

42. Jahrestagung der Deutschen Diabetes-Gesellschaft

Ort/Datum: **Hamburg, 16. – 19. Mai 2007**

Tagungspräsident: Prof. Dr. Peter Nawroth, Heidelberg

Freie Vorträge

Freie Vorträge 1 – Folgeerkrankungen

V1

Wirkung von Ruboxistaurin auf den Visusverlust bei Patienten mit diabetischer Retinopathie

Kazda C¹, Bachmann O¹, Sheetz M², Zhi X², Davis MD³, Milton RC⁴, Aiello LP⁵, PKC-DRS2 Study Group
¹Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg, Germany, ²Lilly Research Laboratories, Indianapolis, United States of America, ³University of Wisconsin, Madison, United States of America, ⁴EMMES Corporation, Rockville, United States of America, ⁵Harvard Medical School, Joslin Diabetes Center, Boston, United States of America

Fragestellung: Bei Patienten mit fortgeschrittener, nicht-proliferativer diabetischer Retinopathie (NPDR) ist das Risiko eines Sehverlustes hoch. Ziel der Phase-III-Studie PKC-DRS2 war es, den Effekt von Ruboxistaurin (RBX), ein selektiver Inhibitor der Proteinkinase C beta (PKC β), auf den Sehverlust bei Diabetespatienten zu untersuchen. **Methodik:** In die multizentrische, randomisierte, plazebokontrollierte Doppelblindstudie über drei Jahre wurden insgesamt 685 Patienten an 70 Zentren eingeschlossen, die entweder RBX 32 mg/Tag per os (n=345) oder Placebo (n=340) erhielten. Eingeschlossen wurden Patienten mit mittelschwerer bis sehr schwerer NPDR (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study [ETDRS]-Retinopathie-Score $\geq 47A$ und $\leq 53E$) ohne vorherige panretinale Laserkoagulation, mit einem best-korrigierten Visus von ≥ 45 Buchstaben in mindestens einem Studienauge. Ophthalmologische Untersuchungen wurden bei der Eingangsuntersuchung und danach alle 3 Monate durchgeführt. Der Retinopathie-Status wurde mittels standardisierter ETDRS-Fundusphotographie mit 7 stereoskopischen 30-Grad-Feldern bestimmt. Der Schweregrad der Retinopathie und des diabetischen Makulaödems wurde von zwei unabhängigen Ratern beurteilt, die bezüglich Behandlungsgruppe und Zentrum verblindet waren; mit zusätzlicher unabhängiger Entscheidungsfindung falls erforderlich. Primärer Studienendpunkt war ein moderater, anhaltender Sehverlust (definiert als Reduktion der Sehschärfe um ≥ 15 Buchstaben im Sehtest auf ETDRS-Tafeln, anhaltend über mindestens 6 Monate). **Ergebnisse:** Ein moderater, anhaltender Sehverlust trat in der Placebogruppe bei 9,1% und in der RBX-Gruppe bei 5,5% der Patienten ein (40% Risikoreduktion; $p=0,034$). Die mittlere Sehschärfe nach 12 Monaten war in der RBX-Gruppe besser als in der Placebogruppe. Von Baseline bis Studienende war eine Besserung der Sehschärfe um ≥ 15 Buchstaben in der RBX-Gruppe häufiger als unter Placebo (RBX 4,9%, Placebo 2,4%), eine Verschlechterung dagegen seltener (RBX 6,7%, Placebo 9,9%) ($p=0,005$). Bei Patienten mit klinisch signifikantem Makulaödem, das an Baseline auf einen Radius $> 100 \mu\text{m}$ außerhalb des Zentrums der Makula beschränkt war, kam es in der RBX-Gruppe seltener zur Progression in den $100\text{-}\mu\text{m}$ -Radius hinein als in der Placebogruppe (68% vs. 50%, $p=0,003$). Erstmalige Lasertherapien des Makulaödems waren bei den Augen der RBX-behandelten

Patienten um 26% reduziert (relative Reduktion; $p=0,008$). **Schlussfolgerung:** In dieser Phase-III-Studie bei Patienten mit nicht-proliferativer Retinopathie reduzierte die orale Therapie mit Ruboxistaurin den Sehverlust, den Bedarf an Laser-Koagulationstherapien und die Progression der Makulaödeme, gleichzeitig stieg der Anteil an Patienten mit einer Verbesserung der Sehfähigkeit.

V2

Wirkung von Ruboxistaurin auf Albuminurie und GFR bei Patienten mit Typ-2-Diabetes und diabetischer Nephropathie

Kazda C¹, Bachmann O¹, Tuttle KR², Bakris GL³, Toto RD⁴, McGill JB⁵, Anderson PW⁶
¹Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg, Germany, ²The Heart Institute of Spokane, Spokane, Washington, United States of America, ³Rush University, Chicago, United States of America, ⁴University of Texas, Southwestern Medical School, Dallas, United States of America, ⁵Washington University, St. Louis, United States of America, ⁶Lilly Research Laboratories, Indianapolis, United States of America

Fragestellung: Ruboxistaurin (RBX) ist ein selektiver Inhibitor der Proteinkinase C beta mit nachgewiesener Wirkung auf die diabetische Nephropathie im Tiermodell. Ziel dieser Phase-2-Pilotstudie war es, den Effekt von Ruboxistaurin auf die diabetische Nephropathie beim Menschen zu untersuchen. **Methodik:** In der multizentrischen, randomisierten, plazebokontrollierten Studie über ein Jahr wurde geprüft, ob RBX in einer Dosierung von 32 mg/Tag per os bei Patienten mit Typ-2-Diabetes und diabetischer Nephropathie (n=123) den Albumin/Kreatinin-Quotient im Urin (ACR) absenken kann. Eingeschlossen waren nur Patienten mit persistierender Albuminurie (ACR 200–2000 mg/g) trotz Therapie mit ACE-Hemmer und/oder Angiotensin-Rezeptorblocker (ARB) in stabiler Dosierung seit mindestens 6 Monaten. Die Therapie mit ACE-Hemmer bzw. ARB wurde während der gesamten Studiendauer fortgesetzt. **Ergebnisse:** An Baseline unterschieden sich die beiden Behandlungsgruppen nicht signifikant (Mittelwerte \pm SD: ACR 764 ± 427 mg/g; berechnete GFR $70,0 \pm 24$ ml/min pro $1,73 \text{ m}^2$ [modifizierte MDRD Formel]; Blutdruck systolisch 135 ± 14 mm Hg, diastolisch 75 ± 9 mm Hg; HbA1c $8,0 \pm 1,2\%$). Nach einem Jahr war die ACR in der RBX-Gruppe signifikant reduziert ($-24 \pm 9\%$, $p=0,020$), in der Placebogruppe war die Änderung nicht signifikant ($-9 \pm 11\%$, $p=0,430$). Der ACR-senkende Effekt von RBX war bereits nach einem Monat messbar, erreichte nach 3 Monaten ein Maximum und blieb danach über die gesamte Studiendauer von einem Jahr erhalten. Die GFR nahm unter Placebo innerhalb eines Jahres signifikant ab ($-4,8 \pm 1,8$ ml/min pro $1,73 \text{ m}^2$, $p=0,009$), in der RBX-Gruppe war die Änderung nicht signifikant ($-2,5 \pm 1,9$ ml/min pro $1,73 \text{ m}^2$, $p=0,185$). Die Unterschiede bei ACR und GFR zwischen den Behandlungsgruppen erreichten keine statistische Signifikanz. Die Phase-2-Pilotstudie war auch nicht dafür geplant,

einen solchen Unterschied nachzuweisen; die Power lag für beide Vergleiche unter 20%. Die unerwünschten Ereignisse unter Therapie waren in beiden Behandlungsgruppen vergleichbar. **Schlussfolgerung:** In dieser Pilotstudie bei Patienten mit Typ-2-Diabetes und diabetischer Nephropathie verringerte die Therapie mit Ruboxistaurin zusätzlich zu ACE-Hemmer und/oder Angiotensin-Rezeptorblocker die Albuminurie, die GFR blieb über die gesamte Studiendauer (1 Jahr) erhalten. Bei diabetischer Nephropathie könnte daher der Einsatz von Ruboxistaurin zusätzlich zur etablierten Therapie einen Zusatznutzen aufweisen.

V3

Intravitreales Triamcinolon zur Therapie des diabetischen Makulaödems

Jonas J¹, Kampeter B¹, Harder B¹, Vossmerbaeumer U¹, Sauder G¹, Spandau U¹
¹Universitäts-Augenklinik der Medizinischen Fakultät Mannheim, Mannheim, Germany

Fragestellung: Ziel der Studie war, das Visusergebnis bei Patienten mit diffusum diabetischen Makulaödem nach einer intravitreal Injektion von Triamcinolon zu untersuchen. **Methodik:** Die prospektive randomisierte klinische interventionelle Studie beinhaltete 40 Augen (38 Patienten) mit diffusum diabetischen Makulaödem. 28 (70%) Augen erhielten eine Behandlung mit einer intravitrealen Injektion von ca. 20 mg Triamcinolon Acetonid, und 12 (30%) Augen erhielten keine Behandlung. 36 (90%) Augen hatten eine Nachbeobachtungszeit von 3 Monaten, und 32 (80%) Augen eine Nachbeobachtungszeit von 6 Monaten. **Ergebnisse:** Der Visus verbesserte sich signifikant ($P < 0,001$) in der Studiengruppe um $3,4 \pm 2,5$ Snellenlinien. In der Kontrollgruppe veränderte sich der Visus nicht signifikant während der Nachbeobachtungszeit ($P = 0,07$). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war signifikant ($P < 0,001$). In der Studiengruppe war 3 Monate nach Studienbeginn bei 11 (11/26, 42%) Augen bzw. 10 (10/26, 39%) Augen der Visus um mindestens 2 bzw. 3 Zeilen besser, während in der Kontrollgruppe 2 (2/10, 20%) Augen und 1 (1/10, 10%) Auge ähnliche Visusverbesserungen aufwiesen. In der Studiengruppe war 6 Monate nach Studienbeginn bei 11 (11/23, 48%) Augen bzw. 9 (9/23, 39%) Augen der Visus um mindestens 2 bzw. 3 Zeilen besser, während in der Kontrollgruppe 0 (0%) Augen und 0 (0%) Auge ähnliche Visusverbesserungen aufwiesen. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war für die Visusverbesserung um 2 Zeilen ($P = 0,01$) und 3 Zeilen ($P = 0,03$) signifikant. **Schlussfolgerungen:** Intravitreales Triamcinolon (20 mg) verbessert signifikant den Visus für mindestens 6 Monate bei Patienten mit diffusum diabetischen Makulaödem.

V4

Identifizierung von Perizytenpopulationen in einem spontan diabetischen Mausmodell

Pfister F¹, vom Hagen F¹, Feng Y¹, Dietrich N¹, Lin J¹, Deutsch U², Hammes HP¹
¹V. Medizinische Klinik, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim, Germany, ²Theodor-Kocher-Institut, Universität Bern, Bern, Switzerland

Fragestellung: Die diabetische Retinopathie ist eine schwerwiegende Komplikation des Diabetes und führt unbehandelt zur Erblindung. Frühe morphologische Veränderungen des kapillären Systems sind hierbei der Verlust von perikapillären Perizyten, die vermehrte Bildung von zellkernfreien Basalmembranschläuchen und der Zusammenbruch der Blut-Retina-Schranke. Die Gründe und die genauen Mechanismen des Perizytenverlustes sind bis heute nicht geklärt. Weiterhin ist nicht bekannt, ob Perizyten in der Retina eine einheitliche Population darstellen. Wir untersuchten, ob der hyperglykämie-bedingte Verlust von Perizyten eine einheitliche Reduktion einer ganzen Zellpopulation darstellt. **Methoden:** In spontan diabetischen Ins2Akita/XLacZ4 Mäusen wurde die Gesamt-Perizytenzahl relativ zur Kapillarfläche in retinalen Digestionspräparate nach sechsmonatiger Diabetesdauer quantifiziert. Als Kontrolle dienten normoglykämische Wildtyp/XLacZ4 positive Wurfgeschwister. Die Perizytenpopulation wurde bezüglich ihrer Form, ihrer Lokalisation und ihrer beta-galactosidase Aktivität in Untergruppen unterteilt und quantifiziert. **Ergebnisse:** Die retinale Gesamt-Perizytenzahl war um 13% in den diabetischen Ins2Akita/XLacZ4 Mäusen nach 6 Monaten der Hyperglykämie reduziert (diabetisch 2085 ± 91 pro mm^2 vs. nicht diabetisch 2413 ± 294 pro mm^2). Interessanterweise ergab die Quantifizierung der Untergruppen, dass die Perizyten, die sich auf geraden Abschnitten der Kapillaren ohne jeglichen Kontakt zu Gefäßverzweigungen befinden, signifikant in den diabetischen Retinae reduziert sind (diabetisch 1390 ± 189 vs. nicht diabetisch 1778 ± 322 pro mm^2). Die Anzahl an Perizyten, die direkt an kapillären Verzweigungen lokalisiert sind,

sind in diabetischen Tieren und nicht-diabetischen Kontrollen gleich. Die Anzahl an migrierenden Perizyten war um 20% in den diabetischen Retinae erhöht (diabetisch 155 ± 57 vs. nicht diabetisch 113 ± 43 pro mm^2). **Schlussfolgerung:** Unsere Daten zeigen, dass der Umfang des hyperglykämie-bedingten retinalen Perizytenverlustes in einem spontan diabetischen Mausmodell vergleichbar mit dem in einem streptozotocin-induzierten Diabetesmausmodell ist. Wir konnten erstmalig zeigen, dass der Verlust nicht die gesamte Perizytenpopulation betrifft, sondern nur bestimmte morphologisch klar definierbare Subgruppen von Perizyten. Weiterhin konnten wir zeigen, dass der Perizytenverlust durch Migration verursacht werden kann.

V5

Mikro- und makrovaskuläre Folgeerkrankungen bei Typ 2 Diabetikern in der primärärztlichen Versorgung: Ergebnisse der DETECT Studie

Pittrow D¹, Pieper L², Klotsche J², Eichler T², Huppertz E², Stridde E³, Lehnert H⁴, Wittchen HU²

¹Institut für Klinische Pharmakologie, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany, ²Institut für Klinische Psychologie und Psychotherapie, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany, ³Abteilung Klinische Forschung, Pfizer Pharma GmbH, Karlsruhe, Germany, ⁴University of Warwick Medical School, Coventry, United Kingdom

Einleitung: Mit einer Prävalenz von ca. 15% sind Typ 2 Diabetiker (T2D) überaus häufig in der primärärztlichen Versorgung. Dieses Patientenkollektiv ist durch Heterogenität hinsichtlich des Schweregrads und des Vorliegens weiterer Erkrankungen gekennzeichnet. **Fragestellung:** Wie häufig sind diabetische Folgeerkrankungen bei T2D in der primärärztlichen Versorgung? Welche Merkmale sind mit dem Auftreten von mikro- und makrovaskulären Erkrankungen assoziiert? Gibt es Therapieunterschiede zwischen den Patienten mit und ohne Folgeerkrankungen? **Methodik:** DETECT (www.detect-studie.de) ist eine epidemiologische Querschnitts- (und prospektive) Längsschnittstudie im primärärztlichen Versorgungssektor. Basierend auf einer Zufallsstichprobe dokumentierten 3.188 primärärztliche Praxen in Deutschland 55.518 unselektierte, konsekutiv eingeschlossene Patienten. Grundlage dieser Teilanalyse bilden 8.188 Patienten mit T2D (vom Arzt diagnostiziert). Retinopathie, Neuropathie, diabetisches Fußsyndrom und Nephropathie zählten zu den mikrovasculären Erkrankungen, zu den makrovaskulären Erkrankungen zählten zerebrovasculäre bzw. kardiovaskuläre Erkrankungen und die periphere arterielle Verschlusskrankheit. Zum Verdeutlichen von Unterschieden in den Häufigkeiten wurden Odds-Ratios (ORs) mittels logistischer Regression berechnet und nach Geschlecht, Alter sowie Alter * Geschlecht adjustiert. **Ergebnisse:** 51% der T2D-Patienten hatten keine mikro- oder makrovaskulären Komplikationen. Bei 13,9% wurden nur mikrovasculäre, bei 21,1% nur makrovaskuläre und bei 14% sowohl mikro- als auch makrovaskuläre Erkrankungen diagnostiziert. Frauen waren häufiger von mikro-, Männer häufiger von makrovaskulären Komplikationen betroffen. Eine schlechtere HbA1c Einstellung sowie erhöhte BMI ($> 35 \text{ kg/m}^2$) und WC-Werte ($> 88/102 \text{ cm}$) wurden im Vergleich zu Patienten ohne Komplikationen bei T2D Patienten mit ausschließlich mikro- sowie mikro- und makrovaskulären Komplikationen gefunden. Des Weiteren waren diese beiden Patientengruppen weniger körperlich aktiv. Eine optimale Blutdruckeinstellung ($< 120/80 \text{ mm Hg}$), bessere LDL und Gesamtcholesterinwerte fanden sich bei Patienten mit makrovaskulären Komplikationen sowie in der Gruppe mit beiden Komplikationsarten im Vergleich zu Patienten ohne Komplikationen. Insgesamt erhielten die Patienten mit Folgeerkrankungen häufiger eine Insulinbehandlung sowie eine Kombinationstherapie aus Insulin und oralen Antidiabetika. Vor allem Patienten mit nur mikrovasculären und die Gruppe mit beiden Komplikationsformen wurden intensiver antidiabetisch behandelt. **Schlussfolgerungen:** Ca. 50% aller T2D in der primärärztlichen Versorgung haben bereits mikro- und makrovaskuläre Folgeerkrankungen. Bemerkenswert ist, dass sich die antidiabetische Behandlung der Patienten mit ausschließlich makrovaskulären Komplikationen nur wenig von der Behandlung der T2D Patienten ohne Folgeerkrankungen unterscheidet. *Förderung: unrestricted educational grant der Pfizer GmbH, Karlsruhe

V6

Der diabetische Fuß in Deutschland – Analyse der Behandlungsqualität in spezialisierten Fußzentren

Lobmann R¹, Kersken J², Bergmann K³, Brunk-Lock S⁴, Groene C², Mertes B³, Müller E⁶

¹Universitätsklinik Magdeburg, Klinik für Endokrinologie und Stoffwechselerkrankungen, Magdeburg, Germany,

²Mathias-Spital und Jakob-Hospital, Rheine, Germany,

³Schwerpunktpraxis, Oberhausen, Germany,

⁴Schwerpunktpraxis, Idar-Oberstein, Germany,

⁵Kardioangiologisches Zentrum Bethanien, Frankfurt, Germany,

⁶Schwerpunktpraxis für Diabetologie und Nephrologie, Bernkastel Kues, Germany

Das diabetische Fußsyndrom ist weiterhin ein bedeutendes medizinisches und ökonomisches Problem des Gesundheitswesens. Die Arbeitsgemeinschaft „Diabetischer Fuß“ der DDG etablierte ein Akkreditierungssystem von Krankenhäusern oder Ambulanzen zur Behandlung von chronischen Fußläsionen bei Menschen mit einem Diabetes mellitus. Basis dieser Qualitätsprüfung sind definierte Strukturvoraussetzungen, klare Behandlungsprozeduren sowie eine Ergebnisevaluation. Jedes teilnehmende Zentrum (n = 130; 46 Krankenhäuser und 84 Ambulanzen) dokumentierte konsekutiv 30 Fälle. Die Ergebnisevaluation wurde sechs Monate nach der Erstvorstellung durchgeführt. Wir präsentieren die Ergebnisse von 3864 evaluierten Fällen (Krankenhäuser 1367, Ambulanzen 2497). Initial hatten 1214 Patienten (31%) eine Läsion im Stadium Wagner I und 1223 Patienten im Stadium Wagner II. Ein Stadium Wagner III wurde für 868 Patienten diagnostiziert (22,5%), Wagner IV für 10,4% und Stadium V in 15 Fällen (0,4%). Nach sechs Monaten waren bei 55% (2006 Patienten) die Ulzeration vollständig abgeheilt, 993 befanden sich in einem Stadium Wagner I (27%). Die Verbesserung der Wundsituation war statistisch signifikant. Fußläsionen im Stadium III (Krankenhaus 31% vs. Ambulanz 17%), im Stadium II (Krankenhaus 20% vs. Ambulanz 5%) und im Stadium V (Krankenhaus 0,7% vs. Ambulanz 0,2%) waren in der Krankenhausgruppe signifikant erhöht. Ulcerationen im Stadium Wagner I (Krankenhaus 15% vs. Ambulanz 40%) traten vermehrt in ambulanten Zentren auf, während diejenigen in einem Stadium II in Krankenhäusern bzw. Ambulanzen gleich häufig auftraten. In 33% der Fälle wurde eine begleitende Infektion diagnostiziert (Krankenhaus 31%, Ambulanz 34%). Eine periphere Arteriosklerose war gleich häufig in beiden Gruppen. In der Krankenhausgruppe waren Fußläsionen Stadium Armstrong D signifikant häufiger (45,4% vs. 25,3%). Die meisten der Läsionen heilten ab (p = 0,001), aber in 3,9% (n = 171) war eine Major-Amputation (oberhalb des Knöchels) und 17% (n = 666) eine Minor-chirurgische Maßnahme (Krankenhaus 25,6%, Ambulanz 12,7%; p < 0,001) erforderlich. Zusammenfassend fand sich eine klare Korrelation zwischen dem Behandlungsergebnis und der Einteilung nach Wagner und Armstrong. 179 Patienten (4,6%) verstarben während der Beobachtungszeit, dabei war erwartungsgemäß die Mortalität in der Krankenhausgruppe (7% vs. 3,3%) signifikant (p < 0,001) höher. Diese Daten zeigen zum ersten Mal eine strukturierte Analyse der Behandlungsergebnisse von diabetischen Fußläsionen in besonders spezialisierten Einrichtungen für das diabetische Fußsyndrom in Deutschland. Dabei zeigen unsere Daten eine klar niedrige Amputationsrate in anerkannten Fußzentren im Vergleich zu den bisher vorhandenen epidemiologischen Daten zu diesem Thema in Deutschland.

V7

Abnahme der Amputationsinzidenz in der diabetischen Bevölkerung in Leverkusen 1990 – 2005 – Ergebnisse der Leverkusen Amputation Reduction Study (LARS)

Trautner C¹, Haastert B², Mauckner P³, Gätcke LM¹, Giani G²

¹Medicine Science Consulting, Berlin, Germany, ²Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Biometrie und Epidemiologie, Düsseldorf, Germany, ³Remigius-Krankenhaus, Innere Medizin, Leverkusen, Germany

Fragestellung: Die Verringerung der diabetesbedingten Amputationsinzidenz um mindestens die Hälfte innerhalb von 5 Jahren wurde 1989 zu einem vorrangigen Ziel in Europa erklärt (St. Vincent – Erklärung). Bis 1998 war dieses Ziel in Leverkusen nicht erreicht worden (1). Hier wurde untersucht, ob bis 2005 die Amputationsinzidenz in Leverkusen abgenommen hat. **Methodik:** In allen drei Krankenhäusern in Leverkusen (Bevölkerung ca. 160 000 Einwohner) erhielten wir vollständige Listen der Amputationen der Jahre 1990/1991 und 1994 – 2005. Methodisch wurde wie bei den Vorerhebungen vorgegangen (1). Den Krankenakten

wurde entnommen, ob ein Diabetes bekannt war. Nur Einwohner von Leverkusen und nur die jeweils erste Amputation wurden berücksichtigt. Daten zum Bevölkerungsaufbau für die einzelnen Jahre erhielten wir von der Stadtverwaltung und dem Statistischen Bundesamt. Für die alters- und geschlechtsspezifische Schätzung der Diabetesprävalenz wurden wie in den Voruntersuchungen Daten des Diabetesregisters der ehemaligen DDR zugrundegelegt. Wir schätzten für jedes Jahr die Amputationsinzidenz in der Gesamtbevölkerung, der diabetischen sowie der nichtdiabetischen Bevölkerung. Als Test für einen Zeittrend passten wir Poissonsche Regressionsmodelle an, um für Alter und Geschlecht zu adjustieren. **Ergebnisse:** 692 Patienten erfüllten die Einschlusskriterien. Das mittlere Alter betrug 71,7 Jahre. 58% aller Patienten waren Männer. Bei 72% war ein Diabetes bekannt. Die Inzidenzraten in der diabetischen Bevölkerung (standardisiert auf die geschätzte deutsche diabetische Bevölkerung, pro 100 000 Personen pro Jahr) variierte beträchtlich zwischen den einzelnen Jahren: 1990: 549; 1991: 356; 1994: 544; 1995: 386; 1996: 426; 1997: 433; 1998: 463; 1999: 474; 2000: 415; 2001: 304; 2002: 335; 2003: 360; 2004: 281; 2005: 428. In der diabetischen Bevölkerung betrug das geschätzte Relative Risiko (RR) pro Jahr 0,976 (p = 0,0164). Derselbe Trend war zu erkennen, wenn nur Amputationen oberhalb des Sprunggelenks (n = 352) eingeschlossen wurden (RR = 0,970; p = 0,0318). Im Laufe von 15 Jahren ergibt sich rechnerisch eine geschätzte Verringerung von Major-Amputationen um 36,7%. Die Poisson-Modelle zeigten keine statistisch signifikante Veränderung der inzidenten Amputationen in der nichtdiabetischen Bevölkerung (RR = 1,022; p = 0,1981). **Schlussfolgerung:** Obwohl mögliche Verzerrungen nicht gänzlich ausgeschlossen werden können, sprechen die Daten für eine reale Verringerung der Amputationsinzidenz. Diese dürfte auf eine verbesserte Behandlung des Diabetes und des diabetischen Fußsyndroms (z. B. Stoffwechselkontrolle und Wundbehandlung) zurückzuführen sein, nachdem zwei diabetologische Schwerpunktpraxen sowie eine Fußambulanz eingerichtet und Behandlungspfade für Diabetespationen definiert worden waren. **Literatur:** Trautner C, Haastert B, Spraul M, Giani G, Berger M. Unchanged incidence of lower-limb amputations in a German city, 1990 – 1998. *Diabetes Care* 2001; 24:855 – 859.

V8

Plastische Wunddeckung nach Vakuumsaugtherapie verbessert die Abheilungsrate beim angio(-neuro)pathischen diabetischen Fußsyndrom

Lüdemann C¹, Güner M¹, Schmidt-Lucke JA¹, Amann B¹
¹Franziskuskrankenhaus Berlin, Innere Abteilung, Berlin, Germany

Fragestellung: Zur plastischen Wunddeckung nach Vakuumsaugtherapie (VST) bei angio(-neuro)pathischem diabetischen Fußsyndrom (DFS) liegen bis jetzt wenig Daten vor. Wir stellen die Ergebnisse von 49 konsekutiven DFS Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus vor. **Methodik:** 49 Patienten (Alter 68 ± 12,6 Jahre, 24 Frauen, 25 Männer, mittleres Wagnerstadium 2,5 (2 – 4), mittlere Diabeteslaufzeit 10,3 Jahre, angio(-neuro)pathisches DFS 28 Patienten, neuropathisches DFS 21 Patienten), die trotz bestmöglicher Wundversorgung keine befriedigende Wundheilungstendenz aufwiesen, wurden mittels VST-Therapie behandelt. 28 der 49 Patienten wurden im Anschluss an die initiale VST-Therapie einer plastischen Deckung (18 Patienten Vollhauttransplantation nach Reverdin, 10 Patienten Spalthauttransplantation) der konditionierten Wundfläche unterzogen. Klinische und prozedurale Parameter wurden während des Krankenhausaufenthaltes und im medianen Nachbeobachtungszeitraum von 170 Tagen erfasst. **Ergebnisse:** Mittlere VST-Dauer 13,1 ± 11,0 Tage, mittlere Anzahl der VST-Verbandswechsel 1,7 ± 2,1. 6 Patienten (12,2%) mit Schmerzen unter VST, 1 zunehmende Infektion (2,1%), 2 Abbrüche (4,1%) der Therapie (1 schmerzbedingt, 1 Infektion). Mediane Krankenhausaufenthaltsdauer 35 (5 – 112) Tage (mit plastischer Deckung 30 (8 – 90), ohne plastische Deckung 45 Tage (5 – 112)). Initiale mittlere Wundgröße 78 ± 169,3 cm² (mit Deckung 110 ± 209,9 cm², ohne Deckung 25 ± 20,1 cm²), mittlere Wundgröße am Ende des Nachbeobachtungszeitraumes 3 ± 4,9 cm² (mit Deckung 2,7 ± 5,4 cm², ohne Deckung 3,3 ± 4,1 cm²). 4 Minoramputationen (14,3%) und keine Majoramputation mit plastischer Deckung, 5 Minoramputationen (19,0%) und 1 Majoramputation (4,8%) ohne plastische Deckung innerhalb der Nachbeobachtung. Vollständiger Wundverschluss bei 50% der nicht plastisch gedeckten Pat. und bei 80% der gedeckten Pat. **Schlussfolgerung:** Nach den bisher vorliegenden Ergebnissen ist die Kombination von VST mit plastischer Deckung der alleinigen VST bei Wunden im Rahmen eines angio(-neuro)pathischen diabetischen Fußsyndroms überlegen. Insbesondere kann die Kombination beider Methoden zu einem schnelleren und konstanteren Wundheilungs-

erfolg führen, die Anzahl der Amputationen verringern und die Krankenhausaufenthaltsdauer verkürzen.

