m², 49 % Mädchen) am SBSP teil. Bewegungs-, Ernährungs- und Freizeitverhalten wurden standardisiert erfasst. Eine Nachuntersuchung findet 6 Mo. nach SBSP statt.

Ergebnisse: Während des SBSP (über 34,1 ± 6,9 Tage) sank der BMI auf 27,7 ± 4,0 kg/m² (p < 0,001). Bis 12/2004 wurden 29/35 Patienten (83 % der Zielgruppe), bei denen der Nachuntersuchungszeitraum von 6 Mo. vorbei war, nachuntersucht. Der BMI war weiter auf 26,2 ± 3,7 kg/m² abgesunken (p = 0,017). Initiale, aber auch weitere Gewichtsabnahme korrelierten mit der Dauer des SBSP (r = 0,41, p = 0,030). Multivariate Analyse (R² = 0,13): Die Kursdauer war mit der Gewichtsabnahme assoziiert (β = 0,41, p = 0,030). Von 11/29 Patienten (38 %) hatten Angehörige am Elternkurs teilgenommen. 18/29 Patienten (62 %) hatten ihr Bewegungs-, 23 (79 %) ihr Ernährungs-, 22 (76 %) ihr Freizeitverhalten zielgerichtet verändert. 10/29 Patienten wurden nach SBSP durch eine Adipositasambulanz kontinuierlich weiterbetreut. Diese Patienten unterschieden sich aber nicht

hinsichtlich Ausgangs-BMI (29,3 ± 3,9 vs. 29,8 ± 4,2 kg/m², p = 0,76) und BMI bei Nachuntersuchung (26,0 ± 3,4 vs. 26,4 ± 3,9 kg/m², p = 0,79).

Schlussfolgerung: Das SBSP bei Kindern und Jugendlichen mit Übergewicht und Adipositas ist äußerst effektiv. Patienten mit längerer Teilnahme am SBSP haben eine starke Gewichtsabnahme, auch 1/2 Jahr später. Wesentliche Faktoren für den Erfolg des SBSP sind die langfristige Änderung des Bewegungs-, Ernährungs- und Freizeitverhaltens durch ein multimodales Therapiekonzept.

V-70

Beratung in der Familie verbessert das Ernährungsverhalten

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

⁽¹⁾ Arteriosklerose-Präventions-Institut, München

Die Wirksamkeit eines geänderten Ernährungsverhaltens gilt als gesichert, die Machbarkeit nicht.

Fragestellung: Verbessert eine gezielte Beratung das Ernährungsverhalten in der Familie?

Material und Methoden: Im Schuljahr 2003/04 wurden im Präventionsprojekt PEP-Nürnberg nach Anleitung in der Familie 1479 Ernährungsprotokolle (7 Tage) geführt. Die Nahrungsmittel wurden mit Feinwaage bzw. Messbecher gemessen. Die Nährstoffanalyse erfolgte nach dem Deutschen Lebensmittelschlüssel bzw. aufgrund der Recherche von Einzelrezepturen. Kalorien- und Nährstoffzufuhr wurden in einem Ernährungsprotokoll (PRODI 4.6) dokumentiert und zusammen mit dem individuellen Gesundheitspass (anthropometrische und Labordaten) den Teilnehmern mit entsprechenden Erläuterungen und Ernährungsempfehlung zugesandt. Darüber hinaus half eine individuelle Familienberatung bei der kostengünstigen und zeitökonomischen Umsetzung. Flankierend wurden Basis- und Fortgeschrittenen-Kochkurse u. a. für Männer angeboten.

Ergebnisse: Im Vergleich zur 2. Bayerischen Verzehrsstudie [BVS II, 2004] (Ergebnisse in Klammern) fanden wir bei den 25–50-jährigen Männern Energieanteile für Fett 34 % (37 %), Eiweiß 15 % (15 %), Kohlenhydrate 45 % (41 %) und einen geringeren Kalorienverbrauch/Tag 2368 (2396) kcal. Bei den über 50-jährigen Männern: Fett 35 % (37 %), Eiweiß 15 % (15 %), Kohlenhydrate 45 % (41 %), Kalorienverbrauch 2147 (2175) kcal. Die über 25-jährigen Frauen hatten bei ebenfalls günstigerer Nahrungszusammensetzung einen höheren Kalorienverbrauch 1839 kcal (1718), während die 13–24-jährigen Frauen in allen Bereichen besser abschnitten als in der BVS II: Fett 32 % (34 %), Eiweiß 14 % (14 %), Kohlenhydrate 53 % (50 %), Kalorienzufuhr 1709 kcal (1759).

Für Mädchen und Buben (< 13 Jahre) ergaben sich identische Werte: Fett 34 %, Eiweiß 13 %, Kohlenhydrate 53 %. Ein Vergleich zur BVS II ist wegen fehlender Angaben nicht möglich.

Schlussfolgerung: Durch intensive Beratung in der Familie, sorgfältige Dokumentation und praktische Anleitung konnten wir im Vergleich zur BVS II bessere Ernährungsdaten erzielen.

V-71

Beeinflusst die Genauigkeit der Kenntnis einer Kohlenhydrateinheit (KE) die Güte der Therapie bei insulinbehandelten Patienten mit Diabetes mellitus? Befragung einer repräsentativen Auswahl von Patienten einer Hochschulambulanz

* Weimer D.⁽¹⁾, Kloos C.⁽²⁾, Müller U. A.⁽²⁾

⁽¹⁾ Friedrich-Schiller-Universität Jena, Institut für Ernährungswissenschaften, Jena,

⁽²⁾ Klinik für Innere Medizin III der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Endokrinologie und Stoffwechselkrankheiten, Jena

Fragestellung: Bei Pat. mit Diab. mell. wird vorausgesetzt, daß Insulin-Dosisanpassung das Abschätzen von Nahrungsmitteln nach Kohlenhydrateinheiten (KE) verlangt. Mit einer Patientenbefragung sollte untersucht werden, ob die gute Kenntnis der KE zu besserem HbA_{1c} führt und ob Pat. den Verzehr von Kohlenhydraten (KH) variieren.

Material und Methoden: Von März bis Mai 2004 wurden konsekutiv und unselektiert 55 Pat. mit Diab. mell.-Typ-1 (Alter 47,3 ± 14,0 J., Diab.dauer 17,7 ± 12,4 J., HbA_{1c} 8,03 ± 1,1 %) und 108 Pat. mit Diab. mell.-Typ-2 (konventionelle Therapie (CIT) = 53, Alter 68,1 ± 8,1, Diab.dauer 17,0 ± 10,1 J., HbA_{1c} 7,90 ± 1,1 %, intensive Therapie (MIT) = 55, Alter 59,6 ± 12,0 J., Diab.dauer 15,6 ± 8,3 J., HbA_{1c} 7,84 ± 1,1 %) einer Hochschulambulanz per Fragebogen im Interview mit Schulungsmaterialien nach der Kenntnis einer KE und ihres KE-Tagesprofils befragt und der aktuelle HbA_{1c} (NB: 5,24 + 0,33) bestimmt. Alle hatten an einem strukt. Progr. für Insulinther. teilgenommen.

Ergebnisse: 78 % der Pat. mit Diab. mell.-Typ-1 konnten eine KE abschätzen. Pat. mit guter Kenntnis hatten einen HbA_{1c} von 8,08 + 1,12 %, mit schlechter von 7,84 + 1,04 %. 69,8 % sagten, die tägl. KE-Verteilung nicht zu variieren, 24,5 % variierten die KH. 5,7 % sagten, kein KE-Tagesprofil zu haben. CIT-Pat. hatten zu 30,8 % eine gute KE-Kenntnis. Diese hatten einen HbA_{1c} von 8,13 + 1,21 %, mit schlechter Kenntnis von 7,79 + 0,99. 51,0 % hatten kein KE-Tagesprofil. 43,1 % gaben eine feste tägl. KE-Verteilung an, 5,9 % variierten diese. MIT-Pat. konnten zu 32,7 % gut KE abschätzen. Pat. mit guter KE-Abschätzung hatten einen HbA_{1c} von 7,77 + 0,83 %, mit schlechter von 7,87 + 1,28 %. 49,1 % gaben ein festes KE-Profil an, 41,8 % hatten keine feste KH-Verteilung, 9,1 % variierten die Menge an KH.

Schlussfolgerung: Pat. mit Diab. mell.-Typ-1 variierten zu ca. einem Viertel den tägl. Kohlenhydratverzehr. Pat. mit Diab. mell.-Typ-2, auch mit MIT, wichen kaum vom tägl. Kohlenhydratprofil ab. Gutes Abschätzen von KE führte nicht zu besserem HbA_{1c}. Welchen Stellenwert das Einschätzen von KE in Schulungen, auch bei intensiv. Formen hat, sollte überprüft werden.

V-72

Veränderung von Biomarkern des metabolischen Syndroms bei Gewichtsabnahme

* Rochlitz H.⁽¹⁾, Akpulat S.⁽¹⁾, Bobbert T.⁽¹⁾, Möhlig M.⁽¹⁾, Osterhoff M.⁽¹⁾, Weickert M.⁽¹⁾, Pfeiffer A.⁽¹⁾, Spranger J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam, Abtlg. Klinische Ernährung und Charité-Universitätsmedizin Berlin, Abtlg. Endokrinologie, Potsdam und Berlin

Fragestellung: Das Metabolische Syndrom ist ein bekannter kardiovaskulärer Risikofaktor. Ziel dieser Studie war es, die Effekte von moderater Gewichtsabnahme auf Parameter des Metabolischen Syndroms, insbesondere der Insulinresistenz zu untersuchen und zu analysieren, welcher Parameter eine erfolgreiche Gewichtsabnahme vorhersagt.

Material und Methoden: Wir untersuchten 22 Übergewichtige (19 Frauen, 3 Männer, mittleres Alter 52,4 J., mittlerer BMI 36,7), die an einen Gewichtsabnahmeprogramm über 12 Monate teilnahmen. Die Intervention bestand aus einer Mischkostdiät (50 % KH, 30 % Fett, 20 % Protein) und körperlicher Aktivität wöchentlich über min. 60 min. Nach Anamnese erfolgte vor Beginn der Studie, nach 3 Monaten, nach 6 Monaten und nach 12 Monaten eine körperliche Untersuchung, Grundumsatzmessung (Gerät MVmax29, Firma Sensor Medics, USA), Bioimpedanzanalyse der Körperzusammensetzung, Blutgasanalyse und Bestimmung von Routinelaborwerten. Ferner wurde ein OGTT und ein euglykämisch-hyperinsulinämischer Clamp zu Beginn und nach 6 Monaten durchgeführt.

Ergebnisse: Es kam es zu einem Abfall des BMI (± SEM) von durchschnittlich 36,7 ± 1,3 auf 33,4 ± 1,2 nach 6 Monaten und 32,8 ± 1,3 nach 12 Monaten. Erwartungsgemäß kam es zu einer Reduktion der Fettmasse von 39,3 % auf 37,3 % bzw. 36,2 %. Die Muskelmasse stieg sogar leicht von 31,9 % auf 33,6 % bzw. 32,4 % an. Neben dem Bauchumfang senkte sich nur der Nüchternblutglukosespiegel durch die Gewichtsreduktion signifikant von 98,0 auf 91,2 bzw. 92,5 mg/dl ab. Alle übrigen Parameter des Metabolischen Syndroms (Lipide, Blutdruck; Insulinresistenz, Adiponectin) verbesserten sich tendenziell, aber nicht signifikant. In einer linearen Regression waren insbesondere BMI, M-Wert, Adiponectin, Alter und Geschlecht zu Beginn der Studie signifikante Einflussfaktoren auf den Erfolg der nachfolgenden Gewichtsabnahme.

Schlussfolgerung: Trotz erfolgreicher Gewichtsreduktion ändern sich die meisten Parameter des Metabolischen Syndroms über 1 Jahr nicht signifikant. Der Erfolg bei der Gewichtsabnahme läßt sich in bestimmten Grenzen durch einfache Parameter vorhersagen.

Genetik Typ-1-Diabetes

V-73

Promotorpolymorphismen des Insulins bei Typ-1-Diabetes und assoziierten Autoimmunendokrinopathien

* Lange B.⁽¹⁾, Ramos Lopez E.⁽¹⁾, Kahles H.⁽¹⁾, Herwig J.⁽²⁾, Boencke S.⁽¹⁾, Badenhoop K.⁽¹⁾

⁽¹⁾Klinikum der J. W. Goethe-Universität, Endokrinologie, Diabetes & Stoffwechsel, Frankfurt am Main, ⁽²⁾Klinikum der J. W. Goethe-Universität, Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Frankfurt am Main

Fragestellung: Bereits bekannt ist der Einfluss genetischer Polymorphismen in der Insulingenregion auf Typ-1-Diabetes (T1D). Bislang ungeklärt ist, inwieweit der Polymorphismus -2221 MspI (C/T) in der Promotorregion des Insulins in der deutschen Bevölkerung einen Einfluss auf T1D, Morbus Addison (Ad) und pluriglanduläre Autoimmunopathien (pAI) hat. Die von uns untersuchten pAI-Patienten haben neben T1D zusätzlich mindestens eine der Erkrankungen Ad, Hashimoto Thyreoiditis oder Morbus Basedow.

Material und Methoden: Mittels Real-Time PCR und Restriktionsenzymverdau wurden 360 an T1D erkrankte Patienten, 46 pAI-Patienten, 94 Ad-Patienten und 197 gesunde Kontrollen auf -2221 MspI (C/T) untersucht. Bei 197 T1D-Patienten wurden zudem beide Elternteile typisiert.

Ergebnisse: Wir fanden einen signifikanten Unterschied in der Verteilung des Genotyps bei T1D im Vergleich mit den Kontrollen ($p < 10^{-6}$). Der Genotyp CC fand sich bei 77,2 % der Patienten aber nur bei 42,6 % der Kontrollen. 5,6 % der Kontrollen und 1,1 % der Patienten wiesen den Genotyp TT auf.

Heterozygote Eltern in T1D-Familien transmittierten signifikant häufiger das C-Allel an ihre erkrankten Kinder ($p(\text{TDT}) = 1,5 \cdot 10^{-7}$).

An pAI erkrankte Patienten und Ad-Patienten unterschieden sich auch signifikant von den Kontrollen ($p = 6 \cdot 10^{-5}$). Der Genotyp CC fand sich bei 78,2 % der pAI-Erkrankten, der Genotyp TT kam nicht vor.

Unter den Ad-Patienten kam der Genotyp CC bei 67 % vor, der Genotyp CT bei 26,6 % im Gegensatz zu 51,8 % bei den Kontrollen ($p = 0,00022$). Ad-Patienten unterschieden sich aber auch signifikant von den T1D-Patienten ($p = 0,0036$).

Schlussfolgerung: In der deutschen Bevölkerung fanden wir eine signifikante Assoziation zwischen -2221 MspI (C/T) und T1D, M. Addison und pluriglandulären Autoimmunopathien. Daraus schließen wir, dass das C-Allel des Polymorphismus nicht nur für T1D einen Risikofaktor darstellt, sondern auch für pluriglanduläre Erkrankungen pathogenetisch bedeutsam ist. Addisonpatienten weisen diesen Risikofaktor ebenfalls auf, allerdings in einer geringeren Ausprägung als T1D-Patienten.

V-74

Insulin-VNTR modulate functional phenotypes of T-cell responses to proinsulin in HLA-DRB1*04 positive subjects with and without type-1-diabetes

* Durinovic-Bello I.⁽¹⁾, Jelinek E.⁽¹⁾, Karges W.⁽¹⁾, Boehm B. O.⁽¹⁾, Polychronakos C.⁽²⁾

⁽¹⁾University of Ulm, Department of Internal Medicine 1, Ulm, ⁽²⁾McGill University, Dept. of Pediatrics and Human Genetics, Montreal

Insulin (pro-insulin, P-Ins) is considered a central beta-cell autoantigen in young patients of Caucasian ancestry with the high risk HLA-DRB1*04, DQ8 haplotype (DR4-haplotype). Genetic predisposition to type-1-diabetes (T1D) is, apart from HLA genes also determined by complex interactions of a number of other genetic loci including the INS-VNTR (IDDM2) locus. INS-VNTR determines diabetes susceptibility by modulating levels of P-Ins expression in the thymus, higher levels of thymic P-Ins expression are associated with VNTR class III alleles which facilitate tolerance induction and protection from T1D, whereas class I alleles predispose to T1D.

The aim of this study was to determine whether INS-VNTR polymorphisms modulate functional phenotype of the T cell response to P-Ins in subjects with high risk DR4-haplotype, with (T1D patients and Ab+ subjects) or without (control subjects) beta-cell autoimmunity. All subjects were typed for INS-VNTR class I and class III alleles. Peripheral blood lymphocytes and CD4+ T cell subsets (CD45RA+, naïve and recently primed and CD45RA-, memory) were stimulated with immunodominant P-Ins73-90 epitope, and cytokine secretion (Th1:IFN γ , TNF α , IL-2, and Th2:IL-4, IL-5, IL-10) was determined. Our analysis reveal the predominance of CD4+ CD45RA+ IL-10hi cells in subjects with protective VNTR class III alleles, but not in subjects with VNTR class I alleles. CD4+ CD45RA+ IL-10hi T cell phenotype has been associated with regulatory function in subjects with T1D, and in experimental models of autoimmunity.

Our analysis shows, for the first time that transcriptional effects of VNTR genes in subjects with high risk DR4-haplotype affect the selection of P-Ins specific T lymphocytes in the periphery and influence predisposition to T1D.

V-75

Ein veränderter Anteil von peripheren CD3+ T-Lymphozyten diabetischer LEW.1AR1-iddm Ratten ist assoziiert mit einer Diabetessuszeptibilitätsregion auf RNO1

* Weiss H.⁽¹⁾, Arndt T.⁽¹⁾, Tiedge M.⁽²⁾, Lenzen S.⁽¹⁾, Hedrich H.-J.⁽³⁾, Jöms A.⁽⁴⁾, Wedekind D.⁽³⁾

⁽¹⁾Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, ⁽²⁾Universität Rostock, Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Rostock, ⁽³⁾Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Versuchstierkunde, Hannover, ⁽⁴⁾Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Anatomie, Hannover

Fragestellung: Die LEW.1AR1-iddm-Ratte ist ein Tiermodell des Typ-1-Diabetes-mellitus (T1DM), entstanden durch eine Spontanmutation im MHC-congenen LEW.1AR1 Inzuchtstamm. Mit

Hilfe einer Rückkreuzungspopulation konnten bereits drei Diabetessuszeptibilitätsregionen identifiziert werden. Durchflußzytometrische Messungen diabetischer LEW.1AR1-iddm und (BN x LEW.1AR1-iddm) x LEW.1AR1-iddm Ratten zeigten veränderte Anteile von CD3+ T-Lymphozyten (T-Zellen) im peripheren Blut, die zwischen 30 % bis 60 % variierten. Es war das Ziel dieser Studie, (a) genetische Loci zu identifizieren, die für den Phänotyp des veränderten T-Zellanteils verantwortlich sind, und (b) mögliche Übereinstimmungen zu identifizierten Diabetessuszeptibilitätsloci zu überprüfen.

Material und Methoden: Es wurden 100 Tiere einer (BN x LEW.1AR1-iddm) x LEW.1AR1-iddm Rückkreuzungspopulation mit 91 polymorphen Mikrosatellitenmarkern in einer Kopplungsanalyse untersucht.

