

# 43. Jahrestagung der Deutschen Diabetes-Gesellschaft

**Ort/Datum:** München, 30. April bis 3. Mai 2008

**Tagungspräsident:** Prof. Dr. Hans Hauner, München / Freising-Weihenstephan

## Vorträge

Freie Vorträge: Insulinsekretion, Betazelle, Autoimmunität I

1

### Generierung von Betazell-Progenitorzellen aus duktalem Stammzellen

*Grabmaier U<sup>1</sup>, Offers M<sup>1</sup>, Seissler J<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Medizinische Klinik Innenstadt, Diabetes Zentrum, München, Deutschland

**Fragestellung:** Eine Neogenese von Betazellen kann durch Proliferation präexistenter Betazellen oder durch Differenzierung aus Progenitorzellen/Stammzellen erfolgen. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, eine Methode zu etablieren, potentielle Stammzellen aus den Pankreasgangzellen zu isolieren, die die Fähigkeit haben unter definierten Bedingungen in Betazellen auszureifen. **Methodik:** Aus Pankreata adulter C57Bl6 Mäuse wurden durch Kollagenaseverdau kleine Duktuli isoliert und auf kollagenbeschichteten Zellkulturplatten in Medium mit EGF kultiviert. Durch Limiting Dilution wurden die Zellen auf Einzelzellebene ausplattiert und mittels FACS und RT-PCR auf Pankreasgang- und Stammzellmarker untersucht. Zelllinien mit epithelialen Charakteristika (mDP-Zellen) wurden weiter phänotypisiert und für Differenzierungsexperimente (Variation des Zellkulturmediums, Zugabe von Wachstumsfaktoren) eingesetzt. Untersucht wurden stammzellassoziierte Marker (BCRP1, Nestin, Sox, Ck19), Progenitormarker (Pdx1, Ngn3, NeuroD, Nkx6.1, MafA, Pax4) und die Insulinexpression (Proinsulin I und II). **Ergebnisse:** Durch schrittweise Subkultivierung von Pankreasgangzellen ist es gelungen, Zelllinien zu generieren, die typische duktales Marker exprimieren (Cytokeratin-19 und -20). Diese Zellen zeigen zusätzlich Charakteristika von Stammzellen (BCRP1, Sca1, Nestin), sind aber negativ auf typische mesenchymale (CD73, CD90, CD105) und hämatopoetische Stammzellmarker (CD34, CD45, CD117). Die proendokrinen Transkriptionsfaktoren NeuroD, Nkx6.1, Ngn3, MafA, Pax4 und Proinsulin waren unter Basalbedingungen ebenfalls nicht nachweisbar. Durch eine Änderung der Kulturbedingungen bzw. Suppression des Notch-Signalweges und Gabe von Retinsäure konnte eine deutliche Expression von MafA, einem wichtigen Regulator der Insulintranskription, und des Betazell-Progenitormarkers Ngn3 induziert werden. Die Proinsulin I und Proinsulin II Genexpression war nach dieser ersten Phase der Differenzierung nur sehr schwach nachweisbar. **Schlussfolgerungen:** Unsere Experimente zeigen einen neuen Weg auf, duktales Stammzellen aus adultem Pankreasgewebe zu isolieren und zu expandieren. Die induzierbare Expression von Ngn3 und MafA zeigt, dass die mDPs Stammzellen darstellen, die in endokrine Progenitorzellen ausreifen können. Momentan wird untersucht, wie in einer zweiten Differenzierungsphase aus den vordifferenzierten mDPs insulin-produzierende Betazellen hergestellt werden können. Wenn dies gelingt, könnte mit den mDPs erst-

mal eine Quelle adulter Stammzellen zur Verfügung stehen, mit denen die Zellersatztherapie des Diabetes mellitus möglich wird.

2

### Die beiden DNA-Bindungsdomänen des Transkriptionsfaktors Pax6 haben unterschiedliche Funktionen in der Entwicklung des endokrinen Pankreas

*Dames P<sup>1</sup>, Puff R<sup>1</sup>, Weise M<sup>1</sup>, Parhofer KG<sup>1</sup>, Göke B<sup>1</sup>, Favor J<sup>2</sup>, Graw J<sup>3</sup>, Lechner A<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Klinikum Großhadern/LMU, Medizinische Klinik 2, München, Deutschland, <sup>2</sup>GSF-National Research Center for Environment and Health, Institute of Human Genetics, Neuherberg, Deutschland, <sup>3</sup>GSF-National Research Center for Environment and Health, Institute of Developmental Genetics, Neuherberg, Deutschland

**Fragestellung:** Pax6 ist ein Transkriptionsfaktor mit wesentlicher Bedeutung für die Entwicklung des endokrinen Pankreas, des ZNS und des Auges. Eine komplette Inaktivierung von Pax6 führt im Pankreas zum Fehlen glukagonproduzierender  $\alpha$ -Zellen und zu einer verminderten  $\beta$ -Zellzahl. Pax6 besitzt zwei DNA-bindende Domänen, eine paarige Domäne („paired domain“/PD) und eine Homöodomäne (HD). Die spezifischen Funktionen der beiden DNA-Bindungsdomänen in der Entwicklung endokriner Langerhansinseln war bisher unklar. Gegenstand dieser Arbeit war es deshalb, dieser Frage nachzugehen. **Methodik:** Von embryonalem Pankreasgewebe (e17.5 – 18.5) aus Mauslinien, die entweder eine Mutation in der PD (Pax6-Aey18) oder in der HD (Pax6-4Neu) von Pax6 aufweisen, und von entsprechenden Wildtyp-Kontrollen, wurden Gefrierschnitte angefertigt. Diese wurden mit Antikörpern gegen Glukagon, Insulin, Ghrelin bzw. Amylase fluoreszenzmarkiert. Anhand digitaler mikroskopischer Aufnahmen erfolgte anschließend die Quantifizierung glukagonproduzierender  $\alpha$ - und insulinproduzierender  $\beta$ -Zellen. Für die statistische Analyse der Daten wurde der Student t-Test herangezogen. **Ergebnisse:** Pax6-Aey18-Mäuse (PD-Mutation) zeigten einen Phänotyp, der dem kompletten Pax6-knockout entspricht, mit einem völligen Fehlen glukagonproduzierender  $\alpha$ -Zellen und einer Reduktion der Zahl insulinproduzierender  $\beta$ -Zellen. Überdies ergab sich bei dieser Mutante, entsprechend dem knockout, eine deutliche Vermehrung Ghrelin-positiver  $\epsilon$ -Zellen. Pax6-4Neu-Mäuse (HD-Mutation) zeigten dagegen einen milderen Phänotyp. Hier waren  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zellen vorhanden, jedoch gegenüber Wildtypmäusen in ihrer Anzahl signifikant verringert ( $\alpha$ -Zellen um 41%;  $\beta$ -Zellen um 39%; p jeweils < 0,05). Das Verhältnis von  $\alpha$ - zu  $\beta$ -Zellen blieb nahezu unverändert. **Schlussfolgerungen:** Diese Untersuchung zeigt, dass die PD von Pax6 eine wichtigere Rolle bei der Entwicklung des endokrinen Pankreas spielt, als die HD. Insbesondere für die Entstehung glukagonproduzierender  $\alpha$ -Zellen und die gleichzeitige Repression ghrelinproduzierender  $\epsilon$ -Zellen ist die PD

unabdingbar. Auch eine HD-Mutation bewirkt jedoch einen eindeutigen pankreatischen Phänotyp. Im Gegensatz dazu ist bereits bekannt, dass für die Entwicklung des Vorderhirns fast ausschließlich die PD von Bedeutung ist. Das Auge wiederum scheint von beiden DNA-Bindungsdomänen im gleichen Ausmaß abhängig zu sein. Somit zeigt unsere Untersuchung interessante, organspezifische Unterschiede bezüglich der Rolle der beiden DNA-Bindungsdomänen in verschiedenen Pax6-abhängigen Geweben. Darüber hinaus sollten weitere Untersuchungen spezifischer PD- und HD-Zielgene ein besseres Verständnis der Entwicklung der einzelnen Zellarten des endokrinen Pankreas ermöglichen. Dieses Wissen könnte z.B. für die gezielte Differenzierung embryonaler Stammzellen zur Diabetestherapie von großer Bedeutung sein.

3

### Die Dual-Leucine-Zipper-Bearing Kinase trägt zu dem TNF-alpha induzierten Verlust der Beta-Zellmasse und -funktion bei

Börchers S<sup>1</sup>, Klimpel C<sup>1</sup>, Blume R<sup>1</sup>, Oetjen E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Göttingen, Molekulare Pharmakologie, Göttingen, Deutschland

**Fragestellung:** Produktion und die Sekretion des proinflammatorischen Cytokins TNF-alpha sind bei der Adipositas erhöht. Durch Aktivierung der c-Jun-N-terminalen Kinase (JNK) führt TNF zu einer inhibitorischen Phosphorylierung des Insulinrezeptors, sodass TNF-alpha eine entscheidende Rolle für die Entwicklung der Insulinresistenz spielt. In der hier präsentierten Studie wurde die Wirkung von TNF-alpha für das Überleben von Beta-Zellen untersucht. **Methodik:** MTT-Test, Immunocytochemie mit einem Antikörper gegen fragmentierte Caspase-3, Immunpräzipitation, transiente Transfektionen und Reporterassays in der Insulin produzierenden Beta-Zelllinie HIT. **Ergebnisse:** TNF-alpha verminderte das Überleben der Beta-Zellen um 10%. Das Cytokin induzierte zeit- und konzentrationsabhängig die Fragmentierung der Caspase-3 und damit eine Apoptose. Die enzymatische Aktivität der zellulären, immunpräzipitierten Dual-Leucine-Zipper-Bearing Kinase (DLK) wurde durch TNF-alpha (30 ng/ml) 1,5-fach erhöht. Die Apoptose-induzierende Wirkung von TNF-alpha, gemessen als Fragmentierung der Caspase-3, wurde durch die Überexpression der DLK verstärkt und durch die Überexpression einer Kinase-toten DLK Mutante vermindert. TNF-alpha hemmte konzentrationsabhängig spezifisch die durch Membrandepolarisation induzierte Aktivität des Beta-Zellprotektiven Transkriptionsfaktors CREB und seiner DNA-Bindungssequenz, dem CRE. Eine Reduktion der zellulären DLK durch small interference RNA verminderte die TNF-alpha-induzierte Hemmung der CRE-abhängigen Gentranskription von 47% auf 27%. Ein verminderter zellulärer DLK-Gehalt führte ebenfalls zu einer verminderten TNF-alpha-induzierten Phosphorylierung von JNK. **Schlussfolgerung:** In Anbetracht der Bedeutung von CREB für die Aufrechterhaltung der Beta-Zellmasse und -funktion lassen unsere Daten vermuten, dass TNF-alpha durch Aktivierung der DLK zu einer Hemmung der transkriptionellen Aktivität von CREB führt. Auf diese Weise könnte TNF-alpha zu einer verstärkten Beta-Zellapoptose und so zu der molekularen Pathogenese von Diabetes mellitus beitragen.

4

### Pränatale Inselzellentwicklung im humanen Pankreas

Meier JJ<sup>1</sup>, Alkhatib B<sup>1</sup>, Sergi C<sup>2</sup>, Junker T<sup>2</sup>, Klein HH<sup>3</sup>, Schmidt WE<sup>1</sup>, Fritsch H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>St. Josef-Hospital, Ruhr-Universität, Bochum, Deutschland, <sup>2</sup>Medical University, Innsbruck, Österreich, <sup>3</sup>Bergmannsheil, Ruhr-Universität, Bochum, Deutschland

**Einleitung:** Die Regeneration von Beta-Zellen gilt als mögliche Zukunftsoption für die Therapie des Diabetes. Allerdings ist bislang nur wenig über die Dynamik und die Quellen der pränatalen Beta-Zell-Entwicklung beim Menschen bekannt. In Mäusen erfolgt die pränatale Entwicklung von Beta-Zellen nahezu ausschließlich über die Differenzierung von duktalem Progenitorzellen, während die Beta-Zell-Replikation eine untergeordnete Rolle spielt. In der vorliegenden Studie wurde die zeitliche Dynamik des pränatalen Beta-Zell-Wachstums beim Menschen analysiert. Ferner wurden die möglichen Quellen der Beta-Zell-Entwicklung (Replikation vs. Differenzierung) evaluiert. **Methodik:** Humanes Pankreasgewebe von 65 Embryos und Feten im Alter von acht Wochen post conceptionem (p.c.) und Geburt wurde untersucht. Pankreasschnitte wurden für Insulin, Glukagon, KI67, TUNEL und CD31 angefärbt und einer morphometrischen Analyse zugeführt. **Ergebnisse:** Die Expression von Insulin war ab Woche 9 p.c. nachweisbar, wohingegen Glukagon bereits in Woche 8 vorhanden war. Die fraktionelle Beta-Zell-Fläche

des Pankreas stieg zwischen Woche 9 und Geburt linear an ( $r=0,60$ ;  $p<0,001$ ). Die Beta-Zellen entwickelten sich zunächst als vereinzelte endokrine Zellen innerhalb des Gangepithels. Nach Differenzierung und Separation vom Gangepithel konnte das Auftreten von Beta-Zell-Replikationen regelhaft in den neu gebildeten Inselzellkomplexen beobachtet werden (mittlere Frequenz  $2,8 \pm 0,4\%$ ). Ein geringer Prozentsatz der endokrinen Zellen exprimierte sowohl Insulin als auch Glukagon in der frühen Fetal-Periode. Während aller Phasen der pränatalen Pankreas-Entwicklung fand sich eine enge Beziehung zwischen endokrinen Inseln und Blutgefäßen, was auf eine direkte Interaktion zwischen beiden Geweben hindeutet. Die Frequenz der Beta-Zell-Apoptose war insgesamt niedrig und relativ konstant in den unterschiedlichen Entwicklungsstufen ( $1,5 \pm 0,3\%$ ). **Schlussfolgerung:** Die Differenzierung von Beta-Zellen beim Menschen beginnt in der Woche 9 p.c. Die Beta-Zellen entwickeln sich primär aus duktalem Vorläuferzellen, von wo aus sie ins pankreatische Mesenchym wandern und sich schließlich über den Mechanismus der Replikation vermehren. Diese Studien belegen somit die Bedeutung sowohl der Beta-Zell-Differenzierung als auch der Replikation während der pränatalen Expansion der Beta-Zell-Masse beim Menschen.

5

### Isolierung multipotenter Stammzellen aus adulten Haarfollikeln für die Transdifferenzierung in insulinproduzierende Betazellen

Nath M<sup>1</sup>, Hummel M<sup>1</sup>, Offers M<sup>1</sup>, Sattler C<sup>1</sup>, Seisler J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Klinik Innenstadt, Diabetes Zentrum, München, Deutschland

**Fragestellung:** Durch die Transplantation von isolierten Inselzellen oder des gesamten Pankreasorgans kann der Typ-1-Diabetes geheilt werden. Der Mangel an Spenderorganen führt allerdings dazu, dass diese Methode nur sehr wenigen Patienten angeboten werden kann. Ein neuer, vielversprechender Ansatz ist die Herstellung von Betazellen aus Stammzellen. Bisher ist unklar, welcher Stammzelltyp prinzipiell für die Generierung von Betazellen eingesetzt werden kann. Ziel der Untersuchung war es, das endokrine Potential adulter multipotenter Stammzellen aus der Haarwurzel zu untersuchen. **Methodik:** Für die Isolierung von Haarfollikelstammzellen wurden Hautbiopsien aus dem Rücken und aus der Schnauzenregion von zwei verschiedenen Mäusestämmen entnommen und über Nacht in Dispase verdaut. Nach Picken der Haarfollikel wurde eine Einzelzellsuspension hergestellt. Es folgte die Austestung verschiedener Kulturbedingungen für die Generierung von Stammzelllinien. Ab Passage vier erfolgte die Zellcharakterisierung auf RNA- (RT-PCR) und Proteinebene (FACS). Durch Gabe spezifischer Faktoren wurde das Differenzierungspotential in Knochen-, und Fettzellen sowie in endokrine Zellen analysiert. **Ergebnisse:** Unter definierten Isolierungs- und Kultivierungsbedingungen ist es gelungen, Haarfollikelstammzellen (mHFSC) mit charakteristischen Expressionsprofil (Cytokeratin-19, Nestin, GATA3) zu isolieren, die sich problemlos über mehrere Passagen expandieren lassen. Zusätzlich waren stammzell-assoziierte Marker wie z.B. BRCP1, Sca-1 und Sox9 nachweisbar. Mesenchymale (CD73, CD90) und hämatopoetische Marker (CD34, CD45, CD117) wurden nicht exprimiert. Mit etablierten Differenzierungsprotokollen konnten aus den mHFSCs Adipozyten (Oil-Red-Färbung) und Osteoblasten (Von-Kossa-Färbung) hergestellt werden. Nach der Kultivierung in serumfreiem-Medium war der endodermale Marker HNF3beta nachweisbar. **Schlussfolgerungen:** In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals gezeigt, dass eine Population von adulten Stammzellen aus dem Haarfollikel verwendet werden kann, um endodermale Zellen herzustellen. Momentan werden die weiteren Ausreifungsbedingungen von den endodermalen Zellen hin zu endokrinen Progenitorzellen und reifen Betazellen untersucht. Da erste Ergebnisse bestätigen, dass der gleiche Stammzelltyp auch aus humanen Haarfollikeln angezüchtet werden kann, besteht berechtigte Hoffnung, dass es Zukunft gelingen könnte aus den HFSCs Betazellen für die Diabetestherapie herzustellen. Damit stünde eine neue Quelle autologer, adulter Stammzellen zur Verfügung, die den Vorteil der ethischen Unbedenklichkeit besitzt.

6

### The stress-related protein p8 protects beta cells from streptozotocin (STZ)-induced cell death in vitro

*Päth G<sup>1</sup>, Perakakis N<sup>1</sup>, Ehler S<sup>1</sup>, van Loosen S<sup>1</sup>, Alt M<sup>1</sup>, Stahl T<sup>1</sup>, Seufert J<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Uniklinik Freiburg, Medizin II, Endokrinologie/Diabetologie, Freiburg, Deutschland

**Aims:** Within the exocrine pancreas, p8 expression is induced by pancreatitis and protects exocrine tissue from inflammatory damage via inhibition of NFκB. In previous work, we investigated the role of p8 within the endocrine pancreas and characterised p8 as a glucose-dependent mediator of beta cell proliferation. Here we investigate the hypothesis that p8 protects beta cells from cell damage by the diabetogenic drug STZ. **Methods:** We investigated native and transiently transfected INS-1E and beta-TC3 beta cells. For transfections, we used a CMV-driven p8 expression plasmid or an empty plasmid control (mock). STZ-induced p8 gene expression and viability of cells were established with a MTS assay and qPCR using commercially bench-tested primers, respectively. Initially we characterised time and dose response of cell lines to 6, 12, and 24 h STZ. **Results:** Mouse beta-TC3 (24 h LD50, 5 mM) were substantially more resistant to STZ than rat INS-1E (24 h LD50, 0.7 mM). In both cell lines, 6 h exposure to STZ dose-dependently enhances endogenous p8 gene expression to a maximum of about 4fold at 24 h LD50 concentrations. Further increase of STZ dosages continuously reduces p8 gene expression indicating that endogenous p8 cannot be induced in lethally damaged beta cells. Furthermore, transient p8 overexpression enhances cell viability after 24 h exposure to STZ below 24 h LD50 dosages in both INS-1E and beta-TC3 about 20% despite only low efficiency of liposomal gene transfer (INS-1E, 30–50%; beta-TC3, 10–30%). The protective effect of ectopic p8 expression is abolished at dosages higher than 24 h LD50 indicating that enhanced p8 levels cannot protect lethally damaged cells. **Conclusion:** These results demonstrate that, in beta cells, p8 is a stress-induced factor, which exerts protection against STZ-induced cell death. Whether p8 mediates its protective effects only via stimulation of cell proliferation or also via inhibition of apoptosis is under current research.

7

### Gentherapie diabetischer Ratten durch hepatische Insulinexpression nach lentiviralem Gentransfer

*Elsner M<sup>1</sup>, Jörns A<sup>2</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland, <sup>2</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Anatomie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** Die Bildung von Insulin in nicht-endokrinen Zellen ist ein interessantes Therapiekonzept zur Behandlung eines insulinpflichtigen Diabetes mellitus. Moderne lentivirale Vektorsysteme sind in der Lage Transgene stabil auch in nichtteilende Zellen zur Expression zu bringen und sind deshalb ein wertvolles Werkzeug für gentherapeutische Versuchsansätze. Ziel der vorliegenden Studie war es, durch lentiviralen Transfer des humanen Insulingens in Hepatozyten diabetischer Ratten eine Normalisierung der Blutglucosekonzentration zu erreichen. **Methodik:** Die kodierende DNA für furinsensitives humanes Insulin wurde in ein lentivirales Vektorsystem kloniert. Lentiviren wurden durch Ultrafiltration mit einem Titer von  $6 \times 10^7$  infektiöser Partikel/ml isoliert. Die Virenlösung wurden in die Pfortader STZ-diabetischer Lewis-Ratten ( $n=6$ ) mit einer mittleren Blutglucosekonzentration von  $10,5 \text{ mM} \pm 1,5$  injiziert. Diabetische Kontrollratten ( $n=6$ ) wurden mit Lentiviren die GFP zur Expression bringen nach demselben Schema behandelt. Die Blutglucosekonzentrationen und das Körpergewicht der Versuchstiere wurden über 180 Tage hinweg gemessen. Nach 30 Tage wurde ein oraler Glucosetoleranztest (2 g/kg Körpergew.) durchgeführt. Nach 90 Tagen wurde die Seruminsulinkonzentration von Ratten, die mit Insulinviren und GFP-Viren behandelt wurden, nach Glibenclamidinjektion gemessen. Die Lebern der Ratten wurden immunhistochemisch auf Insulin- und GFP-Expression untersucht. **Ergebnisse:** Durch die Injektion von Insulin-Lentiviren in die Pfortader STZ-diabetischer Ratten konnte die Blutglucosekonzentration bereits nach drei Tagen von  $10,8 \text{ mM} \pm 1,6$  auf  $5,5 \text{ mM} \pm 0,7$  gesenkt werden. Nach 180 Tagen lag die mittlere Blutglucosekonzentration nahezu unverändert bei  $5,9 \text{ mM} \pm 0,4$ . Für Kontrollratten, die mit GFP-Viren behandelt wurden, ergab sich keine signifikante Blutglucosesenkung. Die mit Insulinviren injizierten Ratten wiesen mit 95% eine signifikant höhere Gewichtszunahme nach 180 Tagen als die Kontrolltiere mit 70% auf. Im oralen

Glucosetoleranztest stieg die Blutglucosekonzentration der Kontrollratten auf  $10,1 \text{ mM} \pm 2,3$ , die der Insulintransformierten Ratten nur auf  $8,5 \text{ mM} \pm 1,4$ . Nach Glibenclamidinjektion konnte kein signifikanter Unterschied im Anstieg der Seruminsulinkonzentrationen in den beiden Tiergruppen gemessen werden. Immunhistochemische Untersuchungen der Lebern der Versuchstiere ergaben, dass ca. 20% der Hepatozyten positiv für Insulin nach der Injektion von Insulin-Lentiviren waren. **Schlussfolgerungen:** Durch einen lentiviralen Gentransfer furinsensitiven humanen Insulins in Hepatozyten diabetischer Ratten konnte über einen Zeitraum von mehr als 180 Tagen eine Normalisierung der diabetischen Stoffwechsellaage erreicht werden. Mithilfe der Injektion von Glibenclamid, das nur die Insulinsekretion der verbliebenen beta-Zellen stimuliert, konnte gezeigt werden, dass die Blutglucosesenkung durch den Transfer des Insulingens in die Leber hervorgerufen wurde.

8

### Der Einfluss hoher Glucose auf die Vitalität von insulinproduzierenden Zellen

*Schmitt H<sup>1</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>, Baltrusch S<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** In insulinproduzierenden Zellen übernimmt die Glucokinase (GK) die Rolle eines Glucosensors für die glucoseinduzierte Insulinsekretion. Die GK kann millimolare Veränderungen der extrazellulären Glucosekonzentration an signalgebende glykolytische Fluxänderungen koppeln. Ein Anstieg der GK-Expression führt somit zu einer gesteigerten Insulinsekretion. Allerdings wird auch der toxische Einfluss einer hohen Glucosekonzentration auf insulinproduzierende Zellen diskutiert. Es ist daher das Ziel dieser Studie, anhand einer generierten RINm5F-Zelllinie mit regulierbarer GK-Expression zu klären, ob die GK zur Glucosetoxizität in insulinproduzierenden Zellen beiträgt. **Methodik:** Das RheoSwitch® Expressionssystem wurde eingesetzt, um eine stabile GK überexprimierende RINm5F-Zelllinie zu generieren. Positive Klone mit präziser Regulation wurden über G418 selektioniert. Die Zellen wurden bei 1, 10 und 30 mmol/l Glucose kultiviert und die GK Enzymaktivität über einen photometrischen Test gemessen. Die Zellvitalität wurde mittels MTT Assay und die Insulinsekretion mittels Radioimmunoassay analysiert. Das mitochondriale Membranpotential wurde fluoreszenzmikroskopisch unter Verwendung der Indikatoren JC1 und TMRE bestimmt. **Ergebnisse:** Insulinproduzierende RINm5F Zellen mit induzierbarer GK-Expression wurden für 48 h mit ansteigenden Konzentrationen des synthetischen Induktors RSL1 (0, 0.5, 62.5, 125, 250 und 500 nmol/l) bei 10 mmol/l Glucose kultiviert. RINm5F-R-EYFP-GK Zellen zeigten bei ansteigender Induktorkonzentration einen Anstieg der GK Aktivität. Bei maximaler Induktion wurde ein 5facher Anstieg der GK Aktivität gemessen, der mit der Zunahme an GK Protein, analysiert mittels Fluoreszenzmikroskopie, korrelierte. Die Vitalität der RINm5F-R-EYFP-GK Klone wurde durch Inkubation für 48 h bei niedriger (1 mmol/l) oder hoher (30 mmol/l) Glucosekonzentration im Medium nicht beeinflusst. Ebenso führte die GK-Expression nicht zu toxischen Effekten in den Zellen. Auch bei einer Verlängerung der Inkubationszeit auf 2 Wochen konnte nachfolgend kein Vitalitätsverlust detektiert werden. In Gegenwart der GK-Expression war die glucoseinduzierte Insulinsekretion unter Standardkulturbedingungen um das Zweifache erhöht. Dieser Effekt blieb bei Kultivierung der Zellen bei 30 mmol/l erhalten. Der glucoseinduzierte Anstieg des mitochondrialen Membranpotentials war nach Induktion der Glucokinase signifikant erhöht. **Schlussfolgerungen:** Die Hypothese, dass die GK zur Glucosetoxizität in insulinproduzierenden Zellen beiträgt, konnte durch unsere Experimente mit präzise regulierbarer GK-Expression nicht bestätigt werden. Durch die GK-Überexpression wurde hingegen die glucoseinduzierte Insulinsekretion verbessert. Es erscheint daher unwahrscheinlich, dass durch eine chronisch hohe Glucosekonzentration im Glucosemetabolismus Faktoren entstehen, die zur Beta-Zellschädigung im T2DM beitragen.