Symposium „Oxidativer Stress und die Rolle der Mitochondrien“

V9

Hyperglykämie, mitochondriale Deletionen und Lebensspanne in *C. elegans*

Schlotterer A¹, Hamann A², Kukudov G¹, Ibrahim Y¹, Oikonomou D¹, Bierhaus A¹, Nawroth PP¹, Morcos M¹
¹Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, Germany, ²Diabetes-Klinik Bad Nauheim GmbH, Bad Nauheim, Germany

Fragestellung: Während normaler Alterung, sowie in größerem Ausmaß unter hyperglykämischen Bedingungen bei Diabetes, akkumulieren Methylglyoxal (MGO) sowie mitochondriale Deletionen (dmtDNA). MGO ist an der Entstehung von dmtDNA beteiligt, welche möglicherweise mit Endorganschäden assoziiert sind. Die Enzyme Glyoxalase I (entgiftet MGO) und APEX1 (eine zentrale Komponente des DNA-Reparatur-Systems) werden ortholog auch in *C. elegans* exprimiert. Ziel dieser Studie war es, unter normalen und hyperglykämischen Bedingungen, die schützenden Funktionen von Glyoxalase I und APEX1 bezüglich dmtDNA-Bildung und Lebensspanne in diesem Modellsystem zu bestimmen. **Methodik:** Wildtyp, Glyoxalase I-überexprimierende und APEX1 „knock-down“ *C. elegans* wurden unter normalen sowie hyperglykämischen (400 mM Glc) Bedingungen kultiviert, die Lebensspannen bestimmt und dmtDNA-Gehalte im kodierenden Bereich von Cytochrom b (MRC-Komplex III) und Cytochrom c Oxidase Untereinheit I (MRC-Komplex IV) durch quantitative real-time PCR gemessen. **Ergebnisse:** Hyperglykämische Bedingungen steigerten den Gehalt sowie die Akkumulationsrate von dmtDNA und reduzierten die Lebensspanne von *C. elegans*. Die Überexpression von Glyoxalase I hingegen reduzierte den Anteil sowie die Akkumulationsrate von dmtDNA und steigerte die Lebensspanne. Unter hyperglykämischen Bedingungen war die Expression von APEX1 verringert. Ein „Knock-down“ von APEX1 hatte eine reduzierte Lebensspanne und einen gesteigerten dmtDNA-Gehalt zur Folge. **Schlussfolgerung:** Hyperglykämische Kulturbedingungen korrelieren mit vermehrtem dmtDNA-Gehalt und verkürzter Lebensspanne bei *C. elegans*, wohingegen Glyoxalase I und APEX1 vor dmtDNA-Bildung schützen und die Lebensspanne positiv beeinflussen. Die verringerte APEX1-Expression unter hyperglykämischen Bedingungen trägt möglicherweise zur gesteigerten dmtDNA-Bildung und Verkürzung der Lebensspanne bei. Diese Daten unterstreichen die zentrale Rolle der Mitochondrien als pathogener Faktor bei Alterung und Diabetes.

Symposium „Prävention des Typ 2 Diabetes“

V10

Strukturierte Schulungsprogramme (STP) sind hochwirksame Instrumente zur Verbesserung des Stoffwechsels bei jüngeren und älteren Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 – eine Analyse von Evaluationen von Mitgliedskliniken der AKD der Jahre 2000 – 2006 ein Jahr nach Teilnahme an einem strukturierten Schulungs- und Behandlungsprogramm

Kloos C¹, Sämann A¹, Müller N¹, Tessmann D², Fischer H³, Jecht M⁴, Müller U¹
¹Friedrich-Schiller Universität Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, Germany, ²Klinikum Passau, Abteilung für Innere Medizin, Passau, Germany, ³Klinikum Düren, Klinik für Innere Medizin, Düren, Germany, ⁴GK Havelhöhe, Medizinische Klinik, Berlin, Germany

Fragestellung: Strukturierte Schulung in der Gruppe (STP) ist die Standardintervention zur Optimierung des Blutzuckers und auch im DMP als therapeutische Maßnahme verbindlich vorgeschrieben. Wir untersuchten, ob STP in unterschiedlichen Altersklassen gleich wirksam sind. **Methoden:** Patientendaten (n=5988) aus 67 AKD-Kliniken, die von 1999 – 2006 eine Stichprobe von 50 (bis 2003) oder 60 (ab 2004) nicht-selektierten Pat. mit Diab. mell. Typ 2 nach 12 – 15 Mon. persönlich nachuntersucht haben. Alle Pat. nahmen an einem STP teil, das stationär ablief. Das Kollektiv wurde in gleichmäßige Terzile aufgeteilt ((alle Werte vor STP) Terzil 1 (n=2021): mittleres Alter 50Jahre, Gewicht 93,8 kg, BMI 32,3 kg/m², RR syst. 138,5, RR diast. 82,8 mm Hg, Diabet.dauer 8,1 J.; Terzil 2 (n=1927): mittleres Alter 61,9Jahre, Gewicht 87,8 kg, BMI

30,6 kg/m², RR syst. 142,6, RR diast. 81,7 mm Hg, Diabet.dauer 11,3 J.; Terzil3 (n=2037): mittleres Alter 71,9Jahre, Gewicht 81,6 kg, BMI 29,1 kg/m², RR syst. 144,9, RR diast. 80,4 mm Hg, Diabet.dauer 13,5 J.). Das Terzil der jüngsten und ältesten Pat. wurde miteinander verglichen. Zwischen diesen Terzilen waren Gewicht, BMI, Diabet.dauer und RR signifikant unterschiedlich (p < 0,01). Nicht alle Variablen waren komplett erfasst. **Ergebnisse:** Der HbA1c verbesserte sich in beiden Terzilen hochsignifikant (Terzil 1: 8,5%* auf 7,2%*/Terzil 3: 8,5%* auf 7,3%*; p < 0,001), ohne Differenz zwischen beiden Behandlungsgruppen. In beiden Gruppen kam es zu einer Gewichts- bzw. BMI-Zunahme (Terzil1: +1,8 kg/+0,5 kg/m²; Terzil 3: +0,7 kg/+0,4 kg/m²; p < 0,001). Der Blutdruck war und blieb bei den jüngeren Patienten normoton. Er lag in der Gruppe der älteren Patienten bereits vor STP signifikant höher und verbesserte sich nur bei den älteren Patienten, jedoch nur in den Blutdruckselbstkontrollen (Terzil 3: 142,9/80,1 mm Hg auf 138,9/78,4 mm Hg;p < 0,001), nicht jedoch in den Kontrollen durch das medizinische Personal. **Schlussfolgerung:** STP in stationärem Setting sind ein hochwirksames Instrument zur Verbesserung des HbA1cs. Der Effekt ist unabhängig vom Alter. *HbA1c DCCT normiert (mittlerer NB 5,05%)

Freie Vorträge 2 – Metabolisches Syndrom

V11

BAY 68 – 5042, ein hoch-selektiver und potenter PPARδ-Agonist, reduziert Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms

Bischoff H¹, Dittrich-Wengenroth E², Ellinger-Ziegelbauer H³, Ellinghaus P⁴, Kretschmer A⁴, Thielemann W⁵

¹Bayer HealthCare AG, GDD-PRR Pharmacology, Wuppertal, Germany, ²Bayer HealthCare AG, GDD-CV, Wuppertal, Germany, ³Bayer HealthCare AG, GDD-T, Wuppertal, Germany, ⁴Bayer HealthCare AG, GDD-TR, Wuppertal, Germany, ⁵Bayer HealthCare AG, GDD-SID, Wuppertal, Germany

Zu den Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms gehören abdominale Adipositas, erhöhte Triglyzeride (> 1,7 mM) und niedriges HDL-C im Serum (< 40 bei Männern bzw. < 50 mg/dl bei Frauen), Bluthochdruck sowie ein Nüchternblutzucker von 5,55 mM oder mehr (AHA, NHLBI, ADA: Circulation 2005). Neben den nukleären Rezeptoren PPARα und PPARγ reguliert auch PPARδ Gene, die für die Ausprägung wichtiger Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms verantwortlich sind. **Fragestellung:**

1. Wie potent und selektiv bezüglich der Rezeptoren PPARα bzw. PPARγ ist BAY 68 – 5042, ein Agonist des PPARδ-Rezeptors, in vitro?
2. Wie wirkt BAY 68 – 5042 auf den Lipidstoffwechsel sowie Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms in unterschiedlichen Tiermodellen wie Nagern und Primaten?
3. Welche für das Metabolische Syndrom relevanten Gene werden von PPARδ nach Aktivierung mit BAY 68 – 5042 wie reguliert?

Methoden: Die Rezeptoraktivierung wurde mit transfizierten Zellen, die ein humanes GAL4-PPARδ-Expressionskonstrukt mit der Ligandenbindungsdomäne des humanen Rezeptors und der DNS-Bindungsdomäne von GAL4 enthielten, durchgeführt. Die pharmakologische Beeinflussung des Fettstoffwechsels wurde in vivo an Nagern (Mäuse) und Primaten (Marmosetten) untersucht. Die Wirkung auf das Körpergewicht wurde im DIO (diet induced obesity) Mausmodell geprüft und die Genexpression mit Affymetrix MOE430 Genchips analysiert. **Ergebnisse:** BAY 68 – 5042 ist ein potenter (EC50 = 4 nM) und hoch-selektiver PPARδ-Agonist (> 2500fach versus PPARα und PPARγ Rezeptoren). In Mäusen erhöhte BAY 68 – 5042 dosisabhängig mit 1, 3 und 10 mg/kg p.o. die HDL-C Konzentrationen im Serum nach 14 tägiger Behandlung, mit 3 mg/kg um 50%. In Marmosetten, die eine leicht mit Fett (+10% TG) angereicherte Diät erhielten, wurden die HDL-Konzentrationen im Serum nach 4wöchiger oraler Behandlung mit nur 0,3 mg/kg um 75% erhöht bei gleichzeitiger Senkung der Serum-TG um 44%. In Versuchen mit höheren Dosierungen (3 mg/kg) wurde die VLDL-Fraktion bis unter die Nachweisgrenze (HPLC < 0,10 mM) gesenkt. In DIO Mäusen führte die subchronische Behandlung mit 1, 3 und 10 mg BAY 68 – 5042/kg KG p.o. über 4 Wochen zu einer dosisabhängigen und signifikanten Abnahme des Körpergewichtes ohne Beeinflussung der Futtermittelaufnahme. Die Analyse der Genexpression in der Leber ergab eine deutlich gesteigerte Expression von Genen des Lipidstoffwechsels, die am Fettabbau beteiligt sind: Lipasen, FS-Transporter für den FS-Transport durch die Plasmamembran, sowie von CPT1b in der Mitochondrienmembran zur Aufnahme der langkettigen FS in die Mitochondrien, darüber hinaus eine erhöhte Expression mitochondrialer und peroxisomaler Enzyme der

β -Oxidation. **Schlussfolgerung:** Der PPAR δ -Agonist BAY 68 – 5042 beeinflusst positiv Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms, Diabetes und der Arteriosklerose (Erhöhung von HDL-C, Senkung von TG, Abnahme des Körpergewichtes). BAY 68 – 5042 war sowohl in präklinischen Sicherheits- wie in klinischen Phase 1 – Studien gut verträglich.

V12

Intra-mitochondriale Fettsäuren induzieren intra-myozelluläre Lipidakkumulation durch Inhibierung der mitochondrialen Respiration

Ristow M¹, Zarse K², Zimmermann S², Birringer M²
¹Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, Abt. Klinische Ernährung, Nuthetal, und Lehrstuhl für Humanernährung, Institut für Ernährungswissenschaften, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Jena, Germany, ²Friedrich-Schiller-Universität Jena, Lehrstuhl für Humanernährung, Institut für Ernährungswissenschaften, Jena, Germany

Fragestellung: Intra-myocelluläre Lipideinlagerungen (IMCL) sind ein zentraler Faktor in der Entstehung von peripherer Insulinresistenz. In diabetischen Modellorganismen wurde bereits vor langer Zeit eine gesteigerte Aufnahme von Fettsäuren in die Mitochondrien, eine gesteigerte Aktivität des hierfür zuständigen Enzyms CPT-1, und eine verminderte Affinität von CPT-1 gegenüber dem CPT-1-inhibierenden Malonyl-CoA gezeigt. **Methodik:** Palmitinsäure (PA) wurde omega-ständig kovalent mit einem Triphenylphosphonium (TPP) -Tag versehen; letzterer verursacht eine CPT-1-unabhängige, membranpotential-induzierte Akkumulation dieser Substanz (PA-TPP) in den Mitochondrien. L6 Myozyten wurden mit dieser und Kontrollsubstanzen (PA, TPP) behandelt, und bzgl. Triglyzeridgehalt, Laktatproduktion, Respirationsaktivität, ATP-Gehalt, und PPRE-Aktivierung des zellulären Lysates in An- und Abwesenheit von je einem synthetischen PPARgamma-Aktivatoren bzw. -Inhibitor untersucht. **Ergebnisse:** Nur eine Behandlung von L6 Myocyten mit PA-TPP (nicht jedoch mit Kontrollsubstanzen) in einer Konzentration von 500 nanoM bewirkt eine zeitabhängige Akkumulation von ausschließlich triglyzeridhaltigen Lipidtröpfchen ($P < 0,001$ ab Tag 3 der Behandlung). Die zelluläre Respirationsrate vermindert sich kurzfristig nach PA-TPP Zugabe ($P < 0,0001$), während eine über die Zeit zunehmende Lipidakkumulation ($P < 0,001$) erfolgt, und die ATP-Synthese der Myozyten zunehmend anaerob erfolgt ($P < 0,05$). Die DNA-Bindungsaktivität der Lysate PA-TPP-behandelter Zellen ist am PPRE-Element um mehr als 50% reduziert ($P < 0,0001$). Dementsprechend wird die Akkumulation von IMCLs wird durch Ciglitazone deutlich inhibiert ($P < 0,0001$), während der PPARgamma-Inhibitor GW9662 die Lipidakkumulation weiter zu steigern vermag ($P < 0,001$). **Schlussfolgerungen:** Es wird erstmals direkt gezeigt, dass intra-mitochondriale Fettsäureakkumulation als Ursache für intramyozelluläre Lipideinlagerung (IMCL) angesehen werden kann. Dieser Prozess ist abhängig von PPARgamma, und kann dementsprechend durch Thiazolidinedione (Glitazone) inhibiert werden.

V13

Increased growth and elevated IGF-1 serum concentrations in mice with an adipose tissue specific deletion of the IGF-1 receptor

Klötting N¹, Koch L², Wunderlich T², Kern M¹, Krone W³, Brüning JC², Blüher M¹
¹University of Leipzig, Department of Internal Medicine III, Leipzig, Germany, ²University of Cologne and Center of Molecular Medicine Cologne (CMMC), Department of Mouse Genetics and Metabolism, Institute for Genetics, Cologne, Germany, ³University of Cologne and Center of Molecular Medicine Cologne (CMMC), Department of Internal Medicine II, Cologne, Germany

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and the IGF-1 receptor have been implicated in the regulation of adipocyte differentiation and lipid accumulation in vitro. To investigate the role of IGF-1 receptor in vivo, we created mice with fat-specific disruption of the IGF-1 receptor gene (FIGF-1RKO mice) using the Cre-loxP system. FIGF-1RKO mice have remarkably increased somatic growth most likely as a consequence of elevated IGF-1 serum concentrations. Higher circulating IGF-1 levels could be due to increased IGF-1 expression both in liver and epigonadal adipose tissue, suggesting that adipose tissue plays a role in the regulation of IGF-1 serum concentrations. FIGF-1RKO mice exhibit increased adipose tissue mass with a predominantly increased lipid accumulation in epigonadal fat pads. Insulin-stimulated glucose uptake into adipocytes was unaffected by the deletion of the IGF-1 receptor. Thus, IGF-1

receptor signalling in adipocytes is not crucial for the development and differentiation of adipose tissue, but seems to participate in the regulation of IGF-1 serum concentration.

V14

Die Bedeutung von Chromosom 1 für die Körpergewichtsentwicklung und Glucosehomöostase beim polygenen NZO-Mausmodell

Vogel H¹, Scherneck S¹, Nestler M¹, Kluge R¹, Schmolz K¹, Rüschedorf F², Schürmann A¹, Joost HG¹
¹Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Pharmakologie, Nuthetal, Germany, ²Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Bioinformatik, Berlin-Buch, Germany

Fragestellung: Die New Zealand obese (NZO)-Maus spiegelt als polygenes Mausmodell das komplexe Krankheitsbild des humanen Metabolischen Syndroms wieder. In Kreuzungsansätzen mit verschiedenen Kontrollstämmen wurden mehr als 15 QTL (Quantitative Trait Loci) identifiziert, die dieser komplexen Erkrankung zu Grunde liegen. Um diese durch einen Vergleich der Genome verschiedener Mauslinien weiter zu charakterisieren, wurde eine neue Kreuzungspopulation von NZO mit dem schlanken und diabetesresistenten C57BL/6J-Stamm generiert und untersucht. **Methodik:** Bei 600 F2-Kreuzungstieren wurden bis zur 22. Lebenswoche verschiedene morphometrische und metabolische Parameter untersucht. Die Tiere wurden mit 116 polymorphen SNPs genomweit genotypisiert. Auf Grundlage dieser Daten wurde anschließend eine Kopplungsanalyse mittels MapMaker/QTL 1.1 durchgeführt. **Ergebnisse:** Mit dieser Strategie war es möglich, drei bedeutende Suszeptibilitätsloci assoziiert mit Adipositas bzw. Hyperglykämie im Genom der NZO-Maus zu identifizieren. Diese QTL sind auf den Chromosomen 1, 13 und 15 lokalisiert. Der Haupteffekt für Adipositas wird durch einen Suszeptibilitätslokus auf Chromosom 1 vermittelt, der einen Bereich von ungefähr 100 Mbp umspannt. Homozygote NZO-Allelträger für diesen QTL wiesen ein signifikant erhöhtes Körpergewicht im Vergleich zu homozygoten C57BL/6J-Allelträgern ($49,7 \pm 12,0$ g vs. $36,9 \pm 7,5$ g; $p = 3,7 \cdot 10^{-12}$; LOD-score 12,9; 22. Woche) auf. Durch dreifache Rückkreuzung auf den C57BL/6J-Stamm war es möglich, das adipogene Allel auf Chromosom 1 von weiteren im NZO-Genom zu separieren. Heterozygote Allelträger der N3-Generation entwickelten bereits in der 6. Woche ein signifikant erhöhtes Körpergewicht im Vergleich zu homozygoten B6-Allelträgern ($19,3 \pm 1,1$ g vs. $17,4 \pm 1,5$ g; $p < 0,0005$). **Schlussfolgerung:** Die gezeigten Daten belegen, dass ein QTL auf Chromosom 1 für mehr als ein Drittel der Körpergewichtsunterschiede zwischen der NZO- und C57BL/6J-Maus verantwortlich gemacht werden kann. Die Entkopplung des QTL in der N3-Generation belegt, dass die Ausprägung des adipogenen Allels nicht von einer Interaktion mit weiteren adipogenen Allelen im NZO-Genom abhängig ist. Dieses Ergebnis ermöglicht die Eingrenzung des kritischen Bereichs auf Chromosom 1 zur Identifizierung der zu Grunde liegenden Genvariante(n).

V15

Die komplexe Genetik des Typ-2-Diabetes in Mausmodellen: Wirkung des diabetogenen Allels Nidd/SJL auf die β -Zelle bei verschiedenen genetischen Hintergründen

Nestler M¹, Scherneck S¹, Neschen S¹, Vogel H¹, Schmolz K¹, Kluge R¹, Rustenbeck F², Schürmann A¹, Joost HG¹
¹Deutsches Institut für Ernährungsforschung (DIFE) Potsdam-Rehbrücke, Pharmakologie, Nuthetal, Germany, ²TU-Braunschweig, Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Braunschweig, Germany

Fragestellung: Nidd/SJL ist ein Suszeptibilitätslocus für Hyperglykämie und wurde in einer NZOxSJL-Rückkreuzung auf dem distalen Mauschromosom 4 identifiziert. Auf dem polygenen Hintergrund der NZO-Maus tritt im weiteren Krankheitsverlauf eine Hypoinsulinämie auf, die durch ein Inselzellversagen hervorgerufen wird. Zur weiteren Charakterisierung des Nidd/SJL in einem Modell für monogene Adipositas wurde die leptindefiziente ob/ob-Maus gewählt. **Methodik:** Der gesamte Nidd/SJL (D4Mit175-D4Mit251) wurde durch sukzessive Rückkreuzung auf den C57BL/6-Stamm übertragen, da dieser dem genetischen Hintergrund der ob/ob-Maus entspricht. Die dadurch erzeugte rekombinant-kongene Mauslinie wurde in einer Reporterkreuzung mit ob/+ Tieren verpaart und die resultierenden homozygoten ob-Nachkommen wurden in Abhängigkeit vom Genotyp für das Nidd/SJL-Allel charakterisiert. **Ergebnisse:** Ab der 6. Lebenswoche entwickelten Nidd/SJL-Träger auf dem ob/

ob-Hintergrund signifikant erhöhte Blutzuckerspiegel im Vergleich zu den Kontrolltieren (213 ± 27 mg/dl vs. 118 ± 6 mg/dl; MW \pm SEM; $p < 0,01$; 8. Woche; 6 h gefastet). Die korrespondierenden Insulinspiegel waren jedoch in beiden Gruppen nahezu identisch ($11,8 \pm 1,3$ μ g/l vs. $11,2 \pm 1,4$ μ g/l; MW \pm SEM; n.s.). Die morphometrische Analyse der Inseln zeigte eine signifikant verringerte durchschnittliche β -Zellfläche (7618 ± 819 μ m² vs. 12168 ± 1443 μ m²; MW \pm SEM; $p < 0,01$). Im Gegensatz dazu fand sich in einer Reporterkreuzung mit NZO-Mäusen die erwartete dekompensierte Hyperglykämie (386 ± 26 mg/dl vs. 219 ± 10 mg/dl; $p < 0,000001$; 22. Woche) und β -Zellerstörung, die auf eine Interaktion mit weiteren diabetogenen Allelen auf den Chromosomen 1 und 15 zurückgeführt werden kann. **Schlussfolgerungen:** Die Übertragung des QTL Nidd/SJL auf den genetischen Hintergrund der ob/ob-Maus führt im Gegensatz zum NZO-Hintergrund nicht zu einer Zerstörung der β -Zellen, sondern lediglich zu einer Hyperglykämie. Die Daten zeigen, dass Typ-2-Diabetes durch eine komplexe Interaktion verschiedener diabetogener Allele entsteht, wobei bereits eine moderate Blutzuckererhöhung auf einem empfindlichen Hintergrund zur β -Zellerstörung führt.

V16

Does the brain control fat cell differentiation? Accumulation of preadipocytes in adipose tissue of NSCL-2 mutant mice

Ruschke K¹, Blüher M¹, Klötting N¹, Braun T²

¹Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig, Germany, ²Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung, Cardiac Development and Remodeling, Bad Nauheim, Germany

The basic helix-loop-helix protein NSCL-2, a neuronal transcription factor, is widely expressed in different areas of the CNS and PNS during embryonic and fetal development. During postnatal live the expression decreases significantly but is specifically maintained in hypothalamic areas known for control of food intake and energy expenditure. In particular, the expression of NSCL-2 co-localizes with POMC and NPY in neurons of the arcuate and paraventricular nucleus. NSCL-2 mutant mice show adult onset of obesity and leptin resistance. NSCL-2 knockout mice, unlike ob/ob mice, are characterized by low insulin and high adiponectin serum levels. We investigated glucose uptake, lipolysis and glucose metabolism in isolated adipocytes of NSCL-2 x ob/ob double mutants and in ob/ob mice. Interestingly, adipocytes derived from NSCL-2/ob/ob compound mice show a decreased insulin resistance compared to ob/ob or NSCL-2 mutant adipocytes. Epigonadal adipose tissue showed two populations of adipocytes, a small preadipocyte (< 50 μ m) and a large mature adipocyte (> 100 μ m) form. Furthermore, the number of preadipocytes was 7 times higher compared to wild type and ob/ob mice (ANOVA, $F = 459$, $p < 10^{-4}$). In addition, we found an increase of the expression of resistin in WAT of NSCL-2 mutants in contrast to ob/ob mice and WT mice. We reason that elevated levels of resistin in NSCL-2 mutant mice together with other unknown neuroendocrine and/or neuronal effects directs preadipocyte differentiation in fat tissue. This work was supported by the DFG and the BMBF.

V17

AMPK-abhängige Steigerung der Lebenserwartung durch Reduktion des Glukosestoffwechsels in Caenorhabditis elegans

Ristow M¹, Schulz TJ¹, Voigt A², Urban N³, Mühle H³, Zarse K³, Birringer M³

¹Lehrstuhl f. Humanernährung, Institut f. Ernährungswissenschaften, Friedrich-Schiller-Universität Jena, u. Deutsches Institut f. Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, Abtlg. Klin. Ernährung, Nuthetal, Germany, ²Universität Potsdam, Lehrstuhl f. Ernährungstoxikologie, Institut f. Ernährungswissenschaft, Potsdam, Germany, ³Lehrstuhl für Humanernährung, Institut für Ernährungswissenschaften, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Jena, Germany

Fragestellung: Ein scheinbar zentraler Mechanismus der Therapie des Typ 2 Diabetes ist die Steigerung der peripher-zellulären Glukoseaufnahme. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob eine Inhibierung des glykolytischen Glukosestoffwechsels (analog zum Zustand der verminderten Glukoseaufnahme) eine Reduktion der Lebenserwartung (analog zum unbehandelten Typ 2 Diabetes) bewirken zu vermag. **Methodik:** Der Modellorganismus C. elegans wurde zur Etablierung eines Modells der reduzierten Verfügbarkeit von Glukose mit dem Glykoly-

einhibitor 2-D-Desoxy-Glukose behandelt. Neben der Bestimmung der Lebenserwartung wurden Untersuchungen zur Stresstoleranz und zu molekularen Signaltransduktion durchgeführt. **Ergebnisse:** Die spezifische Inhibierung des glykolytischen Glukosestoffwechsels durch 2-D-Desoxy-Glukose aktiviert den oxidativen Stoffwechsel der Mitochondrien ($P < 0,0001$). Nebst dieser mitochondrialen Aktivierung ist die Toleranz gegenüber externen oxidativen Stressoren überraschenderweise ebenfalls gesteigert ($P < 0,0001$), welches in gesteigerter Lebenserwartung des Nematoden C. elegans kumuliert ($P < 0,01$). Ferner kann gezeigt werden, dass die Vorbehandlung von Nematoden mit dem Antioxidans N-Acetylcystein die Induktion der endogenen Stressresistenz verhindert ($P < 0,01$), also den positiven Effekt vermindert Glukoseverfügbarkeit nivelliert. Dementsprechend wird gezeigt, dass NAC-Behandlung in diesem System zu einer Verkürzung der Lebenserwartung führt. Zusätzlich führt Glykolyserestriktion in C. elegans zu einer vermehrten Phosphorylierung von aak-2, dem C.elegans-Homolog der mammalian AMP-aktivierten Protein Kinase (AMPK). Es kann gezeigt werden, dass eine Unterbrechung der Expression von aak-2 (knock-out) die glukoserestriktionsbedingte Verlängerung der Lebenserwartung aufhebt ($P > 0,3$), somit AMPK-Aktivierung als Induktor für die mitochondriale Verlängerung der Lebenserwartung angesehen werden muss. **Schlussfolgerungen:** Es wird erstmals gezeigt, dass eine verminderte Glukosemetabolisierung die Lebenserwartung in C.elegans mittels Induktion von mitochondrialem Stoffwechsel und gleichzeitig gesteigerter Stressresistenz in zwingender Abhängigkeit von einer Aktivierung der AMP-Kinase verlängert. Diese Ergebnisse stellen die Gültigkeit eines zentralen Therapieprinzips in der Behandlung des Typ 2 Diabetes, die Steigerung der peripheren Glukoseaufnahme, teilweise in Frage.

V18

Unabhängige Bedeutung perivaskulärer Fettdepots für die Insulinresistenz

Rittig K¹, Böttcher M², Machann J², Peter A¹, Schick F², Häring HU¹, Balletshofer B¹

¹Universität Tübingen, Abteilung für Endokrinologie, Diabetes, Angiologie, Nephrologie und klinische Chemie, Tübingen, Germany, ²Universität Tübingen, Abteilung für experimentelle Radiologie, Tübingen, Germany

Fragestellung: In der Pathogenese der Insulinresistenz wird über endo- und parakrine Einflüsse insbesondere dem viszeralem und hepatischem Fett, eine entscheidende Bedeutung beigemessen. Aktuell wird diskutiert, ob perivaskuläre Fettdepots über direkte Effekte auf die Gefäßwand peripherer Arterien eine weitere Einflussgröße auf die Insulinsensitivität darstellen könnten. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher die Bedeutung perivaskulärer Fettdepots auf die Insulinsensitivität in vivo zu untersuchen. **Methodik:** Die Insulinresistenz wurde mittels eines euglykämischen, hyperinsulinämischen Glukose clamps, in 20 Personen (13 Frauen, 7 Männer; mittleres Alter $46 \pm 2,6$ Jahre) gemessen. Fettverteilung und insbesondere das perivaskuläre Fett (A. brachialis) wurde mittels hoch auflösender Kernspintomographie gemessen. **Ergebnisse:** Sowohl für das perivaskuläre, wie das viszerale und hepatische Fett zeigte sich eine signifikante Assoziation mit dem ermittelten Insulinsensitivitäts-Index. In der multivariaten, schrittweisen Regressionsanalyse hingegen, stellte sich die perivaskuläre Fettmenge als einziger Parameter mit unabhängigem Einfluss auf die Ganzkörperinsulinsensitivität heraus. Die Korrelation zwischen Insulinresistenz und perivaskulärem Fett ($p = 0,0074$; $r = -0,641$), war unabhängig von Alter, Geschlecht, viszeralem und hepatischem Fett. **Schlussfolgerung:** Unsere Daten zeigen erstmalig die bedeutende Rolle perivaskulärer Fettdepots für die Insulinresistenz in vivo. Pathogenetisch könnte dies über einen gestörten nutritiven muskulären Blutfluss bedingt sein. Der Erfassung der perivaskulären Fettmenge könnte somit eine relevante Bedeutung in der Risikoprädiktion bei Insulinresistenz zukommen.

Symposium „Autonome Neuropathie: Aktuelle Erkenntnisse und therapeutische Konsequenzen“

V19

Zusammenhang zwischen kardialer autonomer Neuropathie (CAN) und linksventrikulärer Masse (LVM) bei Typ-2-DiabetesFerrière A¹, Üffing M¹, Pfohl M¹, Zimny S¹¹EVK Bethesda Duisburg, Lehrkrankenhaus der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Medizinische Klinik 1, Duisburg, Germany

Fragestellung: Untersuchungen an dialysepflichtigen Diabetikern weisen darauf hin, dass möglicherweise die durch das vegetative Nervensystem getriggerten Apoptosemechanismen zu einem Remodeling führen und somit ein Zusammenhang zwischen der CAN und dem linksventrikulären Massenindex (LVMI) als Marker für eine linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) besteht. Im Hinblick auf die Häufigkeit mikrovaskulärer Spät komplikationen bei Typ-2-Diabetikern untersuchten wir den Zusammenhang zwischen CAN und LVM sowie LVMI. **Methodik:** Sowohl bei Typ-2-Diabetikern als auch Nicht-Diabetikern wurden die Indizes der LVH und Herzfrequenzvariabilität (HRV) untersucht. Standardisiert wurden die Wanddicken und Ventrikeldurchmesser anhand der ASE-Konventionen bestimmt und nach der Formel von Devereux die LVM berechnet. Der LVMI wurde aus $LVMI = LVM / KOF$ (Körperoberfläche) determiniert. Zusätzlich bestimmten wir die relative linksventrikuläre Wanddicke (rLVWT) aus $rLVWT = 2 \times PWTD$ (enddiastolische Hinterwanddicke) [mm] / $LVVIDd$ (enddiastolischer linksventrikulärer Innendurchmesser) [mm]. Parameter der HRV (SD, SDANN5, ASDNN5, RMSSD und pNN50) wurden computergestützt mittels 24 h EKG gemessen. **Ergebnisse:** Eingeschlossen wurden 103 Typ-2-Diabetiker und 107 Nicht-Diabetiker mit einem mittleren Alter von 65 ± 12 (Mittelwert \pm Standardabweichung) respektive 66 ± 16 Jahren. In der Diabetesgruppe betrug der mittlere HbA1c $8,5 \pm 2,3\%$. Das Geschlechtsverhältnis war in beiden Gruppen gleich. Diabetiker zeigten signifikant geringere Werte der Zeitbereichsanalyse der HRV im Vergleich zu Nicht-Diabetikern ($p = 0,01$ für SD, SDANN5, ASDNN5 und RMSSD, $p = 0,05$ für pNN50). Die Werte der LVM und LVMI waren bei Diabetikern im Vergleich zur Kontrollgruppe auf $304,3 \pm 117,0$ g und $158,6 \pm 54,4$ g/m² sowie $261,9 \pm 94,9$ g und $140,4 \pm 46,2$ g/m² ($p = 0,01$) signifikant erhöht. Jedoch ergab sich keine signifikante Korrelation zwischen den Parametern der HRV und der LVM respektive LVMI. **Schlussfolgerungen:** Bei Diabetikern waren die Variablen der Zeitbereichsanalyse der HRV als Ausdruck einer CAN im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant vermindert. Im Gegensatz zu einer bislang publizierten kleineren Studie bei dialysepflichtigen Diabetikern konnten wir keine Korrelation zwischen CAN und LVM und LVMI nachweisen. Es ist davon auszugehen, dass es sich bei der CAN und LVH um bei Diabetikern gehäuft anzutreffende unabhängige Variablen handelt.