Ergebnisse: 34 Tiere zeigten weniger als 40 % Anteil an T-Zellen, 27 Tiere zeigten mehr als 60 % T-Zellanteil. Keines der Tiere zeigte eine Lymphopenie. Der coisogene LEW.1AR1 Hintergrundstamm zeigt im Vergleich dazu einen konstanten CD3+ T-Zellanteil von ca. 65 %. Von den 100 untersuchten Tieren wurden 13 Tiere um den 60. Lebensstag diabetisch. Der T-Zellanteil der diabetischen Tiere lag unter 45 %. Die Mikrosatellitenanalyse zeigte eine Assoziation (LOD score = 11) zwischen dem Phänomen des veränderten Anteils an T-Zellen und dem Mikrosatellitenmarker D1Rat295, der am telomeren Ende von Chromosom 1 (RNO1q51) lokalisiert ist. Dieser Mikrosatellitenmarker konnte außerdem in dem zuvor identifizierten Iddm8 Locus kartiert werden.

Schlussfolgerung: Der veränderte Anteil an CD3+ T-Lymphozyten könnte ein zusätzlicher Indikator für den mutierten Genlocus darstellen, der für die Diabetesmanifestation bei den LEW.1AR1-iddm Ratten verantwortlich ist. Perspektivisch könnte das Wissen um die funktionelle Rolle des veränderten CD3+ T-Lymphozytenanteils dabei helfen, den Mechanismus der Autoimmunität auch im menschlichen T1DM zu verstehen.

V-76

HLA-DR-Muster bei pädiatrischen Patienten mit Typ-1-Diabetes: Beziehung zu klinischen Variablen.

Auswertung der DPV-Wiss-Studiengruppe

* Holl R.⁽¹⁾, Boehm B.⁽²⁾, Becker M.⁽³⁾, Geist S.⁽⁴⁾, Kapellen T.⁽⁵⁾, Krause U.⁽¹⁾, Marg W.⁽⁶⁾, Müller E.⁽⁷⁾, Schober E.⁽⁸⁾, Petrikowski M.⁽⁹⁾, Thon A.⁽¹⁰⁾

⁽¹⁾ Universität Ulm, ZIBMT, Ulm, ⁽²⁾ Universität Ulm, Innere Medizin I, Ulm, ⁽³⁾ Horst-Schmidt-Kliniken, Pädiatrie, Wiesbaden, ⁽⁴⁾ Westfal-Klinikum, Kinderklinik, Kaiserslautern, ⁽⁵⁾ Universität Leipzig, Kinderklinik, Leipzig, ⁽⁶⁾ Zentralkrankenhaus, Pädiatrie, Bremen, ⁽⁷⁾ Thüringen-Klinik, Pädiatrie, Saalfeld, ⁽⁸⁾ Universität Wien, Kinderklinik, Wien, ⁽⁹⁾ Helios Klinikum, Kinderklinik, Wuppertal, ⁽¹⁰⁾ Medizinische Hochschule, Pädiatrie, Hannover

Fragestellung: Das Risiko des Typ-1-Diabetes ist klar mit dem HLA-Lokus assoziiert. Ob unterschiedliche HLA-Merkmale auch mit klinischen Unterschieden im Diabetesverlauf assoziiert sind, ist weniger untersucht.

Material und Methoden: In der DPV-Wiss-Datenbank lagen bis September 2004 HLA-DR-Typisierungen von 1448 Patienten mit Typ-1-Diabetes vor (mittleres Manifestationsalter: 8.3 Jahre, 50.2 % männlich).

Ergebnisse: 7.5 % der Patienten waren homozygot für DR3, 13.7 % homozygot für DR4, 24.9 % DR3/DR4 heterozygot. DR3X fand sich bei 11.8 % und DR4X bei 28.8 % sowie DRXX bei 13.3 % der Patienten (X = nicht-HLA-DR3 oder DR4). Das Alter bei Diabetesbeginn unterschied sich signifikant: Patienten, die weder ein DR3 noch ein DR4-Allel aufwiesen, hatten das höchste Manifestationsalter (9.2 ± 0.3 Jahre), Patienten mit DR3/DR4 waren deutlich jünger (7.7 ± 0.2 Jahre; $p < 0.05$, Kruskal-Wallis). Weibliche Patienten waren signifikant häufiger homozygot für HLA-DR4 (17.3 versus 11.7 %, $p = 0.01$). Die Assoziation zwischen Typ-1-Diabetes und Zöliakie trat bei Patienten mit DR3X häufiger und bei Patienten mit DR4X seltener auf ($p < 0.05$). Bei 490 HLA-typisierten Patienten liegen Informationen über die metabolische Entgleisung bei Manifestation vor. Homozygote DR3-Patienten hatten bei Manifestation die höchsten HbA_{1c} -Werte (12.8 ± 0.7 %; $p < 0.002$). Dieser Unterschied bestand auch nach Korrektur für Alter, Geschlecht und Behandlungszentrum in einem multivariaten Modell ($p = 0.03$). Dagegen waren die HLA-DR-Gruppen nicht mit der Häufigkeit der Ketoazidose, dem initialen Blutzucker oder mit Gewicht/Größe der Patienten bei Manifestation assoziiert. Die Länge der Remissionsphase (Insulinbedarf = 0.5 E pro kg und Tag und $HbA_{1c} = 7$ %) unterschied sich nicht zwischen den HLA-DR-Typen, wenn für Erkrankungsalter, Geschlecht und Behandlungszentrum korrigiert wurde.

Schlussfolgerung: Das Alter bei Manifestation, das Geschlecht, die Begleiterkrankung Zöliakie sowie der initiale HbA_{1c} -Wert waren signifikant mit dem HLA-DR-Muster assoziiert. Die Dauer der Remissionsphase war dagegen nicht durch das HLA-DR-Muster beeinflusst.

V-77

Polymorphismen des Megalings als Risikofaktoren für Typ-1-Diabetes

* Kahles H.⁽¹⁾, Ramos Lopez E.⁽¹⁾, Britta L.⁽¹⁾, Boehncke S.⁽¹⁾, Badenhop K.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Klinikum der J. W. Goethe Universität, Endokrinologie, Diabetes & Stoffwechsel, Frankfurt am Main

Fragestellung: Ein Vitamin-D-Mangel in frühen Lebensjahren geht in epidemiologischen Studien mit einem höheren Risiko einher, im Laufe des Lebens eine autoimmune Erkrankung wie Typ-1-Diabetes (T1D) zu entwickeln.

Hierfür sind modulierende Effekte von $1,25(OH)_2$ -Vitamin D_3 auf Zellen des Immunsystems verantwortlich, die eine Reifung aktivierter T-Lymphozyten und Makrophagen zu Zellen mit größerer immunologischer Toleranz bewirken.

Eine wichtige Rolle im zellulären Vitamin-D-Stoffwechsel spielt Megalin - ein Mitglied der LDL-Rezeptorfamilie. Neben der endozytotischen Aufnahme von Vitamin-D-Metaboliten am proximalen Tubulus der Niere ist Megalin möglicherweise dort auch an der Aktivierung des Vitamin-D-Rezeptors beteiligt.

Untersucht wurde, inwieweit Polymorphismen (SNP) im Megalings für T1D prädisponieren.

Material und Methoden: Die genetische Typisierung von acht SNPs im Megalings erfolgte durch Restriktionsenzymverdau bei durchschnittlich je 231 kaukasischen T1D-Patienten und 207 gesunden Kontrollen.

Ergebnisse: Kontrollen (n=239) und Patienten (n=274) unterschieden sich signifikant in der Verteilung ihres Genotyps am exonischen Polymorphismus rs11 886 219 [A/G] ($p = 0,0084$). Das Allel A wurde signifikant häufiger bei den T1D-Patienten beobachtet (95 % vs. 90 %). Seltener wurde das Allel G bei den Patienten gefunden (5 % vs. 10 %). Der Genotyp AA wurde bei 90,5 % der T1D-Patienten beobachtet, bei den Kontrollen kam er nur zu 81,2 % vor. Die heterozygote Variante GA fand sich bei 9,1 % der Patienten und in 17,6 % des Kontrollkollektivs. Der Genotyp GG zeigte sich bei 0,4 % der Patienten und bei 1,3 % der gesunden Referenzgruppe.

Die übrigen SNPs zeigten keine weiteren signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Schlussfolgerung: Megalin ist möglicherweise eine weitere Komponente des Vitamin-D-Stoffwechsels, bei der genetische Polymorphismen für T1D prädisponieren, wobei das Allel A des exonischen SNP rs11 886 219 mit einem höheren Erkrankungsrisiko assoziiert ist. Umgekehrt geht vom Allel G ein protektiver Effekt aus.

V-78

CD8+ T Zellen im EAD: Schlüsselrolle in einem genetisch definierten Diabetesmodell

Spyrantis A.⁽¹⁾, Rajasalu T.⁽¹⁾, Barth C.⁽¹⁾, Pechhold K.⁽²⁾, Boehm B.⁽¹⁾, *Karges W.⁽¹⁾
⁽¹⁾Medizinische Universitätsklinik, Innere Medizin 1, Ulm, ⁽²⁾NIH, NIDDK, Bethesda

Der experimentelle Autoimmundiabetes (EAD) ist ein neues genetisch definiertes Tiermodell des humanen Typ-1-Diabetes (Karges et al., 51: 3237–44). Der EAD ist durch eine CD4+/CD8+ T-Zell-Infiltration der pankreatischen Inseln und eine Insulindefizienz charakterisiert, die nach DNA-Vakzination mit Präproinsulin (PPI) in B7.1 Tg Mäusen ausgelöst wird. Um die differentielle Rolle der PPI-Isoformen PPI 1 und PPI 2 zu analysieren, wurden Plasmidkonstrukte zur in-vivo-Genexpression hergestellt. Es zeigte sich, dass PPI 1 und PPI 2 als Autoantigen in der B7.1 Tg Maus identisch diabetogen sind. Zur Identifizierung relevanter T-Zell-Effektorpopulationen wurde ein adoptiver T-Zell-Transfer etabliert. Nach Transplantation von 1×10^7 unfractionierter Milzzellen oder $0,8 \times 10^6$ CD8+ T Zellen kam es bei syngeneten konditionierten (650 rad) Empfängertieren nach 12 Wochen in 85 % bzw. 100 % der Fälle zum Diabetes, nicht aber nach Transplantation von $1,4 \times 10^6$ CD4* T Zellen. Diese Daten sprechen für eine zentrale funktionelle Bedeutung von CD8+ T-Zellen im EAD. Die Analyse IFN γ - bzw. Interleukin-4-defizienter B7.1 Tg Mäuse, deren Generierung erfolgreich abgeschlossen ist, wird die kausale Rolle von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen klären. Insgesamt bestätigen und erweitern diese Untersuchungen das immunogenetische Zwei-Phasen-Konzept des EAD, das eine detaillierte Analyse und therapeutische Manipulation der T-Zell-Autoimmunkaskade im Typ-1-Diabetes ermöglicht.

Zytokine

V-79

Proinflammatorische Zytokine verhindern in der LEW.1AR1/Ztm-iddm Ratte nach Diabetesentwicklung die Neubildung von pankreatischen Beta-Zellen

* Jöns A.⁽¹⁾, Wedekind D.⁽²⁾, Hedrich H.-J.⁽²⁾, Lenzen S.⁽³⁾

⁽¹⁾MHH, Zentrum Anatomie, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, ⁽²⁾MHH, Institut für Versuchstierkunde, Hannover, ⁽³⁾MHH, Institut für Klinische Biochemie, Hannover

In der vorliegenden Untersuchung wurde in der LEW.1AR1/Ztm-iddm Ratte, einem T1DM-Tiermodell, vergleichend zu der akuten in der chronischen Verlaufsform mit und ohne Insulinsubstitutionstherapie die Existenz von pankreatischen Beta-Zellen und die Expression von proinflammatorischen Zytokinen im Pankreasparenchym, in den drainierenden Lymphknoten und in der Milz dargestellt.

Dazu wurden die aufgeführten Organe, Pankreata mit drainierenden Lymphknoten und Milzen, eine Woche oder 6 Monate nach Diabetesmanifestation in der LEW.1AR1/Ztm-iddm Ratte immunhistochemisch auf Proteinbasis und mittels in situ RT-PCR auf mRNA-Basis auf die Existenz von Beta-Zellen und die Expression von IL-1beta und TNF-alpha in den Immunzellen analysiert.

In der akut diabetischen Phase waren in den infiltrierten Inseln neben wenigen Beta-Zellen proinflammatorische Zytokine, IL-1beta und TNF-alpha, in den Immunzellen zu finden. Eine Woche nach Diabetesmanifestation lagen Endstadiumsinseln ohne Beta-Zellen und ohne Zeichen einer Infiltration vor; trotzdem blieben vereinzelte Makrophagen mit einer TNF-alpha-Expression im Bindegewebe um die Gefäße erhalten. In dieser fulminanten Verlaufsform wurden auch nach 6-monatiger Insulinsubstitutionstherapie keine Beta-Zellen im Pankreas nachgebildet, da die Immunzellen in den drainierenden Lymphknoten und in der Milz weiterhin proinflammatorische Zytokine exprimierten. In der milderen, chronischen Verlaufsform mit Erhalt einiger Beta-Zellen blieben auch 6 Monate nach Diabetesmanifestation Beta-Zellen (2–3 % der Kontrollsituation) nur in den Inseln und nicht in der näheren Umgebung von Gangstrukturen mit leichter Infiltration vorhanden. Die vorhandenen Immunzellen exprimierten weiterhin die proinflammatorischen Zytokine, IL-1beta und TNF-alpha.

In diesem Tiermodell wird die apoptotische Schädigung besonders über proinflammatorische Zytokine vermittelt. Die Persistenz der proinflammatorischen Zytokine verhindert eine Neubildung der Beta-Zellen über Neogenese oder verstärkte Replikation innerhalb der Insel unter chronisch diabetischen Bedingungen.

V-80

Betazell-selektiver knock out der NFκB Untereinheit p65 schützt Inselzellen vor inflammatorischen Schäden und inhibiert den Streptozotocin-induzierten Diabetes der Maus

* Burkart V.⁽¹⁾, Klein B. S.⁽²⁾, Paxian S.⁽³⁾, Ichino N.⁽⁴⁾, Ohashi A.⁽⁴⁾, Schmid R.⁽⁵⁾

⁽¹⁾Deutsches Diabetes-Zentrum, Deutsche Diabetes-Klinik, Düsseldorf, ⁽²⁾Friedrich-Löffler-Institut, Institut für Immunologie, Tübingen, ⁽³⁾Deutsches Forschungszentrum für Biotechnologie, Abteilung für Experimentelle Immunologie, Braunschweig, ⁽⁴⁾Fujita Health University, School of Health Science, Toyoake, ⁽⁵⁾Technische Universität München, II. Medizinische Klinik und Poliklinik, München

Fragestellung: Die immun-vermittelte Zerstörung autologer Betazellen ist das entscheidende pathogenetische Ereignis bei der Entwicklung des Typ-1-Diabetes. Studien in Modellsystemen der Erkrankung lassen eine Rolle des nukleären Transkriptionsfaktors NFκB als zentralen Regulator des inflammatorischen Betazelltodes vermuten. Unsere Untersuchungen konzentrierten sich auf die Rolle des betazell-ständigen NFκB bei der inflammatorischen Inselzellzerstörung und der Entwicklung des Insulinmangeldiabetes.

Material und Methoden: Mit Hilfe einer Cre-lox targeting Strategie wurde eine Mäuselinie mit einer betazell-selektiven Inaktivierung der p65 Untereinheit von NFκB generiert (p65ko-Mäuse). In diesem Modell wurde der Einfluss von betazell-ständigem NFκB auf die Entwicklung des Streptozotocin (SZ)-induzierten Diabetes und auf die Empfindlichkeit von isolierten Inselzellen gegenüber betazell-schädigenden Mediatoren (SZ, inflammatorische Zytokine) untersucht.

Ergebnisse: Innerhalb von 15 Tagen nach SZ-Gabe entwickelten 14 von 16 Mäusen mit unveränderter NFκB Expression (p65wt) aber nur 6 von 18 p65ko-Tiere einen Diabetes (Blutzucker >300 mg/dl) ($p < 0,01$). Zudem lagen ab Tag 5 nach SZ-Verabreichung die mittleren Blutzuckerwerte der p65ko-Mäuse signifikant niedriger als die der p65wt-Mäuse ($p < 0,01$). Die Empfindlichkeit von isolierten Inselzellen gegenüber SZ-induzierter Schädigung war unabhängig vom Status der p65 Expression. Eine SZ-Exposition (1,5 mM) induzierte den Tod von $55 \pm 3\%$ der p65wt- und $58 \pm 7\%$ der p65ko-Zellen. P65-Defizienz schützte Inselzellen jedoch signifikant vor der Schädigung durch inflammatorische Zytokine. Eine Mischung von 5 U/ml TNF α , 0,5 U/ml IL-1 β und 1 U/ml IFN γ induzierte den Tod von $34 \pm 4\%$ der p65wt-Zellen, aber von nur $9 \pm 2\%$ der p65ko-Zellen ($p < 0,0001$).

Schlussfolgerung: Unsere Ergebnisse identifizieren NFκB der Betazelle selbst als zentralen Regulator des inflammatorischen Betazelltodes und bieten damit eine Grundlage zur Entwicklung von betazell-protektiven Strategien durch Beeinflussung der betazell-intrinsischen NFκB Aktivität.

V-81

Glukose induziert die SP1-vermittelte Neusynthese von NF-κBp65

* Seregin Y.⁽¹⁾, Voronko O.⁽¹⁾, Djuric Z.⁽¹⁾, Humpert P. M.⁽¹⁾, Rudofsky G.⁽¹⁾, Konrade I.⁽¹⁾, Morcos M.⁽¹⁾, Nawroth P. P.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universität Heidelberg, Medizinische Klinik I, Heidelberg

Fragestellung: Charakteristikum der durch Liganden/RAGE-Interaktion ausgelösten NF-κB-Aktivierung des Typ-1 Diabetikers ist die Neusynthese von NF-κBp65mRNA, durch die transkriptionell aktives NF-κB bereitgestellt wird, das die IκBα-abhängige negative Autoregulation von NF-κB neutralisiert. Die so perpetuierte NF-κB-Aktivierung bedingt eine dauerhafte Zellaktivierung, die möglicherweise entscheidend zur Entstehung diabetischer Spätschäden beiträgt. Unbekannt sind bisher jedoch die molekularen Mechanismen, die die Neusynthese von NF-κBp65 auslösen. Da der NF-κBp65-Promotor drei Bindungsstellen für den Transkriptionsfaktor SP-1 besitzt und SP-1 durch Hyperglykämie aktiviert wird, untersuchten wir, ob Glukose SP-1-Bindung an den NF-κBp65-Promotor und in Folge p65-Transkription und Expression induziert.

Material und Methoden: SP-1-Bindungsaktivität wurde in THP-1-Zellen im Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) untersucht. Zudem wurden der „full-length“ NF-κBp65-Promotor und definierte Deletionsmutanten vor ein Luziferase-Reporter gen kloniert, um nach transienter Transfektion von THP-1-Zellen und Endothelzellen die essentiellen Promoterelemente zu definieren. NF-κBp65-Transkription wurde mittels RT-PCR bestimmt.

Ergebnisse: Glukose führt zu einer Zeit- und Dosis-abhängigen Induktion von SP-1-Bindungsaktivität an der distalen und proximalen SP-1-Bindungsstelle im NF-κBp65-Promotor. Diese Bindung ist funktionell aktiv, da Überexpression von SP-1 oder die Induktion mit 30 mM Glukose gleichermaßen die Induktion der NF-κBp65-Transkription zur Folge haben. SP-1-antisense inhibiert die Glukose-induzierte Neusynthese von NF-κBp65. Transiente Transfektionen mit verschiedenen Promotor-Konstrukten bestätigten, daß die Deletion der distalen und proximalen SP-1 Bindungsstellen einen Verlust der Induzierbarkeit zur Folge hat.

Schlussfolgerung: Glukose induziert die Bindung des Transkriptionsfaktors SP-1 an den NF-κBp65-Promotor und in Folge die Neusynthese von NF-κBp65.