9

### Eine Population von CK19-positiven, insulinproduzierenden Surrogatzellen hergestellt aus embryonalen Stammzellen der Maus

*Naujok O<sup>1</sup>, Francini F<sup>1</sup>, Jörns A<sup>2</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland, <sup>2</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum für Anatomie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** Embryonale Stammzellen (ES-Zellen) sind in der Lage jeden adulten Zelltyp durch Differenzierung hervorzubringen. Die gerin-

ge Verfügbarkeit von Spenderorganen zur Transplantationstherapie des Typ-1-Diabetes mellitus hat daher die Erforschung von Surrogatzellen aus ES-Zellen mit ähnlichen Charakteristika wie endokrine Beta-Zellen in den Fokus gerückt. Das Ziel dieser Studie war die Entwicklung eines Differenzierungsprotokolls, welches verlässlich insulinproduzierende Zellen aus ES-Zellen erzeugt und die Kombination dieses Protokolls mit einem Sortierverfahren dieser Zellen. **Methodik:** Die Sequenz des eYFP-Gens wurde in einem Plasmid durch Klonierung unter die Kontrolle eines 2,9 kb großen Promoterfragments des Cytokeratin 19 Gens (CK19) gebracht. Maus-ES-Zellen der Linie ES-D3 wurden mit diesem Plasmid stabil transiziert und mit einem neuen Differenzierungsprotokoll differenziert. Am Tag 12, 19 und 26 der Differenzierung wurden eYFP+ und eYFP- Zellen mit einem Durchflusszytometer aufgereinigt und charakterisiert. **Ergebnisse:** Die Analyse der endogenen CK19 Expression erbrachte am Tag 26 eine 7-fache Steigerung der CK19 Expression in YFP+ Zellen verglichen mit YFP- Zellen. Auch CA2 (Carboanhydrase 2) zeigte eine 9fach erhöhte Expression. Die quantitative Analyse der Genexpression von Insulin zeigte eine geringe Expression bis zum Tag 19 des Differenzierungsprotokolls. Am Tag 26 konnte eine um 38fach signifikant erhöhte Expression von Insulin in YFP+ Zellen gegenüber YFP- Zellen gemessen werden. Die Expression von Glucagon war bis zum Tag 19 nicht messbar, stieg aber dann auf einen 12fach erhöhten Wert in YFP- Zellen gegenüber YFP+ Zellen an. Die Ultrastruktur von YFP+ Zellen zeigte eine eindeutige Differenzierung in insulinproduzierende Zellen mit subzellulären Organellen zur Synthese, Prozessierung, Speicherung und Freisetzung von Insulin in Form von sekretorischen Granula. Außerdem waren nur eYFP+ Zellen immunoreaktiv für C-Peptid und Insulin. eYFP- Zellen waren negativ für C-Peptid. **Schlussfolgerungen:** Cytokeratin 19 ist ein Marker für pankreatische Duktus-Zellen. In der Annahme, dass ES-Zellen im Verlaufe ihrer Differenzierung mit dem neuen Differenzierungsprotokoll das Stadium der Duktuszelle durchlaufen könnten, haben wir ein Differenzierungs- und Selektionsprotokoll kombiniert, um fluoreszierende, YFP+ Zellen von anderen Zellen abtrennen zu können. Diese Zellen exprimierten stark vermehrt endogenes CK19, CA2 und Insulin. Die nicht-fluoreszierenden eYFP- Zellen wurden ebenfalls aufgereinigt und zeigten keine nennenswerte Insulinexpression, aber eine deutlich erhöhte Glucagonexpression. Die Charakterisierung beider Populationen zeigte, dass nur eYFP+ Zellen das Insulingen exprimierten, Insulin prozessierten und speicherten und freisetzen konnten.

#### Freie Vorträge: Typ-1-Diabetes und pädiatrische Diabetologie

10

#### Psychosozialer Stress: Negative Life Events in der TEDDY (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young) Studie

*Roth R<sup>1</sup>, Johnson SB<sup>2</sup>, Lernmark B<sup>3</sup>, Simell T<sup>4</sup>, Baxter J<sup>5</sup>, McLeod W<sup>6</sup>, TEDDY Group*

<sup>1</sup>Universität Graz, Graz, Österreich, <sup>2</sup>Florida State University, College of Medicine, Tallahassee, USA, <sup>3</sup>Lund University, Lund, Schweden, <sup>4</sup>University of Turku, Turku, Finnland, <sup>5</sup>University of Colorado, Denver, USA, <sup>6</sup>University of South Florida, Tampa, USA

**Fragestellung:** TEDDY (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young) ist eine internationale multizentrische Studie, primäres Ziel stellt die Identifikation von Umweltfaktoren wie z.B. psychosoziale Stressoren dar, die mit einem erhöhtem Risiko einhergehen, Autoimmunität bzw. Typ-1-Diabetes mellitus (T1DM) auszulösen. Life Events wurden bisher immer retrospektiv erfasst, in TEDDY geschieht dies erstmalig prospektiv. Neugeborene mit erhöhtem genetischem Risiko, die nicht älter als 4 Monate sind aus der allgemeinen Bevölkerung (GP) oder mit erstgradig Verwandten (FDR) mit Diabetes werden in die Studie aufgenommen. Sechs klinische Zentren in 4 Ländern, Finnland, Deutschland, Schweden, Vereinigten Staaten (Georgia/Florida, Colorado, Washington) nehmen an der Studie teil. **Methodik:** Ziel dieser ersten Teilauswertung war die Erfassung und der Vergleich von psychosozialen Stress in Form der negativen Life Events, welche die Mütter während der Schwangerschaft und in den ersten 3 - 4,5 Monaten nach der Geburt des Kindes, jeweils bezogen auf sich bzw. auf das Kind erlebt haben. Es wurden sowohl die unterschiedlichen Kategorien der negativen Lebensereignisse als auch die Häufigkeiten erfasst und zwischen den Zentren verglichen. Es konnte auch ein Vergleich der Daten von Dezember 2006 (N=1703) und Oktober 2007 (N=3755) vorgenommen werden **Ergebnisse:** Während der Schwangerschaft wurde von mehr negativen Life Events berichtet als in den darauf folgenden 3 Monaten nach der Geburt des Kindes, wobei dies mit dem längeren Zeitraum während der

Schwangerschaft zusammen hängt. Relativiert auf den Zeitraum treten, außer in Deutschland, nach der Geburt im Mittel in allen anderen Ländern mehr negative Lebensereignisse auf. Während der Schwangerschaft unterscheidet sich Finnland von den drei anderen Ländern, dort werden von den Müttern am wenigsten Life Events angegeben. Nach der Geburt unterscheiden sich die Mütter in den USA von Schweden und Deutschland und Finnland weisen nochmals weniger Life Events auf. Es wurden sechs inhaltliche Kategorien von negativen Lebensereignissen gefunden, die am häufigsten genannt wurden: (1) Krankheit, Verletzung, Krankenhausaufenthalt, (2) Berufliche Schwierigkeiten, (3) Finanzielle Schwierigkeiten, (4) Tod, (5) Gewalt, (6) Scheidung, Trennung. **Schlussfolgerung:** Die Ergebnisse zeigen, dass die Hälfte der psychosozialen Stressoren sich auf Krankheit, Verletzung und Krankenhausaufenthalte der Mutter und naher Personen bezog. Die Proportion zwischen den einzelnen Kategorien ist vergleichbar in der Schwangerschaft und während der ersten drei Monate nach der Geburt. Die Häufigkeitsverteilung der negativen Life Events ist ähnlich im Vergleich von Dezember 2006 (N=1703) und Oktober 2007 (N=3755), es scheint sich um ein stabiles Pattern zu handeln. In einem nächsten Schritte werden erste Analysen zeigen ob eher die Häufigkeit oder die Qualität von negativen Life Events Vorhersagequalität für Autoimmunität oder T1DM haben.

11

#### Analyse telemedizinischer Anwendungen in einer Hochschulambulanz für Endokrinologie und Stoffwechselkrankheiten

*Peixoto Modesto da Silva C<sup>1</sup>, Müller N<sup>1</sup>, Kloos C<sup>1</sup>, Mandeka A<sup>1</sup>, Wolf G<sup>1</sup>, Schumann M<sup>2</sup>, Müller UA<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, Deutschland, <sup>2</sup>Intelligent Technology Computing, Marburg, Deutschland

**Fragestellung:** Durch den Einsatz der Gesundheits-Telematik entstehen Freiheitsgrade in Raum (Fernbehandlung) und Zeit (zeitversetzte Expertenkonsultation), die neue Formen einer ortsunabhängigen und internationalen Zusammenarbeit vereinfachen. Diese Studie analysiert die telefonische ärztliche Dokumentation als telemedizinische Anwendung in einer Hochschulambulanz für Endokrinologie und Stoffwechselkrankheiten. **Methodik:** Von 2003 bis Ende 2007 wurden in der elektronischen Krankenakte EMIL<sup>®</sup> 1801 Telefonkonsile dokumentiert und analysiert nach Ärzteteauskunft (Befundaustausch, Konsil, Beratung zwischen Ärzten), Therapieanpassung (nach Eintreffen der Befunde, Anpassung der Diabetestherapie, Methizol-Therapie, Hormonsubstitution), Befundbesprechung (aktuelle Laborbefunde, bildgebende Diagnostik, nuklearmedizinische Befunde und weitere Diagnostikplanung), sowie Entscheidung über Dringlichkeit der Terminvergabe bei Anmeldungen von Neu- oder Wiedervorstellungen durch Anamneseerhebung. Zur Unterstützung der telemedizinischen Beratung enthält die elektronische Krankenakte ein Patientenfoto. **Ergebnisse:** In den Jahren 2003 - 2007 haben 34.991 ambulante Konsultationen stattgefunden. In dieser Zeit erfolgten 1.801 telemedizinische Beratungen bei 931 Patienten (1,93/Patient): 14% bei Diabetes mellitus Typ1 (DM 1; Alter 45J; Diabetesdauer 19,3J; BMI 26,2 Kg/m<sup>2</sup>; HbA1C 7,7%), 41% Diabetes mellitus Typ 2 (DM 2; Alter 62,7J; Diabetesdauer 14,3J; BMI 31,9; HbA1C 7,8%), 3% Gestationsdiabetes (GDM; Alter 31,9J; BMI 31,3 Kg/m<sup>2</sup>; HbA1C 5,3%), 42% andere endokrine Erkrankungen; Alter 47,8J; BMI 28,42; HbA1C 5,5%). Der Grund der Beratung war in 24,7% Anamnese-Ergänzung bei (DM 1 13,4%; DM 2 38%; GDM 2% andere endokrine Erkrankungen 46,6%), 22% Arztberatung (DM 1 11,7%; DM 2 42,8%; GDM 0,5%; andere endokrine Erkrankungen 54,7%), 15,7% Befundbesprechung (DM 1 9%; DM 2 39%; GDM 2,7%; andere endokrine Erkrankungen 49,3%), 37,6% Therapieanpassung (DM 1 19%; DM 2 44%; GDM 4,5%; andere endokrine Erkrankungen 32%). **Schlussfolgerung:** Der Hauptgrund für eine telemedizinische Beratung war Therapieanpassung, gefolgt von Ergänzung der Anamnese. Sie wurde vorwiegend bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und Anpassung der Therapie bei Schilddrüsen-, Nebennieren- und Hypophysenerkrankungen angewendet. Eine strukturierte elektronische Krankenakte kann die ambulante Versorgung von Patienten mit Diabetes und endokrinen Erkrankungen durch Arztberatung, Therapieanpassung, Befundbesprechung sowie Anamneseerhebung telemedizinische ermöglichen. Verbesserungen der Lebensqualität der Patienten, geringere Kosten für Patienten und Gesundheitseinrichtung, sowie bessere Therapieerfolge sind durch Telemedizin möglich. Diese Analysen sind geplant.

12

### Einfluss des Stillens auf das Risiko für Übergewicht bei Kindern von Müttern mit Typ-1-Diabetes

Kreihaufl S<sup>1</sup>, Pflüger M<sup>2</sup>, Hummel S<sup>2</sup>, Ziegler AG<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Staatsinstitut für Frühpädagogik, München, Deutschland,

<sup>2</sup>Institut für Diabetesforschung, München, Deutschland

**Fragestellung:** Kinder von an Diabetes erkrankten Frauen haben ein erhöhtes Risiko für Übergewicht. In gesunden Populationen gilt Stillen als Schutzfaktor gegen Übergewicht im Kindesalter. Bisherige Studien zum Effekt des Stillens bei Kindern von diabetischen Müttern lieferten widersprüchliche Ergebnisse bis hin zu einer möglichen Risikoerhöhung für Übergewicht durch die Aufnahme von Muttermilch in der ersten Lebenswoche. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss des Stillens auf das Übergewichtsrisiko von zweijährigen Kindern von Müttern mit Typ-1-Diabetes analysiert. **Methodik:** Im Rahmen einer prospektiven Kohortenstudie wurden 816 Mütter mit Typ-1-Diabetes zwischen 1989 und 2005 per Fragebogen zu ihrem Stillverhalten befragt. Erhoben wurden sowohl die gesamte als auch die ausschließliche Stilldauer. In der als „ausschließlich“ definierten Stilldauer war die Gabe von Flüssigkeiten wie Tee oder Wasser, Medikamenten, Vitaminen oder Mineralstoffen erlaubt. Der BMI der Kinder wurde aus den Größen- und Gewichtsangaben des U-Heftes ermittelt. Als übergewichtig wurden Kinder mit einem BMI-Perzentil  $\geq 90$  eingestuft. Die Berechnung der Odds Ratios (OR) und der 95%-Konfidenzintervalle (95%-KI) erfolgte mittels logistischer Regression in SPSS, Referenzkategorie war jeweils die Gruppe der nie gestillten Kinder. **Ergebnisse:** Die anfängliche Stillquote betrug 77,9 Prozent. Nach einem halben Jahr stillten noch 33,1 Prozent der Mütter. 30,6 Prozent der Frauen stillten mindestens vier Monate lang ausschließlich. Die Übergewichtsrate der Kinder im Alter von zwei Jahren betrug 14,5 Prozent. Nach Adjustierung für mütterliches Rauchen in der Schwangerschaft, Geschlecht und Geburtsgewicht des Kindes ergab sich eine 59,5-prozentige Risikoreduktion für Übergewicht im Alter von zwei Jahren (OR = 0,405; 95%-KI: 0,211 – 0,779) bei einer gesamten Stilldauer von 12 bis 25 Wochen. Eine ähnlich positive Assoziation zeigte sich auch bei der Betrachtung einer ausschließlichen Stilldauer von mindestens vier Monaten (OR = 0,500; 95%-KI: 0,282 – 0,887). Bereits ab einer Stilldauer von vier Wochen waren signifikant positive Effekte sichtbar. Eine Muttermilchaufnahme in der ersten Lebenswoche stellt keine Erhöhung des Übergewichtsrisikos dar. **Schlussfolgerungen:** Mütter mit Typ-1-Diabetes stillen seltener und kürzer als die Allgemeinbevölkerung. Stillen ist mit einem verminderten Risiko für Übergewicht im Alter von zwei Jahren verbunden und kann den Müttern uneingeschränkt empfohlen werden. Besondere Bedürfnisse im Hinblick auf das notwendige Blutzucker-Selbstmanagement müssen berücksichtigt werden, da an Diabetes erkrankte Mütter mit stark schwankenden Blutzuckerwerten in der Stillzeit und möglichen kurzfristigen Unterzuckerungen während des Stillens selbst konfrontiert sein können. Eine spezielle Stillberatung scheint angebracht.

13

### Blutdruckverlauf („Tracking“) von der Kindheit bis ins junge Erwachsenenalter: Eine multizentrische Verlaufsuntersuchung an 868 Patienten mit Typ-1-Diabetes in Deutschland und Österreich

Knerr I<sup>1</sup>, Dost A<sup>2</sup>, Lepler R<sup>3</sup>, Raile K<sup>4</sup>, Schober E<sup>5</sup>, Rascher W<sup>1</sup>, Holl RW<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum, Kinder- und Jugendklinik, Erlangen, Deutschland,

<sup>2</sup>Universitätskinderklinik, Jena, Deutschland,

<sup>3</sup>Kinderklinik Wilhelmsstift, Hamburg, Deutschland,

<sup>4</sup>Universitätsklinikum Charité, Zentrum für Kinder und Jugendmedizin, Berlin, Deutschland,

<sup>5</sup>AKH – Universitätskliniken, Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde, Wien, Österreich,

<sup>6</sup>Universität Ulm, Abt. Angewandte Informationsverarbeitung, Ulm, Deutschland

**Fragestellung:** Arterieller Blutdruck (RR) und Hypertoniehäufigkeit als kardiovaskuläre Risikofaktoren wurden bei 868 Patienten mit Typ-1-Diabetes aus 95 Zentren in Deutschland und Österreich im Langzeitverlauf im Altersbereich von 6,0 bis 19,9 Jahren untersucht. **Methodik:** Bei den Patienten wurden mindestens 1–4 mal jährlich body mass index (BMI), HbA1c und Ruhe-RR (sphygmomanometrisch oder mittels Dinamap, Critikon) bestimmt. Die Daten wurden konform mit der Deklaration von Helsinki im Zeitraum von 1977 bis 2006 erhoben und mittels der DPV Datenbank ausgewertet. 1353 Patienten wurden getestet, 962 eingeschlossen, komplette Datensätze für alle 3 Altersbereiche lagen für 868 Patienten vor (432 weiblich, 436 männlich, Alter bei Di-

agnose  $5,9 \pm 2,4$  Jahre). Europäische RR-Referenzwerte von 28043 Kindern und Jugendlichen wurden zum Vergleich herangezogen. Alle Daten wurden nach Geschlecht und Alter stratifiziert in die Kohorten 6,0–9,9 Jahre (präpubertär), 10,0–15,9 Jahre (pubertär) und 16,0–19,9 Jahre (postpubertär). RR und BMI wurden mit der LMS-Methode analysiert (box-cox-power-Transformation, z-Score), außerdem wurden Pearson Korrelation, Kruskal Wallis und Wilcoxon Tests angewendet. **Ergebnisse:** Innerhalb der 3 Alterskohorten lagen die mittleren Werte ( $\pm$  Standardabweichung) für HbA1c bei  $7,4 \pm 1,4\%$ ,  $7,9 \pm 1,3\%$ ,  $8,4 \pm 1,7\%$ , für BMI z-Score bei  $0,24 \pm 0,73$ ,  $0,37 \pm 0,78$ ,  $0,60 \pm 0,89$ , für systolischen RR bei  $106 \pm 7$ ,  $116 \pm 8$ ,  $127 \pm 11$  mm Hg, für diastolischen RR bei  $65 \pm 6$ ,  $68 \pm 7$ ,  $72 \pm 7$  mm Hg. Der mittlere RR z-Score stieg mit zunehmendem Alter an. In den beiden jüngeren Altersgruppen hatten 4% der Patienten einen RR über der 97. Perzentile, hingegen 13,9% in der postpubertären Gruppe. RR sowie BMI z-Score korrelierten signifikant mit dem HbA1c-Wert. Eine Verlaufsanalyse („Tracking“) des RR ergab, dass präpubertäre Patienten mit erhöhtem systolischem oder diastolischem RR auch in der Pubertät und postpubertär signifikant dauerhaft höhere RR-Werte aufwiesen als Kinder mit niedrigerem RR im präpubertären Zeitraum. **Schlussfolgerungen:** RR-Messungen bei jungen Menschen mit Diabetes haben schon frühzeitig eine hohe Aussagekraft für die Abschätzung des späteren kardiovaskulären Risikos. Hypertensive Risiken manifestieren sich bei jungen Patienten mit Typ-1-Diabetes früh im Leben und sind daher einer frühzeitigen Intervention zugänglich.

14

### Insulinresistenz ist auch bei Kindern mit einer subklinischen Entzündungsreaktion assoziiert

Rose B<sup>1</sup>, Herder C<sup>1</sup>, Gornitzka G<sup>1</sup>, Bini V<sup>2</sup>, Murdolo C<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum an der Heinrich-Heine-

Universität Düsseldorf, Institut für Klinische Diabetologie,

Düsseldorf, Deutschland, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine,

University of Perugia, Section of Internal Medicine and

Endocrine and Metabolic Sciences, Perugia, Italien

**Fragestellung:** Insulinresistenz und Übergewicht sind bei Erwachsenen mit einer subklinischen Entzündungsreaktion assoziiert, die unabhängig von klassischen Risikofaktoren des Typ-2-Diabetes ist, weshalb der subklinischen Inflammation wahrscheinlich eine entscheidende Bedeutung in der Pathogenese des Typ-2-Diabetes zukommt. Neuere Arbeiten konnten zeigen, dass auch bei Jugendlichen die Insulinresistenz mit einer systemischen Aktivierung des Immunsystems assoziiert ist. Ob 1.) eine Assoziation zwischen Insulinresistenz und subklinischer Entzündung auch bei präpubertären Kindern nachzuweisen ist und 2.) die Assoziation unabhängig vom gleichzeitigen Vorliegen einer Adipositas ist, sollte in der vorliegenden Studie untersucht werden. **Methodik:** In dieser Querschnittsstudie wurden 305 Kinder (144 Mädchen, 161 Jungen) mit einem mittleren Alter von  $9,0 \pm 1,6$  Jahren untersucht, die sich alle im präpubertären Stadium (Tanner-Stadium 1) befanden. Anthropometrische Daten (BMI, Taillen- und Hüftumfang, Fettmasse) wurden erfasst und Nüchternblut zur Bestimmung von Lipiden, Glucose und Insulin sowie von Immunmediatoren im Serum abgenommen. Die Chemokine IL-8, MCP-1, IP-10, MIF und RANTES, das Zytokin IL-18, das Adhäsionsmolekül sICAM-1 sowie die Adipokine Leptin und Resistin wurden mittels Luminex-Technologie im Serum bestimmt. Die Assoziation zwischen Immunmarkern und Parametern der Adipositas und Insulinresistenz (HOMA-IR) wurde mittels multipler linearer Regression untersucht. **Ergebnisse:** Jungen und Mädchen unterschieden sich signifikant im Alter ( $9,4 \pm 1,6$  vs.  $8,6 \pm 1,5$  Jahre), in der Fettmasse ( $30 \pm 12$  vs.  $34 \pm 12\%$ ), den Triglyzerid- und Glucosespiegeln ( $70 \pm 35$  vs.  $81 \pm 40$  mg/dl bzw.  $80 \pm 8$  vs.  $78 \pm 9$  mg/dl) sowie den systemischen Spiegeln von MIF ( $3,8 [3,2; 4,6]$  vs.  $4,2 [3,4; 5,0]$  ng/ml) und Leptin ( $4,2 [1,6; 8,2]$  vs.  $6,0 [1,8; 10,5]$  ng/ml). BMI, systolischer und diastolischer Blutdruck und HOMA-IR waren vergleichbar. Nach Adjustierung für Alter und Geschlecht waren das Adhäsionsmolekül sICAM-1 ( $p < 0,0001$ ), das Adipokin Leptin ( $p < 0,0001$ ) und die Chemokine MCP-1 ( $p = 0,01$ ), RANTES ( $p = 0,001$ ), IP-10 ( $p = 0,01$ ) und MIF ( $p = 0,003$ ) positiv mit dem HOMA-IR assoziiert. Diese Assoziation wurde durch die weitere Adjustierung für BMI abgeschwächt, blieb aber für sICAM-1, Leptin, IP-10 und MIF signifikant ( $p < 0,05$ ). **Schlussfolgerungen:** Auch bei Kindern im präpubertären Stadium ist die Insulinresistenz mit einer differentiellen proinflammatorischen Entzündungsreaktion im Serum verbunden. Diese Assoziation wird zu einem großen Teil durch die Adipositas vermittelt, weist aber auch adipositasunabhängige Komponenten auf.

15

### Zirkulierende endotheliale Progenitorzellen als Indikator für frühe vaskuläre Veränderungen bei Kindern mit Adipositas

Friebe D<sup>1</sup>, Erbs S<sup>2</sup>, Berthold A<sup>1</sup>, Töpfer M<sup>1</sup>, Adams V<sup>2</sup>, Kiess W<sup>1</sup>, Körner A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Leipzig, Klinik und Poliklinik für Kinder & Jugendliche, Leipzig, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Leipzig, Herzzentrum Leipzig, Leipzig, Deutschland

**Fragestellung:** Zirkulierende endotheliale Progenitorzellen spielen eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Integrität des vaskulären Endothels. Ziel der vorliegenden Studie ist es zu untersuchen, ob Kinder mit Adipositas bereits eine eingeschränkte regenerative Kapazität und Funktionalität zirkulierender endothelialer Progenitorzellen (EPCs) aufweisen und ob dies mit einer verminderten Insulinsensitivität assoziiert ist. **Methodik:** Bei bisher 22 adipösen Kindern (Alter 12 ± 3, BMI-SDS 2,30 ± 0,53) und 33 schlanken Kindern (Alter 13 ± 3, BMI-SDS -0,41 ± 0,77) wurde die Anzahl zirkulierender EPCs im Blut mittels durchflusszytometrischer Bestimmung von KDR und CD34 doppelt positiver Zellen untersucht. Die Funktionalitätsanalyse erfolgte via Migrations- und Matrigelassay. Zur Beurteilung der Insulinsensitivität wurde ein oraler Glucosetoleranztest durchgeführt. **Ergebnisse:** Adipöse Kinder zeigten im Vergleich zu normalgewichtigen Kindern eine signifikant reduzierte Anzahl von zirkulierenden EPCs (70 ± 7 versus 119 ± 13 Zellen/ml Blut, p < 0,05). Die Anzahl zirkulierender EPCs korrelierte signifikant negativ mit dem Ausmass des Übergewichts in BMI-SDS (r = -0,2693; p < 0,05). Eine Beziehung zwischen der Anzahl zirkulierender EPCs und der Insulinsensitivität, bestimmt als HOMA-Index (HOMA-IR) und Insulinsensitivitäts-Index (ISI) war nicht nachweisbar. Die Migration der zirkulierenden EPCs entlang eines SDF-1 Gradienten erschien bei adipösen Kindern im Durchschnitt leicht vermindert im Vergleich zu normalgewichtigen Kindern (15930 ± 2687 versus 21480 ± 2682 Zellen/300 mm<sup>2</sup>, p = 0,07). Die Inkorporation in einen Endothelverband war nicht reduziert. **Schlussfolgerung:** Bereits im Kindesalter ist Adipositas mit einer reduzierten Anzahl zirkulierender EPCs und eingeschränkter migratorischer Kapazität der EPCs assoziiert. Dies kann – zumindest teilweise – zum Pathomechanismus einer generalisierten Endotheldysfunktion beitragen. (Förderung: DFG KFO 152 „Atherobesity“)

16

### Seltene Ursache eines Diabetes mellitus im Kindesalter: Das Wolfram-Syndrom – eine Fallbeschreibung

Boettcher C<sup>1</sup>, Enders J<sup>1</sup>, Leludas C<sup>1</sup>, Wiegand S<sup>1</sup>, Zimmer KP<sup>1</sup>, Wudy SA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pädiatrische Diabetologie & Endokrinologie, Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Justus Liebig Universität, Gießen, Deutschland

Das Wolfram-Syndrom (WFS) (Synonym DIDMOAD = Diabetes insipidus, Diabetes mellitus, Optic atrophy, Deafness) ist ein autosomal rezessiv vererbtes Syndrom, welches durch Assoziation eines insulinabhängigen Diabetes mellitus (D.m.) mit progressiver Optikusatrophie (OA) im Alter unter 16 Jahren gekennzeichnet ist. Weitere Merkmale sind bilaterale progressive sensorineurale Taubheit, Diabetes insipidus centralis, Dysfunktion des autonomen Nervensystems und Zeichen der Neurodegeneration. Das mediane Alter bei Auftreten des nicht autoimmun vermittelten, insulinpflichtigen D.m. liegt bei 6 Jahren. Mit zunehmendem Alter entwickelt sich das Vollbild der Erkrankung resultierend in einer verkürzten Lebensspanne. Ursächlich liegen dem WFS Mutationen des Wolfram-Gens (WFS-1) auf dem kurzen Arm von Chromosom 4 zugrunde, das für Wolframin, ein Membranprotein des endoplasmatischen Retikulums (ER) kodiert. Stressmedierte Apoptose des ER besonders suszeptibler pankreatischer β-Zellen gilt als Ursache des D.m. bei WFS. Wir berichten über 2 Geschwister konsanguiner Eltern persischen Ursprungs mit WFS. Das mittlerweile 17-jährige Mädchen stellte sich mit 11 Jahren bei Glukosurie und Nüchternblutzucker 210 mg/dl ohne Ketoazidose vor. Die Anamnese ergab Kopfschmerzen seit wenigen Tagen ohne Polyurie oder Polydipsie. Der initiale HbA1c-Wert lag bei 8,1%, der Nachweis von Inselzell-AK, GAD65-AK und IA2-AK verlief negativ. Unter Insulintherapie mit geringem Insulinbedarf konnte zunächst über 3 Jahre eine sehr gute Stoffwechsellage erzielt werden, im Verlauf nahmen Complianceprobleme bei depressiver Stimmungslage des Mädchens zu. Aufgrund rezidivierender Kopfschmerzen erfolgte nach 5-jähriger Diabetesdauer eine augenärztliche Untersuchung mit Diagnose einer OA mit Restvisus von 5% beidseits. Der 3 Jahre jüngere Bruder fiel erstmals 2005 mit Kopfschmerzen, Polyurie, Polydipsie und erhöhten Spontanblutzuckerwerten ohne Ketoazidose auf. Der anfängliche HbA1c-Wert lag bei 7,9%,

die Suche nach Antikörpern blieb negativ. Nach initialer Insulintherapie wurde bei hervorragender Stoffwechsellage unter minimalem Insulinbedarf nach 6 Monaten ein Auslassversuch mit alleiniger diätetischer Führung eingeleitet, der bei ansteigenden HbA1c-Werten nach weiteren 6 Monaten beendet wurde. Aufgrund nachlassender schulischer Leistungen und vermuteter Sehschwäche folgte 2007 eine augenärztliche Untersuchung, die eine OA mit Restvisus 5% beidseits ergab. Die Kombination D.m. und OA veranlaßte zu einer molekulargenetischen Untersuchung. Diese bestätigte die Verdachtsdiagnose WFS (homozygote Mutation c.2642\_2643delTC) bei beiden Kindern. Die Therapieführung konnte mittels eines entsprechend angepaßten Pens und einer Sehhilfe (Lupenbrille) verbessert werden. Ein Screening der Restfamilie steht noch aus. Wir schlussfolgern, dass bei pädiatrischen Patienten mit D.m. und einem für D.m. Typ I untypischen Verlauf ein WFS in die differentialdiagnostischen Überlegungen miteinbezogen werden muss.