Symposium „Neues zur Pathogenese der diabetischen Neuropathie“

V20

Das endotheliale Thrombomodulin Protein C System schützt vor der diabetischen Neuropathie durch zwei unabhängige MechanismenIsermann B¹, Blautzik J¹, Vinnikov I¹, Herzog S¹, Weiler H², Linn T³, Bierhaus A¹, Nawroth PP¹¹Universität Heidelberg, Innere Medizin I und Klinische Chemie, Heidelberg, Germany, ²Blood Center of Wisconsin, Blood Research Institute, Milwaukee, United States of America, ³Universität Gießen, Innere Medizin, Gießen, Germany

Wir konnten kürzlich zeigen, dass das endotheliale Thrombomodulin (TM) Protein C (PC) System vor der diabetischen Nephropathie in Mäusen schützt. Unbekannt ist, ob das endotheliale TM-PC System auch vor anderen diabetischen mikrovaskulären Komplikationen schützt. Wir haben in nicht-diabetischen Kontroll-Mäusen und diabetischen Mäusen die Schmerzempfindung („tail-flick“ Test, „hot-plate“ Test, Capsaicin-Test) und den endoneuronalen Blutfluss im N. sciaticus (Laser Doppler) bestimmt. Es wurden Mäuse mit einem Funktionsverlust des TM-PC Systems (TMPPro/Pro, keine TM-abhängige Protein C Aktivierung), mit einer „gain of function“ Mutation (transgene Mäuse mit hohen aktivierten PC Plasmaspiegeln, PChigh), wild-typ Mäuse mit täglichen subkutanen Heparin Injektionen (WThep) und wild-typ Kontroll-Mäuse (WT) verglichen. Diese Mäuse wurden nach Injektion mit Streptozotocin für 30 Wochen diabetisch gehalten. Im Vergleich mit nicht-diabetischen Kontrollmäusen (WT) kam es nach persistierender Hyperglykämie zu

einer signifikanten Neuropathie in diabetischen WT und diabetischen TMPPro/Pro Mäusen. Die Schmerzempfindung in diabetischen PChigh Mäusen war hingegen nicht beeinträchtigt im Vergleich zu nicht-diabetischen WT Mäusen. Die Perfusion des N. sciaticus war vermindert in diabetischen WT und TMPPro/Pro Mäusen, wohingegen der Blutfluss in diabetischen PChigh und WThep Mäusen normal war. In Übereinstimmung hiermit waren Marker der Gerinnungsaktivierung (TAT, D-Dimer) in PChigh und WThep Mäusen im Vergleich zu nicht diabetischen WT Mäusen normalisiert. Sowohl Heparin als auch aktiviertes PC normalisierten den neuronalen Blutfluss. Hingegen konnte eine signifikante Neuroprotektion nur in diabetischen PChigh nachgewiesen werden. Somit schützt aktiviertes PC vor der diabetischen Neuropathie sowohl durch seine antikoagulant Eigenschaften sowie durch einen weiteren, bisher noch nicht charakterisierten Mechanismus. Diese Ergebnisse zeigen, dass das endotheliale TM-PC System nicht nur vor der diabetischen Nephro-, sondern auch vor der diabetischen Neuropathie schützt. Somit kommt diesem endothelialen System eine wesentliche Rolle für die Pathogenese der mikrovaskulären diabetischen Komplikationen zu.

V21

Cell-cell interactions in diabetic neuropathyLukic I¹, Stoyanov S¹, Erhardt A¹, Nawroth P¹, Bierhaus A¹¹Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, Germany

Question: Diabetic neuropathy is one of the most relevant chronic diabetic complications but its pathophysiology is poorly understood. Recent data indicate that the Mac-1, key player in leukocyte adhesion, and its receptor ICAM-1, expressed on vascular endothelium, recruit leukocytes, believed to participate in late diabetic complications. Another Mac-1 counter receptor able to promote leukocyte recruitment is RAGE. Thus, we hypothesized that ICAM and RAGE are involved in diabetic neuropathy and studied their role by using the knock-out mice. **Methods:** Wild-type mice (C57Bl/6; B6) and RAGE^{-/-}, ICAM-1^{-/-}, and RAGE^{-/-} xICAM-1^{-/-} on B6 background were used. Diabetes was induced by streptozotocin in 6–7 week-old females. Blood glucose was measured regularly and insulin was given if the glucose was ≥ 300 mg/dL. Measurements of the nerve function in diabetic and control mice were performed at 3 weeks, 6 weeks, 3 months, and 6 months after the induction of diabetes. Thermal pain perception was assessed by the hot-plate test (at 50 °C). Mechanical pain perception was assessed by a planthar aesthesiometer (force of 20 g). The sciatic blood flow was assessed using a laser-Doppler measurement. **Results:** Overt differences in thermal pain perception of control and diabetic B6 mice appeared at 3 months: the diabetic mice had higher hot-plate latency than the controls (29.1 ± 3.3 vs. 23.4 ± 3.2 s, respectively; $P < 0.05$). The difference persisted until the end of the 6th month: 36.4 ± 4.5 in diabetic vs. 28.0 ± 4.9 s in control B6 mice ($P < 0.05$). In contrast, diabetic RAGE^{-/-} and ICAM-1^{-/-} mice had slightly higher hot-plate latencies than the respective controls, but the differences were not significant. Moreover, diabetic RAGE^{-/-} xICAM-1^{-/-} animals had even lower hot-plate latencies (21.2 ± 5.7 s) than the controls (23.2 ± 6.6 s). The mechanical pain threshold was also higher in diabetic B6 mice (10.2 ± 2.0 vs. 8.0 ± 0.9 g in controls; $P < 0.05$), while such a difference was not observed in the RAGE or ICAM-deficient mice. Reduced pain perception in diabetic B6 mice was paralleled by a significant reduction in the sciatic blood flow (29.3 ± 2.6 (arbitrary units) in control vs. 19.5 ± 3.5 in diabetic mice ($P < 0.05$)). A similar trend was observed in the RAGE^{-/-} or ICAM-1^{-/-} mice. However, reduction in neuronal blood flow was much smaller. Remarkably, diabetic RAGE^{-/-} xICAM-1^{-/-} mice showed no reduction in the blood flow (34.6 ± 5.0 vs. 33.0 ± 3.2 in controls). **Conclusions:** Long-term diabetic wild-type mice developed features characteristic of the diabetic neuropathy: thermal and mechanical hypoalgesia and reduced neuronal blood flow. In contrast, mice deficient for RAGE^{-/-} or ICAM-1^{-/-} were partially, while the diabetic RAGE^{-/-} xICAM-1^{-/-} mice were completely protected from the effects of diabetes. Thus, animals with impaired inflammatory response perceived less pain, which points out to the major role that the leukocyte adhesion molecules could play in the late diabetic complications.

V22

Neuronale Überexpression von Glyoxalase-I reduziert hyperglykämie-induzierte mitochondriale Deletionen, schützt vor neuronaler Degeneration und verlängert die Lebensspanne in *C. elegans*

Kukudov G¹, Oikonomou D¹, Schlotterer A¹, Hutter H², Ibrahim Y¹, Hamann A³, Humpert P¹, Rudofsky G¹, Bierhaus A¹, Nawroth PP¹, Morcos M¹
¹Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, Germany, ²Simon Fraser University, Department of Biological Sciences, Burnaby, Canada, ³Diabetes-Klinik Bad Nauheim GmbH, Bad Nauheim, Germany

Fragestellung: Hyperglykämie verursacht Organschäden einschließlich neuronaler Dysfunktion. Methylglyoxal akkumuliert unter hyperglykämischen Bedingungen, ist mit der Entstehung von AGEs und Organschäden assoziiert und wird durch Glyoxalase-I abgebaut. Der Nematode *C. elegans* dient in dieser Studie als Modellsystem zur Untersuchung hyperglykämie-induzierter neuronaler Schäden. Dabei soll die Rolle von neuronaler Glyoxalase-I als Schutzmechanismus untersucht werden. **Methodik:** *C. elegans* mit neuronaler GFP-Überexpression und Tiere mit neuronaler GFP- und Glyoxalase I-Überexpression wurden zur Untersuchung verwendet. Bestimmt wurden Lebensspanne, mitochondriale Deletionen, neuronale Degeneration (morphologische Beschreibung durch Fluoreszenzmikroskopie) sowie neuronale Funktionen (Fortbewegungsgeschwindigkeit, Körperkrümmung) unter normalen und hyperglykämischen Bedingungen. **Ergebnisse:** Gegenüber Tieren unter normalen Kulturbedingungen wiesen *C. elegans* unter hyperglykämischen Bedingungen signifikant mehr mitochondriale Deletionen, mehr Schäden des Nervensystems (morphologisch und funktionell) und eine verkürzte Lebensdauer auf. Diese negativen Effekte von hyperglykämischen Kulturbedingungen konnten durch eine neuronale Glyoxalase I-Überexpression größtenteils aufgehoben werden. **Schlussfolgerung:** Eine neuronale Überexpression von Glyoxalase I schützt vor den Folgen hyperglykämischer Kulturbedingungen bei *C. elegans*. Diese Effekte entsprechen denen bei ubiquitärer Glyoxalase-I Überexpression beobachteten, und weisen zum Einen auf die protektive Rolle neuronaler Glyoxalase-I hin, zum Anderen auf die zentrale Bedeutung des Nervensystems selbst hinsichtlich der Lebensdauer *C. elegans*.

Symposium „Therapie der Adipositas bei Typ-2-Diabetikern: Was nützt dem Patienten? Was ist machbar?“

V23

Frühe Gewichtszunahme als Prädiktor für Glucosetoleranzstörungen und koronares Risiko bei Frauen

Zyriax BC¹, Schöffauer M², Klipstein-Grobusch K³, Boeing H⁴, Windler E¹
¹Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Zentrum für Innere Medizin, Hamburg, Germany, ²Universitätsklinik Heidelberg, Heidelberg, Germany, ³Deutsches Institut für Ernährungsforschung und University of the Witwatersrand, School of Public Health, Johannesburg, South Africa, ⁴Deutsches Institut für Ernährungsforschung und University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa, Abteilung Epidemiologie, Potsdam-Rehbrücke, Germany

Fragestellung: Die zentrale Adipositas ist als wesentlicher kardiovaskulärer Risikofaktor etabliert. Sie geht mit einer höheren Prävalenz von gestörter Glucosetoleranz, Hypertonus, Dyslipidämie und koronarer Herzkrankheit einher. Die vorliegende Analyse untersucht den Einfluss der Gewichtsentwicklung in verschiedenen Altersdekaden auf die Entstehung einer zentralen Adipositas, die kardiovaskulären Risikofaktoren und koronare Herzkrankheit in der CORA-Studie. **Methodik:** Die CORA-Studie (Coronare Risikofaktoren für Arteriosklerose bei Frauen) vergleicht anthropometrische, klinische, biochemische und Lebensstilfaktoren von 200 Frauen mit inzidenter koronarer Herzkrankheit mit den Charakteristika 255 gleichaltriger Kontrollen aus demselben Stadtteil. Daten zur Gewichtsentwicklung wurden retrospektiv erhoben. **Ergebnisse:** Zum Zeitpunkt der Manifestation der koronaren Herzkrankheit unterschieden sich Fälle und Kontrollen nicht im BMI. Frauen mit koronarer Herzkrankheit hatten aber einen signifikant höheren Taillenumfang und Taillen-Hüft-Quotienten (91 cm vs. 84 cm bzw. 0,88 vs. 0,82, jeweils $p < 0,0001$). Gleichzeitig waren Diabetes Typ 2, eingeschränkte Glucosetoleranz und Hypertonus signifikant häufiger und das mittlere HDL-Cholesterin signifikant niedriger (jeweils $p < 0,0001$). Fälle und Kontrollen hatten zwischen dem 20. und 60. Lebensjahr gleichermaßen

um durchschnittlich ca. 10 kg zugenommen. Allerdings erfolgte der Gewichtsanstieg bei den Fällen etwa 10 Jahre früher. Die stärkere Zunahme des Körpergewichts zwischen dem 30 und 40 Lebensjahr korrelierte nicht signifikant mit höherem BMI, aber einem signifikant höheren Taillenumfang, einer gestörten Glucosetoleranz, Hypertonus und niedrigem HDL-Cholesterin sowie mit der späteren Manifestation einer koronaren Herzkrankheit. Eine Gewichtszunahme von 1% in diesem Lebensabschnitt war mit einer Erhöhung des koronaren Risikos um 3% assoziiert. Im multivariaten Modell war der Effekt der Gewichtszunahme auf die Manifestation der koronaren Herzkrankheit nicht unabhängig von den genannten koronaren Risikofaktoren. **Schlussfolgerungen:** Die Daten der CORA-Studie weisen auf einen starken Einfluss einer Gewichtszunahme im jüngeren Erwachsenenalter der Frau auf die Manifestation einer zentralen Adipositas und koronaren Herzkrankheit hin. Das Risiko scheint von den bekannten Faktoren des metabolischen Syndroms determiniert zu werden. Gewichtszunahme sollte als früher Marker für späteres koronares Risiko im klinischen Alltag stärkere Berücksichtigung finden.

Freie Vorträge 3 – Leitlinien, Schulung und Therapie

V24

Diabetes und Knochenstoffwechsel – Langzeitverlauf nach simultaner Pankreas- und Nierentransplantation

Hierl FX¹, Wanie L², Landgraf R², Dieterle C²
¹LMU München, Klinik für Physikalische Medizin/Rehabilitation, München, Germany, ²Diabeteszentrum an der Medizinischen Klinik Innenstadt der LMU München, München, Germany

Hintergrund: Der Zusammenhang von Diabetes mellitus und Knochenstoffwechselstörungen wird kontrovers diskutiert, insbesondere bei Menschen mit Typ 1 Diabetes. Die Bedeutung von Insulin und IGF 1 auf die nötige Rekrutierung von Osteoblasten kann als gesichert gelten. Erhöhte Frakturraten nach Transplantation werden insbesondere auf das Vorhandensein eines Diabetes mellitus zurückgeführt. So zeigten Patienten mit Diabetes und Urämie die höchsten Frakturraten nach Transplantation. Das Ziel dieser Studie war die Veränderungen der Knochendichte nach erfolgreicher Transplantation von Pankreas und Niere bei Patienten mit Typ1 Diabetes und terminaler Niereninsuffizienz zu messen. **Methoden:** Es wurden Knochenstoffwechsel, Knochendichte (Dual-Energy Röntgenabsorptiometrie, DXA), Frakturaten bei 45 Patienten nach simultaner Pankreas-Nierentransplantation untersucht. Die mittlere Nachuntersuchungszeit betrug 67,5 Monate, wobei mindestens zwei aufeinanderfolgende Knochendichtemessungen vorlagen. **Ergebnisse:** Während des gesamten Untersuchungszeitraums blieben alle Patienten Insulinfrei (HbA1c 5,4 – 5,7%), die Transplantatnierenfunktion war gemessen am Serumkreatinin mit $1,48 \pm 0,15$ mg/dl stabil. Erhöhte Parathormonspiegel (> 65 ng/dl) lagen initial bei 50% und im Verlauf bei 45% vor. Es zeigte sich eine signifikante Verbesserung des initialen T-Wertes über der LWS (LWK 2 – 4) von $-1,03$ (8,7% lagen unter $-2,5SD$) auf T-Wert $-0,6$ ($p < 0,005$). Über den gesamten Beobachtungszeitraum traten bei 13% Frakturen auf. **Schlussfolgerung:** Unsere Ergebnisse zeigen dass nach Nierentransplantation und durch die Wiederherstellung der Glukosehomöostase durch zusätzliche Pankreastransplantation eine Verbesserung des Knochenstoffwechsels und eine Reduktion der Frakturrate erreicht werden kann.

V25

Neuer Phänotyp bei Patienten mit heterozygotem Verlust des TCF2 (HNF1β) Gens: Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)-5, Nierendysplasie und Genitale Fehlbildungen, aber auch schwere Wachstumsretardierung und Gallengangshypoplasie

Raile K¹, Deiss D¹, Klopocki E², Horn D², Maringa M³, Weber J⁴, Grüters A¹
¹Pädiatrische Endokrinologie und Diabetologie, Charité Campus Virchow, Berlin, Germany, ²Medizinische Genetik, Charité Campus Virchow, Berlin, Germany, ³Praxis für Humangenetik, Bonn, Germany, ⁴Integraren, Bonn, Germany

Hintergrund: Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) 5 wird durch Mutationen des TCF2 Gens verursacht, das für den Transkriptionsfaktor Hepatocyte Nuclear Factor-1β (HNF1β) kodiert. MODY5 ist assoziiert mit Fehlbildungen der Niere, der Genitalien und teilweise erhöh-

ten Leberwerten ohne Leberfunktionsstörung. Eine aktuelle Analyse hatte gezeigt, dass bei ca. 30% der Patienten mit MODY 5 Phänotyp eine große Deletion des gesamten TCF2-Gens vorliegt (Bellanne-Chantelot C, et al. *Diabetes* 54:3126 – 3132, 2005). **Methodik und Fallberichte:** Der erste Patient ist ein 17-jähriger Jugendlicher mit extremer intrauteriner und postnataler Wachstumsretardierung (Geburtsgewicht 1450 g, aktuelle Länge 132,3 cm, -6,45 SDS), schwerer, kongenitaler Cholestase aufgrund einer Gallengangshypoplasie, sowie einseitigem Kryptorchismus und beidseitiger Nierenfehlbildung (einseitiger Nierenaplasie und kontralateraler Hydronephrose). Diabetes mellitus entwickelte sich klinisch bis zum 13. Lebensjahr mit nachweisbarem C-Peptid und ohne Ketonämie. Die zweite Patientin ist eine 14-jährige Jugendliche mit milder Diabetesmanifestation im Alter von 13 Jahren. Zusätzliche Fehlbildungen sind eine einseitige, kongenitale Nierendysplasie und ein Uterus Bicornis. Beide Patienten wurden initial mit Insulin behandelt, die 2. Patientin wurde erfolgreich auf eine orale Therapie mit Glibenclamid (0,1 mg/kg/d) umgesetzt. **Molekulargenetik:** DNA der Patienten wurde zunächst im TCF-2 Gen sequenziert, und anschließend, nachdem keine Mutation nachgewiesen werden konnte, mittels quantitativer Multiplex-PCR of Short Fluorescent Fragments (QMPSF) bezüglich TCF-2 Gendelektion untersucht, die in beiden Fällen nachgewiesen werden konnte. Eine FISH-Analyse mit spezifischen Sonden in der vermuteten Deletionsregion zeigte eine ca. 1,4 Mb große, heterozygote Gendelektion auf Chromosom 17q12, die zu einem monoallelischen Verlust von 14 bekannten Genen, darunter auch TCF2 (HNF1 β), führt. Die Eltern beider Patienten zeigten keine TCF-2 Deletion (FISH Analyse), so dass wir in beiden Fällen von einer De Novo Deletion ausgehen. **Schlussfolgerung:** Wir berichten über 2 Fälle mit einer Mikrodeletion, die zu heterozygotem Verlust des TCF2 (HNF1 β) Gens führt. Neben den bisher bekannten Fehlbildungen im Urogenitaltrakt sehen wir bei einem Patienten zusätzlich eine extreme Wachstumsretardierung und eine schwere Cholestase, die erstmals im Zusammenhang mit einer TCF2 Mutation oder Deletion beschrieben ist. Bemerkenswert erscheint uns, dass ein vergleichbarer Phänotyp mit Gallengangshypoplasie und Wachstumsretardierung bei Mäusen mit Leber-spezifischer TCF-2 Inaktivierung gefunden wurde, so dass wir von einer pathogenetischen Bedeutung der TCF-2 Deletion in unserem Fall ausgehen.

V26

Kognitive Entwicklung bei älteren Typ 2 Diabetikern: Eine Längsschnittstudie

Aberle I¹, Kliegel M¹, Zimprich D¹

¹Universität Zürich, Zürich, Switzerland

Fragestellung: Das Auftreten kognitiver Defizite wird primär bei älteren Diabetespatienten angenommen (60+; Ryan & Geckle, 2000), jedoch berichten die meisten kognitiven Diabetesstudien nur von hochaltrige Patienten (z.B. Hassing et al., 2004; Durchschnittsalter 83 Jahre). Deshalb gibt es bisher wenige Informationen zu kognitiven Veränderungen bei jungen alten Diabetespatienten. Weiterhin sind die verwendeten kognitiven Maße teilweise von beschränkter Aussagekraft (Dementielle Screening Instrumente) und es gibt bisher wenige Ergebnisse zu intraindividuellen Veränderungen der kognitiven Leistungsfähigkeit bei Diabetespatienten. Die Fragestellung lautete daher, a) inwiefern Unterschiede zwischen Typ 2 Diabetikern und altersgematchten Kontrollpersonen im Rahmen einer umfassenden kognitiven Testbatterie bestehen und b) wie die intraindividuelle Entwicklung der kognitiven Leistungsfähigkeit über einen Zeitraum von vier Jahren verläuft. **Methodik:** Die Studie umfasst 461 Teilnehmer der ILSE-Studie (eine laufende interdisziplinäre Längsschnittstudie zum Erwachsenenalter), mit einem Anteil von 40 Diabetes Typ 2 Patienten und 421 altersgematchten Kontrollteilnehmern. Es wurde die kognitive Testbatterie der ILSE-Studie analysiert, die aus 6 Einzeltestungen bestand (kristalline Intelligenz, fluide Intelligenz, Verbalgedächtnis, räumliches Gedächtnis, Exekutivfunktionen und psychomotorische Schnelligkeit). Diabeteserkrankung wurde im Rahmen des medizinischen Protokolls der ILSE-Studie erfasst. Die Messung fand zu zwei Zeitpunkten T1 und T2 statt mit einer Differenz von vier Jahren, das mittlere Alter zum ersten Messzeitpunkt betrug 62,97 Jahre ($\pm 0,91$; Min 60,25, Max 65,25). **Ergebnisse:** Zu keinem der beiden Messzeitpunkte ergab sich im Querschnitt ein signifikanter Gruppenunterschied zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern. Allerdings zeigten sich bei längsschnittlicher Überprüfung der intraindividuellen Veränderung der kognitiven Leistungsfähigkeit Unterschiede zwischen den Gruppen in den kognitiven Domänen kristalline ($F = 8,74$; $p < 0,01$) und fluide Intelligenz ($F = 4,72$; $p < 0,05$). Während bei Kontrollteilnehmern eine Zunahme von sowohl kristalliner ($M_{T1} = 15,91$; $M_{T2} = 16,37$) als auch fluider Intelligenz ($M_{T1} = 11,9$; $M_{T2} = 12,30$) zu verzeichnen war, nahm die Leistungsfähigkeit in diesen Bereichen bei Diabetespatienten innerhalb

von 4 Jahren signifikant ab (kristallin: $M_{T1} = 16,58$; $M_{T2} = 15,85$; fluid: $M_{T1} = 12,40$; $M_{T2} = 11,60$). **Schlussfolgerungen:** Die Studie demonstriert, dass bei jungen alten Typ 2 Diabetespatienten (60 – 65 Jahre) die kognitiven Folgen der Diabeteserkrankung sich besonders in intraindividuellen Veränderungen der Leistungsfähigkeit niederschlagen. Daher sollte künftige Forschung zu diesem Thema besonders Veränderungsmessung anstelle von Mittelwertsunterschieden untersuchen.

V27

Wird der DDG – Stufenplan der medikamentösen Therapie des Typ 2 Diabetes in der haus- und fachärztlichen ambulanten Versorgung konsequent umgesetzt? Eine Analyse aus der „CoRiMa“ – Studie

Bierwirth RA¹, Lippmann-Grob B², Reuter M³, Brosz M⁴, Milbradt U⁵, Prien M⁶, Geller JC⁷

¹Ambulantes Diabeteszentrum, Essen, Germany, ²Diabetes-Zentrum Mergentheim, Bad Mergentheim, Germany, ³Ambulantes Diabeteszentrum, Jena, Germany, ⁴StatConsult, Gesellschaft für klinische und Versorgungsforschung mbH, Magdeburg, Germany, ⁵Gemeinschaftspraxis f. Allgemeinmedizin, Diabetische Schwerpunktpraxis, Hadmersleben, Germany, ⁶Pfizer Pharma GmbH, Karlsruhe, Germany, ⁷Zentralklinik Bad Berka GmbH, Kardiologie, Bad Berka, Germany

Fragestellung: Mit über 6 – 8 Mio. Betroffenen und einer Prävalenz von 8% ist der Diabetes mellitus (DM) eine epidemische Erkrankung. Eines der Hauptziele der Diabetestherapie ist es, mikro-/makrovaskuläre Folgeerkrankungen zu verhindern oder hinauszuzögern. Dafür sind eine Lebensstiländerung und eine leitlinienorientierte Einstellung des Blutzuckers (BZ) erforderlich. Diese Studie sollte die aktuelle Versorgungssituation bei diabetischen Patienten, insbesondere die Einstellung der HbA1C Werte und der aktuellen Medikation, betrachten. **Methodik:** Deutschlandweit wurde in ausgewählten Haus- und Facharztpraxen eine Daten-Analyse aller Patienten bezogen auf Herz-Kreislauf- und Diabetes-Erkrankungen durchgeführt, die in der Praxissoftware zwischen 1998 und 2005 in der jeweiligen Arztpraxis erfasst wurden. In dieser Auswertung sind die Ergebnisse der Patienten mit DM dargestellt. Informationen zum Alter, Geschlecht, HbA1c-Verteilung, Risikofaktoren sowie die gefundene antidiabetische Therapie dienen als Grundlage. Als Referenz für die HbA1c-Werte am letzten Konsultationstag wurde die aktuelle DDG-Leitlinie herangezogen. **Ergebnisse:** 110 Arztpraxen (17% diabetologische Schwerpunktpraxen) mit 716.000 Patienten-Datensätzen haben sich an der Studie beteiligt. Aus diesem Datenpool hatten 83.252 Patienten einen dokumentierten DM. Am letzten gefundenen Konsultationstag erreichten 64,3% dieser Patienten nicht den empfohlenen HbA1c-Zielwert von $< 6,5\%$. 18,6% lagen unterhalb der Interventionsgrenze zwischen $6,5 \leq 7\%$. Im Interventionsbereich $> 7\%$ war die Verteilung wie folgt: 24,7% im Bereich $7 \leq 8\%$, 11,4% in $8 \leq 9\%$ und 9,6% mit $HbA1c > 9\%$. Für diese drei Bereiche ergab die Analyse der dokumentierten antidiabetischen Medikation, dass 42% der Patienten ausschließlich mit oralen Antidiabetika (OAD) behandelt wurden. In der Subgruppe mit $HbA1c$ zwischen $8 - 9\%$ wurden 9,6%-und in der Subgruppe $> 9\%$ immer noch 7,7% Patienten ausschließlich mit OAD's behandelt. **Schlussfolgerung:** (1) Nur jeder dritte DM-Patient erreicht den HbA1c-Zielwert von $< 6,5\%$, jeder zweite liegt über dem DDG Interventionswert $> 7\%$ (2) Trotz Vorgaben des medikamentösen Stufenplanes der DDG werden in der Subgruppe der Patienten mit $HbA1c > 8\%$ immer noch 17% ausschließlich mit OAD's eindeutig untertherapiert. Diese Ergebnisse zeigen ein erhebliches Versorgungsdefizit in der Behandlung des Diabetes mellitus und einen hohen Anteil an OAD-Pat. mit unzureichender glykämischer Kontrolle. Mögliche Gründe könnten sein: unzureichende Wahrnehmung der Erkrankung, Verdrängung der Erkrankung durch den Patienten, Ablehnung der Insulintherapie, nicht angepasste oder unzureichende Dosierung, möglicherweise auch budgetäre Zwänge.

V28

Vergleich der deutschen und britischen Diabetes Leitlinien: Auftreten von Spät komplikationen und daraus resultierende Kosten: Simulationen mit dem EAGLE-Modell

Müller E¹, Huppertz E², Stridde E³¹Analytica International, Lörrach, Germany, ²privat, Niederebach, Germany, ³Pfizer Pharma GmbH, Karlsruhe, Germany

Fragestellung: T2DM ist eine der größten Herausforderungen für Gesundheitssysteme. Eine zielorientierte Behandlung ist notwendig. Das EAGLE-Modell erlaubt einen Vergleich von NICE Diabetes-Guidelines (UK) und DDG-Praxisleitlinie (D). Das Auftreten von Spät komplikationen und deren Kostenwirkungen werden verglichen. **Methodik:** Das EAGLE-Diabetesmodell (Economic Assessment of Glycemic Control and Long-term Effects) simuliert den Krankheitsverlauf virtueller Patienten, hier von T2-Diabetikern über 10-Jahre. Die Modellalgorithmen basieren primär auf Studien wie DCCT, UKPDS und WESDR. Anhand demographischer und klinischer Parameter werden mikro- und makrovaskuläre Komplikationen simuliert. Neben der Blutzuckereinstellung (HbA1c) sind Blutdruck, Lipide, Alter, Diabetesdauer und -behandlung wichtige Einflussfaktoren. Folgende Patientenkohorte werden betrachtet: Alter 64 ± 11 Jahre, Diabetesdauer 10 ± 8 Jahre, 49% Männer, 80% Hypertoniker, HbA1c bei Simulationsstart 7,7 ± 1,8%, HDL 1,11 und LDL 3,84 mmol/l. Einflussparameter beim Simulationsvergleich sind HbA1c Zielwert (7,7% für UK, 6,4% für D) sowie Blutdruck- und Lipidkontrolle gemäß den Richtlinien. Die KoDiM-Studie liefert die Kostendaten (2001). Ermittelt wurde die Vermeidung von Spät komplikationen und daraus resultierende Einspareffekte. **Ergebnisse:** Die konsequente Kontrolle von Blutzucker, Blutdruck und Lipiden gemäß der DDG Leitlinie zeigt eine deutliche Risikoreduktion für Spätfolgen verglichen mit den UK-Guidelines: Die Inzidenzen für proliferative Retinopathie, terminale Niereninsuffizienz und Herzinfarkt liegen 14%, 23% und 11% niedriger. Daraus resultieren Kosteneinsparungen. Für 1.000 Patienten differieren nach 10 Jahren die durch diese Komplikationsarten verursachten Kosten um 26T€, 366T€, 148T€ zu Gunsten der DDG- Leitlinie. Die Gesamtkosten für die „DDG-Kohorte“ liegen schließlich 186T€ niedriger. Die Einspareffekte werden z.T. durch die höheren finanziellen Aufwendungen für die antihyperglykämische Therapie und die Behandlung vermehrter Hypoglykämien bei konsequenter Anwendung der DDG-Leitlinie reduziert. **Schlussfolgerung:** Die europäischen Diabetesleitlinien differieren z.T. deutlich. Sowohl die klinischen als auch die ökonomischen Konsequenzen sprechen für eine Vereinheitlichung – orientiert an der vorhandenen Evidenz-Lage – und für eine konsequente Umsetzung der deutschen Leitlinie.