V-82

Die Hitzeschockprotein-60-(HSP60)-vermittelte Aktivierung von Signalproteinen in Makrophagen der prädiabetischen NOD-Maus führt zur Bildung von betazellschädigenden Entzündungsmediatoren

Kempe K.⁽¹⁾, Brüggemann J.⁽¹⁾, * Habich C.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Deutsche Diabetes-Klinik, Düsseldorf

Fragestellung: In der NOD-Maus ist in der prädiabetischen Phase eine aberrante Expression von HSP60 in den Betazellen zu beobachten. Unsere Befunde belegen eine HSP60-vermittelte Aktivierung von Makrophagen zur Bildung von betazellschädigenden Entzündungsmediatoren. Ziel unserer Studie war die Charakterisierung der an der Induktion dieser inflammatorischen Mediatoren beteiligten Signalwege. Daher untersuchten wir die

HSP60-stimulierte Aktivierung spezifischer Signalproteine und ihre Beteiligung an der Bildung von Entzündungsmediatoren in Makrophagen aus NOD-Mäusen in verschiedenen Stadien der Diabetes-Pathogenese.

Material und Methoden: Die HSP60-vermittelte Aktivierung spezifischer Signalproteine (MAP-Kinasen, NFκB), sowie deren Beteiligung an der Bildung von Entzündungsmediatoren (TNFα, IL-6) in Knochenmarksmakrophagen (KMM) aus 50 und 70 Tage alten prädiabetischen NOD-Mäusen, sowie aus frisch manifestierten diabetischen NOD-Mäusen wurden im Westernblot und ELISA untersucht.

Ergebnisse: In NOD-Mäusen aus allen untersuchten Pathogenesestadien ließ sich eine HSP60-stimulierte Aktivierung der MAP-Kinasen p42/p44, JNK46/JNK54 und p38 und von NFκB nachweisen. Die maximale Aktivierung von p42/p44, p38 und NFκB wurde in KMM aus diabetischen NOD-Mäusen nachgewiesen (1,9–18,9-fache Aktivierung im Vergleich zur 50 Tage alten NOD-Maus), während JNK46/JNK54 das Aktivierungsmaximum (12,1-fache/10,2-fache Aktivierung im Vergleich zur 50 Tage alten NOD-Maus) in KMM der 70 Tage alten, prädiabetischen NOD-Maus erreichte. Die TNFα-Bildung wurde in NOD Mäusen aller Pathogenesestadien zu > 80 % durch den NFκB-Inhibitor SN50 (10 µg/ml) gehemmt, während die IL-6 Bildung zu > 85 % durch diesen Hemmstoff (30 µg/ml) inhibiert wurde. Durch den Einsatz des JNK-Hemmstoffes SP600125 wurde die Bildung keiner der untersuchten Entzündungsmediatoren gehemmt.

Schlussfolgerung: Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass bereits in der prädiabetischen Phase in Makrophagen der NOD Maus Signalproteine durch HSP60 aktiviert werden, die zur Freisetzung von betazellschädigenden Entzündungsmediatoren beitragen.

V-83

Serum cytokine detection to predict islet graft rejection in type-1-diabetes mellitus

* Schloot N. C.⁽¹⁾, Hogenkamp V.⁽¹⁾, Burkart V.⁽¹⁾, Bretzel R. G.⁽²⁾, Eckhard M.⁽²⁾, Brendel M. D.⁽²⁾, Jaeger C.⁽²⁾

⁽¹⁾ German Diabetes Clinic, University of Duesseldorf, German Diabetes Center, Duesseldorf, ⁽²⁾ University of Giessen, Third Medical Department and Policlinic, Giessen

Introduction: Type 1 diabetes mellitus is a chronic immune-mediated disease, during which the insulin-secreting β-cells are selectively destroyed. Cytokines secreted by immune cells serve as important immune mediators and have been shown to be associated with diabetes development and insulinitis. We investigated, whether peripheral cytokines and chemokines can be used for prediction of islet transplant function or rejection.

Material and Methods: We investigated 33 patients with long standing diabetes mellitus type 1 (age 27–53 years) who were transplanted simultaneously with islets and kidney (SIK), and 19 patients with longstanding diabetes mellitus type 1 (age 32–64 years) who received an islet graft after previous kidney graft (IAK). Patients in the IAK group were pretreated with cyclosporine A, azathioprine and steroids. Serum was analysed before islet transplantation for cytokines (IFNγ, IL-10, IL-13, IL-6,

IL-8, MIF) and chemokines (IP10, IL-18, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1) by ELISA. Data were analyzed by life table analysis. All recipients had no residual beta cell function prior to ITX. Patients were followed for up to 55 months after islet transplantation and monitored for islet graft function (C-peptide) in regular intervals.

Results: In the IAK group, increased levels of IL-6 were associated with maintained islet graft function ($p = 0.034$). In the SIK group, high MIP-1 a was associated with prolonged graft function ($p = 0.018$). A Th1 prone phenotype was associated with improved islet graft function in the SIK group ($p = 0.015$) but not in the IAK group.

Conclusions: We identified certain innate immunity mediators associated with prolonged islet graft function (IAK-IL-6; SIK-MIP-1 a; SIK-Th1-prone). These cytokines/chemokines and defined patterns may be useful in future prediction of islet graft survival.

V-84

Die Blockade der inflammatorischen Reaktion mit Inosine verbessert signifikant das Xenograft-Überleben von transplantierten Ratten-Inseln in immunkompetenten diabetischen Mäusen

* Schneider S.⁽¹⁾, Klein H. H.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinik Bergmannsheil, Medizinische Klinik 1, Bochum

Fragestellung: Die Inflammation ist einer der Faktoren, der verantwortlich ist für die Abstoßung von xenogenen Inseln in

diabetischen Mäusen. Inosine ist ein sicheres, natürlich vorkommendes Purin, für das kürzlich immunmodulatorische und anti-inflammatorische Eigenschaften nachgewiesen werden konnten. In dieser Studie haben wir deshalb die neue anti-inflammatorische Substanz Inosine eingesetzt, um die Rolle der inflammatorischen Blockade, zum Schutz vor einer Abstoßung von Ratten-Inseln in Balb/c Mäusen, zu untersuchen.

Material und Methoden: Dazu wurden isolierte Ratteninseln unter die linke Nierenkapsel von streptozotocin diabetischen Balb/c Mäusen transplantiert. Die Inosine- ($200 \text{ mg Kg}^{-1} \text{d}^{-1}$) bzw. Placebo-Behandlung wurde am Tag der Transplantation begonnen. Zur Erfolgskontrolle der Transplantation wurden 3 mal pro Woche Blutzucker und Gewicht dokumentiert. Zusätzlich erfolgten histologische Analysen, um die Leukozyteninfiltration und die β -Zellmasse der Grafts zu bestimmen.

Ergebnisse: In der Placebo-therapierten Gruppe kam es innerhalb von 8 Tagen zu einem Transplantatversagen. Im Gegensatz dazu konnte durch die Inosineapplikation das Transplantat überleben in einigen Fällen auf bis zu 3 Wochen prolongiert werden. Korrespondierend zeigten die histologischen Analysen der Grafts eine signifikant reduzierte Leukozyteninfiltration sowie deutlich mehr vitale β -Zellen bei den mit Inosine behandelten Tieren im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

Schlussfolgerung: Aus den dargestellten Daten ergibt sich, daß Inosine eine sichere Option darstellt, um die xenogene Abstoßung von Inseln signifikant zu inhibieren. Inosine stellt deshalb eine zusätzliche Option dar, um in Zukunft das Outcome xenogener Inseltransplantationen zu verbessern.

Komplikationen

V-85

Deletion von Protein-kinase C(PKC) α in-vivo schützt gegen den Verlust von Nephrin bei experimenteller diabetischer Nephropathie

* Meier M.⁽¹⁾, Park J.-K.⁽¹⁾, Menne J.⁽¹⁾, Kirsch T.⁽¹⁾, Lindschau C.⁽¹⁾, Leitges M.⁽¹⁾, Haller H.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Nephrologie, Hannover

Wir konnten kürzlich zeigen, daß PKC α -defiziente, diabetische Knockout-Mäuse gegen die Entwicklung einer Albuminurie durch einen fehlenden Verlust der negativen Basalmembranläsungen geschützt sind. Wir identifizierten nun die PKC α -isoform ebenfalls als negativen Regulator von Nephrin, einem Schlüsselprotein der glomerulären Schlitzmembran.

Sieben Wochen alte 129/SV PKC α Knockout-Mäuse (KO) und 129/SV Wildtyp(WT)-Tiere wurden durch zweimalige Injektion von Streptozotocin(STZ) diabetisch gemacht. Die Blutzuckerspiegel lagen bei den STZ-behandelten WT- (n = 6; 25,9 \pm 3,4 mmol/l) und KO- (n = 7; 10,9 \pm 0,6 mmol/l) Tieren für insgesamt 8 Wochen im hyperglykämischen Bereich. Kochsalz-behandelte Kontrolltiere zeigten hingegen normale Blutzuckerspiegel (WT: n = 7; 12,2 \pm 0,9 mmol/l; KO: n = 7; 10,9 \pm 0,6 mmol/l). Die Albuminexkretion im Urin war in den diabetischen (24,8 \pm 8,9 g/mol Kreatinin) im Vergleich zu den WT-Kontrolltieren (7,4 \pm 0,5 g/mol Kreatinin) signifikant gesteigert (p < 0,05), während zwischen den Kontroll- und diabetischen KO-Mäusen kein Unterschied bestand (6,9 \pm 1,8 vs. 9,9 \pm 1,67 g/mol Kreatinin). Die Immunhistochemie zeigte eine signifikant reduzierte Expression von Nephrin in den diabetischen WT-Tieren, vor denen die diabetischen KO-Mäuse geschützt waren. Die quantitative Auswertung mittels Western blotting zeigte ein auf ein Drittel reduziertes Expressionsniveau in den diabetischen gegenüber den WT-Kontrolltieren. Der Nephrinanteil in den diabetischen KO-Tieren hingegen zeigte sich unverändert. Eine RT-PCR-Untersuchung des Gesamtnierengewebes stellte reduzierte mRNA-Expressionslevel in den diabetischen im Vergleich zu den Kontroll-WT-Tieren dar. Die Nephrin-mRNA-Expression war jedoch in den diabetischen KO-Mäusen ebenfalls erhalten. Zusammenfassend folgern wir, daß die Induktion von PKC α von entscheidender Bedeutung in der Entwicklung einer diabetischen Nephropathie ist.

V-86

Erhöhte vaskuläre Entzündungsmarker (Monocyte chemoattractant protein 1, Vascular cell adhesion molecule) bei Patienten mit pAVK und Diabetes mellitus; Effekte der Therapie mit Prostaglandin E1

* Amann B.⁽¹⁾, Schröter Y.⁽¹⁾, Würger A.⁽²⁾, Schmidt-Lucke J.-A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Franziskuskrankenhaus, Innere Abteilung, Berlin, ⁽²⁾ Univ.-Klinikum Lübeck, Urolog. Klinik, Lübeck

Fragestellung: Haupttodesursache bei Patienten mit D. m. sind Komplikationen der akzeleriert verlaufenden Arteriosklerose. Monozyten sind zirkulierende Vorläufer gewebsständiger Makrophagen, die als Schaumzellen für die Instabilität arteriosklerotischer Plaques verantwortlich sind. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) ist ein Schlüsselchemokin in der Entstehung der Arteriosklerose; es wird vom erkrankten Endothel synthetisiert, rekrutiert Monozyten in die Gefäßwand und trägt so zur Entstehung und Perpetuierung der Gefäßwandentzündung bei. Vascular cellular adhesion molecule (VCAM) ist ein Marker für die inflammatorische Gefäßreaktion. Prostaglandin E-1(PGE1) kann die entzündliche Reaktion der Gefäßwand durch Suppression der Chemokinsynthese (Schröter 2004, Matsui 2003) und/oder durch eine Verminderung der Chemokinrezeptorsensibilität beeinflussen.

Material und Methoden: Wir untersuchten deshalb bei 66 Pat. Serumspiegel von MCP-1 und VCAM vor, während und nach 14-tägiger Infusionstherapie mit PGE1. Davon 40 Pat. ohne D. m. (13 f, 27 m, mittl. Alter 70,1 \pm 10,1 J., pAVK Stad. II 27, III 6, IV 7 Pat.) und 26 Pat mit D. m. 2 (10 f, 16 m, Alter 68,8 \pm 9,2 J., Diabetesdauer 18 \pm 8,4 J, pAVK St. II 14, III 3, IV 9 Pat, HbA_{1c} 7,3 \pm 1,4 %). Kontrollen: 20 klinisch Gefäßgesunde (56,7 \pm 12,3 J). 50 \pm 16 μ g/die PGE1 wurden an 14 \pm 1.1 Tagen infundiert. MCP-1, VCAM1 und klinische Parameter (Gehstrecke, tcpO₂ etc.) wurden an Tag 1,7,14 bestimmt.

Ergebnisse: Gegenüber Gefäßgesunden ist zirkulierendes MCP-1 bei pAVK -Pat. mit und ohne D. m. auf das 2,5-3fache erhöht (Nicht-Diab. 560 \pm 225, D. m. 513 \pm 137, Gesunde 201 \pm 61 pg/ml), ebenso VCAM-1 (N. D. 848 \pm 248, Diab. 979 \pm 448, Ges. 480 \pm 119 pg/ml). Während und nach PGE1 verändern sich MCP-1 und VCAM nicht. MCP-1/VCAM-Werte korrelieren nicht mit klinischen Parametern der Extremitätenperfusion. Gehstreckenzunahme: D. m. +160 %, ohne D. m. 115 %.

Schlussfolgerung: Deutlich erhöhte Werte von MCP-1/VCAM sind Marker für die Schwere der Gefäßveränderung. PGE1 beeinflusst im Gegensatz zu in-vitro-Befunden nicht deren Expression in vivo.

V-87

RAGE und Angiogenese – eine unglückliche Verbindung?

* vom Hagen F.⁽¹⁾, Feng Y.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽²⁾, Schmidt A.-M.⁽³⁾, Nawroth P.⁽²⁾, Hammes H.-P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinikum Mannheim, 5. Medizinische Klinik, Mannheim, ⁽²⁾ Universitätsklinikum Heidelberg, 1. Medizinische Klinik, Heidelberg, ⁽³⁾ Columbia University, Department of Physiology, New York, NY, USA

Fragestellung: Tumormetastasierung und proliferative diabetische Retinopathie haben eine aktive Angiogenese als gemeinsamen Nenner. Während das AGE-RAGE-System bei früher diabetischer Gefäßschädigung am Auge eine wichtige Rolle spielt, ist die Beteiligung des RAGE-Systems bei Gefäßproliferation unklar. Wir untersuchten im Mausmodell der Hypoxie-induzierten proliferativen Retinopathie, ob RAGE Angiogenese moduliert.

Material und Methoden: Dazu verwendeten wir neugeborene Mäuse mit genetischer Deletion von RAGE (Constien et al., *Genesis* 2001) und exponierten sie vom postnatalen Tag 7 (p7) über 5 Tage (bis p12) in Sauerstoff (75 %) zusammen mit nicht-transgenen Kontrollmäusen des gleichen genetischen Hintergrundes. Anschließend wurden sie weitere 5 Tage bei Raumluft gehalten. Ein Teil der Wildtyp-Mäuse (WT) wurde mit sRAGE (10 µg/Tag i. p.), die WT-Kontrollen mit 10 µg nicht-immunem F(ab')₂ behandelt. An Tag p17 wurden die Augen der tief anästhesierten Tiere entnommen und die proliferative Retinopathie an histologischen Schnitten quantifiziert. Immunhistologisch wurde Amphoterin und ENRAGE in Retinae von Sauerstoff-exponierten und Kontrolltieren untersucht.

Ergebnisse: Amphoterin und ENRAGE als RAGE-Liganden waren in Retinae von Mäusen mit proliferativer Retinopathie nachweisbar. Im Vergleich zu Kontrollen zeigten weder RAGE-knockout-Tiere noch sRAGE-behandelte Tiere eine Veränderung der retinalen Proliferation (WT-Fab: 48,7 ± 3,03 neovaskuläre Kerne (NV)/Schnitt; WT-sRAGE 49,4 ± 3,55 NV/Schnitt, RAGE -/- 51,0 ± 2,31; p nicht signifikant).

Schlussfolgerung: RAGE spielt bei Hypoxie-induzierter proliferativer Retinopathie keine dominierende Rolle.

V-88

Funktionelle Polymorphismen von UCP2 und UCP3 sind mit verminderter Neuropathie bei Patienten mit Typ-1-Diabetes assoziiert

* Rudofsky G.⁽¹⁾, Schrödter A.⁽¹⁾, Schlotterer A.⁽¹⁾, Schlimme M.⁽¹⁾, Tafel J.⁽¹⁾, Morcos M.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Nawroth P.⁽¹⁾, Hamann A.⁽²⁾

⁽¹⁾ Innere Medizin I, Endokrinologie, Heidelberg, ⁽²⁾ Diabetes Klinik, Zentrum für Vaskuläre Medizin, Bad Nauheim

Fragestellung: Es gibt zunehmend Hinweise, dass die hyperglykämisch-induzierte neuronale Schädigung durch eine Hyperpolarisierung der Mitochondrienmembran und eine Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen bedingt ist. Eine Überexpression von mitochondrialer Entkoppelungsproteine (Uncoupling proteins, UCP) in vitro kann vor diesem Prozeß schützen. In dieser Studie wurde eine mögliche Assoziation funktioneller UCP-Polymorphismen mit diabetischen Spätschäden untersucht.

Material und Methoden: 227 Patienten mit Typ-1-Diabetes wurden auf folgende Single-Nukleotid-Polymorphismen untersucht:

A-3826G in UCP1, G-866A in UCP2 und C-55T in UCP3. Alle drei Polymorphismen wurden mit PCR und anschließendem Verdau mit den Restriktionsenzymen Bcl I, Mlu I und BsaJI nachgewiesen.

Ergebnisse: Eine Assoziation des A-3826G-Polymorphismus im UCP1-Gen mit diabetischen Folgeschäden wurde nicht beobachtet. Patienten, die hetero- oder homozygot für den G-866A-Polymorphismus im UCP2-Gen oder für den C-55T-Polymorphismus im UCP3-Gen sind, wiesen eine signifikant reduzierte Prävalenz diabetischer Nephropathie auf (UCP2: Odds Ratio 0.44, 95 %-Konfidenzintervall (CI) [0.24; 0.79]; p=0.007; UCP3: Odds Ratio 0.48, 95 %-CI [0.25; 0.92]; p=0.031). Der Einfluss auf die Nephropathie war noch stärker, wenn bei einem Patienten beide Mutationen für G-866A und C-55T im homo- oder heterozygoten Zustand gleichzeitig auftraten (UCP2 & UCP3: Odds Ratio 0.28, 95 %-CI [0.12; 0.65]; p=0.002). Ein durchgeführtes multiples logistisches Regressionsmodell wies einen vom Alter und von der Diabetesdauer unabhängigen Einfluss des kombinierten Polymorphismus nach (p=0.013). Ein Zusammenhang mit anderen diabetischen Spätschäden wurde nicht beobachtet.

Schlussfolgerung: Unsere Resultate zeigen, dass der G-866A-Polymorphismus im UCP2-Gen und der C-55T-Polymorphismus im UCP3-Gen mit einem reduzierten Risiko für diabetische Nephropathie bei Typ-1-Diabetikern assoziiert sind. Weiterhin unterstützen sie die These, dass eine erhöhte UCP-Expression vor einer Mitochondrien-vermittelten neuronalen Schädigung und schließlich vor Neuropathie schützt.