17

### Klinische, biochemische und molekulargenetische Charakterisierung einer pädiatrischen Kohorte mit Autoantikörper-negativem Diabetes mellitus (Typ-1B)

Mros R<sup>1</sup>, Galler A<sup>1</sup>, Blankenstein O<sup>1</sup>, Wiegand S<sup>1</sup>, Raile K<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Pädiatrische Diabetologie, Interdisziplinäres SPZ, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland

**Kontext:** Die aktuelle Klassifikation (ADA 1997, DDG-EBL 2007) unterscheidet zwei Kategorien des Typ-1-Diabetes mellitus: Autoimmun-vermittelten Typ-1A-Diabetes mit Nachweis von Betazell-Autoantikörpern und „idiopathischen“ Typ-1B, der durch fehlenden Antikörpernachweis und den Ausschluss von bekannten, monogenetischen Diabetesformen (MODY) charakterisiert ist. Diese Studie soll erstmals eine pädiatrische Kohorte mit idiopathischem Typ-1B-Diabetes mellitus bezüglich klinischer und biochemischer Parameter im Vergleich zu Autoantikörper-positiven, gematchten Kontrollen, charakterisieren. **Methodik:** Insgesamt 31 Patienten von insgesamt 635 kontinuierlich betreuten Kindern und Jugendlichen mit Diabetes erfüllten die klinischen Kriterien für „idiopathischen“ Typ-1B-Diabetes mit 1) fehlendem Nachweis von Autoantikörpern innerhalb der ersten 12 Monate nach Manifestation (IA-2A, GAD65A oder ICA), 2) fehlendem Nachweis von monogenetischem Diabetes (Gene: GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, HNF1B-Deletion) sowie 3) Ausschluss von neonatalem Diabetes (Manifestation < 6 Monate), sekundärem Diabetes, Insulinresistenz (Insulinbedarf > 2 IE/kg/d) oder klinischen Syndromen. Aus einer Kontrollkohorte von 274 Patienten mit Nachweis von IA-2A und/oder GAD65A bei Manifestation wurden mittels retrogradem 2:1 Matching (Kriterien: 1. Geschlecht, 2. Alter bei Manifestation) 62 Kontrollen (Typ-1A-Kohorte) gewählt und deren prospektiv dokumentierte Verlaufsdaten (DPV-Datenbank) im Vergleich zur Typ-1B-Kohorte analysiert. **Ergebnisse:** Kinder und Jugendliche mit Typ-1B-Diabetes mellitus zeigten keinen signifikanten Unterschied der klinischen Parameter bei Manifestation (Mittelwerte Typ-1B vs. Typ-1A: initialer pH 7,32 vs. 7,26; Hyperglykämie: 484 vs. 489 mg/dl; HbA1c 12,4 vs. 11,5%). Beide Kohorten unterschieden sich auch innerhalb der ersten 24 Monate nach Manifestation (Analysen nach 3, 6, 12, 18, 24 Monaten) nicht signifikant bez. HbA1c-Verlauf und Insulinbedarf (U/kg/d). Lediglich der BMI-SDS war nach 12 bzw. 24 Monaten in der Typ-1B-Kohorte signifikant niedriger (Typ-1B vs. Typ-1A, 12 Monate: 0,15 vs. 0,64, p = 0,014; 24 Monate: 0,21 vs. 0,64; p = 0,022). **Schlussfolgerungen:** In dieser pädiatrischen Kohorte mit Typ-1B-Diabetes besteht kein wesentlicher klinischer Unterschied in den Manifestationsparametern oder in klinischen Parametern zum Diabetesverlauf (HbA1c, Insulinbedarf) innerhalb der ersten 24 Monate. Diabetes Typ-1B mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter kann daher nicht nach klinischen Kriterien von Typ-1A abgegrenzt werden. Bisherige Analysen in Erwachsenen Patienten mit idiopathischem bzw. AK-negativem Diabetes zeigten, dass unter der Diagnose des Typ-1B-Diabetes mellitus unterschiedliche Pathogenesen zusammengefasst sind, im wesentlichen 1. autoimmun-vermittelter Diabetes ohne Nachweis etablierter Betazell-Autoantikörper und 2. monogenetische Diabetesformen, die zuvor in diesen Patientengruppen nicht untersucht worden waren.

### Ernährungsverhalten im ersten Lebensjahr bei Kindern von Müttern mit und ohne Typ-1-Diabetes: Ergebnisse der TEDDY (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young)-Studie

Hummel S<sup>1</sup>, Schoen S<sup>1</sup>, Norris JM<sup>2</sup>, Virtanen SM<sup>3</sup>, McLeod W<sup>4</sup>, Andren-Aronsson C<sup>5</sup>, Gesualdo P<sup>2</sup>, TEDDY Study Group

<sup>1</sup>Institut für Diabetesforschung, München, Deutschland, <sup>2</sup>University of Colorado at Denver, Denver, USA, <sup>3</sup>University of Tampere, National Public Health Institute, Tampere, Finnland, <sup>4</sup>University of South Florida, Tampa, USA, <sup>5</sup>Lund University, Malmö, Schweden

**Fragestellung:** Die frühkindliche Ernährung wird als möglicher Einflussfaktor für die Entstehung von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes (T1D) diskutiert. Nationale und internationale Fachkommissionen empfehlen, Säuglinge während der ersten 6 Monate ausschließlich zu stillen. Erst kürzlich konnte die deutsche BABYDIAB Studie zeigen, dass Mütter mit T1D seltener und kürzer stillen als Mütter ohne T1D. Im Rahmen der internationalen TEDDY-Studie sollte dieser Befund geprüft sowie der Einfluss einer mütterlichen T1D-Erkrankung auf die Einführung von Beikost während des ersten Lebensjahres untersucht werden. **Methodik:** Die TEDDY-Studie wird von 3 Zentren in USA (Denver, Seattle, Georgia/Florida) und 3 Zentren in Europa (Finnland, Schweden, Deutschland) durchgeführt mit dem Ziel, Umweltfaktoren zu identifizieren, die in Abhängigkeit von genetischer Belastung Inselautoimmunität und T1D verursachen. Insgesamt wurden bislang 4207 Kinder mit erhöhtem genetischen Risiko in die Studie eingeschlossen, von denen 2343 bereits über ein Jahr lang nachverfolgt und in diese Analyse eingeschlossen wurden. Darunter haben 96 eine Mutter mit T1D, 151 eine nicht-diabetische Mutter, jedoch einen Vater und/oder ein Geschwister mit T1D und bei 2096 Kindern war kein erstgradiges Familienmitglied an T1D erkrankt. Von allen Kindern wurden in 3-monatlichen Abständen Informationen zur frühkindlichen Ernährung gesammelt. **Ergebnisse:** Kinder von Müttern mit T1D werden seltener (80,2% vs. 85,9% der Kinder mit einem anderen an T1D erkrankten Familienmitglied und 84,6% der Kinder aus der Allgemeinbevölkerung) und kürzer gestillt. Während der ersten vier Lebenswochen erhielten 28,1% (SE 2,4) der Kinder von Müttern mit T1D ausschließlich Muttermilch im Vergleich zu 47,7% (SE 2,8) der Kinder mit einem anderen an T1D erkrankten Familienmitglied und 43,3% (SE 0,7) der Kinder aus der Allgemeinbevölkerung ( $p < 0,001$ ). Auch die gesamte Stilldauer war bei Kindern von Müttern mit T1D kürzer ( $p < 0,01$ ). Während der ersten 4 Lebenswochen erhielten bereits 64,9% (SE 2,9) der Kinder von Müttern mit T1D Kuhmilchhaltige Beikost vs. 49% (SE 2,9) der Kinder mit einem anderen an T1D erkrankten Familienmitglied und 54,5% (SE 0,7) der Kinder aus der Allgemeinbevölkerung ( $p < 0,001$ ). Im Gegensatz dazu erhielten Kinder der Allgemeinbevölkerung früher glutenhaltige Beikost: im 5. Lebensmonat erhielten 65,5% (SE 0,8) der Kinder der Allgemeinbevölkerung glutenhaltige Beikost vs. 37,6% (SE 4,3) der Kinder von Müttern mit T1D vs. 42,3% (SE 3,6) der Kinder mit einem anderen an T1D erkrankten Familienmitglied ( $p < 0,001$ ). **Schlussfolgerung:** Diese Ergebnisse bestätigen frühere Befunde, dass Mütter mit T1D seltener und kürzer stillen im Vergleich zu gesunden Müttern. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Mütter mit T1D früher Kuhmilchhaltige Beikost einführen, dass jedoch in Familien mit einem an T1D erkrankten Familienmitglied glutenhaltige Beikost später eingeführt wird im Vergleich zu gesunden Familien.

Freie Vorträge: Prävention, Schulung, Gestationsdiabetes, Psychologie

### Langfristige Effektivität eines neuen Schulungs- und Behandlungsprogramms für insulinpflichtige Diabetiker mit Hypoglykämieproblemen (HyPOS) auf die Inzidenz schwerer Hypoglykämien

Hermanns N<sup>1</sup>, Kulzer B<sup>1</sup>, Kubiak T<sup>2</sup>, Krichbaum M<sup>1</sup>, Haak T<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Bad Mergentheim (FIDAM), Bad Mergentheim, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Greifswald, Greifswald, Deutschland

**Einleitung:** Die bisherigen Evaluationsdaten von HyPOS (Hypoglykämien – positives Selbstmanagement) – einem strukturierten Schulungs- und Behandlungsprogramms für insulinpflichtige Diabetiker mit Hypoglykämieproblemen (5 Kurseinheiten) – zeigen, dass die Teilnahme an HyPOS im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (RCT) nach 6 Monaten zu einer verbesserten Hypoglykämiewahrnehmung und signifikant weni-

ger milden Unterzuckerungen führte. In dieser Studie wurde nun der langfristige Effekt (2 Jahre) bezogen auf den harten Endpunkt schwere Hypoglykämie (Kriterium: Behandlung mit Glucose und/oder Glukagoninjektionen) untersucht. **Methodik:** Von der ursprünglichen Stichprobe konnten 2 Jahre nach Studienende (t3) immerhin noch 82,3% der Teilnehmer nachuntersucht werden (KG 82,5% vs. HyPOS 82,1%  $p=,95$ ): 135 Typ-1-Diabetiker (69 HyPOS, 66 KG); HbA1c  $7,3 \pm 0,9\%$ ; Diabetesdauer  $21,6 \pm 11,0$  J., Alter  $46,0 \pm 12,8$  J. Die mittlere Nachbeobachtungszeitraum hinsichtlich schwerer Hypoglykämien war in beiden Untersuchungsgruppen nahezu identisch (KG  $24,5 \pm 2,7$  vs. HyPOS  $24,3 \pm 3,2$  Monate  $p=,62$ ). Die Patienten bearbeiteten dieselben Fragebögen zur Hypoglykämiewahrnehmung und Anzahl schwerer Hypoglykämien, wie in der Interventionsstudie. **Ergebnisse:** Die Anzahl schwerer Unterzuckerungen reduzierte sich bei HyPOS (t1: 0,87, t3: 0,14 Ereignisse pro Patientenjahr) signifikant stärker ( $p=,04$ ) als in der KG (t1:0,87, t3:0,27 Ereignisse pro Patientenjahr). Auch der Anteil von Personen mit schweren Hypoglykämien reduzierte sich in der HyPOS-Gruppe signifikant ( $p=,035$ ) stärker (HyPOS t1: 37%, t3: 13%; KG t1: 40,9%, t3: 27,3%). Die odds ratio einer schweren Hypoglykämie betrug bei HyPOS im Vergleich zur KG 0,4 (0,16 – 0,96  $p=,04$ ) – damit reduzierte sich das Risiko für das Auftreten einer schweren Unterzuckerung für die Teilnehmer von HyPOS im Vergleich zur KG um 60%. Die Verlauf der glykämische Kontrolle war in beiden Gruppen vergleichbar (HyPOS t1:  $7,2 \pm 0,9$ , t3:  $7,1 \pm 0,9\%$ ; KG t1:  $7,4\% \pm 1,0$ , t3:  $7,3 \pm 1,1$ ;  $p=,84$ ). **Diskussion:** Schwere Hypoglykämien stellen für insulinbehandelte Diabetiker eine hohe Belastung und ein Gefährdungspotential dar. Sie verursachen darüber hinaus hohe Gesundheitskosten, da ihre Behandlung sehr häufig im Rahmen eines Notfalleinsatzes erfolgt. Durch die Teilnahme an HyPOS konnte die Anzahl schwerer Unterzuckerungen auch im Verlauf von 2 Jahre in einem klinisch relevanten Ausmaß signifikant gesenkt werden, ohne dass dies mit einer Verschlechterung der glykämischen Kontrolle einhergeht. Insgesamt lag die Prävalenz schwerer Hypoglykämien nach Teilnahme an der HyPOS Schulung in etwa auf dem Niveau, welches für Typ-1-Diabetiker ohne Hypoglykämieproblematik erwartbar ist.

### Wie gut eignet sich der WHO 5 Fragebogen zum Wohlbefinden für ein Depressionscreening?

Kulzer B<sup>1</sup>, Hermanns N<sup>1</sup>, Krille S<sup>2</sup>, Haak T<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Bad Mergentheim (FIDAM), Bad Mergentheim, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Bamberg, Bamberg, Deutschland

**Einleitung:** Depressionen gehören zu den häufigsten psychischen Begleiterkrankungen des Diabetes mellitus und treten bei Menschen mit Diabetes etwa doppelt so häufig auf wie in der Allgemeinbevölkerung. Da depressive Diabetiker in Hinblick auf die Selbstbehandlung, Lebensqualität, glykämische Kontrolle, dem Auftreten von Folgeerkrankungen und Mortalität eine ungünstige Prognose aufweisen, wird in den nationalen und internationalen Behandlungsleitlinien die frühzeitige Identifikation von Depressionen gefordert. In der klinischen Praxis werden allerdings nur 25% – 50% aller depressiven Diabetiker identifiziert. Daher soll in dieser Untersuchung geprüft werden, ob durch den Einsatz eines kurzen Screeninginstrumentes – dem WHO 5 Fragebogens zum Wohlbefinden (WHO 5) – die Identifikation depressiver Diabetiker verbessert werden kann. **Methodik:** An dieser Studie nahmen 253 Diabetiker (Alter  $54,3 \pm 14,0$  J.; 32,0% Typ-1-Diabetiker; 55,2% weiblich; HbA1c 8,6%) teil. Diese Patienten bearbeiteten zu Beginn eines stationären Aufenthaltes den WHO 5. Dieses Instrument besteht aus 5 positiv formulierten Fragen, die sich auf das Wohlbefinden in den zurückliegenden zwei Wochen beziehen. Bei jeder dieser Fragen kann einen Maximalscore von 5 („die ganze Zeit“) und ein Minimalscore von 0 („nie“) erreicht werden. Ein Gesamtscore von 25 weist auf ein optimales, ein Minimalscore von 0 auf ein sehr geringes psychisches Wohlbefinden hin. Das Vorliegen einer depressiven Begleiterkrankung wurde nach einer standardisierten Eingangsuntersuchung von geschulten „Fachpsychologen DDG“ entsprechend den ICD-Kriterien gestellt. Die Screeningeigenschaften des WHO 5 wurden mittels einer Receiver Operating Curve (ROC) analysiert. **Ergebnis:** Die Prävalenz einer klinischen depressiven Störung (F30 – F39) war mit 9,1% auch in dieser Stichprobe gegenüber der Allgemeinbevölkerung erhöht. Die Fläche unter der ROC des WHO 5 betrug  $,81$  ( $p < ,01$ ). Somit ist die Screeningeigenschaft des WHO 5 signifikant besser als eine Zufallsklassifikation. Die graphische Analyse der ROC legt in Übereinstimmung mit der Literatur einen optimalen Cut-Off Score von 12 nahe. Hier sind Sensitivität (100%) und Spezifität (60%) in einem optimalen Verhältnis. Der positive prädiktive Wert lag bei 19,7%, der negative prädiktive Wert betrug 100%. **Schlussfolgerung:** Der WHO 5 zeigt sehr gute Screeningeigenschaften zur frühzeitigen Identifikation

von Diabetikern mit depressiven Erkrankungen. Aufgrund seiner Kürze und einfachen Auswertbarkeit ist der WHO 5 für die klinische Praxis sehr gut geeignet. Die Integration dieses Fragebogens in die Behandlungseleitlinien und den „Gesundheitspass Diabetes“ ist auf dem Hintergrund dieser Ergebnisse und der klinischen Relevanz depressiver Störungen bei Diabetikern äußerst begrüßenswert.

21

### 6-Monats-Follow-up des PRAEDIAS-Programmes zur Prävention des Typ-2-Diabetes auf der Basis einer Lebensstiländerung

*Kulzer B<sup>1</sup>, Hermanns N<sup>1</sup>, Gorges D<sup>1</sup>, Schwarz P<sup>2</sup>, Haak T<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Bad Mergentheim (FIDAM), Bad Mergentheim, Deutschland,  
<sup>2</sup>Universitätsklinikum Carl Gustav Carus Dresden,  
 Medizinische Klinik und Poliklinik III, Dresden, Deutschland

**Einleitung:** Auf der Basis des amerikanischen DPP-Programmes zur Prävention des Typ-2-Diabetes wurde ein verhaltensorientiertes Gruppenbehandlungsprogramm zur primären Prävention des Typ-2-Diabetes (PRÄDIAS) entwickelt. Es zielt auf eine Veränderung des Lebensstils in Bezug auf eine Ernährungsmodifikation, Gewichtsabnahme und vermehrter körperlicher Bewegung ab. Im Rahmen einer prospektiven, randomisierten Evaluationsstudie in Würzburg, Bad Mergentheim, Erlangen und Dresden wird dieses Interventionsprogramm getestet. Erste Daten der 6. Monatskatalogese, dieser auf einen Follow-up-Zeitraum von 12 Monaten angelegte Studie, werden berichtet. **Methodik:** PRAEDIAS ist ein multimodales Gruppenprogramm zur Lebensstiländerung mit 8 Kursstunden über einen Zeitraum von 2 Monaten mit anschließender 10-monatiger Nachbetreuung, 4 Gruppentreffen und Begleitmaßnahmen. Verglichen wurde diese Intervention mit einer Kontrollgruppe (KG), welche eine schriftliche Instruktion zur Diabetesprävention erhielt. Die zentrale Outcomevariable für die Evaluation ist die Gewichtsentwicklung. An der Studie teilnehmen konnten Personen im Alter von 20–70 Jahre mit einer gestörten Glucosetoleranz und/oder gestörten Nüchtern-glucose. **Ergebnisse:** 182 Risikopersonen (Alter 56,5 ± 10,1 Jahre; 42,9% weiblich; BMI 31,4 ± 5,2 kg/m<sup>2</sup>; Nüchtern-glucose 105,5 ± 12,5 mg/dl, Taillenumfang 106,9 ± 12,8 cm; HbA1c 5,7 ± 0,5%) wurden randomisiert. Zur Baseline ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen PRAEDIAS und der KG hinsichtlich dieser medizinischen und demographischen Variablen. Nach 6 Monaten hatte sich das Gewicht in PRÄDIAS (BMI -1,4 kg/m<sup>2</sup>) im Vergleich zur KG (BMI -0,6 kg/m<sup>2</sup>) signifikant (p = .001) verringert, ebenfalls der Taillenumfang (PRÄDIAS -4,9 cm vs. KG -1,9 cm; p = .006). Der HbA1c Wert verringerte sich bei PRÄDIAS um -0,1%, während er sich in der KG um 0,05% erhöhte (p = .016). Die Nüchtern-glucose reduzierte sich bei PRÄDIAS um -5,1 mg/dl im Vergleich zur KG (-3,2 mg/dl; p = .20). **Schlussfolgerung:** Die erste Zwischenauswertung des Präventionsprogrammes PRAEDIAS (6-Monats -Follow-up) zeigt, dass mit dem Programm im Vergleich zur KG ein relevanter Effekt bezüglich des Gewichtsverlauf und dem Taillenumfang erzielt werden konnte. Die Ergebnisse in Hinblick auf den HbA1c Wert deuten auch darauf hin, dass der Kohlenhydratstoffwechsel kurzfristig positiv beeinflusst werden konnte.

22

### Postpartale Glucosetoleranztests nach Schwangerschaften mit Gestationsdiabetes basierend auf Risikofaktoren

*Siepert J<sup>1</sup>, Hartmann R<sup>1</sup>, Kleinwechter H<sup>2</sup>, Demandt N<sup>2</sup>, Sorger M<sup>3</sup>, Vetter K<sup>4</sup>, Schäfer-Graf U<sup>4</sup>*  
<sup>1</sup>Vivantes Klinikum Neukölln, Klinik für Geburtsmedizin, Berlin, Deutschland, <sup>2</sup>Diabetologikum, Kiel, Deutschland,  
<sup>3</sup>Universitätsklinikum, Bonn, Deutschland, <sup>4</sup>Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin, Deutschland

**Ziel:** Die Prävalenz von postpartalem Diabetes nach Gestationsdiabetes (GDM) variiert zwischen 3–24%. Eine Durchführung der postpartalen Glucosetoleranztests (ppOGTT) beschränkt auf Frauen mit hohem Risiko würde die Compliance und die Kosteneffektivität verbessern. Ziel unserer Studie war es, ein Modell zur Risikoeinschätzung für persistierenden Diabetes mellitus zu entwickeln. **Methodik:** Bei 605 Frauen mit GDM wurden prospektiv maternale antenatale und den Diabetes betreffende Daten (und Glucosewerte der ppOGTTs) erhoben. **Ergebnisse:** Insgesamt hatten 132 (21,9%) der Frauen einen pathologischen ppOGTT. Es bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Frauen mit normalem und pathologischem ppOGTT bezüglich des mütterlichen BMI, des Gestationsalters (GA) bei Diagnose, der Glucosewerte der antenatalen OGTTs, des GA bei Geburt, der Notwendigkeit einer Insulintherapie und der neona-

taler Makrosomie. In einer Multivarianzanalyse fanden wir 4 unabhängige Risikofaktoren: BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>, GA bei Diagnose < 24 Wochen, 1 h-Werte > 200 mg/dl und die Notwendigkeit einer Insulintherapie. Die Prävalenz von pathologischen ppOGTTs wurde unter Einbeziehung der Anzahl der Risikofaktoren (RF) evaluiert: 0 = 9,2% (14/153), 1 = 13,4% (25/186), 2 = 28,5% (43/151), 3 = 45,6% (26/57), 4 = 68% (13/19). Würden ppOGTTs auf Frauen mit ≥ 2RF beschränkt (40% der Studienteilnehmerinnen), müsste mit 36,1% pathologischen oGTTs gerechnet werden, während das Risiko bei Frauen mit < 2RF nur bei 11% liegt. Die Stratifizierung in Risikogruppen ergab eine OR von 1.3 in der low-risk Gruppe mit RF < 2 (59,9%), von 4.0 in der intermediate-risk Gruppe mit RF = 2 (26,7%) und 10.5 in der high-risk Gruppe mit RF > 2 (13,4%). **Zusammenfassung:** Wenn ppOGTTs auf Frauen mit ≥ 2RF beschränkt würden, könnten oGTTs bei 60% der Frauen eingespart werden und dennoch die Mehrzahl der Frauen mit postpartaler Glucoseintoleranz erkannt werden.

23

### Maternal lipids as strong determinants of fetal environment and growth in pregnancies with gestational Diabetes mellitus

*Schäfer-Graf U<sup>1</sup>, Graf K<sup>2</sup>, Kjos S<sup>3</sup>, Dudenhausen J<sup>4</sup>, Vetter K<sup>1</sup>, Stenzel D<sup>1</sup>, Herrera E<sup>5</sup>*  
<sup>1</sup>Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin, Deutschland,  
<sup>2</sup>Deutsches Herzzentrum Berlin, Berlin, Deutschland, <sup>3</sup>UCLA Harbor Medical Center, Torrance, USA, <sup>4</sup>Charité, Berlin, Deutschland, <sup>5</sup>Universidad San Pablo-CEU, Madrid, Spanien

**Aim:** To determine the potential contribution of maternal glucose and lipids to intrauterine metabolic environment and fetal growth in pregnancies with gestational diabetes (GDM). **Methods:** In 150 pregnancies, serum triglycerides (TG), cholesterol, free fatty acids (FFA), glycerol, insulin and glucose were determined in maternal serum during 3rd trimester and cord blood. Maternal glucose values came from the oGTT and glucose profiles. Measurements of the fetal abdominal circumference (AC) were performed simultaneously with maternal blood sampling and birth weight, BMI and neonatal fat mass were obtained post delivery. **Results:** Maternal TG and FFA correlated significantly with fetal AC size (at 28 weeks: TG: p = 0.001; FFA: p = 0.02) and at delivery with all anthropometric measures of newborns (for FFA: birth weight: p = 0.002; BMI: p = 0.001; fat mass: p = 0.01). After adjustment for confounding variables maternal FFA and TG at delivery remained as the only parameters independently related to LGA (p = 0.008, p = 0.04). Maternal FFA levels were significantly higher in those with LGA than AGA newborns (362.8 ± 101.7 vs. 252.4 ± 10.1, p = 0.002). Maternal levels of TG, FFA, and glycerol at delivery correlated significantly with those in cord blood (p = 0.003; p = 0.004; p = 0.005). Fetal TG and cholesterol levels were significantly negatively correlated with newborn birth weight (p = 0.001), BMI (p = 0.004;) and fat mass (p = 0.001). TG were significantly higher in SGA compared to AGA or LGA newborns while insulin/glucose ratio and FFA were the highest in LGA. **Conclusion:** In well controlled GDM pregnancies, maternal lipids are strong predictors for fetal lipids and fetal growth. Infants with abnormal growth seem to be exposed to a distinct intrauterine environment compared to those with appropriate growth.