V29

Entwicklung einer modifizierten Fassung des Problem Areas in Diabetes (PAID) Fragebogens für Jugendliche mit Typ 1 Diabetes – psychometrische Überprüfung und erste Ergebnisse

Dabelstein D¹, Kubiak T¹, Kristen A², Schiel R²¹Institut für Psychologie Universität Greifswald, Greifswald, Germany, ²Fachklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Seeheilbad Heringsdorf, Germany

Ziele: Der Problem Areas in Diabetes (PAID)-Fragebogen ist ein etabliertes Instrument zur Erfassung diabetesbezogener Problembereiche und diabetesbezogener emotionaler Belastung im Erwachsenenbereich und hat sich im Bereich der Diagnostik sowie der Therapie- und Verlaufskontrolle bewährt. Ziel dieser Studie war die Erprobung und Evaluation einer modifizierten Fassung des PAID für Jugendliche mit Typ 1 Diabetes zwischen 10 und 18 Jahren. **Methodik:** N = 80 stationär behandelte Jugendliche mit Typ 1 Diabetes (Alter 14,5 ± 2,1 Jahre; Geschlecht weiblich 58,8%; Diabetesdauer 4,9 ± 3,6 Jahre; HbA1C 8,2 ± 1,2%) nahmen an der Studie teil. Der PAID-Fragebogen wurde zu Beginn der stationären Behandlung und vor Entlassung vorgegeben. Darüber hinaus wurden zur Validitätsprüfung medizinische Parameter (z.B. HbA1C) und weitere Fragebögen (Ängstlichkeit, Depressivität und Therapiezufriedenheit) vorgegeben. **Ergebnisse:** Der PAID weist eine gute interne Konsistenz auf (Cronbachs $\alpha = 0,86$) und zeigt sich nach einer Intervention sensitiv für Veränderungen. Im Mittel wird von den Jugendlichen ein PAID-Score von 26,3 ± 20,5 erreicht. Dieser liegt zwischen den publizierten Referenzmittelwerten bei Erwachsenen aus den Niederlanden und den USA. Signifikante Korrelationen mit dem HbA1C-Wert, der Therapiezufriedenheit sowie der Ängstlichkeit und Depressivität geben Validitätshinweise. **Schlussfolgerungen:** Mit der modifizierten Version des PAID

steht ein psychometrisch fundiertes Instrument zur Erfassung diabetesbezogener Probleme im Jugendalter zur Verfügung. Einschränkend muss auf einen möglichen selection bias (stationäres Kollektiv) hingewiesen werden.

V30

Medizinische und ökonomische Aspekte der Betreuung von Typ-1-Diabetikern mit KHK in der Schwerpunktpraxis

Lippmann-Grob B¹, Potthoff F², Münscher C²¹Diabeteszentrum Mergentheim, Bad Mergentheim, Germany, ²MNC – Medical Netcare GmbH, Gesundheitsökonomie, Münster, Germany

Einleitung: In den letzten Jahren hat das Bewusstsein für die Komorbidität Diabetes und KHK zugenommen. Bisher fehlen dazu insbesondere ökonomische Daten aus der Versorgung von Menschen mit Diabetes mellitus Typ 1. **Ziel:** Darstellung der med. und ökon. Dimension der Komorbidität auf der Ebene der Diabetologischen Schwerpunktpraxis (DSP) **Methodik:** Die Datenbank der TEMPO-Studie® wurde auf gemeinsames Vorhandensein der Diagnosen „Diabetes mellitus Typ 1“ und „KHK“ oder „z.n. Myokardinfarkt“ durchsucht, die klin. Daten analysiert und die direkten Behandlungskosten auf ein Jahr hochgerechnet. **Ergebnis:** Innerh. von 12 Mon. wurden in 7 DSP 971 Typ-1-Diabetiker betreut; die Prävalenz o.a. kard. Begleiterkrankungen lag bei 6,3%. Die Diabetiker mit (in Klammern ohne) KHK waren 61,9 (39) Jahre alt, der Diabetes war 26,6 (14,5) Jahre bekannt. Im mittl. Beobachtungszeitraum von 233,1 Tagen in der Gruppe mit KHK konnte der HbA1c von 7,8 ± 1,2 auf 7,5 ± 1,1%, der syst. Blutdruck (in mmHg) von 142 ± 18 auf 135 ± 15, der diast. Blutdruck von 81 ± 8 auf 79 ± 9, das Gesamt-Chol. (Lipidwerte in mg/dl) von 206 ± 51 auf 195 ± 38, das HDL-Chol. von 58 ± 18 auf 59 ± 19, das LDL-Chol. von 118 ± 40 auf 108 ± 34, die TG von 161 ± 164 auf 130 ± 82 verbessert werden, in der Gruppe ohne KHK in 218,3 Tagen der HbA1c von 7,8 ± 1,8 auf 7,5 ± 1,6%, der syst. Blutdruck von 128 ± 20 auf 127 ± 19, der diast. Blutdruck von 79 ± 10 auf 78 ± 9, das Gesamt-Chol. von 205 ± 41 auf 204 ± 39, das HDL-Chol. von 61 ± 17 auf 61 ± 17, das LDL-Chol. von 116 ± 35 auf 115 ± 32, die TG von 134 ± 132 auf 132 ± 131. Die auf ein Jahr hochgerechneten direkten Kosten beliefen sich in der Gruppe mit (in Klammern ohne) KHK für stat. Beh. auf 261,05 € (184,87 €), für Hilfsmittel auf 991,56 € (1472,64 €), für Arzneimittel-Verordnungen auf 1473,56 € (1071,0310 €), für amb. Beh. auf 582,47 € (444,06 €), gesamt auf 3308,65 € (3172,60 €). **Schlussfolgerung:** Die Zeitdauer der Betreuung von Typ-1-Diabetikern mit und ohne KHK in der DSP differiert durch die Fokussierung auf den Diabetes nicht wesentlich; wesentliche Kostenfaktoren sind bei Typ-1-Diabetikern mit KHK die Kosten für stat. Aufenthalte und Arzneimittel, während die im Schnitt jüngeren Pat. ohne KHK einen deutlichen Mehrverbrauch an Teststreifen aufweisen. Die Einstellung der Risikofaktoren ist verbesserungsbedürftig.

V31

Kombinationstherapie mit Metformin führt im Vergleich zu einem besseren HbA1c, bei geringerer Zunahme des BMI und geringerem Insulinbedarf, als die alleinige Therapie mit Insulin – eine Querschnittsanalyse von Evaluationen von Mitgliedskliniken der AKD+ der Jahre 2005 – 2006 ein Jahr nach Teilnahme an einem strukturierten Schulungs- und Behandlungsprogramm – (+Arbeitsgemeinschaft Klinische Diabetologie der DDG)

Kloos C¹, Sämann A², Müller N², Tessmann D³, Müller U²¹KIM III FSU Jena, Stoffwechselerkrankungen/Endokrinologie, Jena, Germany, ²Friedrich-Schiller Universität Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, Germany, ³Klinikum Passau, Abteilung für Innere Medizin, Passau, Germany

Fragestellung: Metformin unter Insulintherapie gilt als effektiv um eine Gewichtszunahme zu vermeiden und eine Insulinresistenz günstig zu beeinflussen. Anliegen war, die Effektivität der Kombinationstherapie mit Metformin (KM) im Vergleich zu alleiniger Insulintherapie (I) nach einem strukturierten Schulungs- und Behandlungsprogramms (SSBP) zu untersuchen. **Methoden:** Von 1144 Patientendatensätze von 16 AKD-Kliniken, die von 2005 und 2006 eine Stichprobe von mindestens 60 konsekutiv geschulten Pat. mit Diab. mell. Typ 2 nach 12 – 15 Monaten nachuntersucht hatten, lagen zu n = 429 (37,5%) Patienten Angaben zur Verwendung von ausschließlich I (n = 322 vor SSBP; Alter 60,1J.; HbA1c 8,33%; Diabet.dauer 9,4J., BMI 30,6 kg/m²) und KM (n = 107 vor SSBP:

Alter 59,9 J., HbA1c 8,08%; Diabet.dauer 9,5 J., BMI 34,0 kg/m²) als Kombinationstherapie vor. Alle Patienten hatten an einem überwiegend stationär durchgeführten SSBP teilgenommen. **Ergebnisse:** Der HbA1c verbesserte sich in beiden Gruppen hochsignifikant (I: 8,33%* auf 7,27%(-1,06%)*; KM: 8,08%* auf 6,97%(-1,11%)*; p < 0,001), lag unter KM jedoch signifikant besser als allein unter I (p < 0,001). Bereits vor SSBP waren Patienten unter KM signifikant schwerer (p < 0,001), die BMI-Zunahme war nur unter I signifikant höher (KM +0,31 kg/m², p = 0,10; I +0,37 kg/m²; p = 0,001). Vor SSBP war der Insulinbedarf in beiden Gruppen vergleichbar (I 0,82IE/kgKG/d; KM 0,78IE/kgKG/d; p = 0,79) und stieg nur unter I signifikant an (I +0,19IE/kgKG/d, p = 0,01/KM +0,03IE/kgKG/d; p = 0,77). **Schlussfolgerung:** Die Kombinationstherapie mit Metformin führt nach Teilnahme an einem SSBP zu einem besseren HbA1c, bei geringerer Zunahme des BMI und geringerem Insulinbedarf als die alleinige Therapie mit Insulin. Sollten keine Kontraindikation gegen Metformin vorliegen, scheint die Kombination mit Insulin eine günstige Therapieoption. *HbA1c DCCT normiert (mittlerer NB 5,05%)

Symposium „Glukosetransport und Insulin-Signalling“

V32

SP1 und NF1 binden auf dem humanen IRS-2 Promotor und sind verantwortlich für die stressaktivierte und Erk abhängige IRS-2 Transkription in HepG2 Zellen

Udelhoven M¹, Bertram B¹, Leeser U¹, Freude S¹, Schnitker J¹, Krone W¹, Schubert M¹

¹Klinikum der Universität zu Köln, Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin, Zentrum für Molekulare Medizin Köln (ZMMK), Köln, Germany

Hintergrund: Die Eigenschaften der Insulinrezeptorsubstrate (IRS) für die phosphospezifische Bindung von nachgeschalteten Signalproteinen und deren Konsequenzen für die Insulinrezeptorsignaltransduktion wurden intensiv in vivo und in vitro untersucht. Jedoch sind nicht nur die Bindungseigenschaften der IRS Proteine -1/-2/-3/-4 sondern auch deren Menge und deren Mengenverhältnisse untereinander in der Zelle und in verschiedenen Geweben von entscheidender Bedeutung. Allerdings wurde die Regulation der Transkription der IRS Proteine auf molekularer Ebene bis jetzt noch gar nicht bzw. nicht hinreichend untersucht. **Methoden:** Um die Regulation der IRS-2 Promotoraktivität in insulinresistenten Geweben zu untersuchen, haben wir HepG2 Zellen als Modell für die Leber und GT1 - 7 Zellen als Modell für ein neuronales System gewählt. Nach Klonierung des humanen IRS-2 Promotors wurden sukzessive verkürzte Promotorfragmente im Rahmen eines dualen Luziferase Reporterassays in die Zellen transfiziert. Eingeschränkte Promotorregionen wurden auf potentielle Bindungspartner hin untersucht. Diese Bindungspartner wurden über Electro mobility shift assay (EMSA) und Chromatin Immunopräzipitations (ChIP) Assay verifiziert. Die IRS-2 Promotor Reporter Konstrukte wurden in den potentiellen Bindungsstellen mutiert und ihre Aktivierbarkeit untersucht. **Ergebnisse:** Im IRS-2 Promotor konnten wir -688bp vom Translationsstart entfernt eine Region identifizieren, die für ca. 87% der basalen Expression von IRS-2 in HepG2 Zellen verantwortlich ist. Die Bindung der Transkriptionsfaktoren SP1 und NF1 wurde über EMSA und ChIP Assay nachgewiesen. Die hohe basale Aktivität des IRS-2 Promotors konnte durch oxidativen Stress verdoppelt und durch die Inkubation mit einem p38MAPK Inhibitor (SB202190) noch gesteigert werden. Beide Effekte zeigten eine Abhängigkeit von Erk1 und ließen sich durch Mutation der SP1 und NF1 Bindungsstellen aufheben. Folglich scheint die MAP Kinasen Signalkaskade direkt an der Kontrolle der IRS-2 Transkription beteiligt zu sein. In GT1 - 7 Zellen, einem neuronalen Hypothalamusmodell, konnten wir zwei weitere distale Regionen im IRS-2 Promotor identifizieren, die von ZBP89 und SP1 besetzt werden, die meist als Repressor-/Aktivator Paar fungieren. **Zusammenfassung:** Wir haben eine Region im distalen humanen IRS-2 Promotor (-688 bis -611bp) identifiziert, die die Aktivität der IRS-2 Gen Transkription in HepG2 Zellen steuert. Hier binden SP1 und NF1, die beide für die Aktivität des Promotors essentiell sind. Zudem ist die Aktivierung des Promotors abhängig von den MAP Kinasen p38MAPK und Erk. Ausserdem konnten wir in GT1 - 7 Zellen SP1 und ZBP89 Bindungsmotive bestimmen, die für die Aktivität in einem neuronalen Umfeld wichtig sind.

Freie Vorträge 4 – Endothelzellfunktion

V33

IGF-1 receptor dependent effect of human insulin on the outgrowth of circulating endothelial progenitor cells in patients with diabetes type 2

Djuric Z¹, Humpert PM¹, Oikonomou D¹, Huber M¹, Nawroth PP¹, Bierhaus A¹

¹Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, Germany

Introduction: Endothelial progenitor cells (EPC) were shown to be involved in vascular regeneration and angiogenesis in experimental diabetes. EPC of patients with both diabetes type 1 and type 2 demonstrate impaired outgrowth and function. In previous studies it was shown, that insulin increases in vitro proliferation of EPC isolated from healthy volunteers. Since clinical studies indicate that insulin therapy enhances the number of circulating CD34+/CD133+ cells in type 2 diabetes patients, we studied effects of human insulin on in vitro outgrowth of EPC isolated from type 2 diabetes patients and receptors mediating these effects. **Methods:** Circulating EPC derived from peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers aged 25 - 30 and patients with diabetes type 2 aged 62 ± 4, were grown in the medium supplemented with 15 nM of human insulin as well as neutralizing anti-IGF-1 receptor and anti-insulin-receptor antibodies. The characteristics of the type 2 diabetes patients were as follows: 3 female and 7 male patients, HbA1c 7.5 ± 1.5%, fasting blood glucose 8.5 ± 3.9 mmol/l, body mass index 32.4 ± 5.9. EPC outgrowth was studied using a standardized proliferation assay. Signaling cascades were identified by PCR-based microarrays, RT-PCR and Western Blot assays. EPC were further characterized by FACS analysis. **Results:** As previously described, EPC outgrowth was diminished in patients with type 2 diabetes when compared to young healthy controls. However, 15nM human insulin significantly increased the formation of colony forming units of EPC by ~100% in both, diabetic patients as well as healthy volunteers. Incubation of EPC with neutralizing anti-IGF-1 receptor antibodies suppressed the proliferation to control levels in both groups. In contrast, incubation with neutralizing anti-insulin receptor had no effect on EPC outgrowth neither in the diabetic patients nor in healthy volunteers. The increased in vitro outgrowth of CD34+ cells was paralleled by activation of ERK1/2, p38 MAPK and JNK 2 signalling cascades. **Conclusion:** This study shows for the first time, that human insulin stimulates the outgrowth of circulating EPC isolated from patients with type 2 diabetes via IGF-receptor mediated activation of MAPKinase signaling. Clinical studies will have to further elucidate these effects as well as influences on vascular function in vivo.

V34

Entwicklung von adipogenen, diabetogenen und kardiovaskulären Alterationen in einem genuinen Tiermodell für das 'small baby syndrome'

Neitzke U¹, Schellong K¹, Stupin J¹, Melchior K¹, Ziska T¹, Harder T¹, Dudenhausen JW¹, Plagemann A¹

¹Klinik für Geburtsmedizin, Charité - Universitätsmedizin Berlin, AG 'Experimentelle Geburtsmedizin', Berlin, Germany

Epidemiologische Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen einem verminderten Geburtsgewicht und der späteren Entwicklung des Metabolischen Syndroms, Typ 2 Diabetes und kardiovaskulären Störungen ('small baby syndrome'). Als ein ursächlicher Mechanismus wurde von uns die neonatale Überernährung nach intrauteriner Wachstumsretardierung bzw. bei niedrigem Geburtsgewicht vorgeschlagen. Zur Untersuchung pathophysiologischer Mechanismen verwendeten wir ein genuines Tiermodell für niedriges Geburtsgewicht (small for gestational age, SGA). Wistar-Ratten, deren Geburtsgewicht unterhalb des 95% Konfidenzintervalls gleichgeschlechtlicher Tiere eines Wurfes lag, wurden als SGA definiert. Die Tiere wurden bis zum 21. Lebensstag (LT) durch Aufzucht in normalen Würfen mit 12 Nachkommen pro Mutter normal ernährt (SGA-in-NW) oder in kleinen Würfen mit nur 3 Tieren überernährt (SGA-in-KW). Als Kontrolltiere galten bei Geburt normalgewichtige Tiere in normalen Würfen (NGA-in-NW). SGA-Tiere beider Gruppen waren bei Geburt signifikant leichter als die Kontrolltiere (p < 0,001). SGA-in-KW zeigten frühpostnatal ein rasches Aufholwachstum und unterschieden sich bereits ab dem 7. LT nicht mehr signifikant von den Kontrolltieren, während SGA-in-NW dieses Gewichtsdefizit erst bis zum 60. LT aufholten. Bis zum 360. LT fanden sich keine Gruppenunterschiede im Körpergewicht und im systolischen Blutdruck. Adulte, frühpostnatal überernährte SGA-Tiere zeigten allerdings eine basale Hyperinsulinämie, eine erhöhte basale Insulin/Glukose-Ratio (beide p = 0,01)

sowie einen erhöhten 90-min-Wert im Glukosetoleranztest ($p=0,006$), während SGA-in-NW keine signifikanten diabetogenen Störungen entwickelten. Zusammengefasst zeigen diese Daten, dass in einem genuinen Tiermodell für untergewichtige Reifgeborene nur im Falle einer neonatalen Überernährung eine signifikante Tendenz zu diabetogenen Stoffwechselstörungen im adulten Alter i.S. des 'small baby syndrome' besteht. DFG-gefördert (PL 241/3 – 1, 3 – 2).

V35

Die Rolle von glykiertem CD59 in der Pathogenese von vaskulären Komplikationen des Diabetes Mellitus

Schlimme M¹, Qin X¹, Kavishwar A¹, Grubisich L¹, Acosta J¹, Ferris S¹, Dobarro M¹, Goldfine A², Halperin J¹
¹Harvard Medical School, Lab for Translational Research, Boston, MA, United States of America, ²Joslin Diabetes Center, Boston, MA, United States of America

Einleitung: Die häufigsten Folgeerkrankungen des Diabetes Mellitus sind micro- oder macro-vaskuläre Schäden die u.a. zu kardiovaskulären Erkrankungen führen. Die Mechanismen, wie es zu den Folgeerkrankungen durch Hyperglykämie kommt, sind unzureichend erforscht. Wir schlagen einen neuen Mechanismus vor in dem die Inaktivierung des Complement Regulations Proteins CD59 durch Glykierung im diabetischen Patienten zu einer vermehrten Deposition des „Membrane Attack Complex (MAC)“ in Endothelzellen führt und damit eine pathologische Rolle in der Entwicklung von diabetischen vaskulären Spätschäden durch die damit einhergehende Freisetzung von „growth hormones“ und Zytokine spielt. Das Glykierungs-Motif von CD59, welches einzig im Menschen präsent ist, könnte somit das fehlende Glied zur Neigung des diabetischen Patienten zur Entwicklung dieser Spätschäden sein. Um dies zu überprüfen haben wir 1.) die Glykierung von CD59 in diabetischen Patienten untersucht und 2.) mCd59b^{-/-} Mäuse als Modell für die Inaktivierung von CD59 generiert. **Methoden:** Human-Studien: Fortlaufende Sektionen von Nieren- und Suralnerv Biopsien wurden mit anti-glykiertem CD59 und anti-MAC Antikörpern angefärbt. Ausserdem wurden die proximalen Segmente der Vena Saphena, welche diabetischen und nicht-diabetischen Patienten für einen periphere Bypass entfernt wurde, gewonnen, im OP fixiert, in Paraffin eingeschlossen und mit spezifischen Antikörpern gegen totales CD59, glykiertes CD59, MAC und ULEX angefärbt. Maus-Studien: mCd59b^{-/-}-Mäuse wurden durch das Ersetzen des Exon 3 des mCd59b-Gens durch das Neomycin Resistenz Gen generiert und mittels PCR identifiziert. Hämoglobinurie der Tiere wurde mittels Fotospektrometrie gemessen und Platelets mittels Flow Zytometrie. mCd59b^{-/-} und Kontroll-Mäuse wurden nach 9 Monaten mittels CO₂ getötet, die gesamte Aorta vom Herz-Ausgang bis zur Iliac Bifurkation entfernt, aufgeschnitten und flach vor der Anfärbung fixiert. **Ergebnisse:** Human-Studien: Glykiertes CD59 ist mit MAC in 60% von diabetischen Nerven (n=12) und Nieren (n=13) und allen Venen (n=17) colokalisiert. Glykiertes CD59 wurde weder in nicht-diabetischen Nerven (n=14) noch Nieren (n=17) oder Venen (n=7) gefunden. Maus-Studien: In unseren entwickelten mCd59b^{-/-}-Mäusen als Modell für CD59 Inaktivierung fanden wir 1.) wie durch die Entfernung von CD59 erwartete spontane hämolytische Anämie und Platelet Aktivierung in zirkulierenden Zellen (wie bei der Paroxymalen Nächtlichen Hämoglobinurie und im unkontrollierten Diabetes) und 2.) extensive Einlagerung von aktiviertem C3b und C9 in vaskulären Endothelzellen und spontane arteriosklerotische Läsionen im Alter von ca. 9 Monaten. **Schlussfolgerung:** Die hier vorgestellten Daten lassen den Schluss zu, dass die Inaktivierung von CD59 durch Glykierung auf der molekularen Ebene zur vaskulären Pathologie im humanen Diabetes durch eine vermehrte Deposition von MAC in Endothelzellen und damit der Freisetzung von „growth factors“ und Zytokinen beiträgt.

V36

Lebensstilinduzierte Erhöhung der Insulinwirkung führt zur Verbesserung der endothelialen Funktion und zur Reduktion der Intima-Media-Dicke

Rittig K¹, Stock J¹, Stefan N¹, Peter A¹, Venter C², Fritsche A¹, Häring HU¹, Balletshofer B¹
¹Universität Tübingen, Abteilung für Endokrinologie, Diabetes, Angiologie, Nephrologie und klinische Chemie, Tübingen, Germany, ²Universität Tübingen, Abteilung für Sportmedizin, Tübingen, Germany

Fragestellung: Querschnittsanalytische Studien belegen einen deutlichen Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und eingeschränkter

endothelialer Funktion (EF). Gegenwärtig liegen jedoch keine Untersuchungen vor, die gezielt den Einfluss einer verbesserten Insulinwirkung per se auf die EF als frühfunktionellen-, und die Intima-media-Dicke (IMD) als frühmorphologischen Atheroskleroseparameter untersucht haben. Das Ziel der vorliegenden Studie war es deshalb zu untersuchen, ob eine gezielte Verbesserung der Insulinwirkung mittels Lebensstilintervention zu einer Verbesserung der Frühatherosklerosemarker EF und IMD führt. **Methodik:** Untersucht wurden 218 Personen (141 Frauen, 77 Männer; Alter 46 ± 1 Jahre), mit erhöhtem Risiko für die Entstehung eines Typ 2 Diabetes (BMI > 27 kg/m², gestörte Glukosetoleranz, stattgehabter Gestationsdiabetes oder positive Familienanamnese). Die Population wurde vor und nach einer Lebensstilintervention von 9 Monaten hinsichtlich ihrer metabolischen und vaskulären Parameter untersucht. EF (flussmedierte Dilatation [FMD] der A. brachialis) und die IMD wurden mittels hochauflösendem Ultraschall (13 MHz) erfasst. Die Insulinsensitivität wurde mittels eines oralen Glukosetoleranztestes nach den Kriterien von DeFronzo und Matsuda ermittelt. **Ergebnisse:** Die erreichte Verbesserung der Insulinwirkung ging einher mit einer Verbesserung der FMD ($5,34 \pm 0,40\%$ auf $6,43 \pm 0,46\%$; $p=0,03$) und einer Reduktion der IMD ($0,56 \pm 0,01$ mm auf $0,54 \pm 0,01$ mm; $p=0,03$). Damit einhergehend reduzierten sich auch die sE-Selektin-Spiegel als Marker einer Endothelzellaktivierung mit der Zunahme der Insulinwirkung ($48,0 \pm 3,0$ zu $41,2 \pm 2,7$ ng/ml, $p=0,02$). In der Kontrollgruppe, welche keine Verbesserung der Insulinwirkung aufwies, zeigten sich diese Parameter unverändert. **Schlussfolgerung:** Erhöhung der Insulinsensitivität durch eine strukturierte Lebensstil-intervention führt zu einer Verbesserung der endothelialen Funktion und zu einer Reduktion der Intima-Media-Dicke. Diese Ergebnisse unterstützen die wichtige Rolle der Insulinresistenz für frühfunktionelle-, und frühmorphologische Veränderungen der Gefäßwand, und stellen einen potentiellen Therapie-/Präventionsansatz zur Senkung des kardiovaskulären Risikos für diese Patientengruppe dar.

V37

Norepinephrine mediates differential activation of NF-κB and subsequent proatherogenic gene expression

Djuric Z¹, Huber M¹, Laine K¹, Humpert PM¹, Nawroth PP¹, Bierhaus A¹
¹Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, Germany

Background: Diabetes mellitus places considerable psychologic stress on the affected individuals. Psychosocial factors are associated with the development and progress of cardiovascular disease, but the pathological mechanisms are yet not clear. In previous work, we have identified norepinephrine (NE)- mediated activation of the proinflammatory transcription factor NF-κB in mononuclear cells as a pathway that converts psychosocial stress into cellular activation. Since this action requires a cooperated action of both α and β adrenergic receptors, we hypothesized that a differential activation of NFκB subunits might underlie the catecholamine-dependent expression of different proatherogenic genes. **Methods:** In vitro studies: THP-1 cells were induced with physiologic concentrations of NE (10 nM) in the absence or presence of specific pathway inhibitors, before the extend of NF-κB activation, the composition of the NF-κB heterodimers, activation of pathway specific kinases and subsequent expression of proatherogenic NF-κB regulated target genes such as tissue factor (TF), endothelin-1 (ET-1) and ICAM-1 was studied using Chromatin Immunoprecipitation, Western Blots, and RT-PCR. Animal experiments: ApoE^{-/-} mice were subjected to 1 h restrain stress followed by 4 h recovery and additional 1 h restrain, in the presence and absence of adrenergic receptor antagonists. Serum-NE was determined by RIA. NFκB binding activity and nuclear translocation was confirmed in EMSA and Western Blots, before immunohistochemistry on aortic section for CD18, NFκB-p50, p65 and cRel and TF, ET-1 and ICAM-1 expression and fibrin formation was performed. **Results:** NE increased binding activity to the NF-κB binding site in the TF, ET-1 and ICAM-1 promoters and subsequent synthesis of TF, ET-1 and ICAM-1 mRNA. NF-κB bound to TF promoter mainly consisted of cRel/p65 heterodimers; NFκB-p50, p65 and cRel were binding to ICAM-1 promoter, while NFκB p50 and p65 were bound to ET-1 promoter. NFκB-p50 translocation was mediated by $\alpha 1$ adrenergic receptor, Gi/o protein and PKC. NFκB-p65 translocation was mediated by $\alpha 1/\beta 1/\beta 2$ -receptors, Gi/o/Gs proteins, RAS, RAF and p38 MAPK, while NFκB-cRel translocation was mediated by $\alpha 1/\beta 1/\beta 2$ -receptors, Gi/o/Gs proteins, RAS, RAF PI3/Akt p42/44 MAPK. Restrain stress induced a significant increase in serum NE concentration and NFκB binding activity in total blood which was inhibited by $\alpha 1$, $\beta 1$ and $\beta 2$ antagonists. Immunohistochemistry con-

firmed an increased nuclear translocation of all three NF κ B subunits as well as increased expression of TF, ET-1 and ICAM-1 which could be specifically reduced by adrenergic antagonists. **Conclusion:** Stimulation with physiologic concentrations of norepinephrine induces differential activation of NF- κ B subunits, which in turn results in expression of proatherogenic gene products in mononuclear cells. This mechanism might contribute to the progression of vascular complications in patients with diabetes.