V-89

Retinale Überexpression von Angiopoietin-2 verstärkt die vaskuläre Schädigung in diabetischer Retinopathie

* Feng Y.⁽¹⁾, Franziska v. H.⁽¹⁾, Djokic S.⁽¹⁾, Lin J.⁽¹⁾, Hoffmann S.⁽²⁾, Wagner P.⁽³⁾, Deutsch U.⁽⁴⁾, Hammes H.-P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ V. Medizinische Klinik, Universität Heidelberg, Mannheim, ⁽²⁾ Zentrum für Medizinische Forschung, Universität Heidelberg, Mannheim, ⁽³⁾ Abteilung für Physiologische und klinische Forschung, Max-Planck-Institut, Bad Nauheim, ⁽⁴⁾ Theodor Kocher Institut, Universität Bern, Bern

Fragestellung: In vorangegangenen Experimenten am Mausmodell konnten wir die Hochregulation von Ang-2 vor dem Perizytenverlust, der die früheste morphologische Änderung des Gefäßnetzes der diabetischen Retinopathie darstellt, zeigen. Die Injektion von Ang-2 ins Auge verursacht Perizytenverlust in der adulten Retina. Ein Mangel an Ang-2 schützt vollständig vor diabetischem Perizytenverlust und reduziert die Bildung von azellulären Kapillaren. In dieser Studie untersuchten wir die Wirkung von retinal überexprimierten Ang-2 unter hyperglykämischer Bedingung in einer transgenen Mauslinie, in der humanes Ang-2 von dem murinen Opsin-Promoter kontrolliert wird.

Methoden: Diabetes wurde durch Injektion von STZ 140 mg/kg i. p. induziert. Die transgenen Tiere zeigten keinen Unterschied in Blutzucker-, HbA_{1c}-Werten und Körpergewicht im Vergleich zu Wildtypgeschwistern.

Ergebnisse: Ang-2, detektiert mittels Real-time PCR, war fast 20fach überexprimiert in der transgenen Retina im Vergleich zu den Wildtyp-Tieren. Ein signifikanter Anstieg des Perizytenverlustes (1777 ± 203 PC/mm² Kapillarfläche TG vs. 2127 ±

162 WT, $p < 0,001$) und der Bildung von azellulären Kapillaren ($22,6 \pm 1,52$ Segmente/mm² Retinafläche TG vs. $12 \pm 1,4$ WT, $p < 0,01$) wurde in den transgenen nicht-diabetischen Mäusen festgestellt. Stabile Hyperglykämie induzierte einen deutlichen Perizytenverlust (1200 ± 210 PC/mm² Kapillarfläche) und erhöhte Bildung von azellulären Kapillaren ($61,3 \pm 10,6$ Segmenten/mm² Retinafläche) in transgenen Mäusen ($p < 0,01$, vs. transgene nicht-diabetisch).

Schlußfolgerung: Unsere Daten deuten darauf hin, dass konstante Überexpression von Ang-2 nicht nur Perizytenverlust, sondern auch Bildung von azellulären Kapillaren in adulten Mäusen induziert. Da durch retinale Überexpression von Ang-2 frühe diabetische Retinaläsionen verstärkt werden, wird eine kritische Rolle von Ang-2 in der frühen diabetischen Retinopathie postuliert.

V-90

Nicht-invasive Darstellung kalzifizierter und nicht-kalzifizierter koronarer Plaques und Verlaufsuntersuchungen unter lipidsenkender Therapie mit der Mehrzeilen-Computer-Tomographie. Erste Ergebnisse der NEW-AGE-II-Studie

* Burgstahler C.⁽¹⁾, Beck T.⁽¹⁾, Küttner A.⁽²⁾, Heuschmid M.⁽²⁾, Claussen C. D.⁽²⁾, Kopp A. F.⁽²⁾, Schröder S.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Universitätsklinik, Kardiologie, Tübingen, ⁽²⁾ Radiologische Universitätsklinik, Diagnostische Radiologie, Tübingen

Hintergrund: Einen Risikofaktor für atherosklerotische Gefäßkrankungen stellt der Diabetes mellitus dar. Weltweit sterben jährlich ca. 17 Millionen Personen (Prs) an den Folgen einer koronaren Herzerkrankung [KHK], wobei ein Großteil der Prs zuvor keine Symptome hatte. Nicht-kalzifizierte Koronarläsionen sind hierbei von großer Bedeutung und lassen sich nicht-invasiv mit der Mehrzeilendetektor-Computertomographie [MDCT] darstellen. Ziel dieser Studie ist, die Detektion koronarer Läsionen bei asymptomatischen Männern mit erhöhtem Risiko für eine KHK und den Einfluss einer lipidsenkenden Therapie [LST] auf diese Läsionen in einer 1-Jahres-Verlaufsuntersuchung zu beurteilen.

Methoden: 39 Männer (61 ± 9 Jahre, 7/39 mit Diabetes mellitus Typ 2) mit einem PROCAM-Score > 3 . Perzentile ohne LST wurden bisher eingeschlossen. Nach Bestimmung der Kalziummasse wurde eine durch Kontrastmittel angehobene Darstellung der Koronarien durchgeführt (Sensation 16, Siemens). 14/39 Prs. wurden bisher im Jahresverlauf erneut untersucht (nach $13,7 \pm 2,9$ Monaten, LST bei 9/14, 5/14 mit DM).

Ergebnisse: Erste Untersuchung: Mittlere Calcium Score nach Agatston 286 ± 498 (alle 39 Prs.). Kalzifizierte Läsionen (KL) zeigten sich bei 29/39, Soft-Plaques (SP) bei 29/39 und ausschließlich SP ohne KL bei 5/39 Prs. Verlaufsuntersuchung: Der Agatston Score stieg auf 400 ± 648 vs. 353 ± 596 (1. Untersuchung, $p > 0,05$). KL waren unverändert bei allen Prs. nachweisbar, die bereits KL in der ersten Untersuchung zeigten. SP waren rückläufig in 5/10 (4/5 mit LST), unverändert in 2/10 (1/2 mit LST), und progredient in 3/10 Prs. (3/3 mit LST).

Schlussfolgerung: Die MDCT erlaubt die Darstellung koronarer Läsionen. Soft-Plaques konnten auch ohne Nachweis koronarer

Kalzifizierungen nachgewiesen werden. Deshalb ist das Fehlen von KL nicht gleichbedeutend mit dem Ausschluss einer KHK. Der Effekt einer LST kann mit der MDCT nachgewiesen werden, aber die Plaque-Last kann auch unter LST zunehmen. Durch die MDCT können solche Prs. identifiziert werden, die einer aggressiveren medikamentösen Therapie zugeführt werden sollten.

V-91

Die gefäßprotektive Wirkung von Acarbose ist eine Folge der Reduktion des Hyperglykämie-induzierten oxidativen Streß

* Rösen P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Inst. für Klinische Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf

Neuere Untersuchungen (STOP-NIDDM) belegen, daß Acarbose (A) nicht nur die Entwicklung des Typ-2-Diabetes, sondern auch von vaskulären Komplikationen, wie sie mit dem metabolischen Syndrom assoziiert sind, verhindert. Die pathophysiologische Basis dieser vaskuloprotektiven Wirkung ist bisher jedoch nicht klar.

Hypothese: Durch Reduktion der postprandialen Hyperglykämie vermindert Acarbose die Generation von reaktiven, gefäßschädigenden Sauerstoffspezies (ROS).

Methoden: Eine akute Hyperglykämie wurde in Wistar-Ratten durch die Injektion von Streptozotocin (SZ, 60 mg/kg KG, 3 Tage) und in adipösen Zuckerratten (Z) durch Gabe von Stärke (4g/kg KG) erreicht. Als Parameter für die Entstehung von ROS wurden im Plasma Malondialdehyd (MDA, Thiobarbitursäure) und 8-Isoprostane (8-Iso, ELISA) bestimmt. Parallel wurden in isolierten Aortenstreifen die Aktivität der NADPH-Oxidase (Lucigenin-Assay) und der Aconitase sowie das Nitrotyrosin (ELISA) erfaßt. Ein Teil der Tiere wurde mit Acarbose (10 mg/kg KG) behandelt.

Ergebnisse: Sowohl die Gabe von SZ als auch die Belastung mit Stärke verursachte eine deutliche Hyperglykämie (521 ± 49 mg/dL in SZ, 244 ± 4 mg/dL in Z) sowie einen Anstieg von MDA (SZ 326 %, Z 208 %) und 8-Iso (SZ 196 %). A-Behandlung reduzierte nicht nur den Blutzucker (SZ -28,8 %, Z -17,6 % $P < 0,05$), sondern auch beide Parameter des oxidativen Streß (SZ MDA -59,6 % 8-Iso -33,8 %, Z MDA -38,5 %). Zusätzlich wurde die im Kurzzeit-Diabetes und in Zuckerratten erhöhte NADPH-Oxidase-Aktivität durch A signifikant vermindert. Präliminäre Daten deuten darauf hin, daß A auch die Folgen des oxidativen Streß in der Gefäßwand (Aconitase, NFκB, Nitrotyrosin) reduziert.

Schlußfolgerung: Eine kurzfristige Hyperglykämie ist Ursache von oxidativem Streß. Die Reduktion einer akuten Blutzuckerentgleisung durch A vermindert den oxidativen Streß. Diese Reduktion von oxidativem Streß stellt einen wichtigen Mechanismus der gefäßprotektiven Wirkungen von A dar.

V-92

Mikrovaskuläre Komplikationen in Beziehung zum mittleren HbA_{1c} der letzten 10 Jahre: ein repräsentatives Retinopathiescreening bei 367 pädiatrischen Patienten mit einer nicht-mydratischen Laserpanoramakamera

* Wöckener M.⁽¹⁾, Lange K.⁽¹⁾, Ludolph K.⁽²⁾, Brockmann D.⁽³⁾, Bittner C.⁽⁴⁾, von Schütz W.⁽⁴⁾, Hürter P.⁽⁴⁾, Danne T.⁽⁴⁾

⁽¹⁾ MHH, Abt. Medizinische Psychologie, Hannover, ⁽²⁾ Praxis Dr. Ludolph, Hannover, ⁽³⁾ MHH, Abt. Augenheilkunde, Hannover, ⁽⁴⁾ Kinderkrankenhaus auf der Bult, Diabetes-Zentrum, Hannover

Fragestellung: Die Qualität der Stoffwechseleinstellung bei pädiatrischen Patienten mit Typ-1-Diabetes hat sich in den letzten 10 Jahren verbessert. Ist damit ein Rückgang der Prävalenz von mikrovaskulären Folgekomplikationen verbunden?

Material und Methoden: Mit der Optomap Panoramic 200[®], einer nicht-mydratischen Laserpanoramakamera (www.optos.com), wurden beide Augen bei 367 pädiatrischen Patienten (Alter ≥ 10 J. oder ≥ 5 J. Diabetesdauer) untersucht. Es wurden dazu insgesamt 1468 digitale Fundusfotografien im 200-Grad-Winkel von zwei Augenärztinnen unabhängig befundet. Die Mikroalbuminurie wurde mittels Nachtsammelurin bestimmt. Der individuelle Median des HbA_{1c} der vorangehenden maximal 10 Jahre diente als Maß der Qualität der Stoffwechseleinstellung. Die Stichprobe deckte 95 % der möglichen Patienten der Diabetesambulanz ab (mittleres Alter: 14 ± 3 J.; Diabetesdauer: 6 ± 4 J.; 45 % weiblich).

Ergebnisse: 17 Patienten (4,7 %) wiesen Mikroaneurysmen, ein Patient einen Katarakt auf. Bei 45 Patienten (12,7 %) lag eine Mikroalbuminurie vor. 4 Patienten hatten beide Folgeerkrankungen. Das mittlere Langzeit-HbA_{1c} aller Patienten betrug $7,7 \pm 1,1$ %. Zwischen Patienten mit und ohne Retinopathie zeigten sich weder Unterschiede im Alter noch in der Diabetesdauer oder im mittleren HbA_{1c} (jeweils $p > 0,1$). Patienten mit Mikroalbuminurie waren signifikant älter (15,3 J. vs. 14,3 J.) und hatten eine längere Diabetesdauer (6,8 J. vs. 5,6 J.) ($p < 0,01$). Das Langzeit-HbA_{1c} war vergleichbar. Die vier Patienten mit beiden Folgeerkrankungen unterschieden sich weder im Alter, in der Diabetesdauer noch im mittleren HbA_{1c} von den anderen Patienten ($p > 0,1$).

Schlussfolgerung: Die relativ gute Langzeitstoffwechseleinstellung pädiatrischer Patienten führte im Vergleich mit Daten aus Studien Anfang der 90er Jahre zu einer geringeren Prävalenz mikrovaskulärer Folgekomplikationen. Die Daten der von ersten Folgeerkrankungen betroffenen Jugendlichen deuten darauf hin, dass neben der Langzeitstoffwechseleinstellung weitere Faktoren zu ersten Komplikationen beitragen.

V-93

Der Einfluss einer Insulintherapie bei Patienten mit Typ-2-Diabetes auf Inflammationsmarker der Atherosklerose

* Khan Makui D.⁽¹⁾, Meier G.⁽¹⁾, Landgraf R.⁽¹⁾, von Schacky C.⁽²⁾

⁽¹⁾ Medizinische Klinik Innenstadt, Klinikum der Universität München, Diabeteszentrum, München, ⁽²⁾ Medical Park Bad Wiessee St. Hubertus, Abteilung für Innere Medizin/Kardiologie, Bad Wiessee

Fragestellung/Hintergrund: Patienten mit Typ-2-Diabetes haben ein hohes vaskuläres Risiko. Insulin hat auch proinflammatorische und zellproliferative Effekte. Ziel dieser prospektiven Studie war, neben Stoffwechselfparametern den Einfluss einer neu begonnenen Insulintherapie auf Inflammationsmarker der Atherosklerose zu untersuchen.

Methode: 12 Patienten (5 w, 7 m) mit DM Typ-2 unter OAD-Therapie wurden in eine prospektive Studie nach kompletter Umstellung auf Insulin eingeschlossen. Das mittlere Alter bei Studieneintritt war 66 Jahre, der BMI lag bei $28,2 \text{ kg/m}^2$ (SD 4,1, Range 23–36). Die bekannte Diabetesdauer betrug 10 Jahre (Range 0–34 J.). Bei Studienbeginn hatten 67 % der Patienten Statine, 25 % ASS und 58 % einen ACE-Hemmer. Blutglukose, HbA_{1c}, C-Peptid, Insulin, HOMA, sowie hs-CRP, MMP-9, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1, E-Selectin und IL-6 wurden vor und 6 Monate nach Beginn der Insulintherapie analysiert.

Ergebnisse: Baseline-Werte ($x \pm \text{SD}$; Range): Der mittlere HbA_{1c} lag zu Beginn bei $8,0 \pm 1,2$ % (6,4–10,5) und die mittlere Nüchternblutglukose bei $206 \text{ mg/dl} \pm 49$ (151–291) mg/dl. Das basale C-Peptid lag bei $4,8 \pm 1,4 \text{ ng/ml}$ (2,8–7,7). Nach 6 Monaten Insulintherapie kam es zu einer signifikanten Absenkung des HbA_{1c} auf im Mittel $7,3 \pm 0,7$ % (6,3–9,0), der Nüchternblutglukose auf $150 \pm 39 \text{ mg/dl}$ (89–217) und des basalen C-Peptids auf $2,8 \pm 1,7 \text{ ng/ml}$ (0,3–6,4). Im Gegensatz zur deutlichen Verbesserung der Blutglukoseeinstellung kam es nicht zu einem Absinken der CRP-Spiegel: $4,4 \pm 3,6 \text{ mg/l}$ (0,3–11,10) versus $4,8 \pm 4,1 \text{ mg/l}$ (0,4–14,3).

Alle Inflammationsparameter blieben unverändert.

Schlussfolgerungen: Obwohl durch eine Insulintherapie eine Verbesserung der Blutglukoseeinstellung in einem Zeitraum von 6 Monaten erreicht werden konnte, blieben Inflammationsmarker der Atherosklerose unbeeinflusst. Letztere Marker sind zwar anerkannte Surrogatparameter der Atherogenese, diese Pilotstudie zeigt jedoch, dass ein größerer Ansatz gewählt werden muss, um die gestellte Frage zu beantworten. Dies wird im nächsten Schritt erfolgen.

V-94

Verlust des Endothel-protaktiven Thrombomodulin-Protein-C-Systems infolge von Hyperglykämie

* Isermann B.⁽¹⁾, Vinnikov I.⁽¹⁾, Herzog S.⁽¹⁾, Huntscha S.⁽¹⁾, Thati M.⁽¹⁾, Bierhaus A.⁽¹⁾, Nawroth P. P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universität Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg

Fragestellung: Das endotheliale Thrombomodulin (TM)-Protein C (PC)-System vermittelt neben antikoagulantem auch antiinflammatorische und antiapoptotische Effekte. Eine Aktivierung von Endothelzellen, z. B. durch Zytokine, führt zu einer verminderten Expression des membranständigen Thrombin-Rezeptors

TM. Die Folge sind eine reduzierte PC-Aktivierung und somit ein Funktionsverlust des TM-PC-Systems. In vivo ist eine Endothelaktivierung, wie z. B. bei Patienten mit Diabetes mellitus, mit erhöhten Plasmaspiegeln von löslichem TM assoziiert. Letzteres spiegelt vermutlich den Funktionsverlust des endothelialen TM-PC-Systems wider. Bisher ist nicht bekannt, ob der Verlust des Endothel-protectiven TM-PC-Systems zur Pathogenese vaskulärer Erkrankungen bei Diabetes mellitus ursächlich beiträgt.

Material und Methoden: Nach Stimulation von HUVECs mit Glukose (30 mM) oder Kontrollen (30 mM Sorbitol) wurde die TM-abhängige PC-Aktivierung bestimmt. Ferner wurde in HUVECs nach Glukosestimulation der Effekt von aktiviertem PC hinsichtlich oxidativen Stress (TBARS), Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B (EMSA), Proliferation (Mitosen-Index, MTT-Assay, Zellzahlen), Apoptose (Tunel, Hoechst-Färbung) und Expression von Adhäsionsmolekülen (Elisa) bestimmt.

Ergebnisse: Glukose inhibiert in vitro die TM-abhängige PC-Aktivierung. Aktiviertes PC inhibiert die Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen und reduziert die NF- κ B-Aktivierung in Glukose-stimulierten HUVECs. Aktiviertes Protein C normalisiert die Zellzahl von Glukose-stimulierten HUVECs infolge eines proliferativen und antiapoptotischen Effektes. Schließlich inhibiert aktiviertes PC die Glukose-vermittelte Expression von Adhäsionsmolekülen (ICAM, VCAM) in HUVECs.

Schlussfolgerung: Glukose führt in vitro zu einem Funktionsverlust des Endothel-protectiven TM-PC-Systems. Aktiviertes PC schützt Endothelzellen vor einer Glukose induzierten Dysfunktion. Diese Daten legen nahe, dass der Verlust des TM-PC-Systems bei Patienten mit Diabetes mellitus nicht nur ein Marker der Endothelzellenaktivierung ist, sondern ursächlich zur diabetischen Angiopathie beiträgt.

V-95

Nahrungs-Advanced Glycation Endproducts (AGE) vermindern akut die endothelabhängige Vasodilatation bei Patienten mit Typ-2-Diabetes-mellitus (T2DM)

*Negrean M.⁽¹⁾, Stirban A.⁽¹⁾, Horstmann T.⁽¹⁾, Hohls B.⁽¹⁾, Stratmann B.⁽¹⁾, Gawlowski T.⁽¹⁾, Müller-Rösel M.⁽¹⁾, Koschinsky T.⁽²⁾, Vlassara H.⁽³⁾, Tschöpe D.⁽¹⁾

⁽¹⁾Herz- und Diabeteszentrum NRW, Diabetesklinik, Bad Oeynhausen, ⁽²⁾Deutsches Diabetes Zentrum, Diabetesklinik, Düsseldorf, ⁽³⁾Mount Sinai School of Medicine, Experimental Diabetes and Ageing, New York

Eine AGE-reiche Ernährung führt bei Patienten mit T2DM nach 2 bis 6 Wochen zu einer Erhöhung der Marker der Endotheldysfunktion (z. B. TNF α , VCAM-1). Es ist unbekannt, inwieweit AGE einer alltagsüblichen Mahlzeit eine akute Gefäßdysfunktion verursachen können.