24

### Bewegung macht Schule – Umsetzbarkeit der Bewegungsschulung DiSko für Typ-2-Diabetiker

*Siegrist M<sup>1</sup>, Borchert P<sup>2</sup>, Klare WR<sup>2</sup>, Zimmer P<sup>2</sup>, Halle M<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Lehrstuhl für Präventive und Rehabilitative Sportmedizin, München, Deutschland, <sup>2</sup>AG Diabetes und Sport der DDG, Ingolstadt, Deutschland

**Fragestellung:** Zahlreiche internationale Studien zeigen, dass regelmäßige körperliche Aktivität zur dauerhaften Gewichtsreduktion und zur Senkung kardiovaskulärer Risikofaktoren bei Typ-2-Diabetikern führen kann. Dennoch bewegen sich viele Typ-2-Diabetiker zu wenig. Deshalb wurde eine einmalige erlebnisorientierte Bewegungsschulung DiSko (wie Diabetiker zum Sport kommen) in Ergänzung zu herkömmlichen Diabetes-Patienten-Schulungsprogrammen entwickelt, deren Kernstück ein 30-minütiger, ärztlich geführter Spaziergang mit Blutzucker- und Hf-Messung ist, wodurch die Patienten die positiven Auswirkungen von Bewegung unmittelbar erleben können. Diese Schulungen werden seit 2003 deutschlandweit durchgeführt. Es stellt sich die Frage, inwieweit diese Schulung bei Patienten langfristig gesundheitliche Verbesserungen hervorrufen kann und inwieweit die Schulungen von den ausgebildeten Referenten im Schulungsalltag umgesetzt werden können. **Methodik:** Im ersten Schritt wurde die Wirksamkeit und



Nachhaltigkeit dieser einmaligen Bewegungsschulung in einer kontrollierten und longitudinalen Studie über 12 Monate bei 92 nichtinsulinpflichtigen Typ-2-Diabetikern (18-75. Lebensjahr) aus 11 Diabetes-Schwerpunkt-Praxen anhand anthropometrischer Daten (Größe, Gewicht, Bauch- und Hüftumfang, Blutdruck), klinisch-chemischer Risikoparameter, körperlicher Leistungsfähigkeit (6-min-Gehtest), körperlicher Aktivität (Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität) und Lebensqualität (SF 36-Fragebogen) überprüft. Im zweiten Schritt wurde bei allen bisher geschulten DiSko-Referenten (n = 1200) die Akzeptanz und Umsetzbarkeit der DiSko-Schulung per Fragebogen erhoben. **Ergebnisse:**

1. Patienten mit DiSko-Schulung zeigten nachfolgend eine deutlich höhere körperliche Aktivität (von  $5,9 \pm 6,2$  auf  $9,8 \pm 8,0$  h/Woche,  $p < 0,001$ ) und damit verbunden einen Anstieg der körperlichen Leistungsfähigkeit um ca. 50 m auf  $505 \pm 129$  m im 6-Minuten-Gehtest ( $p < 0,001$ ).
2. Es kam zu einer Reduktion des Körpergewichts um  $1,5 \pm 4$  kg ( $p = 0,008$ ) und zu einer verbesserten subjektiven Einschätzung des eigenen Körperzustandes ( $p = 0,020$ ).
3. Von den 1200 bisher geschulten DiSko-Referenten konnten 1150 Personen per Post erreicht werden und 245 Personen gaben eine Rückmeldung. 90% der DiSko-Referenten fanden Inhalte und Curriculum der DiSko-Schulung gut bzw. sehr gut. Die Umsetzbarkeit des erlebnisorientierten Spaziergangs wurde von 80% als gut bis sehr gut eingestuft. 86% gaben an, dass die Schulung von den Patienten gut oder sehr gut angenommen wurde.
4. Von den 245 Referenten wurden ca. 12.000 Typ-2-Diabetiker hinsichtlich Bewegung geschult.

**Schlussfolgerungen:** Im Rahmen der ersten Evaluation konnte gezeigt werden, dass die DiSko-Schulung eine effektive Maßnahme ist, um die körperliche Aktivität und Leistungsfähigkeit von Typ-2-Diabetikern zu erhöhen. Die Evaluation der Schulung selbst zeigte eine gute Akzeptanz und Umsetzbarkeit der Schulung, die sich in einer hohen Zahl geschulter Typ-2-Diabetiker widerspiegelt.

25

### Prädiktoren der Depressivität bei Diabetikern mit diabetischer Neuropathie

*Kulzer B<sup>1</sup>, Hermanns N<sup>1</sup>, Starke S<sup>1</sup>, Haak T<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Bad Mergentheim (FIDAM), Bad Mergentheim, Deutschland

**Einleitung:** Die diabetische Neuropathie (dPNP) weist eine hohe Korrelation zur Depression auf. Neben bekannten Risikofaktoren für eine erhöhte Depressivität bei Diabetikern, können neuropathische Missempfindungen bzw. deren negative Auswirkungen auf das Wohlbefinden und tägliche Aktivitäten für eine erhöhte Depressivität verantwortlich sein. Ziel dieser Studie ist die Analyse des Zusammenhanges zwischen Depressivität und dPNP. **Methode:** 211 Diabetiker (Alter  $50,8 \pm 14,4$  Jahre; 46% weiblich; 44% Typ-2-Diabetes; Diabetesdauer  $15,0 \pm 11,7$  Jahre; HbA1c  $9,1 \pm 1,7\%$ ) bearbeiteten im Rahmen eines stationären Aufenthaltes einen Depressionsfragebogen (Allgemeine Depressionsskala, ADS) und die deutsche Fassung des „Neuropathy and foot ulcer specific Quality of life instrument“ (NeuroQol) zur Erfassung von neuropathiespezifischen Symptomen und neuropathiebezogener Lebensqualität (5 Skalen: 1. Missempfinden ( $\alpha = 0,92$ ), 2. Sensibilitätsdefizite ( $\alpha = 0,78$ ), 3. sensorische Symptome ( $\alpha = 0,84$ ), 4. emotionale Belastungen ( $\alpha = 0,96$ ), 5. Einschränkungen der Alltagsaktivität ( $\alpha = 0,95$ ). Zur relativen Bedeutung der verschiedenen Risikofaktoren für das Vorhandensein depressiver Symptome wurde eine hierarchische, schrittweise Regressionsanalyse durchgeführt (abhängige Variable: Depressionsscore). In einem ersten Schritt wurden die bisher bekannten Risikofaktoren für Depressivität bei Diabetikern (Geschlecht, Alter, BMI, HbA1c, Anzahl der Komplikationen), in einem zweiten Schritt die neuropathischen Symptome (Skalen 1,2,3) und in einem dritten Analyseschritt neuropathiebedingte Aktivitätseinschränkungen und emotionale Belastungen (Skala 4,5) in das Regressionsmodell einbezogen. **Ergebnisse:** Die Prävalenz der dPNP betrug 38,5% – von diesen Patienten wiesen 48% eine erhöhte Depressivität auf. Die klassischen und diabetesspezifischen Risikofaktoren für Depressivität konnten 12,8% der Depressivität erklären. Der Anteil der erklärten Varianz erhöhte sich durch Integration der neuropathischen Symptome um weitere 7,1% auf 19,7%. Die Einbeziehung neuropathiebedingter Aktivitätseinschränkungen und emotionaler Belastungen erhöhte die erklärte Varianz um weitere 15%, so dass insgesamt eine Varianzaufklärung von  $R^2 = 34,7\%$  erzielt werden konnte. **Schlussfolgerung:** Fast die Hälfte aller Diabetespazienten mit einer dPNP wiesen eine erhöhte Depressivität auf. Neuropathiespezifische Faktoren wie Neuropathiesymptome, emotionale Belastungen sowie Einschränkungen der Alltagsakti-

26

### Psychologische Aspekte in der BABYDIAB Studie: 11 Jahresuntersuchung

*Roth R<sup>1</sup>, Schiretz V<sup>1</sup>, Hummel M<sup>2</sup>, Ziegler A<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Universität Graz, Graz, Österreich, <sup>2</sup>Institut für Diabetesforschung, TU München, Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, München, Deutschland, <sup>3</sup>Institut für Diabetesforschung, TU München, München, Deutschland

**Fragestellung:** Die BABYDIAB Studie ist eine Longitudinalstudie zum Typ-1-Diabetes, in der Kinder aus Familien mit erstgradig Verwandten mit Diabetes von der Geburt an über einen Zeitraum von 15 Jahren beobachtet werden. In regelmäßigen Abständen werden die Kinder auf Antikörper untersucht. Zum 5- und 11-Jahresscreening wurden auch psychologische Variable erhoben: die Angst vor der Blutabnahme (zur Antikörperbestimmung) und nach der Ergebnismittelteilung (Antikörper positiv/negativ) mittels der Kurzform des STAI (Marteau & Bekker, 1992), der Locus of Control (internal, external Medizin, external Glück und Zufall), das psychische Wohlbefinden (Bradley, 1994) und das Copingverhalten (Rathner & Zangerle, 1996). Wesentliche Fragestellung war, ob sich in den Jahren zwischen dem 5- und 11- Jahres Screening Veränderungen im Antikörperstatus der Kinder ergeben und wie die Eltern dies verarbeiten. **Methodik:** Es lagen insgesamt Fragebögen von 285 Eltern vor (mittleres Alter der Mütter 42,31, der Väter 44,31 Jahre), deren Kinder am 11. Jahre BABYDIAB Follow-Up teilnahmen. Einige Kinder wiesen bereits vorher diabetesspezifische Antikörper auf. Die Daten wurden mehrheitlich varianzanalytisch verrechnet. **Ergebnisse:** Vor der Blutabnahme war die Angst hoch und nahm nach der Befundmittelteilung ab. In Abhängigkeit vom Antikörperstatus zeigten Eltern von Antikörper positiven Kindern, einen stärkeren Angstanstieg, aber auch 26% der Eltern von Antikörper negativen Kindern reagierten mit erhöhter Angst. Vor der Blutuntersuchung wurde häufiger Problemlösen als Copingstrategie angegeben als Ablenkung, Problemlösen nahm nach der Befundmittelteilung ab. Eltern von antikörperpositiven Kindern gaben mehr Copingbemühungen an, als Eltern von Antikörper negativen Kindern. Generell berichteten die Eltern von mehr positivem Wohlbefinden und positiver Energie als von Depression und Angst. Die Kontrollüberzeugungen in Hinblick auf die Entwicklung einer Diabeteserkrankung waren internal ausgeprägt, die Eltern glaubten, selbst etwas zur Verhinderung beitragen zu können. An Glück und Zufall wurde kaum geglaubt, die Überzeugung, dass die Medizin etwas bewirken kann liegt dazwischen. Zwischen dem 5 und 11. Jahres Screening konnten keine Unterschiede in der Angst, in Abhängigkeit vom Geschlecht der Eltern, dem Antikörperstatus oder dem Zeitpunkt festgestellt werden. **Schlussfolgerung:** Die Angst vor der Blutabnahme zur Feststellung der Antikörper steigt jedes Mal stark an, sie scheint nicht zu habituieren, wie der Vergleich zwischen dem 5- und 11-Jahresscreening zeigt. Als Reaktion auf die Befundmittelteilung steigt zwar die Angst im Mittel bei Eltern von Antikörper positiven Kindern stärker an als bei Antikörper negativen, paradoxerweise bleibt sie aber bei etwa 50% der Eltern von Antikörper positiven Kindern gleich und steigt bei 26% von Antikörper negativen Kindern an. Insgesamt scheint das Wohlbefinden der Eltern aber positiv zu sein.

27

### Evaluierung eines modularen Schulungskonzeptes für schulungserfahrene Patienten mit insulinbehandeltem Typ 2 Diabetes

*Schulze H<sup>1</sup>, Golla S<sup>1</sup>, Nagel-Reuper C<sup>1</sup>, Nauck MA<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Diabeteszentrum Bad Lauterberg, Bad Lauterberg im Harz, Deutschland

**Einleitung:** Patienten mit Typ 2-Diabetes müssen sich bei Progression der Erkrankung, Eskalation der Therapie-Regime und Einstellungsproblemen wiederholt Schulungsmaßnahmen unterziehen. Das mehrfache Absolvieren eines Basis-Schulungskurses kann langweilig werden oder gar die Motivation mindern. Deshalb wurde ein modulares Schulungskonzept entwickelt, dass bei Schulungs-erfahrenen Patienten mit Typ 2-Diabetes unter Insulintherapie Einzel- oder Doppelstunden zu spezifischen Themen anbietet, die Patienten und das Behandlungsteam Pro-

blem-orientiert auswählen können. Die vorliegende Untersuchung sollte die Wirksamkeit der modularen Schulung mit der einer wiederholten Basis-Schulung bei Patienten mit Typ 2-Diabetes und Insulintherapie, die zur Verbesserung der Stoffwechselfkontrolle stationär behandelt wurden, vergleichen. Es sollte gezeigt werden, dass die Ergebnisse nach modulare Schulung mindestens nicht-inferior ( $\Delta \text{HbA}_{1c} < 0.4\%$ ) zu denen nach wiederholter Basisschulung sind. **Methodik:** Je 75 Patienten mit Typ 2-Diabetes unter Insulintherapie (mehrheitlich ICT) wurden randomisiert einer wiederholten Basisschulung bzw. der modularen Schulung zugeordnet. 71 Patienten besuchten die Basis-Schulung (B), 72 die modulare Schulung (M). Es handelte sich um Männer/Frauen 28/43; 31/42; Alter  $61 \pm 10/62 \pm 8$  J.; BMI  $34.5 \pm 5.9/34.5 \pm 6.2$  kg/m<sup>2</sup>; Diabetesdauer  $15 \pm 9/16 \pm 8$  J.; Insulinbehandlung seit  $7 \pm 6/8 \pm 5$  J.; Insulindosis  $96 \pm 57/93 \pm 67$  IE/d;  $\text{HbA}_{1c}$   $8.7 \pm 1.5/8.1 \pm 1.4\%$ ; Mittelwert  $\pm$  SD). Vor Beginn bzw. nach der Schulung wurden  $\text{HbA}_{1c}$ , Körpergewicht, Wissenstest, der Schulungsaufwand (Stunden), und die Zufriedenheit mit der Schulung erfasst. Außerdem wurden individuell prioritäre Therapieziele festgelegt. Nach einem Jahr wurden  $\text{HbA}_{1c}$  und Körpergewicht ermittelt. Statistik: Varianzanalyse, ggf. für Messwiederholungen. Fisher's exakter Test. **Ergebnisse:** Die Ergebnisse von 62 Patienten nach wiederholter Basisschulungen und 63 Patienten nach Modul-Schulung konnten ausgewertet werden. Der  $\text{HbA}_{1c}$  sank in beiden Gruppen signifikant (Basisschulung  $-0.8 [-1.1/-0.5]\%$ /modulare Schulung  $-0.6 [-0.9/-0.2]\%$ ;  $p < 0.0001$ ; MW  $\pm 95\%$ -Konfidenzintervall), ohne Unterschied zwischen den Gruppen ( $p = 0.48$ ). Die Nicht-Inferioritäts-Kriterien waren erfüllt. Das Gewicht blieb in beiden Gruppen etwa konstant (keine signifikanten Änderungen). Der Schulungsaufwand war bei modularer Schulung signifikant geringer (M:  $10.4 \pm 2.2$  vs. B:  $15.9 \pm 2.5$  h/Aufenthalt,  $p < 0.0001$ ). Dies wirkte sich im Trend im Sinne einer kürzeren Verweildauer aus (M:  $11.9 \pm 3.5$  vs. B:  $13.0 \pm 4.1$  Tage,  $p = 0.074$ ). **Schlussfolgerungen:** Hinsichtlich der Stoffwechsel- und Gewichtskontrolle ist das modulare Schulungskonzept der wiederholten Basisschulung ebenbürtig. Weil der Schulungsaufwand und tendenziell die Verweildauer geringer ausfallen, ist die modulare Schulung für die stationäre Diabetestherapie eine interessante Alternative.

#### Freie Vorträge: Stoffwechsel, Grundlagen

28

#### RAGE deficiency induces a proinflammatory phenotype in bones and osteoblasts through PPAR- $\alpha$ suppression

*Biswas SK<sup>1</sup>, Dutenhoefer F<sup>1</sup>, Li H<sup>1</sup>, Matte D<sup>1</sup>, Igwe JC<sup>1</sup>, Humpert PM<sup>1</sup>, Kasperk C<sup>1</sup>, Nawroth PP<sup>1</sup>, Bierhaus A<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>University of Heidelberg, Department of Medicine I and Clinical Chemistry, Heidelberg, Deutschland

**Aims:** Diabetes mellitus is associated with bone loss, increased fracture rate and reduced bone healing. Accumulation of advanced glycation end products (AGE) and associated overexpression of the receptor for AGE (RAGE) have been implicated in the pathogenesis of bone disease in diabetes. Although the AGE-RAGE interaction is well known for the sustained induction of inflammatory process, the physiologic role of RAGE in bone tissue is not clear. Remarkably, RAGE deficiency induces a proinflammatory phenotype in bones and osteoblasts. Therefore, we aimed to study the mechanism of underlying inflammatory processes in RAGE deficient osteoblasts as well as to reveal the intricate signaling events that link RAGE deficiency and inflammation in bones from RAGE knock-out (RAGE<sup>-/-</sup>) mice. **Methods:** Osteoblasts from wild type (WT, C57BL/6) and RAGE<sup>-/-</sup> mice were transiently transfected with different plasmids and siRNA. Reporter gene assay, western blotting, PCR, immunoprecipitation and chromatin immunoprecipitation techniques were employed to study the expression and interactions of transcription factors and coactivators involved in the signaling pathways. **Results:** The proinflammatory phenotype in the bones and osteoblasts from RAGE<sup>-/-</sup> mice was associated with reduced protein and gene expression and intranuclear translocation of the anti-inflammatory nuclear receptor PPAR- $\alpha$ . Moreover, PPAR- $\alpha$  activation by Wy14643 reversed inflammation in osteoblasts from RAGE<sup>-/-</sup> mice, suggesting that the lack of PPAR- $\alpha$  in RAGE deficiency is responsible for the proinflammatory phenotype. We therefore analyzed the PPAR- $\alpha$  promoter, which contains a series of Sp1 binding sites, to understand the regulation of PPAR- $\alpha$  gene expression. PPAR- $\alpha$  promoter driven reporter gene expression was much lower in RAGE<sup>-/-</sup> osteoblasts compared to WT osteoblasts. In addition, Sp1 overexpression significantly increased PPAR- $\alpha$  promoter activity in WT osteoblasts, but had only marginal effects in RAGE<sup>-/-</sup> osteoblasts. Sequential promoter deletions confirmed the strong Sp1 dependency in WT osteoblasts, which was largely blunted in RAGE<sup>-/-</sup> osteoblasts. However, suppression

of Sp1 by siRNA transfection decreased PPAR- $\alpha$  promoter expression by around 50% in both WT and RAGE<sup>-/-</sup> osteoblasts. Remarkably, endogenous Sp1 gene and protein expression was similar in osteoblasts from WT and RAGE<sup>-/-</sup> mice, suggesting that a cofactor for PPAR- $\alpha$  gene expression is missing in RAGE<sup>-/-</sup> osteoblasts. Noteworthy, preliminary data show that the PPAR- $\alpha$  coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) is markedly reduced in RAGE<sup>-/-</sup> osteoblasts compared to WT osteoblasts. **Conclusions:** RAGE deficiency induces a proinflammatory phenotype in bones and osteoblasts through PPAR- $\alpha$  insufficiency. Transcription factor Sp1 is a strong regulator of PPAR- $\alpha$  expression however this regulation is inadequate in RAGE deficiency most likely due to the absence of an essential cofactor such as PGC-1 $\alpha$ .

29

#### The high mobility group a1 protein – a new regulator of PPARgamma-dependent gene transcription in vascular smooth muscle cells

*Bloch M<sup>1</sup>, Foryst-Ludwig A<sup>1</sup>, Unger T<sup>1</sup>, Kintscher U<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Center for Cardiovascular Research (CCR) Institut für Pharmakologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte, Berlin, Deutschland

**Objectives:** Recently, PPARgamma (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) ligands have been shown to exert deleterious cardiovascular side effects. In order to develop new PPARgamma-ligands with improved clinical safety the molecular basis for PPARgamma-activation in cardiovascular cells has to be understood. The present study aimed to identify new nuclear cofactors for PPARgamma-dependent gene transcription in human aortic smooth muscle cells (HASMC). **Results:** Using an – Oligo GEArray<sup>®</sup> Human Nuclear Receptors and Coregulators Microarray (Superarray<sup>®</sup>) – for gene expression profiling in unstimulated HASMC, we identified the transcriptional regulator and chromatin modifying High Mobility Group (HMG) A1 protein highly expressed in HASMC. PPARgamma-activation by pioglitazone (10  $\mu$ M) resulted in a 2.6-fold induction of HMGA1 protein expression in HASMC assessed by western immunoblotting. PPARgamma-dependent gene regulation was studied by analysis of PMA-induced MMP-9 (matrix metalloproteinase 9) expression  $\pm$  pioglitazone (10  $\mu$ M). PMA (50 ng/ml) stimulated MMP-9 mRNA expression by  $46.3 \pm 22.3$ -fold ( $p < 0.05$  vs. vehicle) which was markedly blocked by pioglitazone (10  $\mu$ M:  $17.4 \pm 4.8$ -fold vs. vehicle,  $p < 0.05$  vs. PMA alone). Pioglitazone also blocked PMA-induced MMP-9 promoter activity by 45% in transactivation assays using a pGL3-MMP-9 2.2 kb construct. To evaluate the role of HMGA1 in PPARgamma-mediated repression of MMP-9, gene silencing experiments with siRNA for HMGA1 were performed. Transfection of HMGA1-siRNA in HEK293 cells resulted in a 80.2% reduction of HMGA1 protein expression. HMGA1 siRNA completely abolished PPARgamma-mediated MMP9-mRNA repression (control siRNA: pioglitazone-mediated MMP-9 regulation:  $-59.3\%$  vs. PMA alone  $p < 0.05$ ; HMGA1 siRNA: pioglitazone-mediated MMP-9 regulation vs. PMA alone:  $+14.7\%$  vs. PMA alone;  $p = n.s.$ ). HMGA1 siRNA also prevented inhibition of MMP-9 promoter activity by PPARgamma activation. **Conclusion:** In summary, the present study identifies HMGA1 as a nuclear cofactor in HASMC. HMGA1 is required for PPARgamma-mediated repression of MMP-9 gene transcription. Ligand-induced HMGA1-PPARgamma interactions might be an important determinant for anti-atherosclerotic actions of PPARgamma-ligands in vascular smooth muscle cells.

30

#### The influence of insulin and glucose on the expression of human insulin degrading enzyme

*Pivovarova O<sup>1</sup>, Rudovich N<sup>2</sup>, Gögebakan O<sup>1</sup>, Osterhoff M<sup>1</sup>, Pfeiffer AFH<sup>2</sup>*  
<sup>1</sup>German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke, Dept. of Clinical Nutrition, Nuthetal, Deutschland, <sup>2</sup>Campus B. Franklin, Charite University Medicine of Berlin, Dept. of Endocrinology and Nutrition, Berlin, Deutschland

**Aims:** Insulin-degrading enzyme (IDE) is thought to play a key role in insulin degradation, and the liver is the main site of insulin clearance. Type 2 diabetes is characterized by decreased insulin clearance. IDE regulation in liver and fat cells is poorly studied, however in brain IDE was shown to be a downstream target of the insulin signaling cascade. The aim of this study was to investigate the IDE regulation by insulin and glucose in vitro in human hepatoma cell culture and in vivo in adipose tissue. **Methods:** Human hepatoma HepG2 cells were incubated in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 10% fetal

calf serum (FCS), 10 µg/ml tavanic and either normal (5,5mM) or high (25mM) concentrations of D-glucose (insulin resistance model). For the experiment cells were maintained in DMEM containing 2% FCS for 24 h and stimulated with 0,1, 1, 10, 100 and 200 nM insulin for 24 h. Then total RNA or total cell lysate were prepared. The IDE mRNA level was determined by real-time PCR, the IDE protein level – by western blotting. To study the IDE regulation in vivo we extracted total RNA from human subcutaneous adipose tissue probes before (-40 min) and after 240 min of hyperinsulinemic euglycemic clamp (EU) or hyperinsulinemic hyperglycemic clamp (HC). Then gene expression analysis was provided using Agilent gene chip microarrays. **Results:** We observed that insulin significantly increased IDE mRNA levels in HepG2 cells by ~15–25% with the concentrations 1–200nM in comparison with control. Treatment of insulin stimulated cells with MAPK kinase inhibitor PD98059, but not PI3K inhibitor wortmannin blocked the insulin effect on the IDE expression. High glucose concentrations also induced the modest increase of IDE expression, with additive effect by the simultaneous insulin treatment. The results of real-time PCR were confirmed by western blotting. Results of microarray analysis were in agreement with cell experiment data: after 240 min of insulin infusion in EU the trend to the increasing of IDE level was observed, and after 240 min of insulin and glucose infusion in HC the effect was more expressed. **Conclusion:** In HepG2 hepatoma cells insulin increases IDE expression through the MAPK signaling pathway. IDE upregulation by both insulin and high glucose concentrations is modest but significant. Microarray data of human subcutaneous adipose tissue demonstrate the same effect after insulin and glucose infusion. The observed changes of IDE expression in liver and adipose tissue may contribute to the regulation of insulin degradation and pathogenesis of type 2 diabetes.

31

### Transport von Metformin durch den renalen Aufnahmetransporter für organische Kationen OCT2: Einfluss von $\beta$ -Blockern

*Bachmakov I<sup>1</sup>, Endess B<sup>1</sup>, König J<sup>1</sup>, Fromm MF<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Erlangen, Deutschland

**Fragestellung:** Die Aufnahme von Arzneistoffen aus dem Blut in die tubulären Nierenzellen ist ein wichtiger Schritt der renale Sekretion und kann somit deren Plasmakonzentrationen und Effekte beeinflussen. *In vitro* und *in vivo* Studien zeigten, dass das orale Antidiabetikum Metformin über ein Transportprotein für organische Kationen (OCT2) in die renalen Tubuluszellen aufgenommen wird. Da viele Patienten mit Diabetes Typ II gleichzeitig mit Metformin und  $\beta$ -Blockern behandelt werden, und die Inhibition von Arzneimitteltransportern ein bekannter Mechanismus von Arzneimittelinteraktionen ist, untersuchten wir die Hypothese, ob  $\beta$ -Blocker den OCT2-vermittelten Arzneimitteltransport hemmen. **Methodik:** Mithilfe von OCT2-exprimierenden MDCKII-Zellen untersuchten wir daher, ob die  $\beta$ -Blocker Bisoprolol, Metoprolol, Carvedilol und Propranolol den Transport der bekannten OCT2-Substrate 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP<sup>+</sup>) und Metformin inhibieren. **Ergebnisse:** Carvedilol und Propranolol hemmten die OCT2-vermittelte MPP<sup>+</sup>-Aufnahme signifikant, während Bisoprolol und Metoprolol keinen wesentlichen Einfluss auf die MPP<sup>+</sup>-Aufnahme hatten. Des Weiteren hemmten alle untersuchten  $\beta$ -Blocker die OCT2-vermittelte Metforminaufnahme mit IC<sub>50</sub>-Werten von 2,4 µM für Bisoprolol, 2,3 µM für Carvedilol, 50,2 µM für Metoprolol und 8,3 µM für Propranolol. **Schlussfolgerung:** Unsere *in vitro* Ergebnisse demonstrieren, dass die Hemmung des OCT2-vermittelten Metformintransportes durch  $\beta$ -Blocker ein möglicher Mechanismus einer Arzneimittelinteraktion in der Niere sein könnte.