V38

TGF- β und 12 – Lipoxygenase regulieren die Expression des Glukosetransporters 4 (GLUT4) in Kardiomyozyten

Swifka J¹, Sasson S², Eckel J¹

¹Deutsches Diabetes Zentrum, Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf, Germany, ²Hebrew University, Faculty of Medicine, Jerusalem, Israel

In vorhergehenden Studien konnten wir zeigen, dass Eicosanoide essenziell am kardialen Glukosetransport und der GLUT4 Translokation beteiligt sind. In dieser Studie untersuchten wir die Rolle der Zytokinexpression auf die Regulation des Glukosetransporters 4 (GLUT4) in Kardiomyozyten am Beispiel von TGF- β . Wir etablierten eine effiziente, funktionale Genrepression der 12-Lipoxygenase (12-LO) in H9c2-hiR Zellen. Durch Behandlung mit siRNA lässt sich die 12-LO Expression nach 48 h auf $10 \pm 4\%$ ($p < 0,01$) auf mRNA Basis bzw. $30 \pm 5\%$ ($p < 0,001$) auf Proteinbasis reprimieren. Des weiteren wurde die 12-HETE Synthese, ein spezifisches Eicosanoid Produkt der 12-LO, mittels ELISA bestimmt. Nach siRNA vermittelter Downregulation konnte die HETE Menge signifikant auf $50 \pm 5\%$ ($p < 0,001$) und mittels pharmakologischer Inhibition der 12-LO über Baicalein auf $55 \pm 15\%$ ($p < 0,05$) reduziert werden. Parallel dazu wurde, nach 12-LO Aktivierung durch TGF- β ($144 \pm 10\%$, $p < 0,05$) oder hoher Glukosekonzentration ($125 \pm 15\%$, $p < 0,05$), die HETE Synthese signifikant gesteigert. Dennoch konnte TGF- β nach siRNA vermittelter Repression die HETE Produktion nicht wieder steigern ($75 \pm 5\%$, $p < 0,05$). Wurde parallel zum knockdown der 12-LO eine transiente Überexpression von GLUT4 initiiert, so führte dies zu einer signifikanten Steigerung der GLUT4 Proteinmenge auf $420\% \pm 70$ ($p < 0,01$). Dieser Effekt ist 12-LO spezifisch, da ein knockdown der Akt (90% Effizienz) keinen Einfluss auf die GLUT4 Expression zeigte. Ähnliche Effekte wurden auf mRNA Ebene ermittelt. In Übereinstimmung mit diesen Daten bewirkte die Inkubation mit TGF- β über Nacht an unbehandelten Zellen und Zellen inkubiert mit nicht kodierender siRNA, eine Repression der GLUT4 Expression. Jedoch hatte eine Behandlung mit TGF- β nach erfolgter 12-LO Genrepression keinen Einfluss auf die GLUT4 Menge. **Schlussfolgerung:** Wir konnten zeigen, dass Eicosanoide als Regulatoren der GLUT4 mRNA- und Proteinsynthese in Kardiomyozyten wirken. Wir interpretieren die Downregulation des GLUT4 als Folge des mit Inflammation und Zytokinexpression verbundenen Anstiegs der HETES. Der mit Inflammation verbundene Anstieg der HETES würde somit eine Downregulation von GLUT4 erklären. (Dieses Projekt wurde von der German Israel Foundation gefördert)

V39

Einfluss von Adipozyten auf die Expression proinflammatorischer Gene in HUVECs

Sommer G¹, Kralisch S¹, Stangl V², Köhler U³, Kratzsch J⁴, Stepan H⁵, Faber R⁵, Schubert A⁶, Lössner U¹, Vietzke A², Blüher M¹, Stumvoll M¹, Fasshauer M¹

¹Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig, Germany, ²Universitätsklinikum Charité, Medizinische Klinik Kardiologie, Berlin, Germany, ³Klinikum St. Georg, Leipzig, Germany, ⁴Universität Leipzig, Institut für Labormedizin, Leipzig, Germany, ⁵Universität Leipzig, Pränatale Medizin und Geburtshilfe, Leipzig, Germany, ⁶Fraunhofer Institut, Zelltherapie und Immunologie, Leipzig, Germany

Der pathophysiologische Zusammenhang zwischen Adipositas und Atherosklerose ist in den letzten Jahren durch klinische Studien immer deutlicher geworden. Wie Adipozyten durch parakrine und endokrine Mechanismen die endotheliale Funktion im Detail beeinflussen und dabei auch zur Entstehung vaskulärer Störungen beitragen, wurde bisher jedoch noch nicht umfassend erforscht. In der vorliegenden Studie wird in einem *in vitro* Modell untersucht, ob humane Adipozytenunterstände (Adipo), die sezernierte Proteine von Adipozyten enthalten, das Sekretionsmuster proinflammatorischer Zytokine und Chemokine in humanen umbilikalvenösen Endothelzellen (HUVECs) signifikant beeinflussen.

Dazu wurde mit Proteinchips der Firma RayBiotech (Norcross, USA) zunächst das Sekretionsmuster der mit Adipo stimulierten HUVECs bestimmt. In ihrer Expression positiv regulierte Proteine wurden im nächsten Schritt mittels *enzyme linked immunosorbant assays* (ELISAs) quantifiziert. Für 46 Zytokine wurde in vier unabhängigen Versuchen im Proteinarray eine positive Regulation durch Adipo festgestellt. Davon wurden *epidermal growth factor* (EGF), Interleukin (IL)-8, *monokine induced by gamma interferon* (MIG), *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1 β , MIP-3 α , *neutrophil activating protein* (NAP)-2, *regulated upon activation, normally T-expressed, and presumably secreted* (RANTES), *stromal cell-derived factor* (SDF)-1 sowie zusätzlich *monocyte chemoattractant protein* (MCP)-1 und IL-6 mittels ELISA weiterführend untersucht. Die im Proteinarray gemessene gesteigerte Sekretion der Zytokine IL-6, IL-8, MCP-1, MIG, MIP-1 β und MIP-3 α in HUVECs unter dem Einfluss Adipozyten-produzierter Faktoren konnte verifiziert werden. Die laut Proteinarray positiv regulierten Zytokine EGF, RANTES, NAP-2 und SDF-1 lagen unterhalb des Detektionslimits des ELISAs, so dass für diese Proteine keine Stimulation durch Adipo in HUVECs nachgewiesen werden konnte. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Expression proinflammatorischer Zytokine durch Adipo in HUVECs stimuliert wird und damit zur Pathogenese von Atherosklerose beitragen könnte. In weiterführenden Studien müssen die Adipokine und Signalwege genauer charakterisiert werden, welche für proatherogene Effekte verantwortlich sind.

V40

Secretory products from human adipocytes impair endothelial function via nuclear factor κ B

Kralisch S¹, Sommer G¹, Stangl V², Köhler U³, Kratzsch J⁴, Stepan H⁵, Faber R⁵, Schubert A⁶, Lössner U¹, Vietzke A², Blüher M¹, Stumvoll M¹, Fasshauer M¹

¹University of Leipzig, Department of Internal Medicine III, Leipzig, Germany, ²Universitätsmedizin Berlin, Med. Klinik Kardiologie, Berlin, Germany, ³St. Georg Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Leipzig, Germany, ⁴University of Leipzig, Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry, and Molecular Diagnostics, Leipzig, Germany, ⁵University of Leipzig, Department of Obstetrics and Gynecology, Leipzig, Germany, ⁶Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology, Leipzig, Germany

Hyperplasia and hypertrophy of fat cells can be found in obesity and increased adiposity is associated with endothelial dysfunction as an early event of atherosclerosis. However, it is unclear whether human adipocytes directly influence endothelial function. To study the crosstalk between fat and endothelial cells, human umbilical venous endothelial cells (HUVECs) were cultured in infranatants (Adipo) of primary differentiated human adipocytes. Interestingly, incubation of HUVECs with Adipo significantly increased monocyte adhesion 7.3-fold as compared to control conditions. VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin were upregulated 3.9-fold, 3.0-fold, and 9.5-fold, respectively, under these conditions. Furthermore, Adipo significantly stimulated NF κ B activity 1.9-fold and the NF κ B inhibitor MG-132 significantly reversed Adipo-stimulated monocyte adhesion. Adipo-induced monocyte adhesion was abolished by heat inactivation. In contrast, addition of TNF α -neutralizing antibodies to Adipo or thiazolidinedione-pretreatment of human adipocytes did not alter the effects of Adipo. Adipo did not show cytotoxic effects. Taken together, we demonstrate that endothelial dysfunction is induced by adipocyte-secreted factors via NF κ B independent of TNF α . These results suggest that hyperplasia and hypertrophy of fat cells represent an important element in the pathogenesis of obesity-associated endothelial dysfunction.

Freie Vorträge 5 – Adipositas

V41

Fatty acid synthase gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes

Berndt J¹, Kovacs P¹, Fasshauer M¹, Schön MR², Körner A³, Stumvoll M¹, Blüher M¹

¹University of Leipzig, Department of Internal Medicine III, Leipzig, Germany, ²University of Leipzig, Department of Surgery II, Leipzig, Germany, ³University of Leipzig, University Hospital for Children and Adolescents, Leipzig, Germany

Aims/hypothesis: Increased expression and activity of the lipogenic pathways in adipose tissue may contribute to the development of obe-

sity. As a central enzyme in lipogenesis, fatty acid synthase (FASN) was identified as a candidate gene for determining body fat. Our hypothesis is that increased FASN activity/expression links metabolic alterations of caloric excess, including hyperinsulinemia, dyslipidemia and altered adipokine profile to increased body fat mass. **Methods:** In paired samples of visceral and subcutaneous adipose tissue from 196 lean or obese subjects, we investigated whether FASN mRNA expression in adipose tissue is increased in obesity and related to visceral fat accumulation, measures of insulin sensitivity and glucose metabolism. **Results:** FASN mRNA expression was 1.7 fold increased in visceral as compared to subcutaneous fat. Visceral adipose tissue FASN expression correlates with subcutaneous FASN expression, visceral fat area, interleukin-6 (IL-6) and inversely with measures of insulin sensitivity independently of age, gender and BMI. However, stimulation with IL-6 did not change FASN mRNA expression in 3T3-L1 adipocytes. Moreover, we found significant correlations between FASN expression and markers of renal function including serum creatinine and urinary albumin excretion. **Conclusions:** Increased FASN gene expression in adipose tissue is linked to visceral fat accumulation, impaired insulin sensitivity, increased circulating fasting insulin, IL-6, Leptin, and Retinol binding protein 4, suggesting an important role of lipogenic pathways in the causal relationship between consequences of hypercaloric nutrition and the development of obesity and type 2 diabetes.

V42

The Lipolysis Stimulated Receptor – A Novel Contender on the Diabetes Arena?

Narvekar P¹, Frohme M², Herzig S¹

¹DKFZ, A170, Molecular Metabolic Control, Heidelberg, Germany, ²DKFZ, B070, Department of Functional Genome Analysis, Heidelberg, Germany

Type 2 Diabetes is among the fastest spreading diseases worldwide. It is characterized by the insensitivity of peripheral organs to insulin. Although several factors such as genetic predisposition, obesity, aging, environmental conditions and life style trigger its development, the intricate mechanisms of insulin resistance remain largely unclear. Therefore, we aimed to identify hormone – dependent regulation of genes involved in the development of hepatic insulin resistance using cDNA microarray technology. We performed transcriptional profiling of insulin – dependent and counter – regulatory signaling pathways in the livers of fed and fasted wild – type and diabetic mice using a non – redundant mouse library with 20000 ESTs. The data was analyzed using the software tool MCHiPS. We further confirmed the significance of the results by an independent SAM program. On the whole, taking the wild type fed animals as the control group, we found 510, 193 and 386 genes to be regulated in diabetic fasted, diabetic fed and wild type fasted animals respectively. Of these 231, 83 and 109 genes were up – regulated and 279, 110 and 277 genes were down – regulated in the above mentioned conditions respectively. One of the targets in this experiment turned out to be the potential plasma membrane receptor, LSR (Lipolysis Stimulated Lipoprotein Receptor) also known as Lisch7. This receptor was found to be significantly down – regulated in diabetic mice livers. LSR, upon activation by free fatty acids is known to be involved in the clearance of triglyceride – rich lipoproteins and chylomicron remnants. We observed a similar down – regulation of LSR by quantitative RT – PCR in two other independent mouse experiments where animals were fed and fasted in the same manner. Moreover, we also saw a down – regulation of LSR in High – Fat Diet fed mice but not in a mouse model for type 1 Diabetes. In order to characterize the functional role of LSR in diabetic liver metabolism we have developed adenoviral siRNAs that will generate a liver – specific deficiency of LSR in mice. We expect these studies to establish the presence of a novel player in the development of insulin resistance and consequently type 2 Diabetes.

V43

Depotspezifische direkte Effekte einer Cannabinoid-(Cb)-1-Rezeptor-Blockade in Fettzellen: Induktion von Insulinsensitivität und negativer Energiebilanz

Perwitz N¹, Drenckhan M¹, Klein J¹

¹Universitätsklinikum SH Campus Lübeck, Medizinische Klinik I, Lübeck, Germany

Die selektive Blockade von Cannabinoid-(Cb)-1-Rezeptoren durch Rimonabant erzeugt im Tiermodell und in klinischen Studien eine negative Energiebilanz und verringert die Insulinresistenz. Neben zentralen Effekten werden auch direkte periphere Wirkungen auf die Fettzelle pos-

tuliert. In immortalisierten murinen epididymalen/viszeralen und inguinalen/subkutanen weißen Fettzelllinien haben wir akute und chronische Rimonabant-induzierte Veränderungen metabolischer und endokriner Fettzellfunktionen bei üblichen Konzentrationen zwischen 10nM und 100nM untersucht. Die Expression des Cb-1-Rezeptors war in viszeralen und subkutanen weißen Adipozyten nachweisbar und stieg im Verlauf der Adipogenese ohne Cb-1-Rezeptor-Blockade geringfügig an. Chronische Rimonabant-Behandlung über 10 Tage erhöhte die Expression des Rezeptors jedoch hochsignifikant um 1200% ($p < 0,01$). Die Fettzell-Differenzierung, gemessen an Lipidakkumulation und Zell-Morphologie, blieb im Vergleich zu unbehandelten Zellen dabei unverändert. Die Expression glukostatischer und inflammatorischer Adipokine wurde durch Rimonabant depotspezifisch reguliert: Während akute Rimonabant-Behandlung ausschließlich in viszeralen Adipozyten die mRNA-Spiegel von Adiponectin, IL-6 und Angiotensinogen um 30%, 35% bzw. 15% senkte ($p < 0,05$), kam es sowohl in viszeralen als auch in subkutanen Adipozyten zu einem Abfall von Leptin um etwa 40% ($p < 0,01$). Die Visfatin-Expression wurde in beiden Fettdepots nicht beeinflusst. Dagegen verbesserte die Cb-1-Rezeptorblockade durch Rimonabant die insulininduzierte Glukoseaufnahme um 15%. Schließlich zeigte sich überraschend in subkutanen weißen Adipozyten unter chronischer Rimonabant-Behandlung ein Anstieg der mRNA-Expression des thermogenetischen UCP-1 um 300% ($p < 0,01$). Zusammenfassend decken die hier vorgestellten Daten fettzelldepot-spezifische direkte Effekte auf mehreren Ebenen der Fettzellfunktion auf. Während in viszeralen Adipozyten ein glukostatisch-antiinflammatorisches Adipokinprofil erzeugt wird, dominiert in subkutanen Zellen eine insulinsensitivierende, thermogenetische Antwort. In laufenden Untersuchungen wird getestet, ob die Induktion von Apoptose und Transdifferenzierung dabei eine Rolle spielt. Unsere Daten legen nahe, dass eine direkte Beeinflussung der Fettzellfunktion am kardiometabolisch günstigen Wirkprofil von Rimonabant beteiligt ist.

V44

ERbeta is a negative regulator of the PPARgamma in vivo

Foryst-Ludwig A¹, Clemenz M¹, Hohmann S¹, Sprang C¹, Frost N¹, Kirkov M¹, Gustafsson JA², Unger T¹, Kintscher U¹
¹Center for Cardiovascular Research (CCR), Institut für Pharmakologie, Charite, Berlin, Germany, ²Department of Bioscience and Medical Nutrition, Karolinska Institute, Huddinge, Sweden

Aims: The estrogen receptors (ERs) and the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) are members of the nuclear hormone receptor family (NHR) which act as eukaryotic ligand-dependent transcription factors. The molecular mechanisms underlying PPARgamma function are similar to those of ER-signaling. Importantly, PPARgamma is sharing an identical pool of nuclear cofactors with ERbeta which provides a platform for mutual interactions between these two NHRs. The PPARgamma is a major regulator of glucose and lipid metabolism. Furthermore PPARgamma was shown to be also a key player in arteriosclerosis and cardiovascular diseases, as its role expands beyond its primary action in adipose tissue, and involves the regulation of adipocytokine production such as adiponectin. **Results:** To determine the functional significance of ERbeta in cardiovascular and metabolic diseases in vivo we undertook studies in bERKO mice. When set on high fat diet (59% kcal from fat for 12 weeks) female bERKO mice show higher endogenous PPARgamma activity in gonadal fat tissue in comparison to wild-type (WT) control mice in EMSA assay. Moreover bERKO mice have increased PPARgamma-target gene expression in gonadal fat (wt vs. bERKO) including lipoprotein lipase lpl (1, 48 ± 0,1 vs. 4,3 ± 0,35) and adiponectin (0,92 ± 0,14 vs. 1,42 ± 0,28). Consistently with these findings, adiponectin serum level was significantly elevated in bERKO mice. To investigate the mechanism of increased adiponectin expression in vivo, we performed Chromatin IP experiments in gonadal fat from HFD-fed bERKO and wt mice. PPARgamma binding to the adiponectin promoter was present in both gonadal adipose tissues isolated from bERKO and wt-mice. However, binding of the coactivators SRC1 and TIF2 was enhanced in gonadal fat from bERKO mice, indicating that the absence of ERbeta in adipose tissue results in exaggerated coactivator binding to a PPARgamma target promoter. **Conclusions:** Together these data suggest that the coactivators SRC1 and TIF2 are involved in the negative regulation of PPARgamma by ERbeta in-vivo. Molecular interactions between ERs and PPARs may help to understand the function of sex nuclear hormone receptors in cardiovascular and metabolic diseases.

V45

FoxO1 ablation in hypothalamic pomc neurons reduces food intake and body weightPlum L¹, Matsumoto M¹, Accili D¹¹Columbia University Medical Center, Department of Medicine, New York, NY, United States of America

Insulin and leptin control food intake in part by regulating the transcription of orectic and anorectic neuropeptides in the hypothalamus. Activation of insulin receptor signaling results in nuclear exclusion of the transcription factor forkhead box-containing protein of the O subfamily (FoxO)-1, while Leptin activates the signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3). We have previously shown that FoxO1 and Stat3 exert opposing actions on the expression of AgRP and Pomc, resulting in activation of AgRP and inhibition of Pomc transcription. We reported that hypothalamic adenoviral delivery of constitutively nuclear FoxO1 blunted leptin's effect to acutely reduce food intake and body weight. However, it remains unclear whether chronic changes in hypothalamic FoxO1 activity affect the physiological regulation of energy homeostasis by insulin and leptin. To investigate the role of hypothalamic FoxO1 signaling in a genetic system, we inactivated the Foxo1 gene specifically in Pomc neurons in vivo, using cre/loxP technology in mice. Pomc-Foxo-/- mice were born at normal Mendelian ratios and had normal appearance and body weight at birth. Starting at the age of 6–8 weeks, both female and male mutant mice exhibited significantly reduced body weights as compared to their wild type littermates. Pomc-Foxo-/- mice showed a sustained reduction of body weight by 7–10% until the end of the study period (29.0 ± 0.50 vs. 31.0 ± 0.52 g in control males at wk.18, P ≤ 0.05). Importantly, reduced body weight in female mutant mice was accompanied by marked reduction of body fat content (3.7 ± 0.43 vs. 7.0 ± 1.05% in controls at wk.14–15, P ≤ 0.01). While food intake under steady state conditions appeared unaltered, male mice with Pomc-specific FoxO1-deficiency showed a blunted refeeding response to an overnight fast (79.7 ± 4.6 vs. 93.9 ± 3.5 mg/g/6 h in control males at wk.18, P ≤ 0.05). These data are consistent with the hypothesis that FoxO1 is a critical player in hypothalamic Pomc neurons regulating energy homeostasis. Further physiologic analyses of Pomc-Foxo-/- mice are underway.

V46

Funktionelle Charakterisierung regulatorischer Adiponectin SNPsLaumen H¹, Saningong AD¹, Hauner H¹¹Technische Universität München, Else Kröner-Fresenius-Zentrum für Ernährungsmedizin (EKfZ), Freising, Germany

Einleitung: Adiponectin ist ein von Adipozyten exprimiertes Adipokin mit antidiabetischer und antiinflammatorischer Aktivität. Es wird bei adipösen Patienten deutlich vermindert exprimiert. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass einige Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) im regulatorischen Promoter-Bereich des Adiponectin-Gens mit den Plasmakonzentrationen in Patienten korrelieren. Für keinen dieser SNPs wurde bisher gezeigt, ob er in der Fettzelle einen Einfluss auf die Adiponectin-Regulation hat. Für drei dicht beieinander liegende SNPs des Adiponectin-Gens (-11426A>G, -11391G>A, -11377C>G) wurde in dieser Arbeit deren Funktion als regulatorische Einheiten des Adiponectin-Promoters untersucht. **Methoden:** 4000 bp des humanen Adiponectin-Promoters wurden in einen Luziferase-Vektor kloniert. Die drei untersuchten SNPs wurden in den Promoter in allen acht möglichen Kombinationen eingefügt. Die verschiedenen Promoterkonstrukte wurden in differenzierte murine 3T3-L1 Adipozyten an verschiedenen Tagen der Differenzierung transfiziert und die Luziferase-Aktivität gemessen. Die Zellen wurden zusätzlich mit Rosiglitazon, einem bekannten Stimulus für die Adiponectin-Expression, stimuliert. **Ergebnisse:** Es wurden drei SNPs im Promotor-Bereich des Adiponectin-Gens untersucht. Dabei zeigte sich, dass die verschiedenen Mutationen einen Einfluss auf die Promoteraktivität haben. Die basale Adiponectin-Promoter-Aktivität wurde durch die Mutation der SNPs in die rezessive Form herunterreguliert, was für zwei SNPs mit den bekannten Mustern der Plasma Adiponectin-Level korreliert. Für einen der untersuchten SNPs wurden hingegen erhöhte Plasma Adiponectin-Level beschrieben. Durch Rosiglitazon war ein SNP in rezessiver Form deutlich besser induzierbar, was wiederum dem erhöhten Serum-Spiegeln in Patienten entsprach. **Schlussfolgerungen:** Der hier gezeigte Einfluss der untersuchten Adiponectin-SNPs auf die Promoteraktivität in Adipozyten, legt nahe, dass diese SNPs eine regulatorische Funktion für die Expression von Adiponectin haben, was mit beobachteten Effekten in verschiedenen Patientenkollektiven übereinstimmt. Die hier untersuchten, nahe beieinander liegenden SNPs haben in verschiedenen Kombinationen eine deutlich

größere Wirkung auf die transkriptionelle Aktivität, als alleine. Aktuell laufende Untersuchungen an Patienten des KORA-S4 Kollektivs, sollen die möglichen Korrelationen dieser SNPs mit den Plasma-Spiegeln in den verschiedenen SNP-Kombinationen weiter untersuchen.

V47

The cholesterol transporter Abcg1, a candidate gene for obesity: deletion of Abcg1 in mice corrects diet-induced insulin resistanceBuchmann J¹, Meyer C², Neschen S¹, Kluge R³, Wehr R², Dohrmann C², Joost HG¹, Schürmann A¹¹DIFE Potsdam-Rehbrücke, Pharmakologie, Nuthetal, Germany, ²Develogen, Göttingen, Germany, ³DIFE Potsdam-Rehbrücke, Max-Rubner-Labor, Nuthetal, Germany

Metabolic diseases affecting the energy homeostasis such as obesity, the metabolic syndrome and type-2 diabetes are determined by genetic and environmental factors. Genomic approaches, e.g. large scale gene expression analysis and human genome scans for susceptibility genes have led to the identification of several candidate genes and candidate drug targets for the metabolic syndrome. For the identification of additional obesity genes we compared results of two genome wide screenings performed in *Drosophila melanogaster* and in a polygenic obesity mouse model, the New Zealand obese (NZO) mouse. By correlation of both screenings, we identified the ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1) which catalyzes export of cellular cholesterol. An insertion of EP-elements upstream of CG17646, the *Drosophila* ortholog of the mammalian Abcg1 led to an increased triglyceride content in the flies. NZO mice carry an Abcg1 variant with an altered sequence in a regulative intron which might be responsible for a higher expression in white adipose tissue of the NZO mouse compared to that of lean mouse strains. Targeted disruption of the Abcg1 gene in mice reduced gain in body weight over a period of 12 weeks (wild type, 13.1 ± 1.1 g; knockout, 8.42 ± 0.6 g) and in adipose tissue depots (wild type, 9.39 ± 1.6 g; knockout, 3.78 ± 1.3 g) under high-fat diet conditions due to decreased size of adipocytes. Abcg1^{-/-} mice are protected against high-fat diet-induced impairment of glucose tolerance and fatty liver. Decreased food intake and elevated total energy expenditure (Abcg1^{+/+} mice: 684.3 ± 5.0; Abcg1^{-/-} mice 748.1 ± 5.4 kJ/kg metabolic body mass; p = 0.011), body temperature (Abcg1^{-/-} mice, 33.9 ± 0.1 °C; Abcg1^{-/-} mice, 34.6 ± 0.3 °C; p < 0.05), and locomotor activity (Abcg1^{+/+} mice: 2445 ± 235; Abcg1^{-/-} mice, 3655 ± 189 counts/12 h during dark phase; p < 0.01) appear to cause decreased adiposity in Abcg1^{-/-} mice. Increased expression of hormone sensitive lipase, perilipin and several fat-specific genes (e.g. PPAR-gamma, adiponectin) and decreased plasma levels of free fatty acids after fasting suggest an enhanced lipolysis. Our data indicate a previously unrecognized role of ABCG1 in the regulation of energy balance and triglyceride storage.

V48

Die fettspezifische Deletion der monomeren GTPase ARFRP1 resultiert in einem Verlust des WAT und einer HepatosteatoseHommel A¹, Zahn C¹, Schmidt S¹, Kluge R¹, Augustin R¹, Jaschke A¹, Moser M², Joost HG¹, Schürmann A¹¹Deutsches Institut für Ernährungsforschung (DIFE) Potsdam-Rehbrücke, Pharmakologie, Nuthetal, Germany, ²Max-Planck-Institut für Biochemie, Molekulare Medizin, Martinsried, Germany

Fragestellung: ADP-ribosylation factor related protein 1 (ARFRP1), ein ubiquitär exprimiertes Mitglied der ARF-Familie monomere GTPasen, ist für die Funktion und/oder Organisation des trans-Golgi-Netzwerks essentiell. Die Deletion des Arfrp1-Gens in der Maus führt zur embryonalen Letalität während der frühen Gastrulation, zu einem Zeitpunkt zu dem Differenzierungs- und Zell-Zell-Adhäsions-Prozesse eine entscheidende Rolle spielen. Um die Funktion von ARFRP1 bezüglich der Fettspezifizierung aufzuklären, wurde das Arfrp1-Gen fettspezifisch deletiert. **Methodik:** Arfrp1 wurde mittels einer konditionellen Cre/loxP-Knockout-Strategie spezifisch im weißen und braunen Fettgewebe ausgeschaltet. Dazu wurden Arfrp1^{fllox/flox}-Mäuse mit aP2-Cre-Mäusen, die die Cre-Rekombinase unter der Kontrolle des aP2-Promotors exprimieren, verpaart. Die Arfrp1^{ad-/-}-Mäuse, die eine um mindestens 60–80% reduzierte Arfrp1-Expression im Fettgewebe aufwiesen, wurden auf verschiedene morphometrische und metabolische Parameter hin untersucht. **Ergebnisse:** Im Gegensatz zur konventionellen Arfrp1-Knockout-Maus wird die fettspezifische Arfrp1-Nullmutante lebend und normalgewichtig geboren, zeigt aber bereits wenige Tage nach

der Geburt eine Wachstumsretardierung. Am Tag 14 weisen die Arfrp1ad-/-Mäuse ein um 50% reduziertes Körpergewicht (3,78 g ± 0,12) verglichen mit den Kontrollgeschwistern (Arfrp1flox/flox: 6,9 g ± 0,14) auf. Arfrp1ad-/-Mäuse bilden kein weißes Fett und weisen postnatal eine Reduktion des braunen Fettgewebes mit einer geringeren Lipideinlagerung auf. Als eine physiologische Konsequenz akkumulieren die fett-spezifischen Arfrp1-Nullmutanten bereits am Tag 7 Lipidtropfen in der Leber. Außerdem ist die Überlebensrate der Arfrp1ad-/-Mäuse im Vergleich zu den Kontrolltieren um 70% reduziert. **Schlussfolgerung:** ARFRP1 für die Differenzierung von weißem und braunem Fettgewebe essentiell. Als Konsequenz der Lipodystrophie entwickeln Arfrp1ad-/-Mäuse eine Hepatosteatose und vermutlich eine Insulinresistenz.

Freie Vorträge 6 – Insulinsekretion

V49

Inhibition of human proinsulin promoter activity by Krueppel-like transcription factor 11 (KLF11) is mediated through functional interactions with PDX-1 and a proximal CACCC box

Päth G¹, Niu X¹, Perakakis N¹, Laubner K¹, Limbert C², Stahl T¹, Seufert J¹

¹University Hospital of Freiburg, Department of Internal Medicine II, Division of Endocrinology and Diabetology, Freiburg, Germany, ²University of Würzburg, Orthopedic Center for Musculoskeletal Research, Stem Cell Biology, Würzburg, Germany

Background: Krueppel-like transcription factor 11 (KLF11, TIEG2) is a member of the Sp1/KLF transcription factor family which plays an important role in mammalian gene regulation via binding to GC-rich promoter elements comprising CGCCC (GC) or CACCC box core sequences. Previously we demonstrated that human KLF11 (hKLF11) inhibits human proinsulin promoter activity in rodent beta-cell lines (INS-1, beta-TC3). At insulin gene upstream sequences hKLF11 binds to a GC box but not to a proximal CACCC box. Surprisingly, deletion and mutation of the GC box did not alter hKLF11-mediated inhibition of proinsulin promoter activity. Here we present results from ongoing experiments which were designed to clarify the underlying molecular mechanisms of hKLF11 proinsulin promoter regulation and the functional role of the CACCC box. **Methods:** Transient transfection of beta-TC3 beta-cells and HEK293 cells with human proinsulin promoter driven secreted alkaline phosphatase (SEAP) reporter plasmids and mock, hKLF11, and PDX-1 expression plasmids. Noteworthy, the pancreatic duodenal homeobox protein (PDX)-1 is a major transactivator of proinsulin gene expression in pancreatic β-cells acting in conjunction with its transcriptional cofactor CBP/p300. **Results:** Although the CACCC box does not physically interact with hKLF11, mutation antagonizes 50% of KLF11-mediated suppression of proinsulin promoter activity. In parallel, mutation of the CACCC box dramatically reduces basal human proinsulin promoter activity by 75% in beta-TC3 beta-cells, thereby also decreasing KLF11 function. Interestingly, hKLF11 does not inhibit the activity of the human proinsulin promoter in HEK293 cells, demonstrating the essential requirement of the beta-cell-specific transcription machinery for KLF11 function. Transfection of PDX-1 stimulated human proinsulin promoter activity 5fold in HEK293 cells and cotransfection with hKLF11 reduced PDX-1 dependent activation to 50%. These data indicate that hKLF11 inhibits proinsulin promoter activity through both functional interference with PDX-1-dependent promoter activation and CACCC box binding proteins. **Conclusion:** These findings contribute to a better understanding of the complex regulation of proinsulin gene expression and suggest that KLF11 function affects insulin biosynthesis that may be involved in beta-cell dysfunction during the development of diabetes mellitus.