Untersucht wurden 11 stationäre Patienten mit T2DM (Alter: 59,9 \pm 8,8 J, HbA_{1c}: 8,8 \pm 1,8 %, 8 oral-/3 mit Insulin behandelt, ohne akute kardiovaskuläre Ereignisse in den 6 Monaten davor), die eine diabetesgerechte Kost für die 6 Studientage bekamen. Am 4. und 6. Tag wurden die Effekte einer AGE-reichen (AGE-r) bzw. AGE-armen (AGE-a) Mahlzeit (15 100 vs. 2750 AGE kU) auf die flussabhängige Dilatation (FAD) der rechten A. brachialis, in einem randomisierten, cross-over, Untersucher-geblindeten Design untersucht. Die FAD wurde mittels hochauflösendem Ul-

traschall (ATL HDI 5000, USA) morgens nüchtern (0 h) sowie 2, 4 und 6 Stunden nach der AGE-r bzw. AGE-a Mahlzeit erfasst. Die zwei Mahlzeiten hatten denselben Inhalt (580 kcal, 54 g Eiweiß, 17 g Lipide, 48 g Kohlenhydrate), der unterschiedliche AGE-Gehalt resultierte ausschließlich aus den Zubereitungsmethoden (Temperatur und Zeit).

Die FAD sank 2, 4 und 6 h nach der AGE-r von 4,6 \pm 1,6 % (0 h) auf 3,3 \pm 1,4*, 2,6 \pm 1,4* und 3,6 \pm 1,5 %* (*p < 0.001 vs. 0 h) und nach der AGE-a von 4,8 \pm 1,6 % (0 h) auf 4,2 \pm 1,4*, 3,9 \pm 1,5* und 4,7 \pm 1,4 % (*p < 0.001 vs. 0 h). Die relative Veränderung der FAD nach 2, 4 und 6 h war signifikant höher nach AGE-r (-0 %*, -45 %* und -21 %*) als nach AGE-a (-3 %, -20 % und -3 %) (*p < 0.005 vs. AGE-a). Die endothelunabhängige Dilatation (5 Minuten nach sublingualem Glycerotrinitrat) blieb unverändert.

Bei Patienten mit T2DM kann bereits eine einzelne AGE-reiche Mahlzeit im Rahmen einer Standarddiät zu einer akuten Gefäßdysfunktion führen. Der Ausmaß ist signifikant höher als nach einer vergleichbaren, jedoch AGE-armen Mahlzeit. Eine AGE-reiche Kost könnte nach mehreren Wochen eine persistierende Gefäßdysfunktion zur Folge haben und zu der bekannten erhöhten postprandialen Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse beitragen.

V-96

Nt-pro BNP als Screening-Marker für myocardiale Dysfunktion bei Typ 2-Diabetes.

*Sanden S.⁽¹⁾, Prat-Knoll C.⁽¹⁾, Vogt C.⁽¹⁾, Hasslacher C.⁽¹⁾

⁽¹⁾St. Josefskrankenhaus, Innere Medizin, Heidelberg

Fragestellung: Nt-pro BNP ist ein etablierter Marker für eine myocardiale Belastung. Bei Diabetikern kann durch stumme Myocardischämien, hypertens. Schädigung oder Kardiomyopathie eine myocardiale Dysfunktion entstehen, die klinisch zunächst unerkannt bleibt. Wir untersuchten bei Typ-2-Diabetikern die Beziehung zwischen Nt-pro BNP-Spiegel (NTBNP) und Vorhandensein/Fehlen kardialer Komplikationen

Material und Methoden: Bei 186 amb. Typ-2-Diab. wurden NTBNP im Serum bestimmt (Roche Assay). Das Vorliegen einer KHK oder Herzinsuffizienz wurde anamn., eine hypertensive Schädigung mittels EKG (Sokolow-Index) ermittelt. Weiterhin wurden bestimmt: Kreatinin-Clearance (CCL), Urin-Albumin/Kreatininratio AKR), Diabetes rel. Daten.

Ergebnisse: Als Cut-off-Punkt wurde ein NTBNP von 125 ng/ml gewählt. Erhöhte NTBNP wiesen 81 Pat. (= 43,5 %) auf. Bei ihnen bestand in 38 % eine KHK, in 29 % eine Herzinsuffizienz (NYHA I-II) u. in 38 % eine hypertensive HK. Die entspr. Befunde bei normalen NTBNP waren: KHK 11 %, Herzinsuffizienz 7 %, hypert. HK 8 %. Patienten mit erhöhten NTBNP wiesen eine niedrigere CCL (81 vs. 94 ml/min.) und eine erhöhte AKR (120 versus 42) auf.

Schlussfolgerung: Bei rund zwei Drittel der Pat. mit erhöhten NTBNP bestanden anamnestisch oder klinisch keine Hinweise auf eine myocardiale Dysfunktion. Ein erhöhter NT-Spiegel scheint damit ein Patientengut zu identifizieren, das kardiologisch weiter abgeklärt werden sollte.

Adipositas

V-97

Effects of Central Obesity on Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor Gene Expression in Human Subcutaneous Adipose Tissue.

* Rudovich N.⁽¹⁾, Kaiser S.⁽¹⁾, Engeli S.⁽²⁾, Pfeiffer A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ DIFE, KLE, Nuthetal, ⁽²⁾ HELIOS Klinikum, Charité, Berlin

Fragestellung: Gastric inhibitory polypeptide (GIP), a duodenal hormone, is released in response to feeding and produces a glucose-dependent stimulation of insulin secretion. A recent study in rodents suggested that GIP directly links overnutrition to obesity. Despite evidence for GIP effects on fat metabolism in humans, GIP-receptors (GIP-R) have not been identified in fat tissues. We identified GIP-R in human subcutaneous adipose tissue and tested the hypothesis that expression of this gene is influenced by obesity and weight loss.

Material und Methoden: The expression of GIP-R mRNA by real-time RT-PCR was measured in subcutaneous adipose tissue biopsies of 70 non-diabetic postmenopausal women. The effect of weight reduction was studied on 14 obese non-diabetic postmenopausal women.

Ergebnisse: The GIP-R gene was highly expressed in human adipose tissue. Adipose GIP-R gene expression was negatively correlated with BMI, waist circumference, basal insulin and homeostasis model assessment index of insulin resistance (HOMA-IR) ($p < 0.01$ for BMI, $p < 0.001$ for HOMA-IR, waist circumference and insulin). Basal insulin concentrations after adjustment for BMI and waist circumference correlated negatively with adipose GIP-R gene expression ($p < 0.05$). Adipose GIP-R gene expression was reduced in obese women with the highest waist circumference ($p = 0.009$ in Mann-Whitney U-test). Weight reduction did not change gene expression levels of GIP-R and basal insulin concentrations.

Schlussfolgerung: Our data suggest that decreased expression of the GIP-R gene is associated with signs of insulin resistance in obese women. Increased basal insulin concentrations influence negatively the expression of GIP-R gene in adipose tissue. Thus insulin is possibly a regulator of GIP-R gene expression in adipocytes and the GIP-R may contribute to the adipogenic effect of insulin. This suggests that GIP-R antagonists may be promising in the treatment of obesity.

V-98

Akute Sympathoexzitation induziert ein proinflammatorisches und Insulinresistenz begünstigendes Adipokin-Profil beim Menschen

* Ott V.⁽¹⁾, Wenzel E.⁽¹⁾, Perwitz N.⁽¹⁾, Kraus D.⁽¹⁾, Wellhöner P.⁽¹⁾, Fasshauer M.⁽²⁾, Dödt C.⁽¹⁾, Klein J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Medizinische Klinik I, Lübeck, ⁽²⁾ Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig

Menschen mit einem metabolischen Syndrom sind durch chronische Sympathoexzitation gekennzeichnet. Störungen der Fettgewebefunktion sind eng verknüpft mit Kernkomponenten des Syndroms wie Diabetes, Adipositas und Hypertonus. Die Veränderung der Expression und Sekretion von Fettgewebshormonen stellt dabei ein potentiell pathophysiologisches Bindeglied dar.

Fragestellung: Bewirkt eine subchronische, kontrollierte Sympathoexzitation Änderungen der endokrinen Fettgewebefunktion, die zur Ausbildung des metabolischen Syndroms und seiner Komplikationen beitragen?

Material und Methoden: Durch kontrollierte Kälteexposition mittels Kälteanzug (+15 °C) für 2 h wurde bei 10 gesunden, männlichen Probanden das SNS stimuliert. Blutproben wurden zu den Zeitpunkten 0, 15, 30, 60, 120 min entnommen. Zur quantitativen RNA-Expressionsanalyse erfolgten begleitend subkutane Fettgewebsbiopsien zu Beginn und nach 120 min.

Ergebnisse: Die Sympathoexzitation zeigte sich in einer Verdopplung der Noradrenalin Spiegel nach 2 h ($p \leq 0,05$). Im gleichen Zeitraum sank der Leptin-Spiegel um 20 % ($p \leq 0,05$). Weiterhin zeigte sich ein akuter Abfall von Adiponektin um maximal 16 % nach 60 min ($p \leq 0,05$). Dagegen erhöhten sich die Spiegel für IL-6 (kontinuierlich, 4,4-fach nach 120 min, $p \leq 0,05$) und MCP-1 (akut mit max. 1,5-fachem Anstieg nach 30 min). Während die RNA-Expression von Adiponektin im Fettgewebe unverändert blieb, fand sich für IL-6 und MCP-1 ein Trend zu verstärkter Expression (1,3-fach nach 120 min).

Schlussfolgerung: Physiologische Sympathoexzitation beeinflusst differentiell die endokrine Fettgewebefunktion. Sie induziert ein Adipokinmuster, das Inflammation, Insulinresistenz und eine positive Energiebilanz begünstigt. Daran scheinen transkriptionelle und posttranskriptionelle Regulationsmechanismen beteiligt zu sein. Die Ergebnisse legen nahe, daß sympathoexzitorisch induzierte Veränderungen der endokrinen Fettgewebefunktion bedeutsam für die Entwicklung des metabolischen Syndroms und seiner kardiovaskulären Komplikationen sind.

V-99

Die Rolle des sezernierten Wnt-Antagonisten Dickkopf (dkk)-1 in der humanen Adipogenese

* Laudes M.⁽¹⁾, Christodoulides C.⁽¹⁾, Schinner S.⁽²⁾, Hagen T.⁽³⁾, O'Rahilly S.⁽²⁾, Sethi J.⁽²⁾, Vidal-Puig A.⁽²⁾

⁽¹⁾ University of Cambridge, Clinical Biochemistry, Cambridge (UK), these authors contributed equally to this work, ⁽²⁾ University of Cambridge, Clinical Biochemistry, Cambridge (UK), ⁽³⁾ University of Nottingham, University Hospital, Nottingham (UK)

Fragestellung: Wnt sind eine Familie von sezernierten Glykoproteinen mit autokriner und parakriner Funktion in der Embryonalentwicklung verschiedener Spezies. Kürzlich wurde an Mäusezelllinien gezeigt, dass diese Faktoren in der Differenzierung von Adipozyten eine wichtige Rolle spielen. Die Expression verschiedener Wnt-Isoformen in 3T3-L1-Präadipozyten bewirkt, dass diese im undifferenzierten Zustand verharren, die Inhibition des Wnt-Signalweges führt zu einer spontanen Adipogenese dieser Zellen. In der vorliegenden Studie untersuchen wir erstmals die Rolle des Wnt-Antagonisten Dickkopf (Dkk)-1 in der humanen Adipogenese.

Methodik: Humane Präadipozyten wurden aus Fettgewebepiopsien von Probanden durch Collagenasedigestion gewonnen und anschließend in vitro differenziert. Die Expression von Dkk-1 auf mRNA-Ebene wurde mit Real-Time PCR und auf Protein-Ebene mit Western-Blot untersucht. Mittels retroviralem Gentransfer wurden Dkk-1 überexprimierende 3T3-L1-Zellen generiert. Der Differenzierungsprozess dieser Zellen wurde mit Expressionsanalysen für die Marker PPAR γ und aP2 sowie über Lipidfärbung evaluiert. Zur Bestimmung der Aktivität des Wnt-Signalweges in diesen Zellen wurde mittels Western-Blot das zytosolische beta-Catenin bestimmt, des weiteren wurden mit Promotor-Reporter-Gen-Analysen Wnt-Zielgene untersucht.

Ergebnisse: Die Expression von Dkk-1 mRNA und Protein in humanen Präadipozyten wird in der Frühphase der Differenzierung hochreguliert, um danach wieder abzufallen. Dkk-1 überexprimierende 3T3-L1 Präadipozyten differenzieren stärker in reife Adipozyten als Kontrollzellen, was sich durch eine vermehrte Expression von PPAR γ und aP2 sowie eine stärkere Lipidakkumulation zeigt. In diesen Zellen wird der intrazelluläre Wnt-Signalweg durch Dkk-1 inhibiert, belegt durch eine Reduktion des zytosolischen beta-Catenins sowie eine verminderte Promotoraktivität von Wnt-Zielgenen.

Schlussfolgerungen: Die Daten der vorliegenden Studie deuten darauf hin, dass Dkk-1 in der humanen Adipogenese exprimiert wird und über eine Inhibition des Wnt-Signalweges proadipogen wirkt.

V-100

SREBP-1 a is a novel transcription factor for the action of leptin

Kotzka J.⁽¹⁾, * Mesaoudi H.⁽¹⁾, Avci H.⁽¹⁾, Schober A.⁽¹⁾, Herzfeld D.⁽¹⁾, Knebel B.⁽¹⁾, Mueller-Wieland D.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut fuer Klinische Biochemie und Pathobiochemie, Duesseldorf

Aim: SREBP (sterol regulatory binding protein)-1 a is a transcription factor, which plays a dominant role in the regulation of lipid accumulation of cells and tissues. Therefore, SREBP-1 is

not only regulated by metabolites like cholesterol, but also by hormones like insulin. Since leptin affects lipid metabolism and function of fat and liver cells, we have investigated whether SREBP-1 plays a role in the gene regulatory action of leptin.

Methods/results: Therefore, we have investigated the effect and mechanism of leptin on the expression of a classical target gene of SREBP-1, i. e. the LDL-receptor gene, using various promoter reporter gene analyses in human liver cell line (HepG2). These experiments showed that the sterol sensitive and SREBP-1 binding cis-element (sre-1) in the promoter of the LDL-receptor gene mediates the stimulatory effect of leptin. Leptin action on LDL-receptor gene was not associated with alterations in the abundance or cleavage rate of SREBP-1, but was completely abolished in SREBP-1a deficient cell lines. Accordingly, the hormone effects could be reconstituted by ectopic expression of the transactive domain (aa1-460) of SREBP-1a. Previous experiments provided evidence that MAP-kinases phosphorylate SREBP-1a at serine 117. This phosphorylation did not affect protein-DNA interaction, but its trans-activity. Since leptin can affect gene expression, not only by JAK/STAT-pathways, but also via ERK-MAP-kinases, analogues experiments were performed using a mutant (SREBP-1a S117A). Stimulation of the LDL-receptor gene promoter in HepG2 cells by ectopic expression of SREBP-1a was synergistically stimulated by leptin. The synergistic effect was completely abolished by mutating the phosphorylation site in SREBP-1a. In accordance to that the effect of leptin on LDL-receptor gene induction was completely abolished by the MAP-kinase inhibitor PD 98059.

Conclusions: These data might have implications for the understanding of the potential link between the counter regulatory role of leptin on insulin action, lipid accumulation, and insulin sensitivity.

V-101

Extensive circadian gene expression in visceral adipose tissue

* Berndt J.⁽¹⁾, Borriß H.⁽²⁾, Kralisch S.⁽¹⁾, Krohn K.⁽³⁾, Blüher M.⁽¹⁾

⁽¹⁾ IZKF Leipzig, Universität Leipzig, Nachwuchsgruppe 3, Leipzig, ⁽²⁾ IZBI, Universität Leipzig, Leipzig, ⁽³⁾ IZKF Leipzig, Universität Leipzig, DNA Core, Leipzig

Mammalian peripheral tissues have circadian clocks, endogenous oscillators that generate transcriptional rhythms thought to be important for the daily timing of physiological processes. Circadian rhythms in gene expression were demonstrated in heart, liver and other organs. However, the extent of circadian gene regulation in adipose tissue and whether potential rhythms involve common or specialized pathways is unclear. We collected brown, subcutaneous and epigonadal adipose tissue at 6.00 h, 10.00 h, 14.00 h, 18.00 h, 22.00 h, 2.00 h in 4 h intervals over 48 h from C57BL/6 mice, which were synchronized to a 12 h light/dark cycle for more than 2 weeks, and then placed in constant dim light for at least 48 h. Here, we demonstrate a circadian gene expression in vivo in mouse epigonadal adipose tissue using Affymetrix oligonucleotide arrays representing 12,488 genes. We found an extensive circadian gene regulation (> 15 % of the genes expressed in adipose tissue), which seems to be adipose tissue specific in comparison to known circadian regulation of gene expression in liver or heart. There was an overlap of 25 genes with similar circadian regulation in liver, heart and adi-

posetissue, suggesting that these are new candidate clock genes. We further identified genes responsive to circulating factors with circadian or diurnal rhythms as well as circadian gene expression patterns of key metabolic enzymes, including lipolytic and glycolytic enzymes.

V-102

Insulinresistenz und Glukosetoleranz bei adipösen Kindern und Jugendlichen. Welche Bedeutung haben unterschiedliche Kurvenverläufe im oralen Glukose-Toleranz-Test?

*Wiegand S.⁽¹⁾, Dannemann A.⁽¹⁾, von Berges C.⁽¹⁾, Grüters A.⁽¹⁾, Holl R.⁽²⁾

⁽¹⁾Charité Campus Virchow-Klinikum (OHC); Universitätsmedizin Berlin, Pädiatrische Endokrinologie und Diabetologie, Berlin, ⁽²⁾Universität Ulm, ZIBMT, Ulm

Fragestellung: Der Glukose-Kurvenverlauf im oralen Glukose-Toleranztest (OGTT) kann mathematisch als mono- oder biphasisch beschrieben werden⁽¹⁾. Bei Erwachsenen besteht ein Zusammenhang zwischen monophasischem Verlauf und gestörter Glukose-Toleranz. Es wurde untersucht, ob dies für adipöse Kinder und Jugendliche (adKiJu) zu reproduzieren ist und mit Parametern der Insulin-Resistenz korreliert.

Material und Methoden: Bei 184 adKiJu (Alter 12.9 ± 3,1 J.; BMI 32,9 ± 6,5 kg/m²) wurde ein OGTT durchgeführt (1,75 g Glukose/kg, max. 75 g) und zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90, 120 Minuten Insulin und Glukose bestimmt. Berechnet wurden der Glukose-Kurvenverlauf⁽¹⁾ sowie der Insulin-Sensitivitätsindex (ISI)⁽²⁾ und R-HOMA⁽³⁾ als Parameter der Insulin-Resistenz, der Insulinogenen Index (Delta 30–0 Insulin/Glukose)⁽³⁾ als Parameter der frühen Insulin-Sekretion und die AUC-Insulin (pmol/l × h) für die Gesamt-Insulin-Sekretion.

Ergebnisse: Bei 26 % der Pat. bestand eine gestörte Glukose-Toleranz (IGT) und bei 3 % ein Typ-2-Diabetes. Pat. mit IGT zeigten sign. häufiger einen monophasischen Verlauf der Glukose-Kurve im OGTT. Insgesamt waren 54 % monophasisch und 46 % biphasisch. Diese Gruppen unterschieden sich sign. (p < 0,01) in Alter (13,3 vs. 12,3 J.), BMI (34,7 vs. 31,3 kg/m²), Gesamt-Insulinsekretion (AUC-Insulin 807 vs. 640 pmol/l × h) und ISI (2,17 vs. 2,74), nicht aber im R-HOMA und Insulinogenen Index.