32

### Lipoinflammatorische Antwort humaner Koronararterien-Endothelzellen

*Staiger H<sup>1</sup>, Krogmann A<sup>1</sup>, Machicao F<sup>1</sup>, Häring HU<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Innere Medizin IV, Tübingen, Deutschland

**Fragestellung:** Erhöhte Plasmakonzentrationen nicht-veresterter Fettsäuren werden bei Patienten mit Adipositas und Metabolischem Syndrom (MS) häufig beobachtet. Besonders die gesättigten Fettsäuren Palmitat (C16:0) und Stearat (C18:1) werden als potenzielle Mediatoren von Insulinresistenz und  $\beta$ -Zelldysfunktion diskutiert. In Vorarbeiten konnten wir zeigen, dass diese Fettsäuren in verschiedenen humanen Zellen das inflammatorische Gen IL6 induzieren. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die lipoinflammatorische Antwort humaner Koronararterien-Endothelzellen (CAEC) näher zu untersuchen. **Methodik:** Humane

CAEC wurden für 20 h mit Albumin oder mit Albumin-gekoppelter Fettsäure (0,5mM) behandelt. Die Expression inflammatorischer Gene wurde mithilfe von Makroarrays, quantitativer RT-PCR und Western-Blotting analysiert. Die Rolle von NF $\kappa$ B, JNK und p38-MAPK wurde mit pharmakologischen Inhibitoren (SN50, SP600125, SB203580) untersucht. **Ergebnisse:** Die Makroarray-Analyse zeigte, dass Palmitat elf inflammatorische Gene (CCL3, CCL5, CCL20, CXCL2, CXCL3, IL1A, IL6, IL8, CEBPB, SPP1 und SCYE1) induziert und drei inflammatorische Gene (CXCL6, CXCL10 und CXCL11) reprimiert. Von den elf Gen-Induktionsereignissen konnten acht (CCL5, CCL20, CXCL3, IL1A, IL6, IL8, CEBPB und SPP1) mittels RT-PCR verifiziert werden (alle  $p < 0,05$ ,  $n = 3$ , t-Test), die Gen-Repressionen konnten nicht verifiziert werden. Alle verifizierten Gen-Induktionen konnten auch mit Stearat (alle  $p < 0,05$ ,  $n = 3$ , t-Test), nicht aber mit den ungesättigten Fettsäuren Oleat (C18:1 $\omega$ 9) oder Linoleat (C18:2 $\omega$ 6) erzielt werden. CXCL2, für welches keine spezifischen PCR-Primer konstruiert werden konnten, erwies sich im Western-Blot als Stearat-induzierbares Gen. Der NF $\kappa$ B-Inhibitor SN50 blockierte die Palmitat-abhängige Induktion von CCL20, CXCL3 und IL8 (alle  $p < 0,05$ ,  $n = 3$ , t-Test), der JNK-Inhibitor SP600125 hemmte die Induktion von CXCL3, IL1A, IL8, CEBPB und SPP1 (alle  $p < 0,05$ ,  $n = 3$ , t-Test). Inhibierung der p38-MAPK hatte keinen Einfluss auf diese Genregulationen. **Schlussfolgerungen:** Gesättigte, nicht aber ungesättigte langkettige Fettsäuren induzieren eine umfassende inflammatorische Antwort in humanen CAEC. Die Genregulationen sind zum Teil NF $\kappa$ B- und/oder JNK-vermittelt. Diese Ergebnisse weisen auf eine mögliche Beteiligung gesättigter Fettsäuren an der Adipositas/MS-assoziierten subklinischen Gefäßinflammation hin.

33

### Inhibition of Glyoxalase 1 impairs physiological wound healing

*Fleming TH<sup>1</sup>, Stoyanov S<sup>1</sup>, Theilen TM<sup>1</sup>, Zeuge U<sup>1</sup>, Thornalley PJ<sup>2</sup>, Humpert P<sup>1</sup>, Brownlee M<sup>2</sup>, Nawroth PP<sup>1</sup>, Bierhaus A<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Medicine I and Clinical Chemistry, University of Heidelberg, Heidelberg, Deutschland, <sup>2</sup>Clinical Sciences Research Institute, Warwick Medical School, University of Warwick, University Hospital, Coventry, GB, <sup>3</sup>Albert Einstein College of Medicine, 1300 Morris Park Avenue, New York, USA

Increased formation of the reactive dicarbonyl compound, methylglyoxal (MG), *in vivo* has been shown to be associated with the onset of microvascular disease and impaired wound healing. MG and other endogenously formed dicarbonyl compounds can react with proteins to form Advanced Glycation Endproducts (AGEs). Glyoxalase I (GLO1) is part of the glyoxalase system, and is the major cellular defence in the detoxification of MG. Decreased GLO1 activity *in situ* has been shown to result in an accumulation of MG, increased AGE formation and tissue damage. As to determine the role that MG and GLO1 may play in the cellular response to tissue damage, we studied GLO1 expression and activity in cutaneous wound healing in healthy wild type (WT), RAGE-/- and GLO-/+ mice. **Methods:** Healthy 12 to 16 weeks-old female C57BL/6N (WT) mice and age- and gender matched RAGE-/- and GLO-/+ mice were used. Two round cutaneous wounds (10 mm in diameter) were generated at both sides of the lower dorsal trunk of each mouse. The healing of each wound was observed over a period of 12 days. Mice were sacrificed at consecutive time points and the wound tissue removed. GLO1 was then studied in the excised tissue on the level of transcription (RT-PCR) and activity (Enzyme-Kinetic Assay). The level of MG-derived AGEs was assessed by immunohistochemical staining. In a parallel experiment, WT and RAGE-/- mice were treated with S-p-bromobenzylglutathione cyclopentanol diester (SpBrBzGSHCP2, 50 µg/g body weight, i.p.), a potent inhibitor GLO1 on every 3 rd day till the end of the experiment. **Results:** Healthy RAGE-/- mice showed significantly faster wound healing compared to healthy WT and GLO-/+ mice, with complete wound closure being observed 3–4 day earlier than the WT mice. Increased levels of MG-derived AGEs were observed in the WT and GLO-/+ compared to the RAGE-/- mice. It was found that the accelerated wound healing observed in the RAGE-/- mice was mirrored by a significantly higher GLO1 expression and activity. This suggests that detoxification of MG by GLO1 could be involved in the process of wound healing, and that decrease expression of GLO1 could impair wound healing. To test this hypothesis, the GLO1 inhibitor, SpBrBzGSHCP2, was administered to WT and RAGE-/- mice. Although wound healing was impaired in WT and RAGE-/- mice, it was found that the highest reduction (34% in RAGE-/- and 22% in WT) in wound closure was observed during the first 5 days. **Conclusion:** The data obtained in this study shows that induction of a

wound enhances MG production and in turn MG-derived AGEs, impairing its subsequent healing. GLO1 can counter this effect and that induction of GLO1 could accelerate the wound healing process.

34

### Apolipoprotein A5 (apoA5) hat atheroprotektive Eigenschaften und vermindert die Plasma-Triglyzeride unabhängig von den Apoproteinen apoC3 und apoE

Merkel M<sup>1</sup>, Naumann A<sup>2</sup>, Teupser D<sup>3</sup>, Heeren J<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Asklepios Klinik St. Georg, 1. Medizinische Abteilung, Hamburg, Deutschland, <sup>2</sup>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Biochemie, Hamburg, Deutschland, <sup>3</sup>Universität Leipzig, Institut für Labormedizin, Leipzig, Deutschland

**Hintergrund:** Apolipoprotein A5 (apoA5) wurde 2001 zeitgleich bei vergleichender Sequenzanalyse als Lipoprotein und als Regenerationsprotein der Leber entdeckt. Eine wichtige Funktion von apoA5 ist die Senkung der Plasma-Triglyzeride (TG); mehrere Studien zeigen eine Assoziation von apoA5-Polymorphismen mit dem Metabolischen Syndrom und auch mit Koronarer Herzerkrankung. In vorangegangenen Arbeiten konnte durch unsere Arbeitsgruppe in vivo und in vitro nachgewiesen werden, dass apoA5 die plasmatische, Proteoglykan gebundene Lipoproteinlipase (LPL) allosterisch aktiviert. Die hepatische VLDL-Produktion wurde durch apoA5 nicht beeinflusst. Die vorliegende Studie sollte die Funktion von apoA5 im TG-Metabolismus und bei der Atherogenese weiter aufklären. **Methodik:** Um eine Interaktion von apoA5 mit dem die TG-Hydrolyse inhibierenden Apolipoprotein C3 (apoC3) zu untersuchen, wurde das apoA5-Transgen auf den apoC3 defizienten (apoC3<sup>-/-</sup>) Mausehintergrund gekreuzt. Weiterhin wurde der Einfluss von apoC3 und apoA5 auf die Hydrolyse von VLDL durch freie und Proteoglykan gebundene LPL in vitro untersucht. Zur Untersuchung der Arteriosklerose wurde apoA5 auf den apoE-defizienten (apoE<sup>-/-</sup>) Hintergrund gekreuzt. **Ergebnisse:** Es fand sich, dass die niedrigen Plasma-TG von apoC3<sup>-/-</sup> Mäusen (56 ± 18 mg/dl) durch transgenes apoA5 (apoA5tr) nicht weiter gesenkt werden konnten (apoC3<sup>-/-</sup>-apoA5tr: 57 ± 6.9 mg/dl). Bei apoC3-Heterozygotie fand sich hingegen eine signifikante, apoA5 vermittelte TG-Reduktion (apoC3<sup>+/-</sup>: 70 ± 8.2 mg/dl; apoC3<sup>+/-</sup>-apoA5tr: 56 ± 14 mg/dl; p < 0.02). Wie aufgrund früherer Arbeiten erwartet, beschleunigte die Zugabe von rekombinantem apoA5 die VLDL-Hydrolyse nur, wenn LPL an Proteoglykane gebunden war (35% erhöhte Freisetzung von Fettsäuren). ApoC3 (0.1 µg/ml) reduzierte die Hydrolyse um fast 50%. Die apoA5-vermittelte LPL-Aktivierung war nach apoC3-Zugabe identisch. In völliger Abwesenheit von apoC3 unter Nutzung von apoC3<sup>-/-</sup> VLDL erreichte die apoA5-vermittelte LPL-Aktivierung fast 50%. Sämtliche Effekte waren nur bei Proteoglykan gebundener, nicht bei freier LPL nachweisbar. Transgenes apoA5 reduzierte die Arteriosklerose in der Aortenwurzel von apoE-defizienten Mäusen deutlich (Weibchen: apoE<sup>-/-</sup>: 15180 ± 2595 µm<sup>2</sup>; apoE<sup>-/-</sup>-apoA5tr: 8965 ± 1692 µm<sup>2</sup>). Gleichzeitig fand sich auf diesem Hintergrund eine dramatische, apoA5 vermittelte Reduktion der Plasma-TG (apoE<sup>-/-</sup>: 323 ± 98 mg/dl; apoE<sup>-/-</sup>-apoA5tr: 120 ± 34 mg/dl); dies widerspiegelte vor allem Veränderungen der VLDL. Metabolische Studien zeigten sowohl einen rascheren Abbau als auch eine vermehrte hepatische Aufnahme von VLDL-Bestandteilen durch apoA5. **Schlussfolgerungen:** Es kann gefolgert werden, dass apoC3, apoE und apoA5 die Regulation der plasmatischen TG-Hydrolyse unabhängig voneinander beeinflussen. Gleichzeitig scheint apoA5 sowohl einen Mangel an apoE partiell auszugleichen als auch die Atherogenese zu inhibieren.

35

### Specific inhibition of NF-κB subunits prevents norepinephrine dependent, athero-thrombotic gene expression in experimental models of psychosocial stress

Djuric Z<sup>1</sup>, Humpert PM<sup>1</sup>, Nawroth PP<sup>1</sup>, Bierhaus A<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>University Hospital Heidelberg, Department of Endocrinology and Clinical Chemistry, Heidelberg, Deutschland

**Aims:** Disease-related psychosocial stress is common in patients with diabetes. Stress evoked elevated catecholamine levels have been shown to induce the redox-sensitive, proinflammatory transcription factor NF-κB, which is supposed to contribute to the pathogenesis of the micro and macrovascular late diabetic complications. Since most of the NF-κB inducers also trigger the release of radical oxygen species, antioxidants were supposed to effectively block NF-κB activation. Although certain

studies have indicated beneficial effects of NF-κB inhibition, numerous recent reports have shown that long-term systemic inhibition of NF-κB does not lead to the better outcome of disease. This absence of beneficial effect of NF-κB lowering drugs in the prevention and therapy of diabetic vascular complications and atherosclerosis might be due to the parallel inhibition of NF-κB regulated protective genes. Therefore, we hypothesized that differential inhibition of defined NF-κB subunits might inhibit atherothrombotic gene expression, while preserving cellular defense mechanisms. **Materials and methods:** THP-1 cells were induced with 10nM norepinephrine (NE) in the presence or absence of pathway inhibitors. Subunit-specific NF-κB activation and expression of NF-κB regulated proatherogenic (ICAM-1, Tissue Factor (TF)) and protective (-superoxide dismutase (MnSOD)) genes was studied using EMSA, Chromatin Immunoprecipitation, Western Blot and RT-PCR. Aortic tissue of ApoE<sup>-/-</sup>-mice subjected to repeated restraint-stress were studied for atherosclerotic lesions and gene expression using Red Oil staining and immunohistochemistry. **Results:** Induction of THP-1 cells with 10nM NE or repeated restraint stress in ApoE<sup>-/-</sup>-mice both resulted in increased binding of different NF-κB-subunits at the ICAM-1, TF and MnSOD-promoter and subsequent increase in mRNA synthesis and gene expression. While ICAM-1 was controlled by NF-κB subunits p50, p65 and cRel, TF expression was driven by p65/cRel. In contrast, MnSOD expression was dependent on binding of p50/p65 heterodimers. In vitro and in vivo nuclear translocation of NF-κBp50 was dependent on PKC-activation, NF-κBp65 was activated via p38MAPKinase and NF-κBcRel via the PI3/Akt pathway. Analysis of aortic tissue from ApoE<sup>-/-</sup>-mice chronically stressed in the absence or presence of pathway inhibitors demonstrated that only inhibition of cRel resulted in reduction of atherosclerotic lesions. In contrast long time inhibition of neither NF-κBp50 nor NF-κBp65, both reducing MnSOD expression, had effects on vascular damage. **Conclusion:** NE induces differential activation of different NF-κB subunits that control proatherogenic, atherothrombotic and cellular defense mechanisms. Targeted and specific inhibition of NF-κB-subunits controlling proatherogenic gene expression, but not affecting cellular defence mechanisms, might therefore provide a future therapeutic option in the prevention and therapy of vascular complications in diabetes.

36

### The Glyoxalase I (GLO-1) system as modulator of pain in early diabetic neuropathy

Stoyanov S<sup>1</sup>, Fleming T<sup>1</sup>, Konrade I<sup>1</sup>, Haag GM<sup>1</sup>, Humpert PM<sup>1</sup>, Rabbani N<sup>2</sup>, Thornalley P<sup>2</sup>, Brownlee M<sup>3</sup>, Nawroth PP<sup>1</sup>, Bierhaus A<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>University of Heidelberg, Department of Medicine I, Heidelberg, Deutschland, <sup>2</sup>University of Warwick, Warwick Medical school, Warwick, GB, <sup>3</sup>Albert Einstein College of Medicine, Departments of Medicine and Pathology, New York, USA

**Introduction:** Diabetic neuropathy (DN) is a major complication of diabetes, however, the molecular mechanisms underlying increased pain in early stages of the disease are yet poorly understood. We have recently demonstrated that hyperglycemia-dependent, RAGE-mediated suppression of glyoxalase-1 (GLO-1), the major cellular defence in the detoxification of methylglyoxal (MG) contributes to increased pain in early phases of diabetic neuropathy. To further define the role of the GLO-1 system in modulating pain, we have studied diabetes induced pain in wildtype (WT), RAGE<sup>-/-</sup>, an GLO-1<sup>+/-</sup> mice and the effects of direct application of either GLO-1 or MG on pain perception. **Methods:** GLO-1 was studied on the level of transcription (Real time-PCR), expression (Western Blot and immunohistochemistry) and activity (enzyme-kinetic assay) in dorsal root ganglia (DRG) and sciatic nerves from WT-, RAGE<sup>-/-</sup> and GLO-1<sup>+/-</sup> mice. Pain perception was analysed by Hot Plate and Tail flick assays. **Results:** Compared to RAGE<sup>-/-</sup>-mice, GLO-1 was significantly lower in peripheral nerves of WT-mice and further attenuated in diabetes. The functional significance of GLO-1 deficiency for DN was studied in diabetic mice, kept in the diabetic state for 8 – 12 weeks in the absence or presence of an GLO-1 inhibitor (SpBrBzGSHcp2, 50 µg/g body weight, i.p.). GLO-1-inhibitor treatment resulted in significant increased pain perception in both, diabetic WT and diabetic RAGE<sup>-/-</sup>-mice, whereas impairment was more pronounced in RAGE<sup>-/-</sup>-mice. Consistent with a pivotal role of GLO-1 in protecting from pain, healthy GLO-1<sup>+/-</sup> mice showed a significantly reduced pain threshold comparable to the one seen in diabetic WT-mice: thermal pain perception was largely increased and not further enhanced under hyperglycaemic conditions. Moreover, intravenous somatic gene transfer with plasmids overexpressing GLO-1 blunted pain in diabetic WT-mice, while application of MG (0.8 mM = 0.05 mg/g body weight, i.v.) induced pain in healthy WT-mice

within 3 h. **Conclusion:** These data provide firm evidence that the GLO-1 system is a central modulator of pain. Diabetes dependent reduction in GLO-1 might therefore contribute to painful DN.

## Freie Vorträge: Diagnostik

37

### Wie häufig stellen niedrige oder hohe Hämotokrit-Werte eine Störvariable bei der Blutzuckermessung dar?

*Hermanns N<sup>1</sup>, Trosbach W<sup>2</sup>, Ahollinger A<sup>2</sup>, Kulzer B<sup>1</sup>, Haak T<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Bad Mergentheim (FIDAM), Bad Mergentheim, Deutschland,

<sup>2</sup>Diabetesambulanz Mergentheim, Bad Mergentheim, Deutschland

**Einleitung:** Die Blutzuckerselbstkontrolle ist ein unverzichtbarer Bestandteil einer modernen Diabetestherapie. Bei der Bestimmung des Glucosegehaltes im kapillären Vollblut stellt der Hämatokritgehalt des Blutes eine potentielle Störgröße dar: Ein niedriger Hämatokrit-Wert führt zu falsch hohen Blutzuckermessergebnissen, ein hoher Hämatokrit-Wert zu falsch niedrigen Blutzuckertestresultaten. In dieser Untersuchung wurde die Verteilung der Hämatokrit-Werte in einer großen klinischen Stichprobe von Diabetespacienten analysiert, um herauszufinden, wie häufig diese Fehlerquelle bei Diabetikern auftritt. **Methodik:** Im Rahmen der Diagnostik wurde in einer stationären Behandlungseinrichtung bei allen Diabetespacienten ein Hämatokrit-Wert bestimmt (Analyzers K-4500, Sysmex): 3799 Diabetespacienten (45,4% weiblich; 57,7% Typ-2-Diabetes; 40,4 Typ-1-Diabetes und 1,9% sekundäre Diabetesformen) nahmen an dieser Erhebung teil. Der mittlere HbA1c Wert betrug  $8,6 \pm 1,8\%$ , die durchschnittliche Diabetesdauer  $14,2 \pm 11,0$  Jahre. **Ergebnisse:** Der mittlere Hämatokrit-Wert betrug  $41,5 \pm 4,4\%$  (Frauen  $40,1 \pm 3,7\%$ ; Männer  $42,6 \pm 4,7\%$ ; Median 41,9; Interquartil Range 39,1% – 44,3%). Einen niedrigen Hämatokrit-Wert < 25% hatten 0,2% der Stichprobe, einen Hämatokrit-Wert < 30% 1,6% und einen Hämatokrit-Wert < 35% 8,2% der Gesamtstichprobe. Bei 23,4% der Probanden lag der Hämatokrit-Wert zwischen 35% und 40%, bei 49,1% Personen zwischen 40% und 45%, 18,1% wiesen einen Hämatokrit-Wert zwischen 45% und 50% auf. Ein hoher Hämatokrit-Wert über 50% bzw. über 55% lag bei 1,2% bzw. 0,1% der Gesamtstichprobe vor. Bemerkenswert war, dass die Gruppe der Dialysepacienten (n = 17) einen signifikant geringeren Hämatokrit-Wert hatte ( $34,9 \pm 2,9\%$  vs.  $41,5 \pm 4,4\%$  p < .01) als die Gesamtgruppe. Von den Dialysepacienten hatten 5 (29,4%) einen Hämatokrit-Wert < 35,0%; alle Dialysepacienten wiesen einen Hämatokrit-Wert < 40,0% auf. **Schlussfolgerung:** Extrem niedrige oder hohe Hämatokrit-Werte unter 30% und über 55% können das Ergebnis einer Blutzuckermessung im Vollblut um 10 – 15% verfälschen. Bei 1,6% Diabetikern unserer Stichprobe lag ein Hämatokrit-Wert unter 30% vor, der zu einer falsch hohen Blutzuckermessung führt. Der Einfluss hoher Hämatokrit-Werte (über 55%), die zu einer Unterschätzung des aktuellen Blutzuckers führen, ist mit 0,1% sehr gering. Aufgrund dieser Daten kann davon ausgegangen werden, dass Verzerrungen der Blutzuckerselbstmessung in Folge hoher bzw. niedriger Hämatokrit-Werte in der klinischen Praxis eine eher untergeordnete Rolle spielen. Besondere Aufmerksamkeit ist jedoch bei Dialysepacienten geboten, da es bei ihnen zu Verzerrungen der Ergebnisse der Blutzuckerselbstkontrolle aufgrund niedriger Hämatokrit-Werte kommen kann.

38

### Eine Plasmaextraktion durch Free-Flow-Elektrophorese ermöglicht die selektive Bestimmung von Insulinanaloga in Gegenwart von endogenem Normalinsulin

*Pfützner A<sup>1</sup>, Safinowski M<sup>1</sup>, Nissum M<sup>2</sup>, Sukop U<sup>2</sup>, Weber G<sup>2</sup>, Eckerskorn C<sup>2</sup>, Forst T<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>IKFE – Institut für Klinische Forschung und Entwicklung, Mainz, Deutschland, <sup>2</sup>BD Diagnostic – Preanalytical Systems, Martinsried, Deutschland

**Fragestellung:** Die spezifische Bestimmung der Insulinanaloga Glargine, Detemir, Aspart, Lispro und Glulisine ist eine schwierige analytische Fragestellung, insbesondere, wenn im Plasma der Pacienten auch noch endogenes Insulin vorhanden ist. Während für diese Analoga in vielen Fällen Kreuzreaktivitäten mit anderen Tests für Normalinsulin beobachtet wurden, ist lediglich für Insulin lispro aktuell ein spezifischer Radioimmunoassay verfügbar. **Methodik:** Wir untersuchten in dieser Pilotstudie die Möglichkeit, dieses Trennproblem durch quantitative prä-

analytische Serumseparation mithilfe der Free-Flow-Elektrophorese zu lösen. Hierfür wurde Plasma von gesunden freiwilligen Personen gewonnen und mit allen verschiedenen Insulinanaloga versetzt, so dass diese jeweils in therapeutisch relevanten Konzentrationen (20 – 100 µl) vorlagen. Anschließend wurden die Proben verdünnt und Aliquote direkt einer Plasmaseparation durch Free-Flow-Elektrophorese (FFE) unterzogen. Bei dieser Methode werden die Plasmaproteine entsprechend ihrem isoelektrischen Punkt in einem laminaren Flüssigkeitsfilm elektrophoretisch aufgetrennt. Da keine Trennmatrix vergleichbar der Chromatographie oder Gelelektrophorese vorhanden ist, können die Proteine unter nativen Bedingungen in kurzer Zeit mit hoher Reproduzierbarkeit getrennt werden. Nach Optimierung der Methode für die Trennung der verschiedenen Analoginsuline wurden diese quantitativ gesammelt und mittels eines bekanntermaßen mit allen Analoga kreuzreaktiven Chemilumineszenztests für Normalinsulin gemessen (Invitron, Cardiff, UK). Der Nachweis der Identität der Analoginsuline in ihren jeweiligen Fraktionen erfolgte vorher durch Gelelektrophorese und mittels Massenspektroskopie. **Ergebnisse:** Bei diesen Pilotexperimenten zeigte lediglich Lispro eine vergleichbare Trenncharakteristik wie Normalinsulin (identische isoelektrische Punkte) und musste mit dem spezifischen Immunoassay (Millipore, St. Charles, MO) bestimmt werden. Alle anderen Insulinanaloga konnten aus der artifiziell kombinierten Plasmaprobe quantitativ abgetrennt und mit hoher Wiederfindungsrate bestimmt werden. **Schlussfolgerungen:** Nach diesen erfolgreichen Versuchen, wird die Methode nun im nächsten Schritt standardisiert und validiert, damit die notwendige Qualität, Präzision und Genauigkeit für den Einsatz der FFE-Technologie auch im Rahmen klinischer Studien erreicht wird.

39

### Diagnose der Insulinresistenz im Spontanurin

*Lehmann R<sup>1</sup>, Zhao X<sup>1</sup>, Fritsche J<sup>1</sup>, Schmitt-Kopplin P<sup>2</sup>, Rittig K<sup>1</sup>, Fritsche A<sup>1</sup>, Schleicher ED<sup>1</sup>, Xu G<sup>3</sup>, Häring HU<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universität Tübingen, Innere Medizin 4, Tübingen, Deutschland, <sup>2</sup>GSF, Inst. für ökolog. Chemie, Neuherberg, Deutschland, <sup>3</sup>Institute of Chemical Physics, CAS, Dalian, China

**Fragestellung:** Insulinresistenz kann bereits Jahrzehnte vor der klinischen Manifestation des Typ-2-Diabetes bestehen. Eine frühe Diagnose der Insulinresistenz mit anschließender therapeutischer oder „Lifestyle“-Intervention ist zwingend notwendig, denn die Basis für die höhere Morbidität und Mortalität der betroffenen Individuen wird in der Phase der Insulinresistenz gelegt. Derzeit sind die einzigen diagnostischen Möglichkeiten zur Identifizierung insulinresistenter Individuen metabolische Provokationstests, wie der orale oder i.v. Glucosetoleranztest und die verschiedenen „Glucose-Clamp-Techniken“. All diese Verfahren sind invasiv und zeitaufwändig, und somit nur eingeschränkt anwendbar. Hier soll die diagnostische Möglichkeit der Analyse des Metabolitmusters im Spontanurin zur Identifizierung von insulinresistenten Individuen vorgestellt werden. Außerdem wurde ein methodischer Ansatz zur Identifizierung von Urin-Biomarker der Insulinresistenz angewendet. **Methodik:** Im Spontanurin von 51 metabolisch sehr genau charakterisierten, normal und übergewichtigen, nicht-diabetischen Individuen wurde das Metabolome mittels Ultra-Performance-Liquid-Chromatographie (UPLC) gekoppelt mit der Massenspektrometrie untersucht. **Ergebnisse:** Die multivariate bioinformatische Datenauswertung (PCA und PLS-DA) der mehr als 19000 Metabolit Ionenmassen pro Individuum führte zu einer klaren Trennung der Gruppen der insulin sensitiven und der insulinresistenten Individuen. Die prognostische Aussagekraft wurde durch interne und externe Validierung geprüft. Darüber hinaus wurden unter anderem folgende Biomarker, die zur Trennung dieser beiden Gruppen beitragen, identifiziert: 3-Hydroxyhippurat, Xanthin und Phenylazetylglutamin. **Schlussfolgerung:** Unsere Daten liefern erstmalig den Beweis, dass das metabolische Muster im Spontanurin von insulin sensitiven und insulinresistenten Individuen unterschiedlich ist, wodurch sich völlig neue Perspektiven für die dringend benötigte Screeningstrategie zur frühen Erkennung der Insulinresistenz ergeben.