V50

RX871024 but not Efaroxan stimulates insulin secretion by a K_{ATP} independent mechanism

Willenborg M¹, Wienbergen A¹, Aguilar-Bryan L², Bryan J², Rustenbeck I¹

¹University of Braunschweig, Institute of Pharmacology, Braunschweig, Germany, ²Baylor College of Medicine, Houston/Texas, United States of America

Introduction: Within a certain concentration range the first generation imidazoline, RX871024, enhances insulin release only when the glucose concentration by itself is stimulatory (glucose-selectivity). This effect was ascribed to the activation of a K_{ATP} channel-independent pathway in addition to the direct closure of K_{ATP}-channels. Here we show that

efaroxan, another glucose-selective, first generation imidazoline, produces an insulinotropic effect only via the K_{ATP} channel-dependent pathway and has no effect on insulin release from Sur1KO islets that lack K_{ATP} channels. **Methods:** Three parameters were measured to evaluate the effect of these two imidazolines: (1) insulin release was measured in perfusion experiments on freshly isolated islets from NMRI or Sur1KO mice, (2) K_{ATP} channel activity was assessed by patch-clamp electrophysiology and (3) [Ca²⁺]_i was determined by microfluorometry. **Results:** Mouse β-cell K_{ATP} channel activity was reduced by about 82% by 10 μM RX871024 or 100 μM efaroxan; complete closure was achieved with 100 μM RX871024 and 500 μM efaroxan, respectively. 10 μM RX871024 and 100 μM efaroxan stimulated insulin secretion in 10, but not 5 mM glucose. Under normoglycemic conditions (5 mM), although there was no stimulation of insulin secretion with 10 μM RX871024 or 100 μM efaroxan; there was an evident increase in [Ca²⁺]_i. 100 μM RX871024 elicited a strong increase in secretion when the islets were kept at 5 mM glucose. This effect lasted for a few minutes and was only transiently changed when glucose was increased to 10 mM. Likewise, 500 μM efaroxan stimulated secretion in the presence of 5 mM glucose. In contrast to the stimulation with RX871024, this stimulatory effect of efaroxan was sustained and further augmented when the glucose concentration was increased to 10 mM. When the SUR1 KO mice islets were tested, 10 μM RX871024 was virtually without effect, whereas 100 μM had clear stimulatory effect in the presence of both glucose concentrations. Efaroxan on the other hand, at a glucose-selective (100 μM) or non-selective concentration (500 μM) concentrations was completely ineffective in stimulating insulin release in islets that lack K_{ATP} channels. **Conclusion:** Within a certain concentration range, both imidazoline compounds exert a glucose-selective insulinotropic effect on wild-type mouse islets. However, only RX871024 has a K_{ATP} channel-independent effect on secretion. This effect does not appear to be responsible for the glucose selectivity of the first generation imidazolines.

V51

Telemetrie-unterstützte Insulin-Dosistitration bei Typ 2 Diabetes. Ein Betreuungsmodell für strukturschwache Regionen

Raabe J¹, Spielhagen H¹

¹Asklepios Klinik Birkenwerder, Diabetologie, Birkenwerder, Germany

Fragestellung: Eine forcierte Dosistitration ist eine effektive Methode, um die Ziele der Insulintherapie für Patienten mit Typ 2 Diabetes zu erreichen. Betroffene, die nicht in Ballungsgebieten leben haben oft keinen Zugang zur hierfür nötigen spezialisierten ärztlichen Betreuung. Die Untersuchung soll klären, ob mithilfe von Telemedizin eine effektive Dosistitration durchführbar ist. **Methodik:** Ausgewählt wurden Patienten mit Typ 2 Diabetes und Insulinbehandlung mit abendlichem NPH-Insulin. Eine initiale Dosisanpassung wurde überwiegend unter stationären Bedingungen durchgeführt. Vor Entlassung erhielten die Patienten einen Algorithmus zur Insulindosisanpassung für das NPH-Insulin, ein Selbstkontrollgerät der Firma Abbott und einen Life Data Blazer der Firma ConiuGo. Dieses Gerät überträgt auf Knopfdruck die gespeicherten Plasmaglukosewerte über ein Handy-Netz auf den Server der Diabetesklinik. Es wurde an einem festen wöchentlichen Termin per Telefon besprochen, welche Dosisänderung sich bei Anwendung des Algorithmus ergibt und ob der Patient diese Änderungen bereits korrekt durchgeführt hat. Diese Gespräche wurden ausschließlich von Assistenzärzten in diabetologischer Ausbildung durchgeführt, die kurz in das Konzept eingewiesen wurden. Zusätzlich zu den gemessenen Plasmaglukosewerten wurden Kontrollen des HbA1c zu Beginn der Behandlung und nach 2 und 4 Monaten durchgeführt. Weiter wurden Angaben der Patienten über Hypoglykämie-Symptome erfragt. Es wurde im Abstand von zwei Wochen der Mittelwert der Nüchternblutzuckerwerte berechnet. Diese Betreuung wurde bis zur letzten HbA1c-Kontrolle durchgeführt. Nur für diese Labordiagnostik stellten sich die Teilnehmer persönlich vor. Die Glukosestoffwechselfparameter wurden mit einem gepaarten t-Test statistisch bewertet. **Ergebnisse:** 26 Patienten wurden eingeschlossen, davon einer aus ambulanter Behandlung. Bei 2 Patienten wurde die Betreuung vorzeitig abgebrochen wegen Anstieg des HbA1c. Technische und Anwendungsprobleme traten nur zu Beginn und nur selten auf. Die Durchführung der Dosistitration war dadurch in keinem Fall gestört. Erfasst wurden insgesamt 6 sichere Unterzuckerungen mit Symptomen und bestätigendem Messwert und 7 symptomatische Episoden ohne Messwert, jedoch keine schwere Hypoglykämie. Die NPH-Insulindosis wurde im Mittel von 25 IE auf 52 IE in 10 Schritten erhöht. Insgesamt wurden 248 Dosissteigerungen und 9 -reduktionen durchgeführt. Der HbA1c sank im Mittel signifikant von initial 9,53 auf 7,87 nach 2 Mona-

ten ($p < 0,0001$) und weiter auf 7,36 nach 4 Monaten (2 auf 4 Monate: $p = 0,028$). Die durchschnittlichen Nüchternplasmaglukosewerte sanken signifikant ab von 152 mg/dl nach Entlassung auf 138 mg/dl ($p = 0,048$). **Zusammenfassung:** Die forcierte Dosistatration lässt sich effektiv und sicher mit Telemetriestützung durchführen. Diese Betreuungsmethode bietet sich vor allem für die Versorgung von Patienten in strukturschwachen weiträumigen Regionen an.

V52

Exenatide und biphasisches Insulin Aspart bei Patienten mit Typ-2-Diabetes: Klinische Ergebnisse einer Nicht-Unterlegenheitsstudie

Kazda C¹, Bachmann O¹, Nauck MA², Kim D³, Johns D⁴, Trautmann M⁵

¹Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg, Germany,

²Diabetes Center, Bad Lauterberg im Harz, Germany,

³Amylin Pharmaceuticals, San Diego, United States of

America, ⁴Lilly Research Laboratories, Indianapolis, United States of America, ⁵Lilly Research Laboratories, Hamburg, Germany

Fragestellung: Exenatide, ein Inkretin-Mimetikum, ist eine neue Behandlungsoption für Patienten mit Typ-2-Diabetes bei ungenügender Diabeteskontrolle mit Metformin (MET) und/oder Sulfonylharnstoff (SH). Diese Nicht-Unterlegenheitsstudie vergleicht die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Exenatide und biphasischem Insulin Aspart. **Methodik:** In der randomisierten, offenen Studie über 12 Monate erhielten Patienten mit Typ 2 Diabetes entweder Exenatide (5 µg BID für 4 Wochen, danach 10 µg BID) oder biphasisches Insulin Aspart (BID; titriert bis zur optimalen Blutzuckerkontrolle), jeweils zusätzlich zur Therapie mit MET+SH. Primäres Ziel war die HbA1c-Senkung nach 52 Wochen (primäre Analyse: Nicht-Unterlegenheit von Exenatide im Vergleich zu Aspart). **Ergebnisse:** Insgesamt wurden 501 Patienten randomisiert (ITT; Exenatide 253, Aspart 248). 446 Patienten mit mindestens 12 Wochen Behandlung bildeten die Per Protokoll-Population (PP). Die Abbruchraten lagen in der Exenatide-Gruppe bei 21,3% und in der Aspart-Gruppe bei 10,1%. Bezüglich der HbA1c-Senkung nach 52 Wochen war Exenatide dem Analog-Insulin nicht unterlegen (Mittel ± SEM für PP: Exenatide -1,04 ± 0,07%, Aspart -0,89 ± 0,06%; Unterschied -0,15% [95%CI -0,32; +0,01]). Die Nüchternblutglukose sank unter beiden Therapien signifikant (Exenatide -1,8 ± 0,2 mmol/l; Aspart -1,7 ± 0,2 mmol/l; $p < 0,001$ für beide). Die 2 h-postprandialen Blutglukoseexkursionen waren nach allen 3 Mahlzeiten in der Exenatide-Gruppe stärker reduziert. In der Exenatide-Gruppe nahmen die Patienten an Gewicht ab, in der Aspart-Gruppe nahmen sie zu (mittl. Unterschied der Änderung: -5,4 kg [95%CI -5,9; -5,0]). Die häufigsten unerwünschten Ereignisse unter Exenatide waren Übelkeit (33%) und Erbrechen (15%). Das HDL-Cholesterin stieg in der Aspart-Gruppe stärker an als in der Exenatide-Gruppe (Unterschied Exenatide minus Aspart, Least square mean ± SEM: -0,04 ± 0,01 mmol/L; $p = 0,003$). In der Exenatide-Gruppe sank der Blutdruck leicht ab (mittl. Senkung ± STD: systolisch -5 ± 15 mm Hg, $p < 0,001$; diastolisch -2 ± 10 mm Hg, $p = 0,03$), unter Aspart blieb er unverändert. **Schlussfolgerung:** Mit Exenatide wurde eine vergleichbare HbA1c-Senkung erreicht wie mit biphasischem Insulin Aspart, bei besserer Kontrolle der postprandialen Blutglukose, Gewichtsreduktion und leichter Blutdrucksenkung unter Exenatide. Mit Aspart nahmen die Patienten zu, das Risiko gastrointestinaler Nebenwirkungen war geringer. Exenatide ist daher eine wirksame Alternative zur Insulintherapie bei Typ 2 Diabetikern.

V53

Hemmung der transkriptionellen Aktivität von MafA und des humanen Insulingens durch Interleukin-1beta und MEKK1 in pankreatischen Beta-Zellen

Oetjen E¹, Blume R¹, Cierny I¹, Kutschenko A¹, Krätzner R¹, Stein R², Knepel W¹

¹Universität Göttingen, Molekulare Pharmakologie,

Göttingen, Germany, ²Vanderbilt University School of

Medicine, Molecular Physiology and Biophysics, Nashville, TN, United States of America

Fragestellung: Eine unzureichende Insulinsekretion und -biosynthese sind Kennzeichen einer Beta-Zelldysfunktion und tragen zur Progression von einer prädiabetischen Stoffwechsellaage zum klinisch apparenten Diabetes mellitus Typ 2 bei. Während der prädiabetischen Stoffwechsellaage ist die Beta-Zelle erhöhten Spiegeln proinflammatorischer Cytokine ausgesetzt. In der hier präsentierten Studie wird die Wirkung von proinflammatorischen Cytokinen und der Mitogen-aktivierten Protein Kina-

se Kinase Kinase MEKK1, von der bekannt ist, dass sie durch diese Cytokine aktiviert wird, auf die Transkription des humanen Insulingens untersucht. **Methodik:** Biochemische Methoden und Reporter-Gen-Assays in einer Beta-Zelllinie und in primären pankreatischen Langerhans'schen Inseln transgener Mäusen. **Ergebnisse:** Interleukin-1beta (IL-1beta) und MEKK1 hemmten spezifisch die basale und die durch Membrandepolarisation plus cAMP-induzierte Insulingentranskription in der Beta-Zelllinie. In den primären Langerhans'schen Inseln von Reporter-Genmäusen verminderte IL-1beta die Glucose-stimulierte Transkription des humanen Insulingens. Eine 5'- und 3'-Deletions- und interne Mutationsanalyse offenbarte RIPE3b als das entscheidende MEKK1-responsive Element innerhalb des humanen Insulingens. RIPE3b war ebenfalls ausreichend, um eine starke transkriptionelle Aktivität auf einen heterologen Promoter zu vermitteln, welche durch MEKK1 und IL-1beta stark gehemmt wurde. Von RIPE3b ist bekannt, dass es den Transkriptionsfaktor MafA rekrutiert. Es konnte jetzt gezeigt werden, dass MEKK1 und IL-1beta die transkriptionelle Aktivität von MafA drastisch reduzierten. **Schlussfolgerung:** Diese Daten lassen vermuten, dass IL-1beta durch Aktivierung von MEKK1 die Insulingentranskription hemmt und dies zumindest zum Teil durch eine Hemmung der transkriptionellen Aktivität von MafA, gebunden an das RIPE3b Element geschieht. In Anbetracht der Tatsache, dass eine unzureichende Insulinbiosynthese zu einer Beta-Zelldysfunktion beiträgt, könnte die Hemmung der MEKK1 zu der Verlangsamung oder zu der Vermeidung der Progression von einer prädiabetischen Stoffwechsellaage zum klinisch apparenten Diabetes mellitus beitragen.

V54

Hemmung der Dexamethason-induzierten Apoptose durch PI3-Kinase-unabhängige Signalwege in insulinsezernierenden INS-1 Zellen

Avram D¹, Ranta F¹, Hennige AM¹, Lang F², Häring HU¹, Ullrich S¹

¹Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik IV,

Tübingen, Germany, ²Universität Tübingen, Institut für Physiologie, Tübingen, Germany

Glucocorticoid-induzierter Diabetes mellitus wird nicht nur durch eine gesteigerte hepatische Glucosemobilisierung, sondern auch durch eine Hemmung der Insulinsekretion ausgelöst. In vorangegangenen Studien haben wir gezeigt, dass Dexamethason (Dexa) in insulinsezernierenden Zellen apoptotischen Zelltod auslösen kann. Mit dieser Studie untersuchten wir, über welche anti-apoptotischen Signalwege der Dexa-induzierte Zelltod verhindert werden könnte. Die Apoptoserate von insulinsezernierenden INS-1 Zellen wurde durch die Anzahl von DAPI-angefärbten, kondensierten Zellkernen bestimmt und mit TUNEL Assay und Caspase-3 Aktivitätsmessungen bestätigt. Die Expression von Proteinen und deren spezifische Phosphorylierung wurden anhand von Western Blotting untersucht, zelluläre mRNA Konzentrationen wurden mit real-time RT-PCR semiquantitativ bestimmt. Unter Standardkulturbedingungen, i.e. 11 mmol/l Glucose und 10% fötales Kälberserum, induzierte Dexa, 100 nmol/l, apoptotischen Zelltod. Die Zugabe von 50 ng/ml IGF-1 reduzierte die Apoptoserate um 58%. Erstaunlicherweise verstärkte die Hemmung des PI3-Kinaseweges durch LY294002 (10 µmol/l) oder durch Wortmannin (0,1 µmol/l) den protektiven Effekt von IGF-1. Wie erwartet, hemmte LY294002 die IGF-1-stimulierte Phosphorylierung von PKB an Serin-473. Dexa hemmte die Tyrosinphosphorylierung von IRS-2, ein Effekt der teilweise durch IGF-1 verhindert wurde. Die Inkubation der Zellen mit LY294002 führte zu einer Verdoppelung der mRNA-Konzentration von IRS-2 auch in Anwesenheit von Dexa. Die Hemmung der Apoptose durch IGF-1 in Anwesenheit von LY294002 war von einer erhöhten ERK Phosphorylierung begleitet. Tatsächlich wurde die Hemmung der Dexa-induzierten Apoptose durch IGF-1 vom p42/44MAP-Kinase Hemmstoff PD98059 (10 µmol/l) aufgehoben. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass IGF-1 nicht nur über die Aktivierung des PI3-Kinase-Signalweges den Dexa-induzierten apoptotischen Zelltod verhindern kann, sondern auch die Stimulation des MAP-Kinase-Signalweges durch IGF-1 bei gleichzeitiger Hemmung des PI3-Kinase-Signalweges anti-apoptotisch wirkt. Dabei könnte die Erhöhung der IRS-2 Expression, als Folge der Hemmung der PI3-Kinase-abhängigen Foxo1-Phosphorylierung, für die gesteigerte Aktivierung von ERK verantwortlich sein.

V55

Die Bedeutung antiinflammatorischer Zytokine in insulinproduzierenden ZellenGurgul-Convey E¹, Souza K¹, Elsner M¹, Lenzen S¹¹Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Germany

Fragestellung: Inflammatorische Zytokine und insbesondere IL-1beta spielen eine äußerst wichtige Rolle bei der Betazell-Zerstörung und T1DM Entwicklung. Pankreatische Beta-Zellen sind nicht nur inflammatorischen, sondern auch sogenannten antiinflammatorischen Zytokinen, IL-4 und IL-10, ausgesetzt. Die Wirkung dieser Zytokine auf die Vitalität und Funktion der Betazellen ist bisher nicht untersucht worden. Um die Bedeutung von antiinflammatorischen Zytokinen für die Funktion von insulinproduzierenden Zellen zu klären, wurde der Einfluss der Koinkubation von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen auf die Vitalität und Signaltransduktionswege in insulinproduzierenden RINm5F Zellen untersucht. **Methodik:** Nach Inkubationsversuchen mit verschiedenen einzelnen Zytokinen oder Zytokinkombinationen wurde die Vitalität mittels MTT-Zytotoxizitätstest gemessen. Die NF-kB Aktivierung wurde durch einen SEAP-Reporter-Genassay untersucht. Die Expression von IL-4Ralpha, IL-13R, IL-10R wurde mittels qualitativer Realtime PCR analysiert. Die Expression von iNOS und MnSOD wurde mittels Real-Time PCR und Western-Blott quantifiziert. **Ergebnisse:** Die Genexpression von antiinflammatorischen Zytokinen-Rezeptoren in insulinproduzierenden Zellen ist 200x niedriger als in der Leber. Proinflammatorische Zytokine und insbesondere IL-1beta erhöhen dieses Niveau (nach 6 h – Inkubation um 250% IL-4Ralpha, 200% IL-13R, 220% IL-10R). Durch die Koinkubation mit antiinflammatorischen Zytokinen konnte in einer 24 h Inkubation der Schutz gegen proinflammatorische Zytokine erreicht werden (Restvitalität: Zytokinmix 72%, Zytokinmix+IL-4: 82%, Zytokinmix+IL-13: 86%, Zytokinmix+IL-10: 77%). Alle antiinflammatorischen Zytokine reduzierten die durch proinflammatorische Zytokine erhöhte NFkB Aktivierung und iNOS Expression. Außerdem wurde keine Auswirkung von IL-4 und IL-13 auf eine IL-1beta-erhöhte MnSOD Genexpression und ein geringer Anstieg in MnSOD Genexpression nach einer Koinkubation mit IL-10 gemessen. MnSOD Proteinexpression stieg nach Koinkubationen von IL-1beta bei allen antiinflammatorischen Zytokinen an. **Schlussfolgerung:** Die Ergebnisse zeigen, dass 1. es ein funktionelles Netzwerk von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen in Beta-Zellen gibt, 2. antiinflammatorische Zytokine Beta-Zellen gegen proinflammatorische Zytokine schützen 3. antiinflammatorische Zytokine Einfluss auf Signaltransduktionswege in insulinproduzierenden Zellen haben. Diese Ergebnisse belegen die Wichtigkeit der Ausgewogenheit von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen in insulinproduzierenden Zellen.

V56

Exenatide versus Insulin Glargin als Add-on zur Monotherapie mit oralen Antidiabetika: Vergleichsstudie bei Patienten mit Typ 2 DiabetesKazda C¹, Bachmann O¹, Barnett H², Burger J³, Kim D⁴, Brodows R³, Trautmann M⁵¹Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg, Germany,²Birmingham Heartlands Hospital, Department of Diabetes/Endocrinology, Birmingham, United Kingdom, ³Eli Lilly,Indianapolis, United States of America, ⁴AmylinPharmaceuticals, San Diego, United States of America, ⁵Lilly Research Laboratories, Hamburg, Germany

Fragestellung: Insulin Glargin wird bei Typ 2 Diabetes häufig eingesetzt, wenn die Blutglukosekontrolle mit oralen Antidiabetika (OAD) nicht mehr ausreicht. Exenatide ist eine neue Therapieoption bei unzureichender Kontrolle des Typ 2 Diabetes mit Metformin (MET) und/oder Sulfonylharnstoff (SH). **Methodik:** In einer randomisierten, offenen Crossover-Studie wurden Exenatide (5 µg BID für 4 Wochen, dann 10 µg BID für 12 Wochen) und Insulin Glargin (QD, titriert auf einen Ziel-Nüchternblutzucker ≤5,6mmol/L) verglichen, jeweils zusätzlich zu MET oder SH gegeben (MET 56%; SH 44%). Während der beiden Therapieperioden von je 16 Wochen setzten die Patienten (Alter 54 ± 9 Jahre; Gewicht 86 ± 16,4 kg; HbA1c 8,9 ± 1,1%; Nüchtern-Blutzucker 12,09 ± 0,31 mmol/L; Mittelwert ± STD) die OAD-Therapie mit maximaler Dosis fort. **Ergebnisse:** Die HbA1c-Senkung war in beiden Behandlungsperioden vergleichbar (Exenatide 1,43 ± 0,09%, Glargin -1,41 ± 0,09%; n=114 Completer). Ein vergleichbarer Anteil der Patienten erreichte HbA1c-Werte ≤7% (Exenatide 40%, Glargin 41%). HbA1c-Werte <=6,5% erzielten mit Exenatide 24% und mit Glargin 14% der Patienten (p=0,056). Unter beiden Therapien blieb die HbA1c-Senkung bis zum Ende der zweiten Periode erhalten. Bei Exenatide in der ersten Behand-

lungsperiode (n=55) nahmen die Patienten ab (-2,35 kg) und unter Glargin anschließend wieder zu (+2,3 kg). Bei Glargin in der ersten Behandlungsperiode (n=59) nahmen sie zunächst zu (+0,75 kg) und anschließend unter Exenatide ab (-2,3 kg). Der Unterschied in der Gewichtsänderung zwischen Exenatide (-1,95 kg) und Glargin (+0,35 kg) war signifikant (p < 0,001). Die Nüchternblutglukose sank unter beiden Therapien signifikant (Exenatide -3,04 ± 0,23 mmol/L; Glargin -4,17 ± 0,23 mmol/L; p < 0,0001 für die Intra- und Inter-Gruppenvergleiche). Die Exenatide-Injektionen vor den Mahlzeiten morgens und abends führten im Vergleich zu Glargin zu signifikant reduzierten 2 h-postprandialen (pp) Blutglukoseexkursionen (p < 0,001 für beide). Auch die über alle 3 Mahlzeiten kombinierten 2 h-pp Blutglukoseexkursionen waren unter Exenatide signifikant geringer als unter Glargin (p=0,036). Die Wirksamkeitsdaten waren für die beiden Subgruppen der MET- bzw. SH-behandelten Patienten ähnlich. Jedoch war die Gewichtsreduktion bei Exenatide plus MET (-2,97 ± 4,28 kg) größer bei Exenatide plus SH (-0,61 ± 2,86 kg). Der Anteil der Patienten mit Hypoglykämien war in der SH-Subgruppe größer (Exenatide 30%, Glargin 35%) als in der MET-Subgruppe (Exenatide 3%, Glargin 17%; p=0,01). Die häufigsten unerwünschten Ereignisse mit möglichem Therapiezusammenhang waren Übelkeit (33%) unter Exenatide bzw. Kopfschmerz (8,7%) unter Glargin. **Schlussfolgerung:** Unter laufender Therapie mit MET oder SH senkten sowohl Exenatide als auch Insulin Glargin den HbA1c, bei signifikanter Senkung der Nüchternblutglukose. Nur Exenatide führte zu einer signifikanten Gewichtsreduktion und einer verbesserten Kontrolle der postprandialen Blutzuckerspiegel.

Freie Vorträge 7 – Entzündung und Immunantwort

V57

Behandlung mit Hitzeschockprotein-Peptid DiaPep277 bei Kindern und Erwachsenen mit neu-diagnostiziertem Typ 1 Diabetes: Effekte auf Betazell-Funktion und zelluläre ImmunitätSchloot NC¹, Meierhoff G¹, Battelino T², György J³, für die p520/p521 Studiengruppe¹Deutsches Diabetes-Zentrum, Deutsche Diabetes-Klinik, Düsseldorf, Germany, ²University Childrens hospital, Ljubljana, Slovenia, ³Bajcsy-Zsilinszky Hospital, Budapest, Hungary

Fragestellung: Es sollte untersucht werden, ob die Behandlung von neu-diagnostiziertem Typ 1 Diabetes mit dem Hitzeschockprotein (hsp) 60 Peptid DiaPep277 sicher ist, ob die endogene Insulinproduktion damit erhalten werden kann und ob die zelluläre Immunantwort darunter moduliert wird. **Methodik:** Zwei prospektiv angelegte, plazebo-kontrollierte, doppelblinde Studien wurden multizentrisch durchgeführt. 50 erwachsene Personen (Studie p520, Alter 16 – 44 Jahre) und 49 Kinder mit neu-diagnostiziertem Typ 1 Diabetes (Studie p521, 4 – 15 Jahre) erhielten an 4 verschiedenen Zeitpunkten subkutan 0,2 mg, 1,0 mg und 2,5 mg DiaPep277 versus Plazebo. Über einen Zeitraum von 18 Monaten wurden stimuliertes C-Peptid, HbA1c und Insulinbedarf in vivo erfasst. Die zelluläre Immunantwort wurde mittels ELISPOT in vitro für Typ 1 Diabetes assoziierte Autoantigene (GAD, pIA2, hsp60, DiaPep277) und die Zytokine IFNgamma, IL-5, IL-13 und IL-10 untersucht. **Ergebnisse:** Unter der Behandlung mit DiaPep277 wurden keine schweren Nebenwirkungen beobachtet. Der C-Peptidverlauf war beim Querschnittsvergleich der unterschiedlichen Behandlungsgruppen nicht signifikant unterschiedlich. In der Erwachsenenengruppe zeigte sich im longitudinalen Verlauf ein Trend hin zur stabilisierten Betazellfunktion bei Patienten, die mit 0,2 mg oder 1,0 mg DiaPep277 behandelt wurden. Im Gegensatz dazu, war der Abfall des C-Peptids in der Plazebo-Gruppe und nach Behandlung mit 2,5 mg signifikant abfallend im Verlauf (p < 0,05). Bei den pädiatrischen Patienten mit niedrig-Risiko HLA zeigte sich unter Behandlung mit 1 mg DiaPep277 ein stabiler C-Peptidverlauf, während das C-Peptid bei den anderen Kindern signifikant abfiel (p < 0,005). Die zelluläre Immunreaktion war sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen im Wesentlichen stabil und unabhängig von der Art der Behandlung. Bei der Studie p521 (Kinder) zeigte sich eine Abnahme der IL-13-reaktiven Zellen auf pIA2 (p < 0,05). Bei der Studie p520 (Erwachsene) zeigte sich bei den mit 2,5 mg DiaPep277 Behandelten eine signifikante Abnahme IL-5 reaktiver Zellen unter DiaPep277 Stimulation (p < 0,05), jedoch nicht aber nicht in der Placebogruppe. **Schlussfolgerung:** Die Behandlung mit DiaPep277 kann als sicher angesehen werden und geht möglicherweise mit einer Stabilisierung der Betazell-Funktion bei einigen Patienten mit Typ 1 Diabetes einher. Die zelluläre Immunantwort bleibt für die meisten Antigene und gemessenen Zytokine sta-

bil, wobei die Tendenz zur Abnahme Antigen-reaktiver Zellen im zeitlichen Verlauf für einige Antigene und Zytokine zu erkennen ist.

V58

Hitzeschockprotein 60 (HSP60) induziert betatzellschädigende Makrophagenaktivitäten der NOD Maus über Toll-like Rezeptor 4 (TLR4)-abhängige Signalwege

Habich C¹, Burkart V¹

¹Deutsches Diabetes-Zentrum, Deutsche Diabetes-Klinik, Düsseldorf, Germany

Fragestellung: Während der Pathogenese des Insulinmangeldiabetes in der NOD Maus ist in der prädiabetischen Phase in pankreatischen Betazellen eine aberrante Expression von HSP60 zu beobachten. HSP60 stellt ein starkes proinflammatorisches Signal dar, das in natürlichen Immunzellen, wie Makrophagen, die Freisetzung betatzellschädigender Mediatoren induziert. Da HSP60 primär über TLR4 mit Makrophagen interagiert, wurde im Hinblick auf die Entwicklung von betazellprotektiven Interventionsstrategien die Beteiligung TLR4-abhängiger Signaltransduktionswege bei der HSP60-induzierten Aktivierung von NOD Makrophagen untersucht. **Methodik:** Die HSP60-vermittelte Aktivierung spezifischer Signalproteine (MAP-Kinasen, NFκB) wurde in Knochenmarksmakrophagen (KMM) von NOD Mäusen und NOD Mäusen mit normaler TLR4 Expression (TLR4+/+) sowie mit homozygotem TLR4 Defekt (TLR4-/-) untersucht. Die Analysen wurden an KMM aus 50 und 70 Tage alten prädiabetischen und aus frisch manifestierten diabetischen NOD Mäusen durchgeführt. **Ergebnisse:** In NOD Mäusen ließ sich eine Aktivierung der MAP-Kinasen p42/p44, JNK (p46/p54) und p38 und des Transkriptionsfaktors NFκB nach HSP60 Stimulation in den KMM nachweisen. Die maximale Aktivierung von p42/p44, p38 und NFκB wurde in KMM aus diabetischen NOD Mäusen nachgewiesen, während JNK(p46/p54) das Aktivierungsmaximum in KMM der 70 Tage alten, prädiabetischen NOD Maus erreichte. Durch den Einsatz spezifischer Hemmstoffe konnte gezeigt werden, dass NFκB und p42/p44 an der HSP60-stimulierten Bildung der proinflammatorischen Mediatoren TNFα und IL12p70 in NOD Mäusen beteiligt sind. Ferner konnte eine Beteiligung von p38 an der TNFα Bildung gezeigt werden. Für IL6 konnte die Beteiligung von NFκB gezeigt werden. Eine Beteiligung von JNK(p46/p54) an der HSP60-induzierten Bildung dieser Entzündungsmediatoren konnte nicht nachgewiesen werden. Die vergleichende Analyse der HSP60-vermittelten Aktivierung in KMM aus prädiabetischen und aus frisch manifestierten diabetischen TLR4+/+ und TLR4-/- Mäusen zeigte, dass die Aktivierung der Signalproteine in TLR4-defizienten NOD Mäusen deutlich reduziert ist (Reduzierung Aktivierung NFκB: 89 – 93%, p42/p44: 91 – 94%, p38: 77 – 99%, JNK(p46/p54): 60 – 99%). In TLR4+/+ Mäusen konnte für alle untersuchten Signalproteine eine maximale Aktivierung in 50 Tage alten, prädiabetischen Tieren nachgewiesen werden. **Schlussfolgerungen:** Unsere Ergebnisse weisen daraufhin, dass TLR4 an der HSP60-vermittelten Aktivierung spezifischer Signalproteine, die zur Bildung von betatzellschädigenden Entzündungsmediatoren in NOD Mäusen führt, beteiligt ist. Die aus diesen Untersuchungen gewonnenen Erkenntnisse stellen einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der HSP60-induzierten, betazellgerichteten Immunreaktionen dar und sind damit ein erfolversprechender Ansatz zu Entwicklung möglicher früher Interventionsstrategien.