Schlussfolgerung: Auch bei adKiJu können mono- und biphasische Verläufe der Glukose-Kurve im OGTT unterschieden werden. Es besteht eine Assoziation zu Glukosetoleranz, Insulin-Sekretion und Insulin-Sensitivität. Deshalb kann so auf mathematischem Weg eine zusätzliche Information zur Stoffwechselsituation gewonnen werden. Da zur Berechnung ausschließlich die Glukosewerte verwendet werden, eignet sich die Bestimmung des Glukose-Kurvenverlaufs im OGTT zu Screening- und Verlaufsuntersuchungen.

Literatur: ⁽¹⁾Tschritter O, Stumvoll M et al. Diabetes Care (2003) 26, 1026

⁽²⁾Matzuda M et al. Diabetes Care (1999) 22, 1462

⁽³⁾Matthews DR et al. Diabetologia (1985) 28, 412

V-103

Leanness and increased insulin sensitivity in mice with specific disruption of pten in obrb expressing cells

*Plum L.⁽¹⁾, Janoschek R.⁽²⁾, Alber J.⁽²⁾, Hampel B.⁽²⁾, Krone W.⁽¹⁾, Brüning J. C.⁽²⁾

⁽¹⁾Poliklinik und Klinik II für Innere Medizin, Klinikum der Universität zu Köln und Zentrum für Molekulare Medizin (ZMMK), Universität zu Köln, Köln, ⁽²⁾Abteilung für Mausgenetik und Stoffwechsel, Institut für Genetik und Zentrum für Molekulare Medizin (ZMMK), Universität zu Köln, Köln

Insulin and leptin act as adiposity signals exerting modulatory functions at various CNS sites. The primary target of these hormones appears to be the hypothalamus, which comprises a tightly regulated and complex network of neuropeptides and neurotransmitters influencing parameters of energy homeostasis. Although the two hormones and their receptors are unrelated and structurally distinct, the cellular responses to insulin and leptin appear to converge at the level of the phosphatidylinositol 3-kinase (Pik3). In order to analyze the role of the Pik3 pathway in hypothalamic neurons, we used the Cre-loxP system to selectively disrupt the phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate phosphatase Pten in cells expressing the long leptin receptor isoform (ObRb). RT-PCR indicated cre expression in hypothalamus and brain stem. Western blot analysis showed unaltered expression of Pten in whole brain, liver, adipose tissue, skeletal muscle, and pancreas. Mice with specific disruption of Pten in ObRb-expressing cells (KO) display significantly lower body weights (26.2 ± 2.9 vs. 23.8 ± 1.3 g, p ≤ 0.01, at wk. 20 in WT and KO females, respectively) and a marked reduction of epigonadal fat pad weights by 75 %. Consistently, monitoring of metabolic performance showed increased energy expenditure of KO mice (0.180 ± 0.08 vs. 0.305 ± 0.03 kcal/h, p ≤ 0.05, at wk.17 in WT and KO females, respectively). Moreover, KO mice exhibited markedly increased insulin sensitivity as reflected by reduced serum insulin levels (0.42 ± 0.29 vs. 0.17 ± 0.17 ng/ml, p ≤ 0.05) and reduced glucose infusion rates in hyperinsulinemic/euglycemic clamp studies. Taken together, these data provide in vivo evidence for an essential role of Pik3 signaling in ObRb expressing cells with respect to energy homeostasis and insulin sensitivity.

V-104

Intrinsische Unterschiede in der Genexpression zwischen humanem viszeralen und subkutanen Fettgewebe

Berndt J.⁽¹⁾, Kralisch S.⁽¹⁾, Faßhauer M.⁽²⁾, Stumvoll M.⁽²⁾, Blüher M.⁽¹⁾

⁽¹⁾IZKF Leipzig, Universität Leipzig, Nachwuchsgruppe 3, Leipzig, ⁽²⁾Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig

Viszerales und subkutanes Fettgewebe weisen bedeutsame metabolische Unterschiede auf, die der Assoziation von viszeraler Adipositas mit Insulinresistenz und dem kardiovaskulären Risiko zugrunde liegen könnten. Murines und humanes viszerales Fettgewebe zeigte in vitro eine erhöhte lipolytische Aktivität und eine verminderte Insulinsensitivität im Vergleich zu subkutanem Fettgewebe. Im Zusammenhang mit diesen physiologischen Unterschieden fanden wir bei C57/BL6-Mäusen mittels Microarray-Untersuchungen intrinsische Unterschiede in der Genexpression in Abhängigkeit vom Fettdpot. Ausgehend von diesen Ergebnissen untersuchten wir bei über 100 Personen, bei denen intraoperativ sowohl viszerales als auch subkutanes Fettgewebe entnommen wurde, ob die tierexperimentell gefundenen Unterschiede auf den Menschen übertragbar sind. Dabei fanden wir

72 Gene, darunter Fettsäuresynthase, β -Adrenorezeptoren, PKC β und δ (25 mit höherer Expression im subkutanen und 47 mit höherer Genexpression im viszeralen Fettgewebe), die sowohl bei der Maus als auch beim Menschen parallele Genexpressionsunterschiede in Abhängigkeit vom Fettdepot aufwiesen. Weitere Analysen zeigten eine koordinierte Fettdepot-spezifische Regulation von Schlüsselgenen des Insulinsignalweges, des Glukosetransports (GLUT4 und andere), der Glykolyse und der Lipolyse, die die unterschiedliche lipolytische Aktivität widerspiegeln. Wir fanden außerdem signifikante Expressionsunterschiede der Adipokine IL-6, Leptin, TGF β , PAI-1, Angiotensinogen und anderer, die auf eine unterschiedliche endokrine Funktion der Fettdepots hindeuten. Die parallele Fettdepot-spezifische Regulation der Genexpression bei Mensch und Maus weist auf intrinsische, evolutionär konservierte Unterschiede zwischen viszeralem und subkutanem Fettgewebe hin, die zumindest teilweise den Zusammenhang zwischen viszeraler Adipositas und erhöhtem metabolischen Risiko erklären können.

V-105

Assoziation des 103I MC4R Allel mit Gewichtsreduktion in 7937 Personen zweier populationsbasierter Querschnittsstudien

* Heid I.⁽¹⁾, Vollmert C.⁽¹⁾, Hinney A.⁽²⁾, Döring A.⁽¹⁾, Geller F.⁽²⁾, Löwel H.⁽¹⁾, Wichmann H.-E.⁽¹⁾, Illig T.⁽¹⁾, Hebebrand J.⁽²⁾, Kronenberg F.⁽³⁾

⁽¹⁾ GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Epidemiologie, Neuherberg,

⁽²⁾ Universität Duisburg-Essen, Abteilung für Kinder- und Jugendpsychiatrie, Essen,

⁽³⁾ Universität Innsbruck, Genetische Epidemiologie, Innsbruck

Einleitung: Das Melanocortin-4-Receptor Gen (MC4R) ist Teil des melanocortinergen Signaltransduktionswegs, welcher die

Energiehomöostase kontrolliert. In einer jüngsten Meta-Analyse wurde gezeigt, dass der MC4R V103I (rs2229616) Polymorphismus mit Gewicht assoziiert ist. Obwohl bisher keine funktionellen Unterschiede zwischen der Isoleucin-Variante und dem „Wildtyp“-Rezeptor gefunden wurden, hat diese Meta-Analyse von 14 Fall-Kontroll-Studien eine milde negative Assoziation mit Adipositas beschrieben (odds ratio = 0.69, p = 0.03). Allerdings fehlt bisher der Nachweis in einer großen populationsbasierten Studie.

Methoden: Deshalb war es das Ziel, die Daten von zwei populationsbasierten Querschnittstudien mit insgesamt 7937 Kaukasiern zu analysieren.

Ergebnisse: Wir beschreiben eine signifikante Reduktion um 0.52 BMI Einheiten (95 % CI = [-0.02, -1.03], p = 0.043) für heterozygote Träger des rs2229616 G/A Genotyps, welcher in 3.7 % der Personen beobachtet wurde. Ferner wurde eine signifikante negative Assoziation mit der MC4R-Variante mit überdurchschnittlichem Gewicht (BMI \geq median BMI) mit einem odds ratio von 0.75 (95 % CI = [0.59, 0.95], p = 0.017) erhalten. Ähnliche Ergebnisse wurden im Vergleich von adipösen (BMI \geq 30 kg/m², WHO 1997) und nicht-adipösen (BMI < 30 kg/m²) Personen gefunden.

Schlussfolgerung: Diese Untersuchung bestätigt die kürzlich erschienenen Ergebnisse einer Meta-Analyse, dass das relativ seltene A-Allel des V103I MC4R Polymorphismus negativ mit überdurchschnittlichem Gewicht und Adipositas in populationsbasierten Originaldaten von 7937 Personen assoziiert ist.

Prävention

V-106

Natural course of glucose tolerance and outcome of lifestyle intervention: Role of insulin secretion and insulin sensitivity

* Thamer C.⁽¹⁾, Haap M.⁽¹⁾, Tschirrer O.⁽¹⁾, Schäfer S.⁽¹⁾, Stefan N.⁽¹⁾, Häring H.⁽¹⁾, Fritsche A.⁽¹⁾

⁽¹⁾Medizinische Universitätsklinik, Abteilung IV, Tübingen

Longitudinal studies indicate that worsening glucose tolerance (GT) is associated with a reduction in insulin secretion (ISEC) relative to insulin sensitivity (ISEN) (so called disposition index (DI)). It is unclear whether changes in DI predict improving and worsening of GT during both non-intervention and following lifestyle intervention. We studied 60 non-diabetic subjects (24 males, 26 females, 50 NGT, 10 IGT, age 41 ± 10 years, BMI 30.3 ± 5.5 kg/m²) at baseline (B), after a follow-up time of 3.0 ± 1.8 years without intervention (-LI) and, subsequently, after 9 months of lifestyle intervention (+LI) with diet and physical activity. At every time point ISEN and ISEC were estimated from OGTT using validated indices. During the initial follow-up period without intervention, GT deteriorated (6.36 ± 0.2 vs. 6.89 ± 0.2 mM, $p = 0.01$) with no significant changes in body weight. Lifestyle intervention improved GT (6.89 ± 0.2 vs. 6.33 ± 0.2 mM, $p < 0.001$), and reduced body weight (30.7 ± 0.7 vs. 29.8 ± 0.7 kg/m², $p < 0.001$). In subjects with improving glucose tolerance during the whole follow up period (non-progressors, $n = 27$), DI remained unchanged from B: 12480 ± 1165 to -LI: 13423 ± 1142 arbitrary Units ($p = 0.25$) and subsequently increased to +LI: 17272 ± 1547 aU ($p = 0.03$). No change was observed in subjects with worsening glucose tolerance (progressors, $n = 33$) (B: 15107 ± 1125 to -LI: 14143 ± 1297 ($p = 0.13$) and subsequently +LI: 15425 ± 1460 aU ($p = 0.27$). The change in DI and the change in ISEC was significantly different between progressors and non-progressors ($p < 0.01$ for time x group effect). We conclude that lifestyle intervention reverses the deterioration of GT occurring during non-intervention. Subjects improving their GT are able to improve insulin secretion relative to insulin sensitivity especially after lifestyle intervention. Worsening of glucose tolerance is associated with failure to increase insulin secretion relative to sensitivity during both natural follow up and lifestyle intervention.

V-107

Aerobe körperliche Fitness und Verbesserung der Insulinsensitivität unter einer Lebensstil-Intervention – die TULIP Studie

* Stefan N.⁽¹⁾, Seifert A.⁽¹⁾, Venter C.⁽²⁾, Heitkamp H.-C.⁽²⁾, Fritsche A.⁽¹⁾, Machann J.⁽³⁾, Schick F.⁽³⁾, Nieß A.⁽²⁾, Häring H.-U.⁽¹⁾

⁽¹⁾Universität Tübingen, Innere Medizin, Tübingen, ⁽²⁾Universität Tübingen, Sportmedizin, Tübingen, ⁽³⁾Universität Tübingen, Experimentelle Radiologie, Tübingen

Moderate Steigerung der körperlichen Aktivität kann Typ-2-Diabetes verhindern. Aussagen über körperliche Fitness sind bislang aber weitgehend nur von Fragebögen zu erheben. Eine genauere Quantifizierung dieses Parameters ist aber notwendig um Risikopopulationen besser zu identifizieren und um den Erfolg einer Intervention abzuschätzen. In dem Tübinger Lebensstil-Intervention-Programm werden Probanden mit einem erhöhten Typ-2-Diabetes-Risiko eingeschlossen. Die Intervention besteht aus einer Ernährungsumstellung und 3 Stunden körperlicher Aktivität pro Woche. Neben einer intensiven Phänotypisierung (OGTT, Kernspin-Tomographie und Spektroskopie) werden auch die körperliche Leistungsfähigkeit mit Hilfe der Laufbandergometrie vor und unter der Intervention bestimmt. Mit Letzterem wird mit Erstellung einer Laktatleistungskurve unter einer Stufenbelastung die individuelle anaerobe Schwelle (IAS) als Maß der aeroben Ausdauerleistungsfähigkeit bestimmt. In Querschnittsanalysen bei 123 Probanden erklärt die IAS 10 % der Variabilität im Körperfettanteil ($p < 0.0001$), zusätzlich zu Alter und Geschlecht. Weiterhin werden 5 % der Variabilität in der Insulin Sensitivität ($p = 0.01$), 6 % des Leberfettgehaltes ($p = 0.009$) und 2 % des viszeralen Fettanteils ($p = 0.049$) determiniert.

Unter der Lebensstilintervention erhöhte sich die IAS in einem Zeitraum von 9 ± 2 Monaten von 66 ± 5 auf 77 ± 6 Watt ($p = 0.02$). Gleichzeitig fiel das Körpergewicht von 89 ± 2 auf 86 ± 2 kg ($p < 0.0001$), der Leberfettgehalt von 6.2 ± 1 auf 3.9 ± 1 % ($p < 0.0001$) und die Insulin-Sensitivität stieg von 13 ± 1 auf 16 ± 1 Einheiten ($p < 0.0001$) an. In prospektiven Analysen sagte eine hohe IAS vor der Intervention eine Verbesserung der Insulin-Sensitivität ($p = 0.04$) unabhängig von der Änderung des Körperfettanteiles aus.

Die Intervention erhöhte die aerobe Ausdauerleistungsfähigkeit. Als objektives Maß der individuellen Ausdauerleistungsfähigkeit stellt die IAS eine wichtige Determinante der Körperfettverteilung, des Leberfettgehalts und der Insulin-Sensitivität bei Personen mit erhöhtem Typ-2-Diabetes-Risiko dar.

V-108

High visceral adipose tissue mass predicts unfavourable outcome with respect to insulin sensitivity in a lifestyle intervention program.

* Thamer C.⁽¹⁾, Machann J.⁽²⁾, Stefan N.⁽¹⁾, Haap M.⁽¹⁾, Schäfer S.⁽¹⁾, Kantartzis K.⁽¹⁾, Claussen C.⁽²⁾, Schick F.⁽²⁾, Häring H.⁽¹⁾, Fritsche A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Medizinische Universitätsklinik, Abteilung IV, Tübingen, ⁽²⁾ Radiologische Universitätsklinik, Abteilung für experimentelle Radiologie, Tübingen

Visceral adipose tissue (VAT) is associated with features of the metabolic syndrome and increased hepatic lipids (HL). While this association is well documented in several cross-sectional studies, it is unclear whether VAT and HL are of predictive value for the individual response to a lifestyle intervention. We prospectively studied a cohort of 23 males and 39 females selected from a larger cross-sectional study (51 males and 69 females, age 45 ± 12 years, BMI 29.5 ± 4.8 kg/m² (mean \pm SD). At baseline, all subjects underwent determination of body fat depots (VAT and non-visceral adipose tissue (NVAT)) using a whole body magnetic resonance (MR) imaging approach. HL was measured by MR spectroscopy. Insulin sensitivity was estimated from oGTT and additionally measured at baseline by an euglycemic hyperinsulinemic clamp in the cross-sectional study. In the cross-sectional study both VAT ($R = -0.56$, $P < 0.0001$) and HL ($R = -0.6$, $P < 0.0001$) were negatively correlated to insulin sensitivity measured by clamp. In a multivariate analysis, VAT ($P < 0.001$) and HL ($P < 0.0001$) were independent predictors of insulin sensitivity after adjusting for sex, age and NVAT. With lifestyle intervention BMI was reduced (29.0 ± 0.6 vs. 28.2 ± 0.6 kg/m², $P < 0.001$) and insulin sensitivity was improved (13.0 ± 0.9 vs. 15 ± 1.1 , $P = 0.03$). Post-intervention insulin sensitivity was predicted by the basal amount of VAT ($P = 0.03$) but not by HL after adjusting for sex, age, pre-intervention insulin sensitivity and the change in adiposity. Our data suggest that VAT and HL independently influence insulin sensitivity. In addition, VAT predicts insulin action, both cross-sectionally and prospectively during lifestyle intervention. Therefore, VAT might be a useful predictor for the success of a lifestyle intervention program.

V-109

Die physiologische Rolle von Interleukin-1beta in humanen pankreatischen Inseln

* Maedler K.⁽¹⁾, Schumann D. M.⁽²⁾, Donath M.⁽²⁾

⁽¹⁾ Larry Hillblom Islet Research Center, UCLA, Los Angeles, USA, ⁽²⁾ UniversitätsSpital Zürich, Endokrinologie und Diabetes, Zürich, Schweiz

Fragestellung: Kuerzlich haben wir gezeigt, dass chronisch erhoehnte Blutglukosespiegel die Interleukin-1 β (IL-1 β)-Produktion in der Betazelle selbst induzieren und somit zur Selbstzerstoerung dieser fuehrt. Im selben Kontext ermoeoglicht die Expression des antiinflammatorischen Zytokins Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra), das in der humanen β -Zelle vorhanden ist, einen lokalen Schutz vor dem Angriff des proinflammatorischen Zytokins IL-1 β . In der folgenden Studie vermuten wir jedoch eine ebenso proapoptotische wie auch physiologische Funktion von IL-1 β , die sich bei niedriger IL-1 β -Konzentration zeigt.

Material und Methoden: Kultivierte humane pankreatische Inseln wurden mit IL-1 β behandelt (0.01 to 10 ng/ml) und die

Apoptoserate mittels TUNEL-assay, Proliferation mittels Ki-67 und die Funktion mittels glukosestimulierter Insulinsekretion (GSIS) gemessen.

Ergebnisse: Die in-vitro-Kultivierung menschlicher Inseln mit ansteigender IL-1 β Konzentration ergab einen 1.35-, 1.98- and 1.37-fachen Anstieg der Proliferationsrate durch 0.01, 0.02 and 0.2 ng/ml IL-1 β ($p < 0.05$), jedoch einen Verlust der Proliferation ab 2 ng/ml IL-1 β ($p < 0.05$). Dieser Effekt wurde von einer unveraenderten Apoptoserate bei bis zu 0.2 ng/ml IL-1 β , jedoch einem Anstieg derselben durch 1, 2 and 10 ng/ml IL-1 β ($p < 0.05$) begleitet. GSIS und Insulincontent waren signifikant induziert durch 0.02 ng/ml IL-1 β , jedoch reduziert durch 2 bis 10 ng/ml IL-1 β . Parallel dazu zeigte sich in den Inseln, die mit die 0.02 ng/ml IL-1 β behandelt worden waren, die IL-1RA-Sekretion in das Kulturmedium erhoehet (3:8-facher Anstieg im Vergleich zur Kontrolle). Um diesen physiologischen Effekt von IL-1 β in vivo bestaetigen zu koennen, haben wir ipGTTs in IL-1 β Knockoutmaeusen durchgefuehrt. Dabei zeigten die Knockoutmaeuse eine verschlechterte Glukosetoleranz im Vergleich zu den normalen Maeusen.