### Kontinuierliches Glucosemonitoring (CGM) im Alltagstest: Ergebnisse einer Anwenderevaluation zu GlucoDay®S

Patzelt-Bath AEG<sup>1</sup>, Enczmann G<sup>2</sup>, Silbermann S<sup>1</sup>, Limberg R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Berlin-Chemie AG, Medizin und Forschung, Berlin, Deutschland, <sup>2</sup>Menarini Diagnostics, Berlin, Deutschland

**Fragestellung:** CGM hat sich in der diabetologischen Praxis etabliert. Um die Handhabung von GlucoDay®S, zu erforschen und Anregungen für Weiterentwicklungen zu generieren, wurde erstmals eine Evaluation durchgeführt. GlucoDay®S misst über einen Zeitraum von 48 h kontinuierlich die Glucose. Dafür wird periumbilikal, subcutan ein Mirodialysekatheter eingebracht. Der im Gerät integrierte, hochempfindliche Glucosesensor misst sekundlich im Dialysat, GlucoDay®S ermittelt und speichert den Mittelwert über jeweils 3 Minuten. Die Daten werden über eine Schnittstelle in den PC übertragen. **Methodik:** Teilnehmer waren diabetologische Schwerpunktpraxen. Gerätespezialisten wiesen in das GlucoDay®S-System ein. Ärzte medizinisches Fachpersonal und Patienten wurden im zweijährigen Verlauf durch 4 standardisierte, mehrseitige Fragebögen interviewt. **Ergebnisse:** Die Ergebnisse basieren auf 609 GlucoDay®-Anwendungen in 79 Zentren. Aufklärung, Datenübertragung und Dateninterpretation erfolgten zu 50% durch den Arzt. CGM als Methode wurde grundsätzlich sehr positiv („großer Nutzen“, „besseres Monitoring“) beurteilt, insbesondere zur Aufdeckung Hypo- und Hyperglykämien, die mit Punktmessungen oft nicht erfassbar sind. Die Zentren bewerteten das System insgesamt zu 80% mit „1“ oder „2“ auf einer 5-Punktskala. Die Einweisung in das GlucoDay®-System und die Bedienungsanleitungen wurden von mehr als 80% der Zentren mit „1“ oder „2“ als positiv (5-Punktskala) beurteilt. Software und Datenübertragung zum PC wurden von den meisten Praxen als einfach handhabbar und zuverlässig empfunden. Der Umgang mit dem System wurde je nach Komponente von 50 – 60% der Teilnehmer als „einfach (1)“ oder „relativ einfach (2)“ (5-Punktskala) eingestuft. 60,2% der Zentren hatten „keine Schwierigkeiten“ bei der Handhabung des Systems. 59% äußerten „sehr großes Interesse“ an einer künftigen Nutzung. 39,8% berichteten über „wesentliche Schwierigkeiten“. Ursachen waren Softwareprobleme (47,6%), defekte Teile (38,1%), Aufwand (9,5%) und Design (4,8%). 85% der behandelten Patienten beurteilten CGM generell positiv („1“, oder „2“, 5-Punktskala). Ca. 70% der Patienten erhielten einen Ausdruck ihrer Glucosekurve. Hinsichtlich der Größe und des Tragekomforts des Systems äußerten sich die Patienten (wie auch manche Zentren) häufig kritisch. **Schlussfolgerungen:** CGM ist als Methode unter deutschen Diabetologen akzeptiert. GlucoDay®S ist leicht handhabbar und verlässlich. GlucoDay®S bietet breitere Information über den individuellen Glucoseverlauf und ist deswegen ein akzeptiertes und wichtiges Diagnostikum. Die Untersuchung lieferte damit wichtige Aspekte hinsichtlich der angestrebten Kostenerstattung durch die GKV. Es ergaben sich Anhaltspunkte für die Verbesserung der Anwenderfreundlichkeit: die Optimierungen der Gerätegröße wird angestrebt. Schlauch-, Kupplungs- und Kathetersystem wurden bereits verbessert und neu gestaltet.

### Ist der OGTT zur Diagnose einer postprandialen Hyperglykämie geeignet?

Menge BA<sup>1</sup>, Baller B<sup>1</sup>, Gallwitz B<sup>1</sup>, Schmidt WE<sup>1</sup>, Nauck MA<sup>2</sup>, Meier JJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>St. Josef-Hospital, Ruhr-Universität, Medizinische Klinik I, Bochum, Deutschland, <sup>2</sup>Diabeteszentrum, Bad Lauterberg, Deutschland

**Einleitung:** Bei Patienten mit erhöhten Blutzuckerexkursionen während eines oralen Glucosetoleranztestes (OGTT) wird häufig eine postprandiale Hyperglykämie angenommen, jedoch ist die Beziehung zwischen den Glucosewerten während eines OGTT und denen nach einer gemischten Mahlzeit weitestgehend unklar. Daher sollte die Frage beantwortet werden, inwieweit die Glucosekonzentrationen nach einem OGTT mit den BZ-Werten nach einer Testmahlzeit, sowie unter Alltagsbedingungen gemessenen Blutzucker-Tagessprofilen, vergleichbar sind. Ferner sollte untersucht werden, ob Personen mit eingeschränkter Glucosetoleranz (IGT) bereits unter Alltagsbedingungen abnormale BZ-Werte aufweisen. **Patienten und Methoden:** 60 Patienten mit normaler, eingeschränkter und diabetischer Glucosetoleranz wurden mittels eines OGTT, einer gemischten Mahlzeit (820 kcal), und eines unter häuslichen Bedingungen gemessenen Blutzucker-Tagessprofils, untersucht. **Ergebnisse:** Es zeigte sich eine enge Korrelation zwischen den 120 Minuten-Glucosewerten während des OGTT und den jeweiligen Anstiegen der Plasmaglukose nach der gemischten Mahlzeit und unter Alltagsbedin-

gungen ( $p < 0,0001$ ). Jedoch lagen die absoluten Glucosekonzentrationen während des OGTT deutlich höher als nach der Testmahlzeit (ca. 20%) und unter Alltagsbedingungen (ca. 30%). Ebenso waren die Insulin- und C-Peptid-Spiegel nach oraler Glucosegabe höher als nach der gemischten Mahlzeit. Die mittleren Glucosewerte im Blutzucker-Tagessprofil lagen bei Patienten mit eingeschränkter Glucosetoleranz bereits um ~10% höher als bei den Patienten mit normaler Glucosetoleranz ( $p < 0,0001$ ). **Zusammenfassung:** Die Glucoseexkursionen nach einem OGTT sind signifikant mit den BZ-Werten nach einer Testmahlzeit und unter Alltagsbedingungen korreliert. Die absoluten Glucose- und Insulin-Konzentrationen sich jedoch nach isolierter Glucosegabe deutlich höher. Diese Unterschiede sollten berücksichtigt werden, wenn der OGTT zur Diagnose einer „postprandialen Hyperglykämie“ verwandt wird. Allerdings weisen Personen mit IGT bereits unter Alltagsbedingungen leichtgradige Abnormalitäten in der postprandialen Glucosehomöostase auf. Daher sollte die eingeschränkte Glucosetoleranz nicht nur als prädiabetisches Stadium, sondern möglicherweise bereits als eigene Krankheitsentität angesehen werden.

### Das Blutzuckermesssystem StatStrip ist nicht empfindlich für Interferenzen durch Hämatokrit oder andere bekannte Störsubstanzen

Schöndorf T<sup>1</sup>, Musholt P<sup>1</sup>, Scherer S<sup>1</sup>, Löblich M<sup>1</sup>, Younessi A<sup>2</sup>, Dubois J<sup>3</sup>, Aust P<sup>2</sup>, Forst T<sup>1</sup>, Pfützner A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IKFE – Institut für Klinische Forschung und Entwicklung, Mainz, Deutschland, <sup>2</sup>Nova Biomedical GmbH, Rödermark, Deutschland, <sup>3</sup>Nova Biomedical Inc., Watham, USA

**Fragestellung:** Die Messung des Blutzuckers mithilfe von handlichen Kleingeräten gehört zur täglichen Routine bei der Behandlung des Diabetes mellitus. In Abhängigkeit von der verwendeten Messtechnologie werden die Messwerte jedoch z. B. durch den Hämatokritgehalt des Blutes oder andere chemische Störsubstanzen beeinflusst. Das neue Blutzuckermesssystem StatStrip (Nova Biomedical) korrigiert die Werte für diese möglichen Interferenzen. **Methodik:** Um die Genauigkeit dieses neuen Gerätes unter dem Einfluss von Interferenzen im Vergleich zu anderen Messsystemen (AccuCheck Aviva/Roche, Ascencia Contour/Bayer, Freestyle/Abbott, OneTouch Ultra 2/Lifescan) zu evaluieren, führten wir eine umfangreiche Laborstudie durch. Durch Zugabe von Glucose zu Plasma von gesunden Freiwilligen wurden Proben mit niedrigem, mittlerem und hohem Glucosegehalt hergestellt. Diese wurden dann mit zellfreiem Plasma jeweils auf verschiedenen Hämatokritbereiche (HKT: 24,7 – 64,9%) eingestellt. Desweiteren wurden Standardproben mit Maltose (0, 10, 20 mg/dl) und Ascorbinsäure (AS) (0, 10, 20 mg/dl) versetzt. Als Glucosereferenzmethode wurde eine Glukosoxidase-Methode verwendet (SuperGL, Müller Gerätebau, Delecke-Möhnese). **Ergebnisse:** Mit Ausnahme des StatStrip fand sich bei allen Geräte eine Abnahme des Messwertes mit steigendem HKT (z. B. % Veränderung der mittleren absoluten % Abweichung (MAPD) vom eingestellten BZ-Wert bei 237 mg/dl mit steigendem HKT: StatStrip: + 6,7%, AccuCheck: -8,8%, Ascencia: -36,8%, Freestyle: -25,6%, Ultra2: -49,9%). Einen massiven Einfluss auf die Messwerte hatte in vielen Fällen auch Maltose oder AS (z. B. bei einem BZ von 237 mg/dl; MAPD bei 0, 10, und 20 mg/l Maltose: StatStrip: 5,5%/0,8%/6,6%, AccuCheck: 4,9%/60,6%/106,9%, Ascencia: -2,5%/-3,2%/-5,9%, Freestyle: -23,1%/-26,9%/-23,4%, Ultra2: -10,7%/37,2%/91,0%; prozentuale Veränderung MAPD bei 0 bis 10 mg/dl AS: StatStrip: + 5,3%, AccuCheck: +18,1%, Ascencia: +23,8%, Freestyle: +14,6%, Ultra2: +22,9%). **Schlussfolgerungen:** Mit Ausnahme des StatStrip BZ-Messsystems zeigten sich bei allen Messgeräte mehr oder weniger ausgeprägte Interferenzen mit den betrachteten Substanzen. Die StatStrip-Technologie ist somit weniger störanfällig und kann auch in klinischen Situationen Anwendung finden bei denen mit extremen Hämatokritwerten zu rechnen ist, wie z. B. im Notfalleinsatz oder auf Intensivstationen.

### Stabile Wirksamkeit von Vildagliptin bei medikamentennaiven Patienten: Eine gepoolte Analyse von 5 Monotherapiestudien

Gallwitz B<sup>1</sup>, Rosenstock J<sup>2</sup>, Pi-Sunyer XF<sup>3</sup>, Pratley RE<sup>4</sup>, Couturier A<sup>5</sup>, Schweizer A<sup>6</sup>, DeJager S<sup>5</sup>, Müller C<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik IV, Tübingen, Deutschland, <sup>2</sup>Diabetes and Endocrine Center at Medical City, Dallas, TX, USA, <sup>3</sup>St. Luke's-Roosevelt Hospital, Division of Endocrinology, Diabetes, and Nutrition, New York, NY, USA, <sup>4</sup>University of Vermont College of Medicine, Burlington, VA, USA, <sup>5</sup>Novartis Pharmaceuticals Corporation, East Hanover, NJ, USA, <sup>6</sup>Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland, <sup>7</sup>Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, Deutschland

**Einleitung:** Vildagliptin ist ein potenter und selektiver DPP-4 Inhibitor, der die glykämische Kontrolle bei Patienten (Pat.) mit Typ-2-Diabetes (T2DM) durch eine Zunahme der Ansprechempfindlichkeit der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zellen verbessert. **Methodik:** In Phase 3 Monotherapiestudien mit Vildagliptin wurden 1682 medikamentennaive Patienten mit T2DM auf Vildagliptin 100 mg täglich randomisiert (entweder 50 mg 2xtgl., n = 1280 oder 100 mg 1xtgl., n = 402). **Ergebnisse:** Ausgangswerte waren ein Durchschnittsalter von 53,2 Jahren, BMI von 32,2 kg/m<sup>2</sup> und eine Erkrankungsdauer von 2,3 Jahren. Unten aufgeführt sind die Baseline-daten (BL) und Standardabweichungen von BL bis zum Ende der Studie betreffend HbA<sub>1c</sub>, Nüchtern-glucose (FPG), Körpergewicht (BW) basierend auf den gepoolten 24-Wochen-daten von 2 plazebokontrollierten und 3 aktivkontrollierten Studien. Ebenso werden die Prozentzahlen der Patienten dargestellt, die das HbA<sub>1c</sub>-Therapieziel (< 7%) der ADA am Ende der Studie erreichen oder aber eine Reduktion von 0,7% und 1 oder mehr bestätigte Hypoglykämieepisoden aufwiesen. (Symptome bei Glucoseselbstmessung (SMBG) < 56 mg/dl Plasmaglucoseequivalent). Vildagliptin (50 mg 2xtgl.): n = 1138; HbA<sub>1c</sub>(%) 8,7 [-1,0 ± 0,1\*]; FPG(mg/dl) 187 [-19,7 ± 2,4]; BW(kg) 91,5 [-0,1 ± 0,2]; % < 7,0% HbA<sub>1c</sub> 36,5%; % ↓ HbA<sub>1c</sub> ≥ 0,7% 64,6%; Safety population n = 1266; Hypoglykämien: n(%) 4(0,3). Vildagliptin (100 mg 1xtgl.): n = 331; HbA<sub>1c</sub>(%) 8,5 [1,1 ± 0,1]; FPG(mg/dl) 185 [-21,3 ± 3,1\*]; BW(kg) 87,6 [-0,6 ± 0,3\*]; % < 7,0% HbA<sub>1c</sub> 40,9%; % ↓ HbA<sub>1c</sub> ≥ 0,7% 65%; Safety population n = 399; Hypoglykämien: n(%) 2(0,5). Vildagliptin (100 mg tgl., Gesamtkohorte): n = 1469<sup>2</sup>; HbA<sub>1c</sub>(%) 8,6 [-1,0 ± 0,0\*]; FPG(mg/dl) 186 [-20,3 ± 1,3\*]; BW(kg) 90,9 [-0,3 ± 0,1\*]; % < 7,0% HbA<sub>1c</sub> 37,5%; HbA<sub>1c</sub> ≥ 0,7% 64,7%; Safety population n = 1665; Hypoglykämien: n(%) 6(0,4).  $\alpha$  für FPG, n = 1135, <sup>2</sup> für FPG, n = 1466, \*P < 0,05 vs. BL (innerhalb der Gruppe). Es wurde eine ähnliche Wirksamkeit von Vildagliptin 100 mg 1xtgl. und 50 mg 2xtgl. beobachtet. Vildagliptin 100 mg täglich verminderte den HbA<sub>1c</sub>-Wert um 1,0% und FPG um 20 mg/dl, ohne Gewichtszunahme. Zusätzlich wurde ein Trend in der Verbesserung der Lipide (Reduktion von TG, TC, LDL-C, VLDL-C, non-HDL-C um 0,7 auf 3,4%, Anstieg von HDL um 4,5%) und des Blutdruckes ( $\Delta$  systolisch/diastolisch = -2,2/-1,4 mm Hg) beobachtet. **Schlussfolgerung:** Bei Patienten mit T2DM, bei denen Diät und Bewegung nicht zum Ziel führen, zeigt Vildagliptin in der Monotherapie eine stabile Wirksamkeit mit minimalem Hypoglykämierisiko und ohne zu einer Gewichtserhöhung zu führen.

### Verbesserung von Betazellfunktion und glykämischer Kontrolle nach einem Jahr Therapie mit Exenatide bei Metformin-behandelten Patienten mit Typ-2-Diabetes

Bachmann O<sup>1</sup>, Kazda C<sup>1</sup>, Bunck MC<sup>2</sup>, Diamant M<sup>2</sup>, Cornér A<sup>3</sup>, Eliasson B<sup>4</sup>, Malloy J<sup>5</sup>, Shaginina RM<sup>6</sup>, Deng W<sup>5</sup>, Kendall DM<sup>5</sup>, Taskinen MR<sup>3</sup>, Smith U<sup>9</sup>, Yki-Jarvinen H<sup>2</sup>, Heine RJ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>On behalf of the Original Research Group: Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland, <sup>2</sup>VU University Medical Center, Department of Endocrinology, Amsterdam, Niederlande, <sup>3</sup>Helsinki University Hospital, Department of Medicine, Helsinki, Finland, <sup>4</sup>Sahlgrenska University Hospital, Lundberg Laboratory for Diabetes Research, Göteborg, Schweden, <sup>5</sup>Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, USA, <sup>6</sup>Eli Lilly and Company, Houten, Niederlande

**Fragestellung:** Bei den meisten Patienten sind klassische Therapien zur Blutzucker-Senkung nicht ausreichend für einen langfristigen Erhalt der glykämischen Kontrolle. Das Inkretinmimetikum Exenatide führte in

präklinischen und klinischen Studien zu einer verbesserten Betazellfunktion. Diese klinische Studie verglich den Effekt von einem Jahr Therapie mit Exenatide vs. Insulin Glargin auf die Betazellfunktion, gemessen unter euglykämischem/hyperinsulinäischem Clamp (5 mM) und anschließendem hyperglykämischen Clamp (15 mM) bei zusätzlicher Arginin-Stimulation. **Methodik:** 68 Metformin-behandelte Patienten mit Typ-2-Diabetes (Mittelwert  $\pm$  STD: Alter 59  $\pm$  8 Jahre; HbA<sub>1c</sub> 7,5  $\pm$  0,8%; BMI 31  $\pm$  4 kg/m<sup>2</sup>; Gewicht 91,5  $\pm$  13,1 kg) wurden randomisiert auf Exenatide (n = 36; 5  $\mu$ g BID für 4 Wo., dann 10  $\mu$ g BID mit HbA<sub>1c</sub>-Ziel  $\leq$  7% und Maximaldosis 20  $\mu$ g TID) oder Insulin Glargin (n = 32; Therapieziel Nüchtern-glucose [FPG] < 5,6 mmol/L). Maß der Betazellfunktion war die Glucose(15 mM)-potenzierte, Arginin-stimulierte C-Peptid-Sekretion in den ersten 10 Min nach Arginin-Bolus bei Woche 52 im Verhältnis zur Baseline. Weitere Endpunkte waren die erste und zweite Phase der C-Peptid-Sekretion nach i.v. Glucose, HbA<sub>1c</sub>, Gewicht und Verträglichkeit. **Ergebnisse:** In einer Interimanalyse bei 48 der 68 Patienten war die Arginin-stimulierte C-Peptid-Sekretion nach einem Jahr Behandlung in der Exenatide-Gruppe (n = 26) um 125% größer als in der Glargin-Gruppe (n = 22) (95% KI 0,91 bis 1,64; p < 0,0001; Mittelwerte  $\pm$  SEM als Verhältnis zur Baseline: Exenatide 2,45  $\pm$  0,16 vs. Glargin 1,15  $\pm$  0,06). Die erste Phase der Glucose-induzierten C-Peptid-Sekretion nach einem Jahr war mit Exenatide 52% höher als mit Glargin (95% KI 0,27 bis 0,80; p < 0,0001; Exenatide 1,76  $\pm$  0,12 vs. Glargin 1,21  $\pm$  0,09). Die zweite Phase war um 175% höher (95% KI 1,31 bis 2,28; p < 0,0001; Exenatide 2,94  $\pm$  0,21 vs. Glargin 1,14  $\pm$  0,06). Die HbA<sub>1c</sub>-Senkung nach einem Jahr war in beiden Gruppen vergleichbar, mit -0,77  $\pm$  0,13% unter Exenatide und -0,94  $\pm$  0,17% unter Glargin; 0,29% Unterschied (95%KI -0,09 bis +0,66%; p = 0,13). Exenatide führte im Vergleich zu Insulin Glargin zu einer signifikanten Gewichtsabnahme (-3,88  $\pm$  0,8 kg vs. +1,4  $\pm$  1,1 kg; Differenz -5,2 kg; 95%KI -8,0 bis -2,4 kg; p = 0,0005). Die Häufigkeit unerwünschter Ereignisse war vergleichbar mit früheren Exenatide-Studien: 17 der 36 (47%) Exenatide-Patienten hatten leichte bis moderate Übelkeit, aber keiner der Glargin-Patienten. Hypoglykämien waren unter Glargin häufiger als unter Exenatide (25% vs. 14%). **Schlussfolgerungen:** Nach einem Jahr Therapie mit Exenatide waren mehrere Indices der Betazellfunktion, u.a. die Glucose- und Arginin-induzierte Insulinsekretion, im Vergleich zum Insulin Glargin deutlich verbessert, bei vergleichbarer glykämischer Kontrolle. Exenatide führte zur Gewichtsreduktion, unter Glargin nahmen die Patienten zu.

### Vergleichende Untersuchungen zum Einfluss von hochdosierter Statintherapie und Statin-Ezetimib-Kombinationstherapie auf Entzündungsparameter bei Typ-2-Diabetes

Rudofsky C<sup>1</sup>, Reismann P<sup>1</sup>, Djuric Z<sup>1</sup>, Humpert PM<sup>1</sup>, Isermann B<sup>1</sup>, Hamann A<sup>1</sup>, Morcos M<sup>1</sup>, Nawroth PP<sup>1</sup>, Bierhaus A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Heidelberg, Medizinische Klinik I und klinische Chemie, Heidelberg, Deutschland

**Fragestellung:** Effektive Cholesterinsenkung kann entweder mit einer reinen Statintherapie oder mit einer Statin-Ezetimib-Kombinationstherapie erreicht werden. Ob die Effekte beider Therapieregime auf das inflammatorische Potential des Patienten vergleichbar sind, sollte in dieser Studie an 30 Typ-2-Diabetikern untersucht werden. **Methodik:** 30 Patienten mit Typ-2-Diabetes wurden in eine plazebokontrollierte Studie eingeschlossen. Sie erhielten entweder 80 mg Simvastatin (Sim80) oder eine Kombination aus 10 mg Simvastatin und 10 mg Ezetimib (SimEze) oder Placebo einmal täglich als abendliche Gabe über eine Dauer von acht Wochen. Zu Beginn und nach Abschluss der Therapie wurde das inflammatorische Potential der Patienten durch NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität im EMSA sowie hsCRP und Interleukin-6 (IL-6) im ELISA gemessen. **Ergebnisse:** In beiden Behandlungsgruppen waren die Ausgangs-LDL-Cholesterinspiegel vergleichbar (Sim80: 151 mg/dl; SimEze: 154 mg/dl; p = 0,77). Nach Intervention war in beiden Gruppen eine vergleichbar starke Reduktion der LDL-Cholesterinwerte zu verzeichnen (Sim80: 74 mg/dl; SimEze: 68 mg/dl; p = 0,54). Der Rückgang der LDL-Cholesterinwerte war unter Sim80 von einer Reduktion mononukleärer NF- $\kappa$ B-Aktivierung auf 61  $\pm$  35% des Ausgangswertes begleitet (p = 0,006). Im Gegensatz dazu konnte unter der kombinierten Gabe von SimEze nach 8 Wochen kein signifikanter Rückgang nachgewiesen werden (p = 0,71). Bei der Betrachtung weiterer inflammatorischer Marker zeigte sich eine signifikante Abnahme des hochsensitiven CRPs ebenfalls nur in der Hochdosis-Statin-Gruppe, während die Abnahme in der Kombinationsbehandlungsgruppe geringer und nicht signifikant ausfiel (Sim80: -30  $\pm$  26%; p = 0,01; SimEze: -25  $\pm$  58%; p = 0,37). In den analysierten IL-6-Spiegeln zeigte sich in beiden Therapiegruppen nur

eine schwache, nicht signifikante Reduktion (Sim80:  $-12 \pm 23\%$ ;  $p=0.21$ ; SimEze:  $-11 \pm 57\%$ ;  $p=0.57$ ). **Schlussfolgerungen:** Die Studie zeigt unterschiedliche Wirkung der cholesterinsenkenden Therapie auf das inflammatorische Potential bei Patienten mit Typ-2-Diabetes. Während eine achtwöchige, hochdosierte Simvastatin-Therapie die mononukleäre NF- $\kappa$ B-Aktivierung und Plasma hsCRP-Spiegel signifikant reduziert, werden diese aninflammatorischen Effekte bei einer Kombination aus low-dose Simvastatin und Ezetimib nicht beobachtet.

46

#### Effect of a cross-linked cellulose-containing weight-loss supplement on gastric emptying and sensory functions in obese subjects

Berthold HK<sup>1</sup>, Unverdorben S<sup>2</sup>, Degenhardt R<sup>2</sup>, Geypens B<sup>3</sup>, Gouni-Berthold I<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Fakultät der Universität Bonn, Klinische Pharmakologie, Bonn, Deutschland, <sup>2</sup>Department of Clinical Pharmacology, Institut for Clinical Research, Center for Cardiovascular Diseases, Rotenburg an der Fulda, Deutschland, <sup>3</sup>University Hospital Leuven, Gastroenterology and Gastrointestinal Research Center, Leuven, Belgien, <sup>4</sup>Universität zu Köln, Medizinische Klinik II, Köln, Deutschland

**Aims:** CM3, a weight-loss supplement consisting of highly cross-linked cellulose, is applied in a capsule-form and expands in the stomach to a size up to 18-fold of its original. It is advertised as inducing an immediate feeling of satiety and delaying gastric emptying, thus supporting weight loss management. Its putative mechanism of action is unclear. Purpose of the study was to examine if CM3 delays gastric emptying (using the stable isotope <sup>13</sup>C octanoic breath test) and influences subjective feelings of appetite sensations (using anchored visual analogue scales, VAS) after a standardized solid meal. **Design and methods:** We investigated in a double-blind randomized placebo-controlled crossover trial 19 moderately obese but otherwise healthy subjects (7 men, 12 women; mean age  $55 \pm 9$  yrs, body mass index  $31.1 \pm 4.6$  kg/m<sup>2</sup>). The subjects were treated with 6 capsules of CM3 or matching placebos 30 min before a standardized solid meal. Breath collection and VAS were performed over 4 hours every 15 min and 30 min, respectively. The analysis of the <sup>13</sup>C fraction in the samples was performed using continuous-flow isotope ratio mass spectrometry. Half excretion time of <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> in breath, indicating gastric emptying half time, was the primary outcome parameter. The maximal speed of gastric emptying was measured by the time of maximal <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> excretion rate. The study was powered to detect a change in gastric emptying of 30 min, which was assumed to be clinically relevant. Sample size calculation for the primary outcome parameter was calculated assuming an alpha of 0.05, a power of 0.8, and a standard deviation of the difference of 0.5 hours. Visual analogue scales were analyzed using repeated measures analysis of variance. Since sphericity could not be assumed throughout (Mauchly's test), the Huynh-Feldt epsilon corrections were used to adjust the degrees of freedom. **Results:** Mean <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> half excretion time changed from  $2.3 \pm 0.4$  to  $2.4 \pm 0.33$  hours (mean difference +6 min, 95% CI -3 to +15 min;  $P=0.17$ ; Student's paired t test). Mean time of maximal <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> excretion rate was increased from  $1.33 \pm 0.29$  to  $1.45 \pm 0.22$  hours (mean difference +7 min, 95% CI -1 to +15 min;  $P=0.065$ ). Appetite sensations (hunger, satiety, fullness, prospective food consumption, desire to eat something sweet, salty, savory, or fatty) changed over time during the course of the post-prandial phase but were not influenced by CM3 (repeated measures ANOVA). **Conclusions:** In obese but otherwise healthy subjects the weight-loss supplement CM3 does not delay gastric emptying in a clinically relevant manner. In addition, it does not influence subjective sensations of appetite.