V59

Möglichkeiten der Prävention der Diabetesmanifestation durch FTY720 als neues Immunmodulanz in der LEW.1AR1-iddm Ratte als Tiermodell des menschlichen Typ 1 Diabetes

Joerns A¹, Meyer zu Vilsendorf A², Taivankhuu T³, Lenzen S³

¹Zentrum Anatomie/Institut für Klinische Biochemie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Germany, ²Viszeral- und Transplantationschirurgie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Germany, ³Institut für Klinische Biochemie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Germany

Fragestellung: Durch die Gabe des neuen Immunmodulanz FTY720 soll in der LEW.1AR1-iddm (IDDM) Ratte eine Manifestation des Diabetes mellitus verhindert oder nach Krankheitsmanifestation ein Schutz der verbliebenen Betazellen vermittelt werden. FTY720 bewirkt in den das Organ drainierenden Lymphknoten über die Interaktion mit dem Sphingosin-1-Rezeptor das Zurückhalten von B- und T-Lymphozyten und führt damit zu einer Erniedrigung der Lymphozytenzahl im peripheren Blut. **Methodik:** Für die Primär- und Sekundärprävention wurden die

Tiere mit FTY720 (1 mg/kg Körpergewicht) über 40 Tage behandelt. Gen- (in situ und real time RT-PCR) und Proteinexpressionen (Immunhistochemie und bead-based Multiplex-ELISA) von Th1- und Th2-Zytokinen, des Chemokins MCP-1 und des Enzyms iNOS wurden in Pankreasbiopsien und Pankreas-drainierenden Lymphknoten zum Zeitpunkt der möglichen Diabetesmanifestation, am Ende der Therapie, sowie 30 Tage nach Therapiebeendigung analysiert. **Ergebnisse:** Im Rahmen der Primärprävention ließ sich das Auftreten des Autoimmundiabetes im spontan-diabetischen Rattenmodell mit FTY720 zum Diabetesmanifestationszeitpunkt und im weiteren Verlauf sicher verhindern. Morphologisch zeigten die Pankreasinseln aller mit FTY720 behandelten Tiere im Gegensatz zu den Kontrolltieren im Spontanverlauf ab dem 50. Lebensstag zu allen untersuchten Zeitpunkten keine Beta-Zellapoptose sowie kein Auftreten eines gemischten Immunzellinfiltrats mit einem entsprechenden Zytokinmuster (IL-1beta, IFN-gamma, TNF-alpha, IL-4, IL-10). Interessanterweise fand sich innerhalb der FTY720-behandelten Gruppe bei 60% der Tiere genau wie im Spontanverlauf eine Immunzellaktivierung mit Steigerung der Genexpression der Th1-Zytokine und des Beta-zellschädigenden Enzyms iNOS im Lymphknoten und der Th1-Zytokinproteine im Blut. Im weiteren Verlauf war nur in den Pankreata der Tiere mit Immunzellaktivierungszeichen ein von Makrophagen dominiertes, auf die Inselperipherie beschränktes Immunzellinfiltrat in 5% der Inseln 30 Tage nach Therapieende zu beobachten. In diesen Inseln war das Chemokin MCP-1 hochreguliert. Im Rahmen der Sekundärprävention, d.h. Therapie mit FTY720 von bereits akut diabetischen Tieren konnten dagegen weder das Immunzellinfiltrat im Pankreas vermindert noch die restlichen Beta-Zellen geschützt werden. **Schlussfolgerungen:** Durch das Immunmodulanz FTY720 kann im Rahmen der Primärprävention die Diabetesmanifestation sicher verhindert werden. Auch nach Immunzellaktivierung wird das Immunzellinfiltrat im Pankreas sehr stark eingeschränkt und die Beta-Zellen bleiben vollständig erhalten.

V60

Toll-Like Rezeptor 4: Regulator der betazellgerichteten Immunreaktion und der Entwicklung des Körpergewichts im Tiermodell des Typ 1 Diabetes

Gülden E¹, Imamura S¹, Ihira M¹, Kolb H¹, Burkart V¹

¹Deutsches Diabetes-Zentrum, Düsseldorf, Germany

Fragestellung: Initiation und Progression der betazellgerichteten Immunreaktion sowie Pathogenese des Insulinmangeldiabetes werden wesentlich durch Zellen und Mediatoren des nicht-adaptiven Immunsystems kontrolliert. Die Aktivitäten nicht-adaptiver Immunzellen, wie Makrophagen, werden über Toll-Like Rezeptoren (TLR) beeinflusst. Da unsere früheren Untersuchungen einen entscheidenden Einfluss des TLR4 bei der proinflammatorischen Makrophagenaktivierung belegen, sollten in dieser Studie mithilfe einer TLR4-defizienten Linie der non-obese diabetic (NOD) Maus, einem Tiermodell des humanen Typ 1 Diabetes, TLR4-abhängige Prozesse identifiziert werden, die an der Pathogenese des Insulinmangeldiabetes beteiligt sind. **Methodik:** Untersuchungen zur Reaktivität von Milzzellpopulationen aus weiblichen NOD-Mäusen mit normaler (TLR4+/+) oder fehlender (TLR4-/-) TLR4-Expression auf Concanavalin A (ConA) und Interleukin-2 (IL-2) wurden ergänzt durch histologische Analysen der pankreatischen Inseln und Studien zur Körpergewichtsentwicklung. **Ergebnisse:** Unsere Befunde im Modell der TLR4-defizienten NOD Maus zeigen eine signifikante Beschleunigung der Diabetesentwicklung in TLR4-/- Tieren. Histologische Analysen der Pankreata von 100 Tage alten Mäusen zeigten in TLR4-/- Tieren einen höheren Anteil von Inseln mit fortgeschrittener Immunzellinfiltration (29%) als in TLR4+/+ Tieren (11%) (p < 0,01). Gleichzeitig lag in TLR4-/- Mäusen der Anteil gering infiltrierter Inseln niedriger (20%) als in TLR4+/+ Mäusen (49%) (p < 0,01). Hinweise für eine immunologische Hyperreaktivität in TLR4-/- Mäusen ergaben sich aus ConA und IL-2 stimulierten Milzzellpopulationen. Milzzellen von TLR4-/- Mäusen zeigten nach ConA Stimulation (2,5 µg/ml) eine 4,5-fach höhere Proliferationsrate als Zellen von TLR4+/+ Mäusen (p < 0,01). Nach Stimulation mit IL-2 (50 ng/ml) produzierten Milzzellen von TLR4-/- Mäusen höhere Mengen des betazelltoxischen Mediators Tumornekrosefaktor α (311 ± 10pg/ml) als Zellen von TLR4+/+ Mäusen (161 ± 14pg/ml) (p < 0,001). Da neuere Befunde die Anwesenheit von Komponenten des angeborenen Immunsystems, darunter Makrophagen und TLR, auch im Fettgewebe belegen, wurden in einem ersten Ansatz mögliche Auswirkungen des TLR4 Defektes auf die Körpergewichtsentwicklung analysiert. Dabei zeigte sich, dass die Gewichtsentwicklung weiblicher TLR4-/- Mäuse einer signifikant anderen Kinetik folgt, als die der TLR4+/+ Mäuse (p < 0,0001). Bis zum Alter von 21 Wochen wogen TLR4-/- Tiere 1,7 ± 0,2 g (6,9 ± 0,8%) mehr als TLR4+/+ Tiere. **Schlussfol-**

gerungen: Unsere Ergebnisse in TLR4 defekten NOD Mäusen zeigen eine beschleunigte Gewichtszunahme und eine immunologische Hyperreaktivität, die möglicherweise auf eine unzureichende Gegenregulation in Abwesenheit von TLR4 zurückzuführen ist. Diese Befunde legen die Vermutung nahe, dass TLR4 die betazellgerichtete Immunreaktion sowie das Körpergewicht reguliert und damit die Entwicklung des Insulinmangeldiabetes in der NOD Maus kontrolliert.

V61

Die NOD-mt^{FVB} Maus als Modell für den Einfluss mitochondrialer Mutationen auf die Pathogenese des T1DM

Weiss H¹, Wester-Rosenloef L², Jörns A³, Ibrahim S², Tiedge M¹

¹Universität Rostock, Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Rostock, Germany, ²Universität Rostock, Institut für Immunologie, Rostock, Germany, ³Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Germany

Fragestellung: Der conplastische NOD-mt^{FVB} Mausstamm zeigt im Vergleich zum NOD Stamm Mutationen des mitochondrialen Genoms in ATP8 (ATP-Synthase) und COXIII (Cytochrom c Oxidase) Gen. Beide Gene spielen für die Beta-Zellfunktion und Immunität eine wichtige Rolle. Es war das Ziel der Studie, eine Charakterisierung der NOD-mt^{FVB} Maus bezüglich Diabetesinzidenz, Diabetesverlauf, Glucosetoleranz und morphologischer Veränderungen des endokrinen Pankreas durchzuführen. **Methodik:** Tiere der Stämme NOD (n: m = 50; w = 43) und NOD-mt^{FVB} (n: m = 43; w = 42) wurden über 40 Wochen bezüglich ihrer Blutglucosewerte untersucht. Ein intraperitonealer Glucosetoleranztest (1,5 g Glucose/kg KG) wurde in der prädiabetischen Phase mit je 5 weiblichen Tieren im Alter zwischen 12 und 13 Wochen durchgeführt. Pankrea von je 4 Tieren im Alter von 8, 12 und 16 Wochen wurden morphologisch auf Infiltration durch Immunzellen und Beta-Zellmasse untersucht. **Ergebnisse:** Diabetische Tiere beider Stämme zeigten einen kontinuierlichen Anstieg der Blutglucosekonzentration nach Diabetesmanifestation. Die Diabetesinzidenz zeigte beim NOD Stamm signifikante Unterschiede zwischen Weibchen (65 – 70%) und Männchen (10 – 15%). Im Unterschied hierzu konnte beim NOD-mt^{FVB} Stamm keine Geschlechtspräferenz nachgewiesen werden, wobei jedoch insgesamt die Diabetesinzidenz erhöht war (m = 60%; w = 88%). Das Manifestationsalter des Diabetes betrug bei weiblichen Tieren 16 Wochen, bei männlichen Tieren 20 Wochen ohne signifikanten Unterschied zwischen dem NOD und NOD-mt^{FVB} Stamm. Der Glucosetoleranztest zeigte einen leicht erhöhten Blutglucosewert prädiabetischer NOD-mt^{FVB} Tiere nach 60 und 120 Minuten. Pankrea von 12 Wochen alten NOD Tiere zeigten eine Peri-Insulinitis ohne Migration der Immunzellen in die Inseln. Pankrea von NOD-mt^{FVB} Tieren zeigten in diesem Alter keinerlei Infiltrationen der Pankreasinsel. Im Alter von 16 Wochen konnten in Pankrea von NOD-mt^{FVB} Tieren im Vergleich zu NOD Tieren nur noch residuale Inseln mit einer sehr schwachen Insulinfärbung der Beta-Zellen nachgewiesen werden. Dies weist auf einen fulminanten Autoimmunprozess hin. **Schlussfolgerungen:** Die Mutationen der Gene ATP8 (ATP-Synthase) und COXIII (Cytochrom c Oxidase) bewirkten nach Übertragung auf den NOD-Hintergrundstamm einen Verlust der Geschlechtspräferenz des T1DM und einen fulminanteren Verlauf der Betazellzerstörung. Der NOD-mt^{FVB} Mausstamm stellt ein interessantes Modell dar, um die Bedeutung von Mutationen des mitochondrialen Genoms für die Interaktion zwischen Beta-Zellfunktion und Autoimmunzerstörung zu untersuchen.

V62

The expression of microRNAs on rat chromosome 6q32 may be involved in type 1 diabetes development of BB rats

Lutze P¹, Baguhl R¹, Klötting I¹

¹University of Greifswald, Medical Faculty, Laboratory Animal Science, Karlsburg, Germany

Aim: Eighty nine per cent of BB/OK rats develop type 1 diabetes up to an age of 30 weeks whereas S(pontaneous) H(yperensive) R(ats) are disease resistant. Crossing studies of these strains revealed a diabetogenic region on chromosome 6 (D6Rat66-D6Rat3). This segment was introgressed onto BB/OK genetic background using male or female SHR as segment donor generating congenic BB.SHR briefly termed BB.6Sm(ale donor) or BB.6Sf(emale donor). Congenic BB.6Sm developed diabetes with a frequency of 14% whereas BB.6Sf developed diabetes with a frequency which was comparable with those of BB/OK rats. That

prompted us to analyse the meaning of miRNAs in the diabetes development, especially in adipose tissue as an essential energy depot. **Methods:** MicroRNA (miRNA) assays of 22 miRNAs was established and carried out in 8 weeks old non-diabetic BB/OK, congenic BB.6Sm, BB.6Sf and their chromosomal donor, SHR males using RNA of subcutaneous and visceral adipose tissue. **Results:** All miRNAs except rno-mir-153 were expressed in both adipose tissue, but in subcutaneous fat the overall expression was in the middle 10times higher compared to visceral fat. In subcutaneous fat the expression of all miRNAs was found in BB.6Sm rats at the highest and in 19 out of 22 in BB.6Sf at the lowest level. In visceral fat no clear expression pattern was visible. The highest expression was detectable in SHR and BB.6Sm. Because of the high standard derivation in SHR only 5 miRNAs showed a significantly different expression. A similar high standard derivation was also observed in BB.6Sm in subcutaneous fat. **Conclusion:** For the first time it was shown that 21 out of 22 microRNAs were expressed in adipose tissue. The study revealed significant differences between adipose tissues and strains. Although BB.6Sm and BB.6Sf obtained the same genetic segment from SHR chromosome 6, the sex of the donors was different as well as the resulting diabetes frequency in the congenics. The data clearly show a chromosomal donor and tissue dependent expression of miRNAs which may influence the predisposition for type 1 diabetes development.

V63

Reduced oxidative stress in hyperglycaemic protein kinase C zeta knock-out mice does not protect against diabetic nephropathy

Meier M¹, Park JK¹, Menne J¹, Lindschau C¹, Leitges M¹, Haller H¹

¹Medizinische Hochschule Hannover, Nephrologie, Hannover, Germany

Hyperglycemia increases reactive oxygen species (ROS) production e.g. with subsequent activation of the Protein kinase C (PKC) signalling pathway. It has been postulated that a positive feedback loop may occur between ROS and the activation of PKC- ζ as in the diabetic state the PKC- ζ (PKC- ζ) isoform is required for ROS generation from nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase in mesangial cells exposed to high glucose condition. Furthermore, the requirement of PKC-zeta for F-actin disassembly may involve ROS. Therefore, deletion of PKC- ζ in vivo should result in prevention of experimental diabetic nephropathy. To test this hypothesis we investigated homozygous PKC- ζ -deficient null (KO) mice and compared them to SV129 control mice in the streptozotocin (STZ)-induced diabetic mouse model. Hyperglycaemia was induced in 8 week old mice by intraperitoneal STZ injection (125 mg/kg/body weight on day 1 and 3). Ten days after the first STZ-injection animals were hyperglycaemic with glucose levels > 20 mmol/l (WT: 25.9 \pm 3.4 mg/dl vs. 12.2 \pm 0.9 mmol/l and KO: 37.3 \pm 6.3 mmol/l vs. 7.9 \pm 0.9 mmol/l). After 8 weeks animals were sacrificed and kidneys were removed. Immunohistochemistry demonstrated that the production of ROS (DHE, dihydroethidine) is diminished but not completely abolished in diabetic PKC- ζ -deficient null mice confirming a role of PKC- ζ in ROS generation. Light microscopy showed no significant difference with regard to glomerular and tubulointerstitial fibrosis in both diabetic groups. The increased expression of extracellular matrix proteins in the diabetic state, however, is significantly reduced in diabetic PKC- ζ -deficient null mice. Urinary albumin/creatinine ratio was significantly increased in the diabetic WT when compared to appropriate controls (36.3 \pm 15.1 vs. 11.3 \pm 2.4, p < 0.05). Notably, diabetic PKC- ζ -deficient null mice were not protected against the development of diabetic albuminuria (47.1 \pm 26.9 g/mol vs. 8.1 \pm 6.7; p < 0.05). Furthermore, the increase of the kidney weight and the kidney/body ratio in the diabetic state did not show any difference when PKC- ζ was deleted. In the present study, we demonstrated that the development of experimental diabetic nephropathy is not prevented in PKC- ζ -deficient null mice although oxidative stress is reduced. In contrast to previous in vitro studies, our data prove that PKC- ζ does not play a functional role in the development of experimental diabetic nephropathy in vivo.

V64

Bedeutung reaktiver Sauerstoffspezies für die Lipotoxizität in insulinproduzierenden Zellen

Gehrmann W¹, Elsner M¹, Lenzen S¹

¹Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Germany

Fragestellung: Beim T2DM können erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren zu einer β -Zell-Dysfunktion und -Apoptose führen. Die molekular-

laren Mechanismen der Lipotoxizität sind jedoch weitgehend ungeklärt. Als mögliche Ursachen wird unter anderem die vermehrte Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) diskutiert. Ziel der vorliegenden Studie war die Analyse der Toxizität unterschiedlicher gesättigter und ungesättigter Fettsäuren auf insulinproduzierende RINm5F-Zellen und der möglichen molekularen Mechanismen. Insbesondere sollte die Rolle einer erhöhten Sauerstoffradikalbildung und einer Entkopplung der Atmungskette in den Mitochondrien für die Lipotoxizität analysiert werden. **Methodik:** Die Zellvitalität von RINm5F-Zellen sowie Superoxid-dismutase (SOD)- und Katalase-überexprimierender RINm5F-Zellen wurde nach Inkubation mit unterschiedlichen gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mittels MTT-Assay bestimmt. Der Effekt von Palmitinsäure auf die Genexpression des Entkopplerproteins 2 (UCP2) und das mitochondriale Membranpotential wurden durch quantitative Real Time PCR bzw. Färbung mit JC-1 gemessen. **Ergebnisse:** Die gesättigten Fettsäuren Palmitinsäure ($EC_{50} = 113 \mu M \pm 6$) und Stearinsäure ($EC_{50} = 80 \mu M \pm 5$) haben einen ausgeprägten zytotoxischen Effekt auf RINm5F-Zellen nach 24 h Inkubation, während die ungesättigten Fettsäuren Ölsäure, Palmitoleinsäure, Linolsäure, γ -Linolensäure und Arachidonsäure nicht toxisch sind. Ungesättigte Fettsäuren sind vielmehr in der Lage einen signifikanten Schutz gegenüber gesättigten Fettsäuren zu vermitteln. So kann Ölsäure in einem äquimolaren Verhältnis den toxischen Effekt von Palmitinsäure vollständig aufheben. Die zytosolischen antioxidativen Enzyme Katalase und CuZnSOD haben einen protektiven Effekt gegenüber Palmitinsäure, wohingegen die mitochondrialen antioxidativen Enzyme Mito-Katalase und MnSOD keinen schützenden Effekt zeigen. Das mitochondriale Membranpotential sowie die UCP-2 Genexpression blieben durch Palmitinsäure unbeeinflusst. **Schlussfolgerungen:** Die Ergebnisse zu den Katalase- und SOD-überexprimierenden RINm5F-Zellen zeigen, dass die Bildung von ROS im Zytosol und nicht im Mitochondrium bei der Lipotoxizität gesättigter Fettsäuren von Bedeutung ist. Dies ist in Übereinstimmung mit dem unveränderten mitochondrialen Membranpotentials und UCP-2 Genexpression nach Fettsäureinkubation.

Symposium „Insulinsensitivität und Ernährung“

V65

Der Einfluss der täglichen Einnahme von beta-glukanreichem Brot auf den Cholesterin- und Blutzuckerspiegel von Patienten mit Typ 2 Diabetes Mellitus

Tsapogas P¹, Liatis S¹, Eleftheriadou I¹, Chala E², Kyriakopoulos K¹, Grammatikou S¹, Kapantais E², Diamantopoulos E¹, Katsilambros N¹

¹Universität Athen, Laiko Krankenhaus, 1ste Medizinische Klinik für Propädeutik, Athen, Greece, ²Metropolitan Krankenhaus, Diabetes Abteilung, Athen, Greece

Hintergrund: Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass die leicht lösliche pflanzliche Fiber β -Glukan (ein Bestandteil des Hafers) eine hypocholesterolämische Wirkung sowohl auf Personen ohne als auch auf Patienten mit Typ 2 Diabetes Mellitus (T2DM) hat. Ziel: Es wurde untersucht, ob der Zusatz von β -Glukan im Brot den Serumcholesterinspiegel verbessern kann und weiterhin, ob er eine Auswirkung auf die glukämische Kontrolle und das Nüchtern-Insulin hat. **Patienten-Methodik:** Es handelt sich um eine doppel-blind Studie, in welcher 60 Patienten mit T2DM für 3 Wochen 120 g Brot mit oder ohne Zusatz von 3 g Hafer- β -Glukan täglich konsumierten. Die Patienten nahmen kein hypolipidämisches Medikament ein. Ihre antidiabetische Behandlung blieb für die ganze Dauer der Studie unverändert. **Ergebnisse:** Von den 60 Teilnehmern, 27 Männer und 20 Frauen [Alter $60,8 \pm 9,7$ Jahre, BMI $28,6 \pm 4,52$ kg/m², Gesamtcholesterin (GC) $225,17 \pm 32,99$ mg/dl, LDL-Cholesterin (LDL-C) $151,91 \pm 28,84$ mg/dl] vollendeten die Studie. 22 Patienten konsumierten Brot mit β -Glukan (Gruppe A) und 25 ohne β -Glukan (Gruppe B). Am Ende der Studie erwies sich eine signifikante Reduzierung des GC und des LDL-C in der Gruppe A [Gruppe A vs. Gruppe B: GC $-20,45$ mg/dl und LDL-C $-17,23$ mg/dl vs. GC $+1,36$ mg/dl ($p = 0,014$) und LDL-C $+1,36$ mg/dl ($p = 0,032$)]. Weiterhin ließ sich eine relativ kleine, nicht signifikante Reduzierung des Blutzucker- und des Nüchtern-Insulinspiegels in der Gruppe A feststellen [Gruppe A vs. Gruppe B: Blutzucker $-10,32$ mg/dl vs. $+2,75$ mg/dl ($p = NS$), Insulin $-3,89$ μ U/ml vs. $+1,66$ μ U/ml ($p = NS$) und HOMA-Index $-2,78$ vs. $+0,03$ ($p = NS$)]. **Schlussfolgerung:** Bei Patienten mit T2DM führt eine tägliche und für drei Wochen Einnahme von Brot, das reich an Hafer- β -Glukan (3 g) ist, zu einer bedeutenden Reduzierung des Gesamt- und des LDL-Cholesterins.

Symposium „Diabetes und Arteriosklerose“

V66

GIPR^{dn} transgene Schweine – ein neues Tiermodell zur Untersuchung der Auswirkungen einer verminderten Inkretinhormonfunktion

Renner S¹, Kress DC¹, Keßler B¹, Herbach N², Wanke R², Hofmann A³, Pfeifer A³, Wolf E¹

¹Institut für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Genzentrum der LMU München, München, Germany,

²Institut für Tierpathologie, LMU München, München, Germany, ³Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Bonn, Bonn, Germany

Der Inkretineffekt beschreibt das Phänomen, dass eine orale Glukosegabe im Vergleich zu einer intravenösen Glukoseinfusion einen stärkeren Konzentrationsanstieg von Insulin im Blut auslöst. Verantwortlich für den Inkretineffekt sind die Inkretinhormone glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) und glucagon-like-peptide-1 (GLP-1). Bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus konnte eine deutlich reduzierte insulinotrope Wirkung von GIP detektiert werden, während die Wirkung von GLP-1 weitgehend erhalten bleibt. Um die Folgen einer gestörten Funktion von GIP besser zu verstehen, wurden GIP Rezeptor knockout Mäuse (GIPR^{-/-}) sowie transgene Mäuse, die einen dominant negativen GIPR (GIPR^{dn}) exprimieren, erstellt. Während GIPR^{-/-} Mäuse nur relativ geringe Veränderungen im Glukosemetabolismus zeigen, entwickeln GIPR^{dn} transgene Mäuse einen ausgeprägten diabetischen Phänotyp infolge einer gestörten postnatalen Ausbildung des endokrinen Pankreas. Um ein Großtiermodell mit gestörter GIP-Funktion zu generieren, haben wir eine hocheffiziente, auf lentiviralen Vektoren basierende Gentransfertechnologie verwendet. Transgene Schweine, die den GIPR^{dn} unter der Kontrolle des Ratten *Ins2* Promotors (RIP1) exprimieren, entwickeln sich normal. Mittels RT-PCR Analysen von RNA aus isolierten Langerhansschen Inseln konnte gezeigt werden, dass die mRNA für den mutierten GIPR im endokrinen Pankreas exprimiert wird. RIP1-GIPR^{dn} transgene Schweine zeigten im Alter von 20 Wochen im oralen Glukosetoleranztest eine verminderte initiale Insulinfreisetzung sowie erhöhte Blutzuckerspiegel. Die AUC (area under curve) für Insulin war bei RIP1-GIPR^{dn} transgenen Schweinen ($n = 5$) 49% kleiner ($p < 0,01$), die AUC für Glukose 26% größer ($p < 0,05$) als bei nicht transgenen Wurfgeschwistern ($n = 5$). Anhand der Nüchternblutglukose- und Fruktosaminkonzentration konnte gezeigt werden, dass transgene Schweine bis zu einem Alter von einem Jahr keinen diabetischen Phänotyp entwickeln. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Expression eines GIPR^{dn} die Funktion von GIP in transgenen Schweinen beeinträchtigt. Somit steht ein Großtiermodell mit gestörter Glukosetoleranz zur Untersuchung der GIP/GIPR-Achse zur Verfügung. Physiologische Charakteristika vieler Organsysteme des Schweines sind dem Menschen ähnlicher als die der Maus. Das Modelltier Schwein erleichtert bzw. ermöglicht zudem zahlreiche physiologische, molekularbiologische sowie klinische Untersuchungen inklusive Therapiestudien. Diese Studie wurde gefördert von der DFG (GRK 1029).

Freie Vorträge 8 – Insulinsekretion und β -Zelldysfunktion

V67

Die GLP-1 induzierte Insulinsekretion ist bei Trägern der TCF7L2 SNPs vermindert

Schaefer SA¹, Tschirrer O¹, Machicao F¹, Thamer C¹, Holst JJ², Stefan N¹, Gallwitz B¹, Häring HU¹, Fritsche A¹
¹Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik IV, Tübingen, Germany, ²Panum Institut für Physiologie, Kopenhagen, Denmark

Einleitung: Polymorphismen im „Transcription factor 7 like 2“-Gen (TCF7L2) sind mit einem erhöhten Risiko für Typ 2 Diabetes und einer verminderten Insulinsekretion assoziiert. Bislang ist bekannt, dass der nukleäre Rezeptor TCF7L2 essentiell für die Regulation der GLP-1 Sekretion aus den intestinalen L-Zellen ist. Wir untersuchten, ob ein Defekt der GLP-1 Antwort für die beobachtete Abnahme der Insulinsekretion bei Trägern der TCF7L2 Polymorphismen verantwortlich ist. **Methoden:** 1110 Personen wurden bezüglich 5 Polymorphismen im TCF7L2 Gen genetisch untersucht. Alle Personen erhielten einen 75 g oralen Glukosetoleranztest (OGTT); die GLP-1 Sekretion wurde bei 155 Personen gemessen. Bei 210 Personen wurde ein ivGTT kombiniert mit einem hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp durchgeführt; bei 73 Personen wurde ein hyperglykämischer Clamp (10 mmol/l) mit einer zusätzlichen GLP-1 Infusion sowie einem Argininbolus durchgeführt. **Ergebnisse:** Bei unserer Population zeigte sich bei den OGTTs auch eine signifikant re-

duzierte Insulinsekretion und ein gehäuftes Auftreten der *TCF7L2* Varianten bei Personen mit IGT. Die Insulinantwort im intravenösen Glukosetoleranztest (ivGTT) und im hyperglykämischen Clamp waren bei den verschiedenen Genotypen nicht unterschiedlich. Die basalen und glukoseinduzierten GLP-1 Konzentrationen im OGTT wurden durch keine der *TCF7L2* SNPs beeinflusst, wohingegen die GLP-1 induzierte Insulinsekretion während des hyperglykämischen Clamps bei Trägern der Risikoallele bei 3 SNPs (rs 12255372, rs 7903146, rs 7901695) signifikant erniedrigt war ($p=0,02, 0,006, 0,007$). **Schlussfolgerung:** Polymorphismen im *TCF7L2* Gen beeinflussen spezifisch die GLP-1 induzierte Insulinsekretion. Dies scheint eher ein funktionaler Defekt des GLP-1 Signalweges in β -Zellen zu sein, als seine Reduktion der GLP-1 Sekretion. Dieser Defekt könnte die erniedrigte Insulinsekretion bei Trägern der Risikoallele zumindest zum Teil erklären und für das erhöhte Risiko eines Typ 2 Diabetes mitverantwortlich sein.