Schlussfolgerung: Unsere Ergebnisse lassen auf eine physiologische Rolle von IL-1 β bei niedriger Dosis schliessen. Somit ist das Gleichgewicht hier zugunsten des protektiven IL-1Ra verschoben, was eine funktionelle Betazellmasse erhalten koennte.

V-110

Mit steigendem Alter sind humane Betazellen sensitiver zur Glukose-induzierten β -cell-Apoptose

* Maedler K.⁽¹⁾, Schumann D. M.⁽²⁾, Donath M.⁽²⁾

⁽¹⁾ Larry Hillblom Islet Research Center, UCLA, Los Angeles, USA, ⁽²⁾ UniversitätsSpital Zuerich, Endokrinologie und Diabetes, Zuerich, Schweiz

Typ-2-Diabetes ist eine heterogene Krankheit, deren Prevalenz sich sowohl mit steigendem Alter als auch durch vererbte Predisposition erhoehet.

Somit kann man annehmen, dass mit steigendem Alter die Betazellen sensitiver gegeneuber Umweltfaktoren werden, der Mechanismus ist jedoch weitgehend unbekannt.

Chronische Hyperglykaemien verschlechtern sowohl Betazellfunktion als auch Ueberleben. Glukosekonzentrationen ab 11.1 mM induzieren Betazellapoptose in humanen pankreatischen Inseln, jedoch rufen 11.1 mM in Rattenbetazellen eher ein verbessertes Ueberleben hervor, eine weitere Erhoehung der Glukosekonzentration fuehrt ebenfalls zum vermehrten Zelluntergang.

Wir vermuten, dass der Unterschied in der Glukosesensitivitaet in humanen und Ratteninseln im Mechanismus der Glukose-induzierten Apoptose begruetet liegt.

In humanen Inseln induziert Glukose den Betazelluntergang ueber eine Hochregulierung der Fas-Rezeptoren, die dann mit den Fas-Liganden (FasL), die konstitutiv in den benachbarten Betazellen exprimiert sind, interagieren.

Der FasL ist in Inseln von 2-3 Monate alten Ratten, ein Alter, bei dem Ratteninseln normalerweise isoliert werden, nicht vorhanden. Waehrend also Glukose -induzierte Fas-Rezeptoren mit dem FasL in humanen Inseln interagieren, ist dies in jungen Ratten nicht moeglich. In 2-3 Monate alten Ratten fuehrt ein Anstieg von 5.5 auf 11.1 mM Glukose zu sinkender Apoptose, die jedoch mit weiter steigender Glukosekonzentration wieder ansteigt.

Ergebnisse: In Inseln von 7–8 Monate alten Ratten fuehrt ein Anstieg der Glukosekonzentration von 5.5 auf 33.3 mM zu einem dosisabhaengigem linearen Anstieg der Betazellapoptose. FasL war immer vorhanden, und die Fas-Rezeptorexpression erhoehte sich mit steigender Glukose. Konsistent mit dieser Beobachtung fanden wir eine starke Korrelation zwischen dem Alter der humanen Organspaender und der Sensitivitaet zu Glukose-induzierter Apoptose in humanen Inseln.

Schlussfolgerung: Diese Ergebnisse liefern eine Erklarung fuer die hoehere Inzidenz des Typ-2-Diabetes im hoeheren Alter.

V-111

Charakterisierung der Insulinresistenz und Präatherosklerose bei jungen Erwachsenen im Alter unter 20 Jahren: Einflüsse von Rauchen und Lebensstil

*Konrad T.⁽¹⁾, Bär F.⁽¹⁾, Füllert S.⁽¹⁾, Karg S.⁽¹⁾, Böhles H.⁽²⁾, Zuchhold H.-D.⁽³⁾, Marbs S.⁽¹⁾, Volz D.⁽¹⁾, Volz N.⁽¹⁾, Schneider F.⁽¹⁾, Lübben G.⁽⁴⁾, Vetter G.⁽¹⁾
⁽¹⁾Institut für Stoffwechselforschung-Frankfurt Akadem. Lehrinrichtung der J.W.Goethe-Universität, Frankfurt am Main, ⁽²⁾Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin I der Universitätsklinik Frankfurt, Frankfurt am Main, ⁽³⁾Institut für Stoffwechselforschung-Frankfurt Akadem. Lehrinrichtung der J.W.Goethe-Universität, Labor, Frankfurt am Main, ⁽⁴⁾Takeda Pharma, Aachen

Fragestellung: Wir untersuchten die Auswirkung von Lebensstil und Rauchen bei jungen (Alter: < 20 Jahre) Erwachsenen auf die Insulinsensitivität und Präatherosklerose.

Material und Methoden: OGTT zur Erfassung der Insulinsensitivität (SI, Matsuda-Index), Messungen der flussvermittelten Dilatation der A.brachialis (FMD als Maß der Endothelfunktion), Bestimmungen der Intima-Media-Dicke der Aorta (IMDa), A. carotis communis (ACC), Bulbus (ACB) und A. carotis interna (ACI) wurden bei 203 jungen Erwachsenen (Alter zwischen 15 und 25 Jahre) durchgeführt.

Ergebnisse: Insulinresistente (25. Perzentile) Probanden (IR) waren leicht übergewichtig ($n = 35$, $25,61 \pm 4,47$ vs. $21,25 \pm 2,49$ kg/m², $p < 0.001$) und waren überwiegend weibliche Raucher ($n = 30$ vs. $n = 7$ bei insulin sensitiven Probanden, 75. Perzentile). Durchschnittlich lag die sportlichen Aktivität bei den IR bei weniger als 1–2/Woche vgl. mit 3–4/Woche bei den insulin sensitiven Personen. Der diastolische Blutdruck war bei den IR signifikant höher ($67,86 \pm 5,78$ vs. $64,6 \pm 6,45$ mmHg; $p < 0.05$), das LDL-Cholesterin deutlich höher ($104,89 \pm 26,12$ vs. $81,75 \pm 23,95$ mg/dl, $p < 0.01$). Kein Proband erfüllte die Kriterien des Metabolischen Syndromes bei Adoleszenten. Die FMD war deutlich niedriger ($5,91 \pm 2,74$ vs. $9,27 \pm 3,81$ %). Die IMD der Aorta und der ACC unterschied sich nicht zwischen beiden Gruppen. Die IMD des Bulbus und der ACI war bei den IR deutlich erhöht: $ACB 0,80 \pm 1,72$ vs. $0,43 \pm 0,076$ mm, $p < 0,01$; $ACI 0,38 \pm 0,078$ vs. $0,33 \pm 0,062$ mm, $p < 0.05$).

Schlussfolgerung: In dieser Untersuchung waren 39,2 % der jungen Erwachsenen insulinresistent. Der Phänotyp des übergewichtigen Erwachsenen, typisch zur Erfassung der Insulinresistenz, ist nicht vorhanden. Vielmehr Rauchen, Bewegungsmangel und weibliches Geschlecht als Übergewicht ist bei Erwachsenen unter 20 Jahren mit Insulinresistenz und Präatherosklerose assoziiert.

V-112

Untersuchungen zum Ernährungsverhalten in der BABYDIÄT-Studie, einer Ernährungsinterventions-Studie zur Prävention von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes bei erstgradigen Verwandten von Personen mit Typ-1-Diabetes

*Knopff A.⁽¹⁾, Marienfeld S.⁽¹⁾, Hummel S.⁽¹⁾, Ziegler A.-G.⁽¹⁾

⁽¹⁾Institut für Diabetesforschung, München

Hintergrund: Gluten im frühen Kindesalter ist bei genetischer Belastung mit einem hohen Risiko für Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes (T1D) verknüpft. Diese Beobachtung führte zur BABYDIÄT-Interventionsstudie, die untersucht, ob eine spätere Glutenexposition das Auftreten von Inselantikörpern (Insel-AK) und T1D verhindern kann. Teilnehmen können Babys < 3 Monate (M) mit einem erstgradigen Verwandten mit T1D und einem T1D-assoziierten HLA-Risikogenotyp. Teilnehmer werden in 2 Interventionsgruppen (IG) randomisiert; Einfuhr von Gluten im 6./12. Lebensmonat (LM). Bis zum 3. Lebensjahr werden alle 3 M Blutproben zur Insel-Ak-Bestimmung und Ernährungsprotokolle gesammelt. Ziel unserer Analyse ist zu sehen, ob die BABYDIÄT-Interventions-Teilnehmer das Ernährungsverhalten der Kinder ändern.

Methodik: Zur Analyse kamen Daten von 52 Kindern der BABYDIÄT-IG und Daten von 189 Kindern ohne Risikogenotyp („low risk“). Als Vergleich dienten Daten von 1460 Kindern der unbehandelten BABYDIAB-Population (1989–99).

Ergebnisse: In allen Gruppen stillten Mütter mit T1D signifikant seltener als Mütter ohne T1D ($p < 0,001$). Sowohl bei Müttern mit als auch ohne T1D lag die Gesamt-Stilldauer höher in der BABYDIÄT-Studie als bei BABYDIAB (Median: 28 (IQR 8–41) vs. 16 (IQR 3–32) Wochen, $p < 0,001$). Bei BABYDIÄT gab es keine Unterschiede im Stillverhalten und in der Gabe von glutenfreier Beikost zwischen Kindern der IG und den „low risk“-Kindern. In den IG wurde Gluten durchschnittlich im 12.LM (IQR 12–12) bzw. im 6,5 (IQR: 6–7) LM je nach Randomisierung eingeführt. Kein Kind in den IG erhielt Gluten vor dem 4.LM, dagegen erhielten 0,7 % der „low risk“- und 1,5 % der BABYDIAB-Kinder Gluten bereits vor dem 4. LM.

Schlussfolgerung: Eine verzögerte Gluteneinfuhr im Säuglingsalter zur Prävention von Inselautoimmunität und T1D ist durchführbar und verändert nicht das Stillverhalten sowie die Einführung von glutenfreier Beikost. Das Stillverhalten unterscheidet sich bei Müttern mit und ohne T1D. Die Stilldauer von Kindern aus Familien mit T1D hat in den letzten Jahren in Deutschland zugenommen.

V-113

Nimmt die Prävalenz des Typ-2-Diabetes mellitus (Dm2) bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland zu?

*Sindichakis M.⁽¹⁾, Höfler R.⁽¹⁾, Dunstheimer D.⁽¹⁾, Kirndörfer C.⁽²⁾, Rottland R.⁽²⁾, Reinhardt R.⁽¹⁾, Segerer H.⁽²⁾, Heidemann P. H.⁽¹⁾

⁽¹⁾1. Klinik für Kinder und Jugendliche, Pädiatrie, Augsburg, ⁽²⁾Klinik für Kinder und Jugendmedizin St. Hedwig, Pädiatrie, Regensburg

Fragestellung: Weltweit wird eine Zunahme des Dm2 in Verbindung mit einem Anstieg der Adipositas beobachtet. Während in Amerika bei 8–45 % aller Diabetes-Manifestationen (M) bei

Kindern und Jugendlichen (KuJ) ein Dm2 diagnostiziert wird, trifft dies in Deutschland (D) bei nur 0,48 % zu (Stand Mai 2001). Eine Zunahme des Dm2 bei KuJ konnte für D bislang noch nicht belegt werden. In 2 pädiatrischen Diabeteszentren (Augsburg/Regensburg) wurden in den Jahren 2000–2004 n = 452 Patienten (P) betreut; von 202 M hatten 5 P einen Dm2.

Ergebnisse: Patienten: 3/5 männlich, Alter 9,9–16,4 Jahre. BMI + 2,16–3,34 SDS (Adipositas).

Diagnostische Kriterien: 4/5 Polyurie und Polydipsie wie bei Dm1; 5/5 Blutzucker > 300 mg/dl. HbA1c 7,5–10,8 %. 0/5 Ketoazidose; 0/5 diabetesspezifische Antikörper (dAk).

Therapie: 3 P wurden i. v. s. c. mit Insulin behandelt, davon benötigten 2 über längere Zeit s. c.-Insulin; bei allen P wurde nach Erhalt der negativen dAk Metformin eingesetzt. 3 P wiesen ein metabolisches Syndrom auf, das sich bei 2 P mit Gewichtsreduktion und Abnahme des BMI normalisierte. Alle P erhielten eine intensive Schulung, Ernährungsberatung und psychosoziale Betreuung. 3 P brachen die Behandlung ab.

Schlussfolgerung: Die Typ-2-Diabetes-Häufigkeit von 2,5 % in unserer Kohorte scheint für eine Zunahme des Dm2 bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland zu sprechen. Deutschland- und europaweite Studien zu Prävalenz, Prävention und Therapie sind dringend notwendig. Der Verlauf der 5 Patienten zeigt, dass die Therapie aufwendig ist, multidisziplinär erfolgen sollte und Erfolgsaussichten unsicher sind. Die Prävention der Adipositas bei Kindern und Jugendlichen ist eine wesentliche zukünftige gesundheitspolitische Aufgabe.

V-114

Nützlichkeit des Diabetes-Risiko-Scores zur Entdeckung einer gestörten Nüchtern glukose und eines Diabetes mellitus

* Kulzer B.⁽¹⁾, Hermanns N.⁽¹⁾, Ebert M.⁽¹⁾, Benecke A.⁽²⁾, Krichbaum M.⁽¹⁾, Haak T.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Mergentheim (FIDAM), Mergentheim,
⁽²⁾ Universität Mainz, Psychologisches Institut, Mainz

Fragestellung: Die einfache Identifikation von Risikopersonen, welche von Präventivmaßnahmen profitieren, stellt ein großes Problem der Diabetesprävention dar. Wir untersuchten den Nutzen des von Lindström & Tuomilehto entwickelten Diabetes-Risiko-Scores, um Personen mit einer gestörten Nüchtern glukose (IFG) oder unentdecktem Diabetes zu identifizieren.

Material und Methoden: 845 Angestellte eines großen Industriebetriebes und der Stadt Erlangen bearbeiteten die deutsche Version des Diabetes-Risiko-Scores (8 Items). Personen mit einem Risiko-Score > 9 wurden zu einer Nüchtern glukosebestimmung eingeladen.

Ergebnisse: Insgesamt erreichten 434 Personen (51,4 %) einen Risiko-Score > 9, von denen bei 391 Personen eine Nüchtern glukosebestimmung vorgenommen wurde (90 %). Die Kriterien einer IFG erfüllten 53 Personen (13,5 %), bei 26 Personen (6,6 %) lag ein bisher unentdeckter Diabetes mellitus vor. Bei dem benutzten Cut-Off-Wert > 9 lag eine sehr geringe Spezifität vor. Die Fläche unter der ROC-Kurve betrug lediglich 65. Eine befriedigendere Spezifität wird bei Cut-Off-Werten von 14 bzw. 16 (60 % bzw. 0,83 %) erreicht. Dies geht jedoch zu Lasten einer abnehmenden Sensitivität (bei 14: 58 % bzw. bei 16: 48 %).

Schlussfolgerung: Der Diabetes-Risiko-Score wurde ursprünglich zur Vorhersage des zukünftigen Diabetesrisikos konzipiert. Entsprechend der Analyse der ROC-Kurven ist in unserer Stichprobe die Eignung des Diabetes-Risiko-Scores zur Identifikation von Personen mit vorliegendem IFG oder unentdecktem Diabetes eher gering. Ein Cut-off > 9 führt zu einer Häufung „falsch positiver“ Screeningbefunde. Unter dem Gesichtspunkt einer höheren Spezifität erscheint ein Cut-off-Score von 14 oder 16 in unserer Population angemessen, um die Anzahl unnötiger Nüchtern glukosebestimmungen zu senken. Dies führt allerdings zu einer verminderten Sensitivität.

Insulinsignalübertragung

V-115

Adiponectin prevents the release of insulin-resistance inducing factors from human adipocytes

* Sell H.⁽¹⁾, Dietze-Schroeder D.⁽¹⁾, Uhlig M.⁽¹⁾, Eckel J.⁽¹⁾

⁽¹⁾ DDZ, Inst für Klin Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf

Objective: Adipose tissue secretes a variety of factors that influence insulin sensitivity in skeletal muscle. The adipocytokine adiponectin is the only known positive regulator of insulin sensitivity. Its plasma concentration is decreased in obese and diabetic patients.

In the present study, we analyzed the effect of adiponectin on the potency of adipocyte-conditioned media (CM) to induce insulin resistance in skeletal muscle cells. Furthermore, we aimed to study the effect of adiponectin on the cytokine profile of CM.

Material and Methods: CM was generated using cultures of differentiated adipocytes derived from healthy subjects and treated with 5 nM adiponectin. Primary human skeletal muscle cells were treated with CM generated in the presence or absence of adiponectin and insulin signaling and GLUT4 translocation were assessed. The composition of CM was analyzed using cytokine protein arrays.

Results: Incubation of skeletal muscle cells with CM resulted in reduced insulin-stimulated Akt phosphorylation and GLUT-4 translocation. Generation of CM in the presence of adiponectin prevents this loss of insulin sensitivity. The positive effect of adiponectin on insulin sensitivity is clearly adipocyte-dependent since concomitant addition of adiponectin and CM failed to restore insulin sensitivity in skeletal muscle. Differences between CM generated in the presence and absence of adiponectin were analyzed using a cytokine protein array measuring 120 cytokines. We found more than 20 cytokines to be secreted from adipocytes of which 9 were reduced by up to 60 % in response to adiponectin, including IL-6, IL-8, MCP-1, MIP-1 α/β , TIMP-1 and TIMP-2.

Conclusions: In this study, we show that adiponectin acts as a positive regulator of insulin sensitivity in skeletal muscle cells. Adiponectin may function as an autocrine regulator of adipocyte secretion regulating adipokines such as IL-6, IL-8 and several members of the small inducible cytokine family. The autocrine action of adiponectin represents a novel mechanism that may explain its antidiabetic action.

V-116

Recruitment of GLUT8 to the endocytic machinery occurs via direct interaction of the dileucine motif and β 2 adaptin

* Schmidt U.⁽¹⁾, Briese S.⁽¹⁾, Schürmann A.⁽¹⁾, Joost H.-G.⁽¹⁾, Al-Hasani H.⁽¹⁾

⁽¹⁾ German Institute of Human Nutrition, Department of Pharmacology, Potsdam, Germany

Background and aims: The glucose transporter GLUT8 recycles between intracellular vesicles and the plasma membrane. Like the insulin-responsive glucose transporter GLUT4, GLUT8 is primarily located in intracellular compartments under basal conditions, but the distribution of GLUT8 is not affected by insulin. Mutation of the N-terminal dileucine motif in GLUT8 leads to cell-surface localisation of the transporter in a variety of different cell types. Likewise, when endocytosis is blocked by co-expression of a dominant-negative mutant dynamin (DynK44A), GLUT8 also accumulates at the plasma membrane. The aim of the present study was to characterize the molecular function of the LL motif in the endocytosis of GLUT8.

Material and Methods: We have used the yeast two-hybrid system to identify GLUT8-binding proteins, and RNA interference (RNAi) to generate cells where GLUT8 binding proteins were knocked down. Moreover, confocal microscopy was used to study the subcellular distribution of GLUT8 in these cells.

Results: In Yeast two-hybrid analyses we have identified the N-terminal LL-motif as a specific binding site for β 2 adaptin (subunit of the heterotetrameric AP-2 complex). The AP-2 complex was specifically knocked down using RNA interference. As a result of cellular AP-2 depletion, GLUT8 accumulates on the plasma membrane comparable to the levels observed in DynK44A transfected cells.