47

#### Effekt einer Kombinationstherapie von Fluvastatin/Fenofibrat versus Simvastatin/Ezetimib auf die LDL-Subfraktionen in Patienten mit Metabolischem Syndrom

Winkler K<sup>1</sup>, Wunderlich T<sup>1</sup>, Ödünc N<sup>1</sup>, Schäfer G<sup>1</sup>, Siegel E<sup>2</sup>, Abletshausen C<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinik Freiburg, Klinische Chemie, Freiburg, Deutschland, <sup>2</sup>St. Vincenz Krankenhaus, Limburg/Lahn, Deutschland, <sup>3</sup>Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, Deutschland

Patienten mit metabolischem Syndrom (MS) und Typ-2-Diabetes (T2DM) weisen ein erhöhtes Risiko für die koronare Herzkrankheit

(KHK) auf. Der Fettstoffwechsel ist hierbei durch erhöhte Triglyzeride (TG), niedriges HDL Cholesterin (HDL-C) und kleine, dichte LDL (s,dLDL) charakterisiert, was auch als atherogener Lipoprotein Phänotyp (ALP) bezeichnet wird. **Methodik:** Multizentrische, randomisierte, open-label, cross-over Studie, welche den Effekt einer Kombinationstherapie von Fluvastatin/Fenofibrat (80/200 mg) (FF) auf die LDL-Subfraktionen im Vergleich zur Kombination Simvastatin/Ezetimib (20/10 mg) (SE) in Patienten mit MS und T2DM untersucht. Zu Studienbeginn und nach 6 Wochen Kombinationstherapie wurde die Verteilung der LDL-Subfraktionen mittels Endpunkt-Gradienten-Ultrazentrifugation bestimmt. **Ergebnisse:** 75 Patienten wurden randomisiert, 69 beendeten die Studie und Proben von 56 Patienten konnten ausgewertet werden. 38 von 56 Patienten (68%) wiesen ein s,dLDL Profil auf. In diesen Patienten waren die TG erhöht und das HDL-C war niedriger als bei Patienten ohne s,dLDL. Bei allen Patienten war die Reduktion von Gesamt- und LDL Cholesterin (LDL-C) durch SE stärker als durch FF. Die Zunahme von HDL-C war stärker mit SE in der non-s,dLDL Gruppe, wohingegen in der s,dLDL Gruppe kein Unterschied zwischen den Therapien zu sehen war. In non-s,dLDL Patienten war kein Unterschied bei der TG Senkung und dem errechneten LDL-Radius zu erkennen. Allerdings war in der s,dLDL Gruppe FF effizienter bei der Senkung der TG ( $p=0.020$  zwischen Behandlungsgruppen) und SE verringerte den LDL Radius sogar noch weiter, wohingegen FF den LDL Radius hin zu großen LDL Partikeln veränderte ( $p<0.001$  zwischen Behandlungsgruppen). **Schlussfolgerung:** Simvastatin/Ezetimib Kombinationstherapie ist effizienter bei der Senkung des Gesamt- und LDL-C. Dies gilt auch für die Erhöhung des HDL-C in Patienten ohne s,dLDL. Allerdings ist bei Patienten mit MS und s,dLDL Fluvastatin/Fenofibrat effizienter bei der Senkung der TG und der Erhöhung des LDL-Radius. Insgesamt lag der Anteil der Patienten mit unerwünschten Ereignissen und Myalgien bei 15,1% und 1,4% bei FF gegenüber 22,2% und 4,2% bei SE.

48

#### BI 1356 (geplanter Handelsname ONDERO), ein neuer DPP-4-Inhibitor aus der Strukturklasse der Xanthine, zeigt ein herausragendes präklinisches Profil

Thomas L<sup>1</sup>, Himmelsbach F<sup>2</sup>, Eckhardt M<sup>2</sup>, Langkopf E<sup>2</sup>, Mark M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Stoffwechselforschung, Biberach an der Riss, Deutschland, <sup>2</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Chemische Forschung, Biberach an der Riss, Deutschland

**Fragestellung:** BI 1356 ist ein neuer Inhibitor für Dipeptidylpeptidase-4, der sich in der klinischen Entwicklung für die Behandlung des Typ-2-Diabetes befindet. Die auf einem Xanthin Grundgerüst basierende chemische Struktur von BI 1356 unterscheidet sich von allen anderen in der Entwicklung fortgeschrittenen DPP-4 Inhibitoren. In den hier beschriebenen Studien wurde das präklinische Profil von BI 1356 charakterisiert und mit anderen DPP-4 Inhibitoren verglichen. **Methodik:** Potenz, Selektivität, Wirkmechanismus und Wirkdauer von BI 1356 wurden *in vitro* und *in vivo* untersucht. Potenz und Wirkdauer *in vitro* wurden an Extrakten aus der humanen Colon Zelllinie CaCo-2 bestimmt. Die *in vivo* Bestimmungen von Wirksamkeit, Wirkdauer und Wirkmechanismus wurden nach oraler Einmalgabe der Substanz in HanWistar und Zucker Ratten und in C57Bl/6J Mäusen durchgeführt. Dabei wurden Glucosetoleranz, Zeitverläufe von GLP-1 und Insulin und die *ex vivo* Aktivität von Plasma DPP-4 gemessen. In mehreren dieser Versuche wurde BI 1356 mit anderen DPP-4 Inhibitoren verglichen. **Ergebnisse:** BI 1356 hat mit einer IC<sub>50</sub> von 1 nM eine höhere *in vitro* Potenz als Sitagliptin (19 nM), Alogliptin (24 nM), Saxagliptin (50 nM) und Vildagliptin (62 nM). Die Dissoziationsgeschwindigkeit vom DPP-4 Enzym ist etwa 10-fach niedriger für BI 1356 ( $3,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ) als für Vildagliptin ( $2,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ). BI 1356 zeigt eine mehr als 10.000-fache Selektivität gegenüber DPP-8 und -9. Die Hemmung der DPP-4 Aktivität in HanWistar Ratten war 24 h nach Dosierung stärker mit BI 1356 (ED<sub>50</sub> 0,9 mg/kg) als mit Saxagliptin (2,7 mg/kg), Alogliptin (10 mg/kg), Vildagliptin (14 mg/kg) und Sitagliptin (>30 mg/kg). Orale Glucosetoleranztests in C57Bl/6J Mäusen, die entweder unmittelbar nach Substanzgabe oder 16 h später durchgeführt wurden, ergaben für die verschiedenen DPP-4 Inhibitoren eine Wirkdauer bezüglich Reduktion der Glucose-Exkursion in der Reihenfolge BI 1356 > (Sitagliptin, Saxagliptin) > Vildagliptin. OGTs in Zucker Ratten zeigten, dass die Verbesserung der Glucosetoleranz sowohl akut als auch 24 h nach Gabe von BI 1356 mit einem temporären Anstieg von aktivem GLP-1 und Insulin im Plasma einhergeht. Darüber hinaus waren auch noch 24 h nach Einmalgabe von BI 1356 die Spiegel von basalem GLP-1 (aber nicht von Insulin) erhöht. **Schlussfol-**



**gerungen:** Die hohe Potenz und langsame Dissoziationsgeschwindigkeit von BI 1356 *in vitro* tragen zumindest teilweise zur lang anhaltenden Hemmung von DPP-4 *in vivo* bei. BI 1356 kann präklinisch von anderen DPP-4 Inhibitoren durch eine länger anhaltende Verbesserung der Glucosetoleranz bei gleicher Dosierung unterschieden werden. Die permanente Erhöhung der basalen aktiven GLP-1-Spiegel könnte langfristig zu einer Regeneration von  $\beta$ -Zellen und einer Erniedrigung der übersteigerten Glucagon Sekretion aus  $\alpha$ -Zellen im diabetischen Pankreas führen. Die hohe Potenz und die volle Wirksamkeit über 24 h wurden für BI 1356 bereits in klinischen Studien bestätigt.

49

### BI 1356 (geplanter Handelsname ONDERO) ist ein neuer hochpotenter DPP-4-Inhibitor mit großer therapeutischer Breite

Hüttner S<sup>1</sup>, Heise T<sup>2</sup>, Gräfe-Mody U<sup>1</sup>, Ring A<sup>1</sup>, Dugi KA<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Biberach, Deutschland, <sup>2</sup>Profil Institut für Stoffwechselforschung, Neuss, Deutschland

**Fragestellung:** BI 1356 ist ein neuartiger und selektiver (> 10.000fach vs. DPP-8/9) DPP-4-Inhibitor in Entwicklung für die Behandlung des Typ-2-Diabetes. In zwei doppelblinden und randomisierten Phase I Studien wurden Sicherheit, Verträglichkeit, pharmakokinetische und pharmakodynamische Eigenschaften von BI 1356 untersucht. **Methodik:** Zunächst wurde bei 63 gesunden männlichen Probanden (mittleres Alter 38,3 Jahre, BMI 24,8 kg/m<sup>2</sup>) eine Einmalgabe von BI 1356 in ansteigenden Dosierungen (2,5 bis 600 mg) getestet. In einer zweiten Studie (MRD-Studie) wurde dann die Mehrfachgabe (1 bis 10 mg einmal täglich für 12 Tage) bei 47 männlichen Typ-2-Diabetikern (mittleres Alter 56 Jahre, BMI 28,6 kg/m<sup>2</sup>, Ausgangs-HbA1c 6,7%) nach Absetzen der vorherigen antidiabetischen Medikation für 14 Tage untersucht. OGTTs wurden bei beiden Studien vor und 24 h nach der letzten Dosis durchgeführt. **Ergebnisse:** In beiden Studien wurden maximale Plasmakonzentrationen nach 1–3 h erreicht. Mit steigender Dosierung reduzierte sich die Zeit bis zum Erreichen des steady state von 7 auf 2 Tage. Renale Ausscheidung trug nur in geringem Maße zur Elimination von BI 1356 bei. In der MRD Studie wurde noch 24 h nach der letzten Dosis bereits mit 5 mg eine mehr als 80%ige DPP-4 Inhibition erzielt. Die BI 1356 Plasmakonzentrationen korrelierten gut mit der DPP-4 Inhibition. Im Vergleich zum Ausgangswert waren die GLP-1 Plasmaspiegel im oGTT 24 h nach der letzten Gabe von 2,5, 5 und 10 mg BI 1356 um 12,4 bis 14,0 pmol/l erhöht, aber nur um 2,8 pmol/l mit Placebo. Im Vergleich zum Ausgangswert fand sich 24 h nach der letzten Gabe eine dosisabhängige Reduktion der postprandialen Glucose-Exkursionen (AUC<sub>0–2 h</sub>) von -53 (1 mg Dosis), -106 (2,5 mg), -82 (5 mg) und -111 mg·h/dl (10 mg) für BI 1356 und von -25,1 mg·h/dl für Placebo. Trotz der kleinen Gruppengrößen war die Reduktion mit 2,5, 5, und 10 mg BI 1356 im Vergleich zum Ausgangswert und im Vergleich zu Placebo statistisch signifikant (p < 0,05). Die Einmalgabe von bis zu 600 mg BI 1356 und die Mehrfachgabe von bis zu 10 mg für 12 Tage wurden sehr gut vertragen. Hypoglykämien traten nicht auf. Die Inzidenz von Nebenwirkungen war mit BI 1356 nicht höher als mit Placebo. Es zeigten sich weder klinisch relevante EKG-Veränderungen noch eine QT-Verlängerung. **Schlussfolgerungen:** BI 1356 war sowohl bei Einmalgaben von bis zu 600 mg als auch bei einmal täglicher Dosierung von bis zu 10 mg über 12 Tage sicher und gut verträglich. Bereits mit Dosierungen von 2,5 mg bzw. 5 mg BI 1356 wurde eine DPP-4 Inhibition von mehr als 80%, bzw. eine signifikante Reduktion der postprandialen Glucoseexkursionen erzielt. Diese Ergebnisse demonstrieren die hohe Potenz, die volle Wirksamkeit über 24 h und die sehr große therapeutische Breite (> 100fach in Bezug auf eine Einmalgabe) von BI 1356.

50

### Lipidomics in type 2 diabetic patients treated with an intestinal absorption inhibitor versus placebo: implications on metabolic learning and intestinal mucosa transdifferentiation

Wycislo M<sup>1</sup>, Liebisch G<sup>1</sup>, Ugocsai P<sup>1</sup>, Köhler C<sup>2</sup>, Solleder M<sup>1</sup>, Hanefeld M<sup>2</sup>, Schmitz C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Regensburg, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Regensburg, Deutschland, <sup>2</sup>TU Dresden, Zentrum für Klinische Studien GWT-TUD, Dresden, Deutschland

Electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS) allows the simultaneous analysis of a wide spectrum of lipid species (lipidomics) in plasma and other body fluids of patients to elucidate the meta-

bolic pathophysiology of complex diseases like obesity, insulin resistance, type 2 Diabetes mellitus (T2D) or metabolic syndrome and to identify lipid biomarkers as surrogate biomarkers. Lipidomics also includes the transcriptomic analysis of the lipidome to identify the transdifferentiation of transcriptional networks involved in these diseases (metabolic learning). Recently, we have established ESI-MS/MS for the analysis of molecular lipid species that were examined in patients with T2D. Glycerophospholipid and sphingolipid species and ether lipid derivatives (plasmalogens) were analysed by ESI-MS/MS. After randomization one half of the study group was treated with Acarbose (3 x 100 mg/day for 20 weeks) (treatment group, n = 50), the second half was not treated (placebo group, n = 50). Of all examined lipid species (n = 234) 53% were significantly (p < 0.05) altered (relative change of lipid plasma concentrations compared with placebo controls): 11% increased and 7% decreased after Acarbose treatment (after placebo treatment 3% vs. 12%, after placebo or Acarbose treatment 11% vs. 9%). The following molecular lipid species with potential disease impact were significantly changed:

1. Ceramides: A significant positive correlation of ceramide species was found with parameters of insulin resistance (HOMA index) before treatment (Acarbose or placebo). Conversely, Ceramide 24:0 decreased significantly in prodromal stages of Type II Diabetes (in the highest HOMA tertile). Ceramides have been shown to accumulate in insulin-sensitive tissues in insulin resistance (lipotoxicity, lipopopulosis). Dihydro SPM 18:0 and saturated SPM species increased and Ceramide 24:1 decreased upon Acarbose treatment leading to an increased SPM/Ceramide ratio, indicative for impairment of ceramide-dependent NF- $\kappa$ B activation.
2. Lyso-PC species: Acarbose treatment increased PUFA LysoPC. Proinflammatory and proatherogenic properties of LPC species have been described.
3. PE/PE Plasmalogens: Acarbose treatment increased total PEs/PUFA-PEs and 18:0/arachidonic Acid (AA) and 18:0/Docosapentanoic Acid (DPAn-3) PE Plasmalogens and decreased 16:0/- and 18:0/Docosahexanoic Acid (DHAn-3) PE Plasmalogens. Several reports show antioxidative properties of plasmalogen species and a direct relation to outcome of renal failure. In summary, we could show that Acarbose regulates molecular lipid species in T2D.

51

### Verbesserung der Stoffwechseleinstellung bei adipösen Typ-2-Diabetikern durch gastrische elektrische Stimulation mittels des TANTALUS™ Systems

Ludvik B<sup>1</sup>, Prager G<sup>2</sup>, Bohdjaalian A<sup>2</sup>, Weiner R<sup>3</sup>, Rosak C<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Universität Wien, Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel, Wien, Österreich, <sup>2</sup>Medizinische Universität Wien, Abteilung für Chirurgie, Wien, Österreich, <sup>3</sup>Krankenhaus Sachsenhausen, Abteilung für Chirurgie, Frankfurt, Deutschland, <sup>4</sup>Krankenhaus Sachsenhausen, Abteilung für Diabetologie und Endokrinologie, Frankfurt, Deutschland

**Hintergrund:** Bisherige Arbeit hat gezeigt, dass non-excitatory electrical stimulation, synchronisiert mit der Refraktärperiode des Magens und während den Mahlzeiten in morbid adipösen Patienten Gewichtsreduktion induzieren kann. Das TANTALUS™ System (MetaCure N.V.) ist ein minimalinvasiv implantierbarer Magenstimulator, welcher weder Malabsorption noch restriktive Komplikationen hervorruft. Begründet auf diesen Tatsachen untersuchten wir den potentiellen Effekt des Tantalus-systems auf glykämische Kontrolle und auf das Gewicht in krankhaft adipösen Patienten mit Typ-2-Diabetes. **Methoden und Material:** In dieser multi-center, open label Studie wurde 24 adipösen T2DM Patienten, (9 m, 15 f, BMI: 41.7  $\pm$  0.9 kg/m<sup>2</sup>) die entweder mit Insulin (7), oder oralen Anti-Diabetika (17) behandelt wurden, das TANTALUS System laparoskopisch implantiert. Das System enthält einen Impuls-Generator und drei bipolare Sonden. Kommt es zur Nahrungsaufnahme, wird dies registriert und das Gerät gibt ein non-excitatory Signal ab. **Ergebnisse:** 20 Probanden sind seit einem Jahr in der Studie inkludiert und zeigen eine Reduktion des HbA1c von 8  $\pm$  0.2 Baseline zu 7.5  $\pm$  0.2% (p = 0.06) und einen sinkenden Nüchtern- Glucosespiegel von 180  $\pm$  15 zu 150  $\pm$  8 mg/dl (p < 0.05). 16 Probanden mit oraler antidiabetischer Therapie zeigten beim HbA1c nur einen Abfall von 8.1  $\pm$  0.3 zu 7.3  $\pm$  0.2%, beim Nüchtern- Glucosespiegel von 192  $\pm$  zu 148  $\pm$  mg/dl und im Mittel einen Gewichtsverlust von 5.5  $\pm$  2 kg (alle p < 0.05). In einem Subset von 9 Patienten fanden wir 9 Monate nach der Implantation einen Anstieg des Adiponectin (9.5  $\pm$  2.3 vs. 11.5  $\pm$  2.3  $\mu$ g/ml, p < 0.05) und einen Abfall des fasting ghrelin (428  $\pm$  80 vs. 252  $\pm$  20 pg/ml, p < 0.05). Die vier

Insulin-behandelten Probanden, welche ein Jahr in der Studie sind, zeigten weder bezogen auf das Gewicht noch auf den HbA1c Fortschritte. **Zusammenfassung:** Die Ergebnisse dieser Studie mit dem TANTALUS™ System weisen auf einen günstigen Effekt der gastrischen Stimulation auf Parameter des Glucosestoffwechsels bei adipösen Typ-2-Diabetikern hin. Interessant erscheint zudem die Verminderung der Ghrelin Spiegel bei gleichzeitiger Erhöhung von zirkulierenden Adiponectin. Es ist zu klären, ob die beobachteten Verbesserungen der Diabeteseinstellung auf die induzierte Gewichtsreduktion und/oder auf direkte signalabhängige Mechanismen zurückzuführen sind.

### Freie Vorträge: Folgeerkrankungen, Mikroangiopathie

52

#### Eine Hemmung der Aldose-Reduktase wirkt gegen diabetes-induzierten retinalen oxidativen Stress, Gliaktivierung und Apoptose

Julius U<sup>1</sup>, Shin J<sup>2</sup>, Ali TK<sup>3</sup>, El-Remezy A<sup>4</sup>, Drel VR<sup>2</sup>, Obrosova IG<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Dresden, Medizinische Klinik III, Dresden, Deutschland, <sup>2</sup>Louisiana State University, Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, USA, <sup>3</sup>Medical College of Georgia, Augusta, USA, <sup>4</sup>University of Georgia, College of Pharmacy, Augusta, USA

**Ziel:** Untersuchung der Rolle von erhöhter Aldose-Reduktase-(AR)-Aktivität im oxidativen Stress, der Gliaktivierung und Apoptose in Retinae von diabetischen Ratten und bei retinalen Perizyten und Endothelzellen, die einer hohen Glucosekonzentration in der Zellkultur ausgesetzt sind. **Methode:** Kontrollen (K) und Streptozotocin-induzierte diabetische (D) Ratten wurden mit/ohne den AR-Inhibitor Fidarestat (F, 16 mg/kg, für 10 Wochen nach 2 Wochen ohne Behandlung) behandelt. Die Apoptose-Rate wurde in flach-montierten Retinae mittels TUNEL-Assay mit Immunoperoxidase-Färbung gemessen, und Nitrotyrosin (NT), Poly(ADP-Ribose) [PAR, ein Marker der Poly(ADP-Ribose)-Polymerase-Aktivierung] und die Expression des glialen fibrillären sauren Proteins (GFAP) in retinalen Schnitten mittels Immunohistochemie. Primäre bovine retinale Perizyten und Endothelzellen wurden kultiviert in 5 mM oder 30 mM Glucose mit/ohne F (10 µM) für 3–14 Tage. Die Expression von Bax und Bcl-2 wurde mit Western-Blot analysiert. **Ergebnisse:** Die Zahl der TUNEL-positiven Zellkerne (mittel ± SEM) war etwa 4fach bei D erhöht (207 ± 33 versus 49 ± 4 bei K, p < 0,01), und dieser Anstieg wurde partiell korrigiert bei D + F (106 ± 34, p < 0,05 versus D). Die apoptotische Zellzahl stieg mit einer Verlängerung der Exposition sowohl von Perizyten als auch von Endothelzellen mit hoher Glucose an. F wirkte gegen die hohe Glucose-induzierte Apoptose und gegen die Akkumulation von NT und PAR in beiden Zelltypen. Der antiapoptotische Effekt von F bei retinalen Perizyten, die einer hohen Glucosekonzentration ausgesetzt waren, war nicht assoziiert mit einer Hemmung von Bax oder einem Anstieg der Bcl-2-Expression (Studien mit Endothelzellen laufen). **Schlussfolgerung:** Eine AR-Hemmung mit Fidarestat wirkt gegen einen diabetes-assoziierten retinalen oxidativen Stress, eine Gliaktivierung und Apoptose.

53

#### Untersuchung zur retinalen Gefäßfunktion bei gut eingestellten Typ-2-Diabetikern mittels dynamischer retinaler Gefäßanalyse

Henkel E<sup>1</sup>, Ziemssen T<sup>2</sup>, Hanso H<sup>2</sup>, Stelzer J<sup>1</sup>, Hanefeld M<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Zentrum für Klinische Studien, GWTTU Dresden, Dresden, Deutschland, <sup>2</sup>Uniklinik, Neurologische Klinik, Dresden, Deutschland

Endothelfunktionsstörungen sind für Typ-2-Diabetes charakteristisch. Ob dies auch für Diabetiker mit HbA1c im Zielbereich gilt, ist bisher wenig bekannt. **Fragestellung:** 1. Wir verglichen mittels einer dynamischen retinalen Gefäßanalyse die NO-vermittelten Veränderungen der arteriellen und venösen Gefäßdurchmesser (eine funktionelle Darstellung der retinalen Durchblutung) bei Patienten mit gut eingestelltem Typ-2-Diabetes und Stoffwechselgesunden 2. Die Beziehungen zwischen quantifizierter Gefäßantwort und Diabeteseinstellung und etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren wurden analysiert. **Methodik:** An dieser Case-Control Studie nahmen 20 Typ-2-Diabetiker und 16 Personen mit normaler Glucosetoleranz teil. Maximale arterielle und venöse Gefäßdilatationen der Retina wurden durch einen Flickerlichtreiz im Rahmen einer direkten, nicht-invasiven und leicht praktikablen Untersuchung mittels Retinal Vessel Analyser (RVA) gemessen. Ein arterio-venöser alterskorrigierter Quotient (AVQ) wurde gebildet. Der Pulsdruck

(PD = S-D ± SD) Blutdruck wurde berechnet. Statistische Methoden: T-Test, bivariate Korrelation, univariate und lineare Regressionen. Ergebnisse. Die Diabetiker (Diabetesdauer 8,1 ± 5,8 Jahre) waren signifikant übergewichtiger (p < 0,01) und wiesen höheren Pulsdruck (56,2 ± 11,3 vs. 49,9 ± 7,0 mm Hg, p < 0,01) und HbA1c-Werte (6,3 ± 0,5% vs. 5,2 ± 0,2% p < 0,01) auf. Die maximale arterielle (1,9 ± 1,9 vs. 2,6 ± 2,6%) und venöse (3,6 ± 1,6 vs. 3,5 ± 2,3%) Dilatation der Retinagefäße und AVQ (0,92 ± 0,08 vs. 0,90 ± 0,08) unterschieden sich zwischen beiden Gruppen nicht signifikant. Keine signif. Korrelation bestand zwischen den RVA-Parametern und HbA1c, Triglyzeriden, HDL-C, LDL-C, hs CRP und Leukozytenzahl. Die lineare Regressionsanalyse ließ den diastolischen Blutdruck als wichtigste Determinante der arteriellen Gefäßdilatation im Gesamtkollektiv erkennen (R 0,497; p < 0,01). **Schlussfolgerung:** zwischen der mittels RVA-Methode ermittelten Dynamik der retinalen Gefäßdurchmesser und der Glykämie Lage bei gut eingestellten Typ-2-Diabetikern bestand in dieser Studie keine signifikante Korrelation. Der diastolische Blutdruck erwies sich als einzige signifikante Determinante des retinalen Blutflusses.

54

#### Muskelstimulation mit hoch-frequenter externer Muskelstimulation mindert signifikant die Symptome der diabetischen Polyneuropathie

Kempf K<sup>1</sup>, Rose B<sup>2</sup>, Martin S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Westdeutsches Diabetes- und Gesundheitszentrum, Düsseldorf, Deutschland, <sup>2</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Klinische Diabetologie, Düsseldorf, Deutschland

**Fragestellung:** Diabetische Neuropathie ist eine der häufigsten chronischen Komplikationen bei Diabetes mellitus (DM). Typische Symptome sind Kribbeln, Brennen, Taubheitsgefühl oder Schmerzen in Füßen und Unterschenkeln, die die Lebensqualität stark beeinträchtigen. Medikamentöse Therapien können Schmerzen reduzieren, haben jedoch häufig Nebenwirkungen. In einer Pilotstudie konnten wir zeigen, dass hoch-frequente externe Muskelstimulation (hfEMS) neuropathische Symptome effektiver reduziert als transkutane elektrische Nervenstimulation. Es war daher das Ziel den Einfluss von hfEMS auf neuropathische Symptome in einer größeren Kohorte unter realen Alltagsbedingungen zu untersuchen. **Methodik:** Durch Pressemitteilungen wurden auf die Studie aufmerksam gemacht. Patienten, die sich im Studienzentrum meldeten und die Einschluss- (DM und symptomatische diabetische Polyneuropathie) und keines der Ausschlusskriterien (Herzschrittmacher, Chemotherapie) erfüllten, wurde ein Gerät zur hfEMS (HiToP®191, gbo Medizintechnik AG) zugeschickt mit der Anleitung, es mindestens 4 mal pro Woche für 30 min über einen Zeitraum von 4 Wochen zu verwenden. Die Intensität und Häufigkeit der vorhandenen Symptome wurden in standardisierten Telefongesprächen auf einer Skala von 0–10 (inkl. Neuropathie Symptom Score (NSS)) vor Beginn der Therapie (t0), nach 8 Tagen (t1) und 4 Wochen (t2), sowie 3 Wochen nach Ende der Therapie (t3) erfasst. Patienten, deren neuropathische Symptome sich um mindestens 3 Skalenpunkte verbessert hatten (t2 vs. t0), wurden als Therapieresponder gewertet. **Ergebnisse:** In der Kohorte (n = 167; 132 Männer; Alter 67,3 ± 9,2 Jahre; DM-Dauer 12,7 ± 9,0 Jahre; HbA1c 7,0 ± 1,2%; NSS 6,8 ± 2,0) kam es durch Anwendung von hfEMS zu einer Verringerung der Intensität (und Häufigkeit) des Kribbelns (3,4 ± 2,4 (t2) vs. 5,6 ± 2,7 (t0); p < 0,0001), Brennens (2,8 ± 2,5 vs. 4,4 ± 3,2; p < 0,0001), der Schmerzen (3,0 ± 2,6 vs. 5,1 ± 3,2; p < 0,0001) und des Taubheitsgefühls (4,1 ± 2,8 vs. 6,5 ± 3,0; p < 0,0001) in Füßen (und Unterschenkeln) wie auch bei der Schlafbeeinträchtigung (2,6 ± 2,4 vs. 4,8 ± 3,3; p < 0,0001). Interessanterweise traten auch 3 Wochen nach Beendigung der Therapie die Symptome schwächer und seltener (p < 0,0001) im Vergleich zu vorher auf (t3 vs. t0), wobei allerdings bereits eine Verschlechterung im Vergleich zum Zeitpunkt t2 zu beobachten war (p < 0,0001). Darüber hinaus sprachen 82% der Patienten als Therapieresponder auf hfEMS an. Dies war assoziiert mit einer längeren DM-Dauer (r = 0,18, p = 0,02), höherem NSS (r = 0,16, p = 0,04) und HbA1c (r = 0,20, p = 0,02) zu Therapiebeginn. **Schlussfolgerungen:** hfEMS verbessert signifikant die Symptome der diabetischen Polyneuropathie und hat möglicherweise auch längerfristige Effekte, da Symptome auch nach Beendigung der Therapie weniger intensiv und weniger häufig auftreten. Da hfEMS keine Nebenwirkungen hat und vorrangig Patienten mit weiter fortgeschrittenem DM darauf ansprechen, sollte hfEMS als Therapie Patienten mit diabetischer Neuropathie angeboten werden.