V68

Einfluss von GLP-1 und GIP auf die Genexpression des diabetesspezifischen Autoantigens IA-2

Schmid M¹, Nguyen T², Schott M², Seissler J¹
¹Med. Klinik – Innenstadt, Diabetologie, München, Germany,
²Universitätsklinik Düsseldorf, Klinik für Endokrinologie und Diabetologie, Düsseldorf, Germany

Fragestellung: Die Tyrosinphosphatase IA-2 ist ein wichtiges Autoantigen beim Typ 1 Diabetes. Die Regulation von IA-2 in Inselzellen wird bisher nur teilweise verstanden. Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss der Inkretinhomone Glukagon-like Peptide 1 (GLP-1) und Gastric-Inhibitory-Polypeptide (GIP) auf die Genexpression von IA-2 zu analysieren. **Methodik:** Die IA-2 und Insulin mRNA Expression wurde mit einer Real-Time RT-PCR (Lightcycler) quantifiziert. Ratten Insulinomazellen INS-1 Zellen wurden für 6 – 48 Std. mit GLP-1 (0,1 – 100 nM) oder GIP (0,1 – 1000 nM) stimuliert. Die Behandlung mit Glukose und Forskolin diente als Positivkontrolle. Zur Abklärung der Signalvermittlung erfolgte in einigen Experimenten die Koinkubation mit Inhibitoren von ERK 1/2 und MAPK (PD98059, 50 μ M; SB203580, 10 μ M). **Ergebnisse:** Sowohl GLP-1 und GIP führten zu einer zeit- und konzentrationsabhängigen Stimulation der IA-2 und Insulin mRNA Kopienzahl. Nach Gabe von GLP (10 nM) wurde eine signifikante Hochregulation von IA-2 ($164 \pm 8,4\%$) und Insulin ($182 \pm 6,7\%$) beobachtet ($p < 0,01$). GIP erhöhte die IA-2 Genexpression bereits nach einer sehr kurzen Inkubationszeit von nur 6 Std.. Eine maximale Stimulation von IA-2 ($291 \pm 7,6\%$) und Insulin ($282 \pm 10,9\%$) trat bei einer Konzentration von 100 nM nach 24 Std. auf ($p < 0,01$). Durch Koinkubation mit PD98059 oder SB203580 konnte die GLP-1 (10 nM) und die GIP (100 nM) vermittelte Steigerung der IA-2 Genexpression komplett inhibiert werden. **Schlussfolgerung:** Die vorliegende Studie zeigt erstmals, dass die Inkretinhomone GLP-1 und GIP die Genexpression von IA-2 steuern. Diese Daten liefern einen weiteren Beweis, dass in Inselzellen die Regulation der IA-2 Expression sehr stark an die stimulus-abhängige Sekretion von Insulin gekoppelt ist.

V69

Zwei-Jahres-Daten mit Exenatide bei Patienten mit Typ-2-Diabetes: Anhaltende glykämische Kontrolle bei gleichzeitiger Gewichtsreduktion

Herrmann K¹, Limmer J¹, Henry R², Ratner R³, Guan X¹, Malone J⁴, Kendall D¹
¹Amylin Pharmaceuticals, San Diego, United States of America, ²VA Healthcare System, San Diego, United States of America, ³Medstar Research Institute, Hyattsville, United States of America, ⁴Eli Lilly, Indianapolis, United States of America

Fragestellung: Zusätzlich zu Metformin (MET) und/oder Sulfonylharnstoff (SH) eingesetzt, verbessert das Inkretin-Mimetikum Exenatide bei Patienten mit Typ-2-Diabetes die glykämische Kontrolle bei gleichzeitiger Gewichtsreduktion. Mit dieser studienübergreifenden Auswertung werden Zwei-Jahres-Daten zu Diabeteskontrolle und Körpergewicht unter Therapie mit Exenatide vorgestellt. **Methodik:** Patienten mit Typ-2-Diabetes wurden in insgesamt drei plazebokontrollierten Studien mit anschließender offener Verlängerungsphase über ≥ 2 Jahre mit Exenatide plus MET und/oder SU behandelt. Ausgewertet wurden der Effekt von Exenatide (10 μ g BID) auf HbA1c, Nüchternplasmaglukose (FPG), HOMA-B und Körpergewicht sowie die Verträglichkeit. Einbezogen waren 283 Patienten, die an der offenen Verlängerungsphase teilgenommen und das Zwei-Jahres-Follow-up abgeschlossen hatten (177 Männer, 106 Frauen; Alter $57,3 \pm 9,7$ Jahre, BMI $33,7 \pm 5,5$ kg/m² [Mittelwert \pm SD];

HbA1c $8,3 \pm 1,0\%$, FPG $9,7 \pm 0,1$ mmol/L [Mittelwert \pm SEM]. **Ergebnisse:** Am Ende plazebokontrollierten Phase nach 30 Wochen betrug die HbA1c-Senkung bei den Zwei-Jahres-Completern $-1,1 \pm 0,1\%$, die FPG-Senkung $-1,2 \pm 0,2$ mmol/L und die Gewichtsreduktion $-2,4 \pm 0,2$ kg (Mittelwert \pm SEM). Die Senkung von HbA1c und FPG war nach 2 Jahren Therapie unverändert erhalten, mit Reduktionen von $-1,1 \pm 0,1\%$ für den HbA1c ($p < 0,05$) und $-1,4 \pm 0,2$ mmol/L für die FPG ($p < 0,05$) seit Baseline. Das Körpergewicht hatte sich nach 2 Jahren progressiv weiter verringert, die Gewichtsabnahme betrug $-4,7 \pm 0,3$ kg ($p < 0,05$; Mittelwert \pm SEM). Nach 2 Jahren hatten 50% der Patienten einen HbA1c $\leq 7\%$ und 31% einen HbA1c $\leq 6,5\%$ erreicht. Für die ITT-Population waren die Ergebnisse ähnlich. Der HOMA-B, berechnet für eine Subgruppe der Zwei-Jahres-Completer (Patienten mit MET oder SU, N = 112), besserte sich um 11% ($p < 0,05$). Exenatide war generell gut verträglich, gastrointestinale Nebenwirkungen waren die häufigsten unerwünschten Ereignisse. **Schlussfolgerung:** In dieser offenen Verlängerungsstudie bei Patienten mit Typ-2-Diabetes wurden mit Exenatide nach 2 Jahren Therapie eine anhaltende Verbesserung der glykämischen Kontrolle sowie eine progressive Gewichtsreduktion erreicht.

V70

Vergleichende Proteomanalyse isolierter Mitochondrien aus INS-1 Zellen: Rolle von Exendin-4 auf die Zytokin-induzierte Apoptose

Tews D¹, Lehr S¹, Hartwig S¹, Osmers A¹, Paßlack W¹, Eckel J¹
¹Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für klinische Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf, Germany

Fragestellung: Neben seinen zahlreichen physiologischen Wirkungen zeigt das Inkretinormon Glukagon-like-peptide 1 (Glp-1) eine protektive Wirkung auf die Betazellmasse durch Hemmung von Apoptose. Der genaue antiapoptotische Wirkmechanismus ist aber noch nicht vollständig aufgeklärt. Bei der Regulation der Apoptose nehmen Mitochondrien eine Schlüsselstellung ein. Um weitere Erkenntnisse über das antiapoptotische Wirkspektrum von Glp-1 Rezeptoragonisten in Mitochondrien zu erhalten, wurde eine vergleichende Proteinpattern-Analyse durchgeführt. **Methodik:** Nach einer 5-stündigen Vorinkubation mit dem Glp-1 Rezeptoragonisten Exendin-4 wurden INS-1 Zellen für 18 h mit einer Zytokinnischung (Interleukin-1 β , Interferon- γ) kultiviert. Die Messung der apoptotischen Aktivität erfolgte durch Bestimmung der Caspase 3-Aktivität und über Fluoreszenzfärbung mit Hoechst 33342 und Propidiumiodid. Hoch angereicherte, funktionale Mitochondrien wurden über eine Kombination aus differentieller/isopyknischer Zentrifugation präpariert. Nach Markierung der mitochondrialen Proteinfractionen mit verschiedenen Cy-Farbstoffen, wurden die Proteine mithilfe der two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE)-Technik über einen pH-Bereich von 4 – 7 aufgetrennt. Anschließend wurden Veränderungen in den Proteinprofilen mithilfe von Proteomeweaver analysiert und diejenigen Proteinspots, die signifikante Unterschiede aufwiesen mittels MALDI-Massenspektrometrie identifiziert. **Ergebnisse:** Nach Inkubation mit Zytokinen stieg die Anzahl apoptotischer Zellen auf 11% und die Caspase 3-Aktivität um das Dreifache. Durch die Behandlung mit Exendin-4 konnte die Induktion der Apoptose signifikant auf 5% der Zellen bzw. um 60% der Caspase 3-Aktivität gesenkt werden. Von den 2500 über 4 Replikate reproduzierbar zu detektierenden Proteinspots zeigten 2% signifikante Unterschiede nach Zytokinbehandlung. Von diesen konnten 17 Proteine mittels Massenspektrometrie identifiziert werden. Interessanterweise wurde für drei Proteine eine Gegenregulation durch Exendin-4 beobachtet. **Schlussfolgerungen:** Diese Studie gibt Einblicke in die Rolle der Mitochondrien im Kontext der Zytokin-induzierten Apoptose. Die Auslösung von Apoptose durch Zytokine verläuft in diesem System durch das Zusammenspiel verschiedener Stoffwechsel- und Signalproteine. Die Gegenregulation einiger Proteine durch Exendin-4 zeigt neue Targets auf, die bei der antiapoptotischen Wirkung von Glp-1 Rezeptoragonisten eine Rolle spielen könnten.

V71

The high expression of microRNAs in brain of BB rats may act as a central switchbox of the beta-cell destruction

Lutze P¹, Baguhl R¹, Klötting I¹
¹University of Greifswald, Medical Faculty, Laboratory Animal Science, Karlsburg, Germany

Aim: To prove the relevance of diabetogenic gene, Iddm4, mapped on rat chromosome 6q32, a segment of the SHR chromosome 6 (D6Rat66-D6Rat3) was introgressed into the BB/OK background termed briefly

BB.6S. These congenic BB.6S rats showed a dramatic reduction of diabetes frequency compared with BB/OK (14 vs. 89%). The generation of subcongenic BB.6S rats, their phenotypic characterisation and comparative gene expression analysis narrowed this type 1 diabetes-protective region of BB.6S rats in an interval of 4 Mb on 6q32. In this segment a cluster of many snoRNAs and microRNAs is located. These sno and microRNAs are important in regulation of transcription, of RNA modification or stability, and of mRNA translation of several genes. Because of these functions they may also be involved in type 1 diabetes development. That prompted us to analyse the expression of 22 microRNAs in brain tissue as central button of metabolism located in the interval of 4Mb on chromosome 6q32. **Methods:** MicroRNA (miRNA) assay of 22 miRNAs was established and carried out in 8 weeks old non-diabetic BB/OK, congenic BB.6S and their chromosomal donor, SHR males using RNA of brain tissue. Furthermore, the miRNA expression was studied in non-diabetic BB/OK rats at an age of 10, 20, 30 and 40 weeks. **Results:** The expression of 20 out of 22 miRNAs was significantly higher in non-diabetic BB/OK rats compared with BB.6S and SHR ($p < 0.001$), 1 out of 22 miRNAs was comparable between BB/OK and SHR, but was significantly lower in congenic BB.6S (rno-mir-433), and an additional miRNA was comparable between all strains studied (rno-mir-379). Therefore, the expression between SHR and BB.6S was comparable in 21 out of 22 miRNAs. The expression analysis with increasing age of non-diabetic BB/OK rats (8, 10, 20, 30, 40 weeks) revealed an influence of age. At 8 weeks the expression was in all miRNAs the lowest whereas the highest values were observed in 15 out of 22 at an age of 10 weeks. The expression in 7 out of 22 miRNAs was without influence of age. **Conclusion:** The highest expression of microRNAs was found in brain of BB/OK rats at an age of 10 weeks, therefore about 3 weeks before mean age at onset of type 1 diabetes. These findings indicate that miRNAs are most probably involved in diabetes development whereby the miRNAs in brain may act as a central switchbox of genes initiating the destruction process of beta-cells.

V72

Carbohydrate restriction protects diabetes-prone db/db and NZO mice from beta-cell failure

Mirhashemi F¹, Kluge R¹, Scherneck S¹, Nestler M¹, Vogel H¹, Schurmann A¹, Joost HG¹, Neschen S¹
¹Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Pharmakologie, Potsdam-Rehbrücke, Germany

Aim: The impact of dietary carbohydrates in the pathogenesis of type-2 diabetes is still unclear. We have recently shown that raising New Zealand and obese (NZO) mice, a strain exhibiting polygenic obesity, beta-cell failure, and diabetes, on a carbohydrate-free diet protects from the development of diabetes. This study aimed at investigating the effect of dietary carbohydrate restriction on the pathogenesis of diabetes in the db/db mouse, an alternative mouse model developing monogenic obesity and diabetes. **Methods:** For this purpose male db/db mice were either fed a carbohydrate-free diet (CFD, 30 g% fat), a carbohydrate-containing high-fat diet (HFD: 15 g% fat, 40 g% carbohydrates), or a standard diet (SD: 5 g% fat, 60 g% carbohydrates) until the onset of overt diabetes or for 22 weeks. **Results:** Mice fed HFD or SD developed severe diabetes associated with hyperglycaemia (> 25.0 mM) starting in week six exhibiting polyuria, polydipsia (water intake, g/g BW/d: CFD 0.10 ± 0.01 vs. HFD 0.45 ± 0.11 or SD 1.06 ± 0.17 , both $P < 0.007$), and diabetes-associated weight loss. Despite a higher degree of obesity than in the HFD and SD groups (body fat, %BW: CFD 65.2 ± 1.0 vs. HFD 55.8 ± 1.7 or SD 55.7 ± 2.0 , both $P < 0.001$), carbohydrate restriction caused only moderate hyperglycaemia (< 16.6 mM), and completely protected db/db mice from weight loss, and the decline in plasma insulin concentrations observed in the HFD and SD groups (plasma insulin two weeks vs. terminal, $\mu\text{g/l}$: CFD 10.2 ± 2.2 vs. 10.5 ± 1.1 , n.s.; HFD 10.7 ± 2.2 vs. 3.1 ± 0.8 , $P < 0.04$; SD 8.6 ± 1.3 vs. 2.6 ± 1.0 , $P < 0.006$). **Conclusion:** These results suggest that carbohydrate restriction in general protects from beta-cell failure in genetically diverse mouse models. The results consistent with the hypothesis that glucotoxic events, presumably induced by postprandial blood glucose excursions, are crucial factors in the pathogenesis of beta-cell failure in type-2 diabetes.

V73

Human pancreatic islet-derived precursor cells display mesenchymal stem cell features and differentiation capacity

Limbert C¹, Páth G², Jakob F¹, Niu X², Ebert R¹, Brendel MD³, Bretzel RG³, Seufert J²

¹University of Würzburg, Orthopedic Center for Musculoskeletal Research, Stem Cell Biology, Würzburg, Germany, ²University Hospital of Freiburg, Department of Internal Medicine II, Division of Endocrinology and Diabetology, Freiburg, Germany, ³University Hospital of Gießen and Marburg, Department of Internal Medicine III, Gießen, Germany

Objectives: Strategies for cell based-therapy of type 1 diabetes mellitus are based on pancreatic islet replacement and islet regeneration. Human islet-derived precursor cells (hiPC) expressing nestin and c-met have been investigated as an additional source of beta-cells. These cells have been demonstrated to differentiate in vitro into insulin producing cells and are assumed to be of endodermal origin. In continuation of previous work we provide further evidence that hiPCs share a common phenotype with human bone marrow derived mesenchymal stem cells (hMSC) and, in addition, bear the potential to differentiate along mesenchymal maturation pathways. **Methods:** hiPC and hMSC phenotyping was performed by FACS and immunocytochemistry. Gene expression was examined by cDNA array analysis (Affymetrix U133 Plus Chip). hiPCs were expanded and subjected to osteogenic, chondrogenic and adipogenic differentiation media. Differentiation markers were analysed by RT-PCR and immunocytochemistry. **Results:** Both cell types express nestin and c-met. hiPCs display a mesenchymal immunophenotype (SH3+, SH2+, CD29+, CD44+, CD54+, CD90+) and a gene expression pattern similar to hMSC. Moreover, hiPCs could be induced to differentiate in vitro towards the osteogenic (osteocalcin, alkaline phosphatase, day 28), adipogenic (LPL, PPARgamma, day 14) and chondrogenic (collagen IX, X, day 21) lineages. **Conclusions:** Our results demonstrate that hiPCs and hMSCs share common phenotypes and similar mesenchymal differentiation capacities supporting the occurrence of endodermal to mesodermal transition in epithelial precursor cells. Understanding the molecular mechanisms that enable these cells to cross the traditional germ layer boundaries will help to develop effective strategies for in vitro generation and differentiation of specific phenotypes for the use in cell therapeutic approaches.

V74

Betazell dysfunction bei diabetischen Munich *Ins2*^{C95S} Maus Mutanten

Herbach N¹, Pichl L¹, Wolf E², Aigner B², Wanke R¹

¹Institut für Tierpathologie, Experimentelle Pathologie, München, Germany, ²Institut für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Genzentrum, München, Germany

Fragestellung: Im Rahmen früherer Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass männliche Munich *Ins2*^{C95S} Maus Mutanten einen früh einsetzenden Diabetes mellitus und progressiven Betazellverlust aufweisen. Bei weiblichen Mutanten ist der diabetische Phänotyp weniger stark ausgeprägt und die Betazellmasse bleibt nahezu unverändert. Ziel der vorliegenden Studie war es die Pathogenese der Diabetesentwicklung und des Betazellverlustes von Mutanten näher zu untersuchen. **Methodik:** Betazellfunktions- und Insulinresistenz-Indizes wurden bei Mutanten und Wildtypmäusen im Alter von 1, 3 und 6 Monaten bestimmt. Der Insulingehalt im Pankreas von 3 und 6 Monate alten Tieren und in isolierten Inseln von 1 Monat alten männlichen Mäusen wurde mittels RIA gemessen. ER (Endoplasmatisches Retikulum) -Stress wurde mittels Westernblotanalysen an isolierten Inseln von 1 Monat alten männlichen Mäusen untersucht. **Ergebnisse:** Die Insulinsekretion nach Glukosestimulation war im Alter von 1 Monat sowohl in vivo als auch in vitro bei Munich *Ins2*^{C95S} Maus Mutanten um 50% reduziert. Im Alter von 3 und 6 Monaten zeigten Mutanten 10 Minuten nach oraler Glukosegabe eine um 90% reduzierte Insulinantwort im Vergleich zu Wildtyptieren. Der HOMA Betazellfunktionsindex war bei männlichen und weiblichen Mutanten ebenfalls hochgradig reduziert. 4 Monate alte männlichen Mutanten zeigten nach intraperitonealer Insulinapplikation initial einen signifikant niedrigeren prozentualen Abfall der Blutglukosespiegel als Wildtyptiere. Der HOMA Insulinresistenzindex war bei 1 Monat alten weiblichen und bei 3 und 6 Monate alten männlichen Mutanten signifikant erhöht. Das Insulin:Protein Verhältnis im Gesamtpankreas von 3 und 6 Monate alten Tieren und in isolierten Inseln von 1 Monat alten Mutanten war signifikant niedriger als bei Wildtyptieren. Westernblotanalysen bei 1 Monat alten männlichen Tieren konnten zei-

gen, dass die Abundanz der ER-Stressproteine BIP, CHOP, phosphoryliertes EIF2alpha und phosphoryliertes PERK von Mutanten und Wildtyp-Typen nicht verschieden ist. Nachdem die Gesamtbetazellmasse bei männlichen Mutanten bereits in dieser Alterstufe um etwa 50% reduziert ist, gehen bei gleicher Proteinladung deutlich weniger Betazellen in die Analyse ein. Daher schließt das Fehlen der erhöhten Abundanz von ER-Stressproteinen nicht aus, dass Betazellfunktions- und Betazelluntergang durch die Akkumulation von fehlgefaltetem Protein und daraus resultierendem ER-Stress hervorgerufen wird. **Schlussfolgerung:** Munich *Ins2^{C95S}* Maus Mutanten entwickeln eine hochgradige Betazellfunktions- und eine sekundäre Insulinresistenz. Die Akkumulation von fehlgefaltetem Protein wird als Ursache der Betazellfunktions- und des progressiven Betazelluntergangs angesehen.

V75

K_{ATP}-Kanal defiziente B-Zellen zeigen eine geringere Empfindlichkeit gegen oxidativen Stress

Düfer M¹, Gier B¹, Krippel-Drews P¹, Aguilar-Bryan L², Bryan J³, Drews G¹

¹Universität Tübingen, Pharmazeutisches Institut, Tübingen, Germany, ²Baylor College of Medicine, Department of Medicine, Houston, United States of America, ³Baylor College of Medicine, Department of Molecular and Cellular Biology, Houston, United States of America

Fragestellung: In B-Zellen von Wildtyp-Mäusen wird die Insulinsekretion durch H₂O₂ beeinträchtigt. Ursache hierfür ist unter anderem eine ATP-Depletion der B-Zellen und das Öffnen der K_{ATP}-Kanäle, wodurch die Zellmembran hyperpolarisiert. Ziel dieser Studie ist, zu untersuchen, ob in K_{ATP}-Kanal defizienten B-Zellen aus SUR1-Knockout Mäusen (SUR1-KO) eine geringere Sensitivität gegen H₂O₂-vermittelten oxidativen Stress besteht. **Methodik:** Das Membranpotential wurde mit der Patch-clamp Technik bestimmt. Intrazelluläres Ca²⁺ ([Ca²⁺]_i) wurde fluoreszenzoptisch gemessen und die Insulinsekretion in steady-state Inkubationen mittels RIA erfasst. **Ergebnisse:** In Wildtyp B-Zellen wurde die durch 15 mM Glucose induzierte Insulinfreisetzung bereits durch geringe Konzentrationen H₂O₂ (0,025 mM, n=9) gehemmt. SUR1-KO B-Zellen zeigten unter dem Einfluss von 0,025 und 0,1 mM H₂O₂ jedoch keine Abnahme der Sekretionsleistung (n=9). Um die zu Grunde liegenden Mechanismen zu untersuchen, wurde der Einfluss von H₂O₂ auf Membranpotential und [Ca²⁺]_i getestet. In mit 15 mM Glucose stimulierten Wildtyp B-Zellen wurde die Zellmembran durch 0,01 mM H₂O₂ von -43 ± 1 mV auf -60 ± 1 mV hyperpolarisiert (n=9, P < 0,001) und es traten keine Ca²⁺-Aktionspotentiale mehr auf. In K_{ATP}-Kanal defizienten B-Zellen führten 0,01 bzw. 0,1 mM H₂O₂ nicht zur Membranhyperpolarisation (n=6). Auch die Frequenz der Ca²⁺-Aktionspotentiale wurde durch H₂O₂ nicht vermindert (81 ± 15 APs/min unter 15 mM Glucose vs. 110 ± 25 APs/min 5 min nach Gabe von 0,01 mM bzw. 128 ± 9 vs. 119 ± 10 APs/min nach Gabe von 0,1 mM H₂O₂). [Ca²⁺]_i nahm in mit Glucose stimulierten Wildtyp B-Zellen unter dem Einfluss von 0,01 mM H₂O₂ auf basale Werte ab (n=9). Im Gegensatz dazu blieb [Ca²⁺]_i in SUR1-KO B-Zellen erhöht und konnte durch Blockade der L-Typ Ca²⁺-Kanäle mit 10 µM Nifedipin abgesenkt werden (n=8). **Schlussfolgerung:** Die Verminderung der Sekretionsleistung von B-Zellen durch H₂O₂ lässt sich durch Ausschalten der K_{ATP}-Kanäle deutlich verringern. Ein wesentlicher Faktor hierfür ist, dass der Ca²⁺-Einstrom in Wildtyp B-Zellen bereits durch geringe Mengen H₂O₂ verhindert wird, wohingegen Ca²⁺-Aktionspotentiale und [Ca²⁺]_i in SUR1-KO B-Zellen nicht beeinträchtigt werden. Diese Daten weisen darauf hin, dass K_{ATP}-Kanäle ein wichtiger Angriffspunkt sind, um B-Zellen vor oxidativem Stress zu schützen.

V76

PDX-1 interagiert mit 14-3-3epsilon in pankreatischen Betazellen

Teller S¹, Nguyen HH¹, Walther R¹

¹Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Greifswald, Germany

Fragestellung: 14-3-3epsilon ist, wie auch andere Mitglieder der 14-3-3 Proteinfamilie, an einer Vielzahl von zellulären Prozessen beteiligt. 14-3-3 Proteine verändern die Stabilität, Aktivität sowie die subzelluläre Lokalisation ihrer Zielproteine durch Protein-Protein-Wechselwirkungen. 14-3-3epsilon wurde von uns unlängst als potentieller Interaktionspartner von PDX-1 (pancreatic duodenal homeobox-1) identifiziert. PDX-1 ist ein Transkriptionsfaktor, der in Betazellen der Langer-

hans'schen Inseln exprimiert wird. Dabei ist PDX-1 essentiell für die ontogenetische Entwicklung und Differenzierung der Bauchspeicheldrüse. In den Betazellen ist PDX-1 an der Glukose-induzierten Aktivierung der Insulinen-Transkription beteiligt, einem Prozess, der zumindest teilweise über den PI3-Kinase-Signalweg verläuft. Über den genauen Mechanismus, der zur Aktivierung und zur Translokation von PDX-1 in den Zellkern führt, ist jedoch wenig bekannt. **Methodik und Resultate:** Ausgangspunkt der Untersuchungen war die Identifizierung von Phosphoproteinen, die nach Glukose-Stimulation von MIN6-Zellen mit PDX-1 interagierten. Durch GST-pulldown-Experimente, gefolgt von Massenspektrometrie, konnte 14-3-3epsilon als Bindungspartner von PDX-1 identifiziert werden. Diese Interaktion wurde durch GST-pulldown-Experimente mit *in vitro* translatiertem PDX-1 und GST-14-3-3epsilon bestätigt. Studien mit Deletionsmutanten zeigten, dass endogenes 14-3-3epsilon am C- sowie am N-Terminus von PDX-1, aber nicht in der Homöodomäne bindet. Desweiteren konnte endogenes PDX-1 aus MIN6-Zellen mit 14-3-3epsilon-Antikörpern co-immunpräzipitiert werden. Eine Behandlung der Lysate mit einer Phosphatase verringerte diese Bindung. Durch Hemmstoffversuche konnte gezeigt werden, dass weder Kinasen der PKC-Familie noch Caseinkinase II einen Einfluss auf die Interaktion von PDX-1 und 14-3-3epsilon haben. Atypische PKC's wurden in der Literatur als Aktivoren von PDX-1 beschrieben, für CK II wurde von uns eine Glukose-induzierte Phosphorylierung von PDX-1 gezeigt. Durch Northern Blot-Experimente konnte gezeigt werden, dass eine Überexpression von 14-3-3epsilon zu einer Erhöhung der Insulin-mRNA-Menge führt. Für weiterführende Experimente wurde eine siRNA-Sequenz ermittelt, die in der Lage ist, 14-3-3epsilon herunterzuregulieren. FRET-Analysen mit YFP- und CFP-gekoppelten Fusionsproteinen wurden benutzt, um die Lokalisation von PDX-1 und 14-3-3epsilon in der Zelle in Abhängigkeit von Glukose zu bestimmen. **Schlussfolgerungen:** Der Nachweis der Glukose-abhängigen Interaktion von PDX-1 und 14-3-3epsilon in pankreatischen Betazellen unterstützt die Hypothese, dass 14-3-3epsilon an der Regulation der Insulinen-Expression beteiligt ist. Dabei spielt Phosphorylierung eine entscheidende Rolle bei der Bindung von PDX-1 und 14-3-3epsilon. Eine Herunterregulation von 14-3-3epsilon durch RNA-Interferenz sollte weitere Hinweise zu dessen Funktion in Betazellen geben.

Symposium „Diabetes ist anders bei Kindern“ – aktuelle Themen im „Jahr des Kindes mit Diabetes“

V77

MODY-Diabetes bei Kindern und Jugendlichen: Seltene Mutation bei MODY1 und zwei neu entdeckte Mutationen bei MODY2

Richter A¹, Lepler R¹, Discher G¹

¹Kath. Kinderkrankehaus Wilhelmstift, Pädiatrie, Hamburg, Germany

Fragestellung: Der Anteil des genetisch determinierten autosomal-dominant vererbten MODY-Diabetes wird in der Literatur in der Größenordnung 1-5% aller Patienten mit DM angegeben. Dabei machen MODY2 und MODY3 bereits 85% aller MODY-Erkrankungen aus. Der vermehrte Einsatz molekulargenetischer Diagnostik und gezielte Suche eines MODY-Diabetes bei entsprechender Klinik u/o untypischem Verlauf bei initial als DM Typ1/Typ2 eingeordneten pädiatrischen Patienten führt zu einer häufigeren und früheren Detektion dieser Entität und Entdeckung bisher nicht bekannter Mutationen in den für diese Erkrankung kodierenden Genen. Es stellen sich zwei Fragen: 1. Inwieweit sind die pädiatrischen Diabetes-Patienten bezüglich MODY unterdiagnostiziert und damit möglicherweise nicht richtig therapiert? 2. Können wir von klinischer Relevanz bei den neu entdeckten Mutationen bei bestehendem Diabetes ausgehen? **Methoden:** In unserer Diabetesambulanz betreuen wir derzeit 310 Patienten mit Diabetes mellitus, davon 2 Patienten (0,7%) mit MODY-Diabetes. Durchführung molekulargenetischer Diagnostik mittels gezielter DNA-Sequenzierung der betreffenden Gene bei untypischem Diabetesverlauf. **Ergebnisse:** Eine Patientin, Alter (A) 9,5 Jahre (J), BMI 25,3 kg/m², HbA1c 10,1% (bei Manifestation) als Typ1DM eingeordnet, im Verlauf Diagnose eines MODY1 bei seltener Mutation im HNF-4α-Gen. Nukleotidaustausch in Intron 1 (IVS1b-5C>T). Die 2. Patientin, 3 (J), BMI 15,9 kg/m², HbA1c 6,2%, MODY2. Molekulargenetischer Nachweis von 2 bisher unbekannt Mutationen im Glucokinasegen. Deletion eines Nucleotids Adenosin in Exon 7 ab Codon 282 (1bp-Deletion) und Nukleotidaustausch (C>T) in Intron 1c an der Position-12 (IVS1C-12C>T). **Schlussfolgerung:** Bei gezielter molekulargenetischer Diagnostik bei untypischem Verlauf eines Diabetes im Kindesalter, aber auch bei Glucosetoleranzstörung, können Patienten mit manifestem oder sich entwickelndem MODY-Diabetes identifiziert