Conclusions: Our data demonstrate for the first time that recruitment of GLUT8 to the endocytotic machinery occurs via direct interaction of the dileucine motif and β 2-adaptin. Thus, both depletion of AP-2 or mutation of the AP-2 binding site in GLUT8 (LL/AA) leads to an accumulation of GLUT8 on the plasma membrane. Finally, our data suggest that endocytosis might be the main site at which GLUT8 is likely to be regulated.

V-117

The Glucose Transporter 8 (GLUT8) contains an EXXXLL targeting motif and localizes to a late endosomal/lysosomal compartment* Augustin R.⁽¹⁾, Riley J.⁽²⁾, Moley K. H.⁽²⁾⁽¹⁾ German Institute of Human Nutrition (DIFE) Potsdam-Rehbrücke, Potsdam-Rehbrücke, ⁽²⁾ Washington University in St. Louis, Ob/Gyn, St. Louis, MO, USA

GLUT8, which is mainly expressed in testis, brain and liver, harbors an internalization signal (dileucine) and localizes to a thus far unidentified intracellular compartment. Studies in mouse blastocysts showed that GLUT8 translocates to the plasma membrane in response to insulin, like GLUT4. In contrast, in differentiated cells (neuronal cells, adipocytes) the stimulus for GLUT8 redistribution has not been identified. Previous data suggested that GLUT8 is a recycling transporter that is endocytosed in a clathrin-dependent manner requiring dynamin and the dileucine motif. To reveal the functional/physiological role of GLUT8 we studied its subcellular localization using transient and stable overexpression of the transporter in 3T3L1, HEK293 and CHO cells. Applying subcellular fractionation, confocal and immuno-electron microscopy, FACS, coexpression of a dominant-negative dynamin, site-directed mutagenesis and antibody internalization we show that: 1) GLUT8 does not colocalize with GLUT4; 2) insulin, membrane depolarization (ionophore) or okadaic acid (phosphatase-inhibition) do not redistribute GLUT8 to the plasma membrane; 3) once endocytosed in a dynamin dependent fashion, GLUT8 does not recycle to the plasma membrane; 4) GLUT8 colocalizes with late endosomal (rab7 and rab9) and lysosomal markers (LAMP1); 5) GLUT8 rims membranes of FITC-Dextran-labeled lysosomes and localizes to sucrosomes (sucrose swollen lysosomes). An interspecies GLUT8-sequence alignment revealed the presence of a highly-conserved late endosomal/lysosomal targeting motif (EXXXLL). Changing the acidic residue (QE in mouse) to arginine as found in GLUT4 (RRXXXLL) leads to plasma membrane localization and abolishes GLUT8 endocytosis. In summary, our data indicate that GLUT8 is not located in recycling vesicles and does not colocalize with GLUT4. We hypothesize that GLUT8 transports hexoses across lysosomal membranes, a transport mechanism that has long been suggested, but unexplained.

V-118

Duale Funktion der PKC- ζ vermittelten Serin-318- Phosphorylierung von Insulinrezeptorsubstrat-1 im Skelettmuskel?* Lehmann R.⁽¹⁾, Weigert C.⁽¹⁾, Hennige A. M.⁽¹⁾, Schleicher E.⁽¹⁾, Häring H.-U.⁽¹⁾⁽¹⁾ Universitätsklinik Tübingen, Innere Medizin 4, Tübingen

Die Insulinsignalübertragung wird durch die Serin-(S)-Phosphorylierung von IRS-1 positiv und negativ moduliert. Unlängst konnten wir in BHK-Zellen zeigen, dass eine Phosphorylierung von S-318 in IRS-1 durch PKC- ζ zur Abschwächung von proximalen Schritten der Insulinsignalübertragung führt.

Fragestellung: a) welche Insulinresistenz-assoziierten Faktoren beeinflussen die Phosphorylierung von S-318 im Skelettmuskel, b) welche patho/physiologische Funktion hat diese Stelle im Skelettmuskel, und c) welche PKC vermittelt im Skelettmuskel diese Phosphorylierung.

Material und Methoden: Die Extrakte (Muskelzellkultur, Gewebeprobe) wurden mit dem zuvor von uns charakterisierten, spezifischen pS-318-Antikörper (Ak) sowie kommerziellen Insulin-signal-Ak untersucht. Die funktionelle Rolle wurde durch Mutation von S-318->Ala und S-318->Glu in IRS-1 analysiert.

Ergebnisse: Insulinresistenz-auslösende Faktoren, die zu einer Phosphorylierung von S-318 in humanen Myotuben führen, sind 10 nM Insulin, Phorbol ester und 20 ng/ml IGF-1. Auch die in-vivo-Insulinstimulation verstärkte im Skelettmuskel, nicht aber in der Leber, von Mäusen die Phosphorylierung von S-318. Die funktionelle Rolle bei der Insulinsignalübertragung, untersucht in mit IRS-1-Wildtyp, oder Ala-318 (permanent unphosphoryliert), oder Glu-318 (imitiert eine permanente Phosphorylierung) transfizierten Muskelzellen, zeigte interessanterweise eine duale Rolle der Phosphorylierung von S-318. Bei langanhaltender Insulinstimulation (60 min) ist sie an der Abschwächung der Signalübertragung und Glukoseaufnahme beteiligt, scheint aber bei der Kurzzeitstimulation (10 min) für die maximale Wirkung des Insulins notwendig zu sein. Der Einsatz von PKC-Isoform spezifischen Inhibitoren zeigte, dass die Insulin-induzierte Phosphorylierung von Ser-318 auch im Muskel durch die atypischen PKC- ζ vermittelt wird.

Schlussfolgerung: Somit liefern unsere Resultate Hinweise auf eine gewebsspezifische, duale Funktion der PKC-zeta-vermittelten Phosphorylierung von S-318, deren Effekte auf die Insulinsignalübertragung von der Dauer der Insulinstimulation abhängen.

V-119

Verminderte insulinotrope Wirkung von Gastric Inhibitory Polypeptide (GIP) bei Typ-2-Diabetes ist nicht durch Tachyphylaxie verursacht.* Holle H.⁽¹⁾, El-Ouaghli A.⁽¹⁾, Nauck M. A.⁽¹⁾⁽¹⁾ Diabeteszentrum, Stoffwechselforschung, Bad Lauterberg

Fragestellung: Typ-2-Diabetes ist durch einen reduzierten Inkretineffekt charakterisiert, weil die insulinotrope Wirkung von GIP reduziert ist, während GLP-1 wirksam bleibt. Vilsbøll et al. (Diabetologia 2002; 45: 1111) zeigten bei Typ-2-Diabetes unter intravenöser GIP-Bolusinjektion eine stärkere insulinotrope Wirkung als bei Infusion. Dies kann auf Tachyphylaxie innerhalb von Stunden hinweisen. Wir verglichen daher den GIP-Effekt bei wiederholter Bolusinjektion und Infusion.

Material und Methoden: Zehn Gesunde (keine Verwandten mit Diabetes; 5 Frauen; 57 \pm 9 J.; BMI 30,4 \pm 2,7 kg/m²), 10 Typ-2-Diabetiker (5 F.; 58 \pm 6 J.; BMI 31,1 \pm 6,0 kg/m²) und 10 erstgradig Verwandte (5 F.; 57 \pm 8 J.; BMI 30,4 \pm 5,1 kg/m²) erhielten in randomisierter Reihenfolge während hyperglykämischer Clamps (150 mg/dl, 210 min) eine intravenöse Infusion (2 pmol/kg/min) von 30 bis 180 min oder zwei Injektionen bei 30 und 120 min (50 pmol/kg) von humanem synthetischem GIP. Gemessen wurden Insulin und C-Peptid. Die statistische Auswertung erfolgte mit ANOVA.

Ergebnisse: Unter GIP-Infusion betragen die integrierten Anstiege von Insulin und C-Peptid 4480 \pm 1108 mU*min/l und 452 \pm 51 ng*min/ml bei Gesunden, 1704 \pm 456 mU*min/l und

252 ± 56 ng*min/ml (beide $p < 0,05$) bei Typ-2-Diabetikern und 6681 ± 1500 mU*min/l (n. s.) und 713 ± 81 ng*min/ml ($p < 0,05$) bei erstgradig Verwandten. GIP-Injektionen führten zu raschem Insulin- und C-Peptid-Anstieg, der ebenfalls tendenziell bei Typ-2-Diabetikern niedriger und bei erstgradig Verwandten höher war als bei Gesunden. In keiner Gruppe gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Insulin-Sekretions-Antwort auf den ersten und zweiten GIP-Bolus.

Schlussfolgerung: (1) Weder Personen mit Typ-2-Diabetes noch erstgradige Verwandte zeigten eine schnelle Tachyphylaxie der insulinotropen Wirkung auf wiederholte GIP-Injektionen. (2) Die Abnahme der Wirkung während einer Hyperglykämie bei Typ-2-Diabetes ist bei Infusion und Injektion von GIP ähnlich. (3) Anders als bei früheren Studien zeigten erstgradig Verwandte keine Beeinträchtigung der GIP-Wirkung.

V-120

Personen mit gestörter Nüchtern glukose und gestörter Glukosetoleranz unterscheiden sich nicht in der schnellen Phase der Insulinsekretion, aber in der späten Phase

* Julius U.⁽¹⁾, Metzler W.⁽²⁾, Hanefeld M.⁽²⁾, Schwanebeck U.⁽³⁾, Fischer S.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Medizinische Klinik III, Bereich Diabetologie/Klin. Stoffwechselkrankheiten, Dresden, ⁽²⁾ Gesellschaft für Wissens- und Technologie-Transfer, Zentrum für Klinische Studien, Dresden, ⁽³⁾ Medizinische Fakultät, Zentrum für Klinische Studien, Dresden

Fragestellung: Ziel der Untersuchung war es, die Insulinsekretion in den Stadien impaired fasting glucose und impaired glucose tolerance zu bestimmen.

Material und Methoden: In die Untersuchungen wurden 790 Personen aus Familien mit einem gehäuften Vorkommen des Metabolischen Syndroms einbezogen. Wir führten nach einer mindestens 12stündigen Nüchternperiode einen 75 g oralen Glukosetoleranztest (oGTT) durch mit Bestimmung von Plasmaglukose, Insulin und Proinsulin. Die Probanden wurden anhand der Ergebnisse des 75 g oGTT nach den ADA/WHO-Kriterien in die folgenden Gruppen eingeteilt: Normale Glukosetoleranz (NGT), gestörte Nüchtern glukose (IFG), gestörte Glukosetoleranz (IGT) und Diabetes mellitus Typ 2 (DM2). Die Insulinsekretion (IS) wurde mittel des Quotienten (Insulin 30' – Insulin 0')/(Plasmaglukose 30' – Plasmaglukose 0') und der Insulinsekretion 120 Minuten nach Glukosegabe beurteilt. Die statistische Aufarbeitung erfolgte mittels ANOVA und multiplem Mittelwertvergleich.

Ergebnisse: 529 Personen (67,0 %) hatten eine NGT, 47 (5,9 %) eine IFG, 139 (17,6 %) eine IGT und 75 (9,5 %) einen bisher nicht bekannten Diabetes. Der Insulinsekretionsindex lag bei Personen mit NGT signifikant höher als in den 3 Stadien mit pathologischer Glukosetoleranz (NGT 136,0, IFG 90,2, IGT 92,7; DM2 50,4; $p < 0,05$). Die Insulinspiegel 120 Minuten nach Glukosegabe waren in der NGT- und IFG-Gruppe signifikant niedriger als bei Personen mit IGT und DM2 (Insulin 120 Minuten: NGT 273,4, IFG 308,7, IGT 678,5, DM2 610,5 pmol/l). Die Proinsulin-Nüchtern-Spiegel unterscheiden sich signifikant (NGT 1,9, IGF 3,9, IGT 2,7, DM2 5,3 pmol/l) ebenso wie die Proinsulinspiegel nach 120 min (NGT 11,7, IFG 16,3, IGT 19,6, DM2 21,9 pmol/l – Differenz von IGT und DM2 nicht signifikant).

Schlussfolgerung: Personen mit IFG und IGT unterschieden sich nicht in der raschen Phase der Insulinsekretion, aber in der späten Phase der Insulinsekretion. Die erhöhten postprandialen Proinsulin-Spiegel weisen auf einen erhöhten Stress der B-Zellen bei IGT und DM2 hin.

V-121

Heat Shock Protein 90 (Hsp90) als Modulator des Insulinsignalwegs

* Stosik M.⁽¹⁾, Deckers-Thomas K.⁽¹⁾, Sell H.⁽¹⁾, Eckel J.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf

Fragestellung: Das Hsp90 liegt zellulär als Komplex mit der Serinkinase Akt vor und besitzt die Fähigkeit, das Insulinsignal auf der Ebene der Akt-Aktivierung zu modulieren. Das geschieht einerseits durch die Stabilisierung des Akt-Proteins, andererseits durch die Signaldämpfung aufgrund einer Hsp90-vermittelten beschleunigten Akt-Dephosphorylierung. Die Bedeutung dieser zellulären Signalmodulation im Kontext der Insulinresistenz wurde bisher nicht untersucht.

METHODIK: Zur Auslösung einer Insulinresistenz wurden subkonfluente Monolayer der Muskelzelllinie H9c2-E2 über Nacht mit jeweils 100 nM Insulin und/oder 20,5 mM Glukose inkubiert. Anschließend wurden die Zellen zweimal gewaschen und nach einstündiger serumfreier Inkubation einem 5-minütigen Insulinstimulus (100 nM) ausgesetzt. Die Inhibierung des Hsp90 erfolgte mittels 30-minütiger Inkubation der Zellen mit Geldanamycin.

Ergebnisse: Die Vorinkubation mit hohen Glukose- und Insulinkonzentrationen ergab eine additive Abnahme der Akt-Phosphorylierung und damit der akuten Insulinwirkung um ca. 60 %. Die zelluläre Expression der Akt und des Hsp90 wurde nicht beeinflusst. Die Vorinkubation verursachte keine wesentliche Änderung der Menge bzw. der Phosphorylierbarkeit des Insulinrezeptors zum Zeitpunkt des 5-minütigen Insulinstimulus. Eine Hemmung des Hsp90 mit Geldanamycin erhöhte die insulinbedingte Akt-Phosphorylierung der unbehandelten Kontrolle um ca. 30 %. Im Resistenzmodell führte die Geldanamycin-Behandlung zu einer Verdopplung der Akt-Phosphorylierung, die dadurch von ca. 40 % auf ca. 80 % verglichen mit der nicht resistenten Kontrollsituation anstieg.

Schlussfolgerung: Inhibierung des Hsp90 führt akut zu einem deutlichen Rückgang der Insulinresistenz auf der Ebene der Akt-Phosphorylierung im Zellmodell, während sie in der Kontrollsituation lediglich einen leichten Anstieg der Signalstärke bewirkt. Die verstärkte Dephosphorylierung von Akt unter Beteiligung von Hsp90 könnte somit an der Auslösung der Insulinresistenz beteiligt sein.

V-122

Characterization of the human *SLC2A11* (GLUT11) gene: alternative promoter usage and splicing, tissue-specific expression, and function of three isoforms

* Scheepers A.⁽¹⁾, Schmidt S.⁽¹⁾, Cheeseman C. I.⁽²⁾, Joost H.-G.⁽¹⁾, Schürmann A.⁽¹⁾
⁽¹⁾ German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbrücke, Department of Pharmacology, Potsdam-Rehbrücke, ⁽²⁾ University of Alberta, Edmonton, Department of Physiology, Alberta, Canada

The passive transport of sugars across biological membranes is facilitated by members of the GLUT family (GLUT1–14). We have previously identified GLUT11 (gene symbol: *SLC2A11*), a class II glucose transporter which exhibits highest similarity to the fructose transporter GLUT5. We also demonstrated that separate exons 1 (exon 1A, exon 1B, and exon 1C) of the *SLC2A11* gene generate mRNAs of three GLUT11 variants (GLUT11-A, GLUT11-B and GLUT11-C) that differ in the amino acid sequence of their N-termini. Here we describe that all three 5'-flanking regions of exon 1A, exon 1B and exon 1C exhibited promoter activity when expressed as luciferase fusion constructs in COS-7 cells. 5'-RACE-PCR, quantitative real-time PCR, and Northern blot analysis performed with specific probes for exon 1A, 1B and 1C demonstrated that GLUT11-A is expressed in heart, skeletal muscle and kidney, GLUT11-B in kidney, adipose tissue, and placenta, and GLUT11-C in adipose tissue, heart, skeletal muscle, and pancreas. Surprisingly, hybridization of a Southern "zoo" blot with a human GLUT11 cDNA probe indicated that rodents lack the *SLC2A11* gene while orthologs of the human *SLC2A11* gene were detected in genomic DNA of dog, cow, pig, and rabbit. In order to compare glucose transport activity and substrate specificity of GLUT11-A-C we measured transport activity of glucose, fructose and galactose in *Xenopus laevis* oocytes expressing GLUT11-A-C. All isoforms are bi-functional sugar transporters for both glucose and fructose but not for galactose. Our data indicate that different promoters and splicing of the human *SLC2A11* gene generate three GLUT11 isoforms which are tissue specific but do not appear to differ in their functional characteristics.

V-123

Einfluss antioxidativer Enzyme auf die UCP-2 Genexpression in insulinproduzierenden Zellen

* Gurgul-Convey E.⁽¹⁾, Lortz S.⁽¹⁾, Lenzen S.⁽¹⁾
⁽¹⁾ Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover

Fragestellung: Das mitochondriale Entkopplerprotein uncoupling protein-2 (UCP-2) wurde als wichtiger Faktor von Insulinsekretionsstörungen identifiziert. Als zusätzliche Funktion des Proteins wird eine Verringerung der Sauerstoffradikalbildung durch die vermittelten Entkopplungsprozesse postuliert. Es wurde daher untersucht, welchen Effekt erhöhte antioxidative Enzymaktivitäten auf die UCP-2-Expression in insulinproduzierenden RINm5F-Zellen haben.

Material und Methoden: Antioxidative Enzyme wurden stabil in RINm5F-Zellen überexprimiert (MnSODsense, Zyto-Katalase, Mito-Katalase, CuZnSOD oder GPx) oder stabil reprimiert (MnSODantisense). Die UCP-2-Expression wurde mittels quantitativer Realtime PCR analysiert.

Ergebnisse: In allen analysierten RINm5F-Zellklonen konnte keine UCP-1- oder UCP-3-Expression nachgewiesen werden. Sowohl nach zytoplasmatischer als auch nach mitochondrialer Katalaseüberexpression konnte ein signifikanter Anstieg der UCP-2-Expression beobachtet werden (Zyto-Kat: 330 %, Mito-Kat: 690 % der Kontrollen). Überexpression der Glutathionperoxidase (GPx) resultierte ebenfalls in einem signifikanten Anstieg der UCP-2-Expression auf 630 % des Kontrollwertes. Erhöhte MnSOD-Expression (MnSODsense) führte zu einem Anstieg der UCP-2-Expression auf 270 %, während die Suppression der MnSOD (MnSODantisense) keine signifikante Veränderung verursachte (150 %). Überexpression der CuZnSOD resultierte in einer Verdopplung der UCP-2-Expression im Vergleich zu Kontrollzellen.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse dieser Studie zeigen neue Regulationsprinzipien der UCP-2-Expression in insulinproduzierenden Zellen auf. Reaktive Sauerstoffspezies, insbesondere Wasserstoffperoxid, wirken modulierend auf die UCP-2-Expression. Besonders hohe UCP-2-Expressionsniveaus wurden nach Überexpression der Wasserstoffperoxid-inaktivierenden Enzyme Katalase und GPx gemessen, speziell bei mitochondrialer Lokalisation (mitochondriale Katalase, GPx). Da diese Zellklone über einen erhöhten Schutz gegenüber Zytokintoxizität verfügen, scheint eine erhöhte UCP-2-Expression unter diesen Bedingungen nicht zellschädigend zu sein.