55

### Lacosamid: Klinische Untersuchungen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit bei Patienten mit schmerzhafter diabetischer Neuropathie, Ergebnisse einer europäischen Doppelblindstudie

Ziegler D<sup>1</sup>, Bongardt S<sup>2</sup>, Koch B<sup>2</sup>, Thierfelder S<sup>2</sup>, und die SP743-Studiengruppe

<sup>1</sup>Institut für Klinische Diabetologie, Deutsches Diabetes-Zentrum, Leibniz-Zentrum an der Heinrich Heine Universität, Düsseldorf, Deutschland, <sup>2</sup>Schwarz Biosciences GmbH, Monheim, Deutschland

**Fragestellung:** Ziel der Studie war es, die Wirksamkeit und Sicherheit von Lacosamid (LCM), einem neuartigen Antikonvulsivum mit potenziell analgetischer Wirkung, bei Patienten mit schmerzhafter diabetischer Neuropathie zu untersuchen. **Methodik:** In einer randomisierten, Placebo-kontrollierten multizentrischen Doppelblindstudie wurden 357 Patienten mit schmerzhafter diabetischer Neuropathie (Likert-Score  $\geq 4$ ) über 20 Wochen mit 400 mg/d, 600 mg/d LCM oder Placebo behandelt, wobei der 400-mg/d- LCM-Arm zwei unterschiedliche Titrationsschemata beinhaltete. Primärer Endpunkt der Studie war die Schmerzreduktion über die letzten vier Wochen bei Patienten unter LCM im Vergleich zu Placebo-Patienten. **Ergebnisse:** Bei allen Besuchen zeigte sich bei Patienten unter LCM eine deutliche Schmerzreduktion im Vergleich zu Patienten unter Placebo. Die Differenz zwischen dem durchschnittlichen Tagesschmerz-Score auf der 11-Punkte (0–10) Likert-Skala vor Therapiebeginn und der gesamten Behandlungsphase war sowohl unter 400 mg/d als auch unter 600 mg/d LCM statistisch signifikant verglichen mit Placebo, aufgrund eines starken Placebo-Effekts jedoch nicht für den primären Endpunkt. 79,1% der Patienten unter 400 mg/d LCM und 61,8% unter Placebo berichteten am Ende der Studie über eine Verbesserung der Schmerzsymptomatik. Die Gesamtrate unerwünschter Ereignisse war im 400-mg-LCM-Arm ähnlich dem Placebo-Niveau (58,7% vs. 54,1%). Häufigste unerwünschte Ereignisse waren Schwindelgefühl (7,3% vs. 2,7%), Müdigkeit (10,0% vs. 6,8%) und Kopfschmerz (6,0% vs. 2,7%). Das Titrationsschema hatte keinen nennenswerten Einfluss auf die Rate unerwünschter Ereignisse. **Schlussfolgerungen:** In dieser Studie reduzierte LCM signifikant den Schmerzscore über die Behandlungsdauer. In einer Dosierung von 400 mg/d zeigte LCM ein Verträglichkeitsprofil, das nahe dem Placebo-Niveau lag. Die Ergebnisse dieser Untersuchung weisen darauf hin, dass LCM eine neue Therapieoption für Patienten mit schmerzhafter diabetischer Neuropathie sein könnte.

56

### Charakterisierung der Netzhautgefäßdurchmesser und retinaler Gefäßweitenregulation bei der diabetischen Retinopathie

Mandacka A<sup>1</sup>, Dawczynski J<sup>2</sup>, Blum M<sup>3</sup>, Vilser W<sup>4</sup>, Müller N<sup>1</sup>, Wolf G<sup>1</sup>, Müller UA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin III, Jena, Deutschland, <sup>2</sup>Universitätsklinikum Jena, Klinik für Augenheilkunde, Jena, Deutschland, <sup>3</sup>HELIOS- Klinikum, Augenklinik, Erfurt, Deutschland, <sup>4</sup>IMEDOS, Jena, Deutschland

**Fragestellung:** Die bisherige Studienlage bezüglich der Netzhautgefäßdurchmesser bei Patienten mit Diabetes mellitus (DM) ist uneinheitlich. Eine gestörte Endothelfunktion scheint eine wichtige Rolle bei der Entstehung der diabetischen Retinopathie (DR) zu spielen. Dabei führt die Stimulation der Netzhaut mit Flickerlicht zu einer Vergrößerung des Gefäßdurchmessers von Netzhautgefäßen. Eine reduzierte Flickerdilatation wird als endotheliale Dysfunktion betrachtet. Ziel unserer Studie ist die Untersuchung der Auswirkungen des Diabetes mellitus auf den Gefäßdurchmesser und der Assoziation zwischen den Gefäßdurchmesser und der Flickerantwort der retinalen Gefäße. **Methodik:** Es wurden 29 gesunde Probanden (Alter 42,2 Jahre), 83 Patienten mit Typ-1-Diabetes (Alter 46,0 Jahre) sowie 143 Patienten mit Typ-2 (Alter 62,0 Jahre) untersucht. Jeweils 5 Fundusaufnahmen aller Patienten erfolgten unter standardisierten Bedingungen in Mydriasis. Die Graduierung der Fundusaufnahmen erfolgte im zentralen Feld (Aufnahme 1) um den mittleren Durchmesser der Arterien und Venen zu bestimmen. Die Klassifikation der DR erfolgte entsprechend den ETDRS-Kriterien in: keine DR, milde-, moderate-, schwere- nichtproliferative und proliferative DR. Mit dem Dynamic Vessel Analyser (Fa. IMEDOS) wurde die Dilatation der retinalen Gefäße nach Flickerstimulation vermessen. **Ergebnisse:** Nach Adjustierung nach Alter, Geschlecht und Antihypertensiva zeigte sich eine progressive Verminderung des Durchmessers der Arteriolen mit

zunehmender Schwere der DR (trend test  $p < 0.008$ ). Patienten mit proliferativer DR hatten signifikant engere Netzhautarteriolen im Vergleich zu Patienten ohne DR ( $p < 0.001$ ). Weiterhin zeigten alle Patienten mit DM größere venöse Gefäßdurchmesser im Vergleich zur Kontrollgruppe (240,7  $\mu\text{m}$  vs. 229,4  $\mu\text{m}$ ), wobei im Verlauf der Retinopathie nur noch eine geringe Veränderung der venösen Durchmesser feststellbar war (trend test  $p < 0.195$ ). Patienten mit DM und ohne sichtbare Zeichen einer DR zeigten bereits deutlich größere Durchmesser der Venolen (238  $\mu\text{m}$ ) im Vergleich zu Kontrollen (229,4  $\mu\text{m}$ ), wobei dieser Unterschied nach erfolgter Adjustierung nicht signifikant war. Sowohl die arterielle als auch die venöse Gefäßdilatation auf Flickerlicht nahm mit zunehmender Schwere der DR kontinuierlich ab (trend test  $p < 0.002$ ,  $p < 0.03$ , bzw.). **Schlussfolgerungen:** Die diabetische Retinopathie geht mit einer Dilatation der Netzhautvenolen bei gleichzeitiger progressiver Verengung der Arteriolen einher. Mit zunehmender Schwere der DR nimmt gleichzeitig die Fähigkeit der Autoregulation des Blutflusses auf externe Stimuli in beiden Gefäßtypen ab. Eine quantitative Messung der Durchmesser von Netzhautarteriolen neben der Messung der induzierten retinalen Vasodilatation könnte zusätzliche Informationen hinsichtlich des individuellen Retinopathierisikos liefern.

57

### Die Wirkung von Epoetin Delta auf oxidativen Stress und die Entwicklung der diabetischen Retinopathie V. Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Mannheim, Universität Heidelberg

Wang Q<sup>1</sup>, Pfister F<sup>1</sup>, Dorn-Beineke A<sup>2</sup>, Feng Y<sup>1</sup>, Hammes HP<sup>1</sup>

<sup>1</sup>V. Med. Klinikum Mannheim, Uni Heidelberg, Mannheim, Deutschland, <sup>2</sup>Institute of Clinical Chemistry, Mannheim, Deutschland

**Einleitung:** Die diabetischen Komplikationen sind eine Folge von hyperglykämie-induziertem oxidativen Stress, welcher vasoprotektive Prozesse durch Wachstums-/Survival- Faktoren und endogene Anitoxodantien beeinflusst. In präklinischen Studien wurde Erythropoietin als ein Gewebe-protektiver und regenerativer Faktor nahegelegt. Das Ziel unserer Studie ist, die Wirkung von Epoetin delta (Dynepo®, Shire plc) auf den oxidativen Stress in den Zielorganen des diabetischen Spätsyndromes und auf die vaskulären Veränderungen in der diabetischen Retina zu untersuchen. **Material und Methoden:** Diabetes wurde in den Wistar-Ratten in der 6. Lebenswoche durch Streptozotocin (i. v., 55 mg/kg KG) induziert. Epoetin delta wurde in der 2. Woche nach der Diabetes-induktion i. p. appliziert. Die Ratten wurden in vier Gruppen eingeteilt: 1. nicht-diabetische Kontrolle (N), 2. Diabetes (D), 3. Diabetes mit einer niedrigen Dosis (D + LD; 128 IE/kg KG, drei Mal pro Woche) und 4. Diabetes mit einer hohen Dosis (D + HD; 384 IE/kg KG einmal pro Woche). 3 Monate nach der EPO-Gabe wurden die Tiere terminiert. Die Marker für den oxidativen Stress, Nε-carboxymethyllysin (CML) und Nitrotyrosin (NT) wurden in den Zielgeweben mittels Western Blot untersucht und die Expression von vascular endothelial growth factor (VEGF)-Isoformen (120, 164, 188) und Häm-Oxygenase-1 (HO-1) wurde durch RT-PCR erfasst. Vaskuläre Veränderungen der diabetischen Retinopathie wurden durch retinale Morphometrie in den Retinal-Digestionspräparaten analysiert. **Ergebnisse:** Vermindertes Körpergewicht und erhöhtes Glykohämoglobin (HbA1) der diabetischen Ratten wurden durch die EPO-Therapie nicht verändert (Körpergewicht: D + HD, 315,6  $\pm$  14,2 g; D + LD, 313,6  $\pm$  19,2 g; HbA1: D + HD, 15,4  $\pm$  1,4%; D + LD, 14,0  $\pm$  2,4%). Vermehrte CML- und NT- Produkte wurden durch Epoetin delta in den diabetischen Nieren, Retinae und Herzen normalisiert. In der Niere wurde die Expression der drei VEGF Isoformen durch Diabetes induziert, aber nicht durch Epoetin delta reduziert. HO-1 wurde in der diabetischen Niere hochreguliert (70%), aber nicht im Herzen. Diese Hochregulation wurde durch Epoetin delta Behandlung nur durch die niedrige Dosierung reduziert. Der Perizytverlust in der diabetischen Retina wurde durch beide Behandlungen verbessert ( $p < 0,05$ ). **Schlussfolgerung:** Unsere Ergebnisse zeigen, dass Epoetin delta in diesem streptozotocin-induzierten diabetischen Ratten Modell anti-oxidative Eigenschaften hat und zur Vermeidung der diabetes-induzierten Schäden in der diabetischen Retina beiträgt.

58

### Verminderung von Endothelial Progenitor Cells (EPC) in Patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus (T2DM) mit Normalalbuminurie (NORM), Mikroalbuminurie (MIA) und Makroalbuminurie (MA)

Brix J<sup>1</sup>, Satler M<sup>2</sup>, Feder A<sup>1</sup>, Hoellerl F<sup>2</sup>, Elhenicky M<sup>2</sup>, Koppensteiner R<sup>2</sup>, Scherthauer C<sup>1</sup>, Scherthauer GH<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Rudolfstiftung Hospital, Department for Internal Medicine I, Vienna, Österreich, <sup>2</sup>Medical University of Vienna, Department of Internal Medicine II, Division of Angiology, Vienna, Österreich

**Fragestellung:** EPC sind ein neuer, wichtiger Marker bei kardiovaskulären Erkrankungen und sind auch für die Neoangiogenese von immmanenter Bedeutung. Patienten mit T2DM und auch Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz haben verminderte EPC. Bei Patienten mit T2DM, die bereits MIA oder MA aufweisen, besteht jedoch bereits ein deutlich erhöhtes kardiovaskuläres Risiko, auch wenn sie noch nicht niereninsuffizient sind. Ziel der Studie war es in T2DM Patienten, EPC und einem möglichen Zusammenhang mit dem Grad der Albuminurie zu untersuchen. **Methodik:** Es wurden 85 Patienten mit T2DM untersucht, davon 45 normoalbuminurische, 25 mit Mikroalbuminurie und 15 mit Makroalbuminurie. Die Patientendaten wurden mittels Anamnese und Standardlaborbesten gewonnen, wobei nur Langzeitpatienten (Kontrolle alle 3 Monate) eingeschlossen wurden. An statistischen Methoden wurden je nach Situation passend Anova oder der ungepaarter Student's T-Test verwendet. Monoklonale Antikörpern gegen CD34 und CD133 wurden verwendet um Hämangioblasten (CPC) mittels Durchflusszytometrie zu identifizieren, CD34, CD133 und CD309 um EPC zu entdecken. Um ausschließlich den Zusammenhang zwischen Albuminurie und EPC zu ermitteln, wurden Patienten mit einem Kreatinin > 1,4 mg/dl nicht eingeschlossen. **Ergebnisse:** Bei unseren Patienten gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Basisdaten (Alter, HbA1c, BMI, systolischer Blutdruck, diastolischer Blutdruck, Gewicht, Gesamt-Cholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyzeride) in den 3 Gruppen (mittels ANOVA). Die EPC waren in der Mikroalbuminurie verglichen zur Normalalbuminurie Gruppe signifikant vermindert: 102 ± 74 vs. 142 ± 79, p=0,041. Bei Patienten mit Makroalbuminurie waren die EPC noch stärker vermindert: 55 ± 32 vs. 142 ± 79 (NORM), p < 0,0001 und unterschieden sich ebenfalls signifikant zwischen der Mikro- und Makroalbuminurie Gruppe: 102 ± 74 vs. 55 ± 32, p=0,013. Die CPC, die hauptsächlich in der Hämatopoese ihre Bedeutung haben, unterschieden sich zwischen den 3 Gruppen nicht signifikant (p=0,371). **Schlussfolgerungen:** In dieser Studie konnte zum ersten Mal der Zusammenhang von EPC und Mikro- und Makroalbuminurie gezeigt werden. Patienten mit T2DM und begleitender Mikro- oder Makroalbuminurie haben ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko unabhängig von der Nierenfunktion. Möglicherweise könnte das erhöhte kardiovaskuläre Risiko zu mindest teilweise durch eine Reduktion der EPC bedingt sein.

59

### Identification of new genes and pathways involved in the vasoregression mimicking diabetic retinopathy

Wang Y<sup>1</sup>, Feng Y<sup>1</sup>, Li L<sup>2</sup>, Pfister F<sup>1</sup>, Gretz N<sup>2</sup>, Hammes HP<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>V. Med. Klinikum Mannheim, Uni Heidelberg, Mannheim, Deutschland, <sup>2</sup>ZMF, Faculty of Clinical Medicine, Mannheim, Uni Heidelberg, Mannheim, Deutschland

**Aims:** Diabetic retinopathy is the most common microangiopathy in diabetes. It is morphologically characterized by vasoregression including pericyte loss and increased formation of acellular capillaries. Recently, we characterized a transgenic rat with a universal overexpression of PKD-2, in which c-terminal polycystein-2 is truncated. The transgenic rats showed severe vasoregression in the retinas at the second month of life. To elucidate the mechanisms of vasoregression in the retina, we analysed transcriptional alterations in this transgenic rats. **Materials and methods:** Profiles of gene expression were evaluated in rats before and after vasoregression, at the first and the third month of life, respectively. Age-matched SD rats served as controls. RNA was isolated from individual retinas and microarray analysis was performed with affymetrix gene chips according to the protocols published (<http://www.ma.uni-heidelberg.de/inst/zmf/affymetrix/>). **Results:** Numerous genes were altered during retinal vasoregression. 3267 genes were upregulated while 2924 genes were significantly downregulated (cutoff p < 0.001). Serine/cysteine peptidase inhibitor, lectin-galactose binding and CD74 antigen are the highest (approximately 6-fold) upregulated genes. A number of genes related to neuronal cells, glial cells and endothelial

cells were regulated in 3-month transgenic retinas compared to control SD retinas. Analysis of signalling clusters showed many signalling pathways were significantly involved during vessel degeneration in the retina. The most significant pathways include fatty acid elongation in mitochondria, mRNA splicing, adipocytokine signaling pathways and antigen processing and presentation pathways. **Conclusion:** Our data from microarray analysis of a new transgenic rat, a model for vasoregression of diabetic retinopathy, suggests that we have identified a number of genes and pathways which are involved in the development of retinal vasoregression. Further analysis of such genes may provide new insights for discovering new mechanisms underlying vasoregression also in diabetic retinopathy.

60

### Signifikante Reduzierung der plantaren Druckbelastung durch Vakuum-Orthesen bei Patienten mit Diabetes mellitus

Nagel A<sup>1</sup>, Rosenbaum D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Münster, Allgemeine Orthopädie, Funktionsbereich Bewegungsanalytik, Münster, Deutschland

**Einleitung:** Plantare Ulzerationen sind eine häufige Komplikation bei Patienten mit Diabetes mellitus [1] und schränken die betroffenen Patienten in ihrer Lebensqualität ein [2]. Vor allem hohe plantare Druckbelastungen als Teil des Diabetischen Fußsyndroms werden als Ursache dafür beschrieben [3]. Eine erfolgreiche Behandlung von plantaren Ulzerationen sollte eine effektive Druckentlastung der betroffenen Stelle anstreben [3]. Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Wirkung einer Vakuum-Orthese auf die plantare Druckverteilung bei Patienten mit Diabetes mellitus. **Material und Methoden:** Bei 20 Patienten mit Diabetes mellitus (56,4 ± 15,7 Jahre) wurde eine plantare Druckverteilungsmessung mit kapazitiven Messsohlen (Pedar-X, Novel GmbH, München) durchgeführt, während sie eine Strecke von jeweils 20 Metern mit einem Gesundheitsschuh, einem Vorfußentlastungsschuh (VFES) und zwei Vakuum-Orthesen gingen. Die Vakuum-Orthesen (VACODiaped und VACODiaped-Plus, OPED GmbH, Valley) bestanden aus einer Orthosesohle, dem Innenschuh mit Vakuum-Kissen und einer Abrollsohle. Der VACODiaped zeichnete sich dabei durch einen hohen stabilen Schaft aus. Die plantare Druckbelastung wurde für den Rück-, Mittel- und Vorfuß berechnet. **Ergebnisse:** Die plantare Druckbelastung im Rück- und Vorfuß wurde durch die beiden Vakuum-Orthesen und den VFES signifikant gegenüber dem Gesundheitsschuh reduziert. Gleichzeitig konnte ein Anstieg der Fußbelastung im Mittelfußbereich nachgewiesen werden, der mit einer Erhöhung der Kontaktfläche in diesem Bereich einherging. Beide Vakuum-Orthesen erreichten eine höhere Kontaktfläche und Fußbelastung im Mittelfuß sowie eine signifikant geringere Druckbelastung im Rückfuß gegenüber dem VFES. Bezüglich des Tragekomforts wurde der VACODiaped-Plus ähnlich positiv bewertet wie der Gesundheitsschuh, der am bequemsten beurteilt wurde. Der VACODiaped (mit hohem Schaft) und der VFES wurden signifikant schlechter bewertet. **Diskussion:** Die Vakuum-Orthesen bewirkten durch das Vakuum-Kissen eine gleichmäßige Druckverteilung unter dem gesamten Fuß unter Vermeidung von Druckspitzen, wobei der VACODiaped eine vergleichbare Entlastung des Vorfußbereiches wie der VFES erreichte. Bei dem VFES fand eine Verlagerung der Druckbelastung zum Rückfuß statt, die bei zu Ulzerationen neigenden Diabetikern als kritisch angesehen werden kann. Der VACODiaped-Plus erreicht mit seinem kürzeren Schaft nicht die gleiche Entlastung des Vorfußes wie der VACODiaped und der VFES, wird aber von den Patienten signifikant angenehmer empfunden. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die beiden Vakuum-Orthesen eine gleichmäßigere Druckverteilung sowie eine effektive Druckentlastung erreichen können und sich damit zur Vermeidung von Druckspitzen eignen. **Literatur:** [1] Hader et al., Diabetes und Stoffwechsel 2004 (13). [2] Nabuurs-Franssen et al., Diabetologia, 2005. 48(9). [3] Rathur and Boulton, Nat Clin Pract Endocrinol Metab, 2007, 3(1).

## Freie Vorträge: Genetik

61

**Polymorphismen im TCF7L2-, CDKAL1- und SLC30A8-Gen sind mit eingeschränkter Proinsulinkonversion assoziiert***Kirchhoff K<sup>1</sup>, Haupt A<sup>1</sup>, Schäfer SA<sup>1</sup>, Silbernagel G<sup>1</sup>, Machicao F<sup>1</sup>, Tschritter O<sup>1</sup>, Staiger H<sup>1</sup>, Stefan N<sup>1</sup>, Häring HU<sup>1</sup>, Fritsche A<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Medizinische Universitätsklinik, Abteilung IV, Tübingen, Deutschland

**Fragestellung:** In den kürzlich veröffentlichten genomweiten Assoziationsstudien wurden sechs neue Genloci für erhöhtes Diabetesrisiko beschrieben. Der Mechanismus, über welchen diese Risikogene zu Diabetes mellitus führen, ist wahrscheinlich eine Betazell-dysfunktion. In der hier dargestellten Untersuchung war es unser Ziel zu prüfen, ob die Variation in diesen Genen mit verminderter Insulinsekretion und verminderter Proinsulinkonversion einhergeht. **Methodik:** Es wurden daher bei 1065 gesunden deutschen Probanden mit erhöhtem Diabetesrisiko die Polymorphismen rs7903146 im TCF7L2-Gen, rs7754840 im CDKAL1-Gen, rs7923837 und rs1111875 im HHEX-Gen, rs13266634 im SLC30A8-Gen, rs10811661 im CDKN2A/B-Gen und rs4402960 im IGF2BP2-Gen genotypisiert. Einschlusskriterien für diese Studie war das gleichzeitige Vorliegen eines oralen Glucosetoleranztestes (OGTT) mit Glucose-, C-Peptid-, Insulin- und Proinsulinmessung zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90 und 120 Minuten. Zur Beurteilung der Insulinsekretion wurde das Verhältnis von sezerniertem C-Peptid zur Glucosekonzentration während des OGTTs verwendet. Zur Beurteilung der Proinsulinkonversion wurde der Proinsulin zu Insulin-Quotient während des OGTTs herangezogen. **Ergebnisse:** In unserer Kohorte konnten wir für die Varianten im TCF7L2-, CDKAL1- und HHEX-Gen eine reduzierte Insulinsekretion nachweisen (alle  $p < 0.05$ ), während für die Varianten im SLC30A8, CDKN2A/B und IGF2BP2-Gen keine signifikante Assoziation mit Insulinsekretion im OGTT gefunden wurde. Dagegen war das Vorliegen der Risikoallele in den Varianten im TCF7L2-, CDKAL1- und SLC30A8-Gen mit einer reduzierten Proinsulinkonversion verbunden (alle  $p < 0.05$ ), während für die Varianten im HHEX-, CDKN2A/B- und IGF2BP2-Gen keine signifikant reduzierte Proinsulinkonversion im OGTT gefunden wurde. **Schlussfolgerungen:** Die mit Diabetes mellitus Typ 2 assoziierten Polymorphismen im TCF7L2- und CDKAL1-Gen verschlechtern sowohl Insulinsekretion als auch Proinsulinkonversion. Beide Aspekte der Betazell-dysfunktion treten jedoch nicht notwendigerweise kombiniert auf, da bei oraler Glucosebelastung die eingeschränkte Insulinsekretion spezifisch für die Varianten im HHEX-Gen und die eingeschränkte Proinsulinkonversion spezifisch für die Variante im SLC30A8-Gen zu sein scheint.

62

**Der Leu72Met-Polymorphismus des Ghrelin-Gens vermindert das Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 aber erhöht das Risiko für atherosklerotische Erkrankungen***Giannakidou E<sup>1</sup>, Berthold HK<sup>2</sup>, Krone W<sup>1</sup>, Gouni-Berthold I<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Universität zu Köln, Medizinische Klinik II, Köln, Deutschland, <sup>2</sup>Medizinische Fakultät der Universität Bonn, Klinische Pharmakologie, Bonn, Deutschland

**Background and purpose of the study:** Ghrelin is a gut-brain regulatory peptide involved in the control of appetite and energy balance. The Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene has been associated with the modulation of glucose tolerance and body fat composition. There are contradictory data regarding its association with the development of Diabetes mellitus type 2 (DM2). Purpose of the present study was to examine whether the Leu72Met polymorphism is associated with DM2 in a German population and whether it is associated with the presence of atherosclerosis. **Methods:** We investigated 420 subjects with DM2 (56% male, age  $61 \pm 12$  years, BMI  $28.8 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>) and 430 age and sex-matched controls without DM (57.2 male, age  $63 \pm 7$  years, BMI  $26.4 \pm 3.7$  kg/m<sup>2</sup>) from the Lipid Analytic Cologne (LIANCO) database. In Brief, LIANCO was designed to evaluate the relationship among genetic polymorphisms, serum lipoproteins, other biochemical parameters and clinical data in atherosclerotic disease. Between spring 1999 and March 2002 a total of about 5000 patients were recruited in the Cologne area by hospitals and physicians in private practice. Atherosclerotic disease was defined as the presence and/or history of  $\geq 1$  of the following parameters: stroke, transient ischemic attack, prolonged reversible ischemic neurological deficit, coronary heart disease (CHD) and peripheral vascular disease. CHD was defined as the presence of  $\geq 1$  of the follo-

wing: angiographic evidence of CHD, myocardial infarction, angina pectoris, coronary bypass surgery or positive stress test. The Leu72Met polymorphism was detected by PCR. **Results:** In the diabetic and control groups the CC (Leu72Leu) genotype frequencies were 89.8% and 84.7%, the CA (Leu72Met) 9.5% and 15.1% and the AA (Met72Met) 0.71% and 0.23%, respectively. Frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium. The allelic frequencies were 0.945 and 0.922 for the C allele and 0.0547 and 0.0779 for the A allele, respectively. In subjects with the CA or AA genotypes (Met72 carriers) the risk for having DM2 was significantly decreased (OR 0.63, 95% CI 0.42 – 0.95,  $P = 0.026$ ). In univariate analyses, there was no association between the polymorphism and BMI, blood pressure, and serum lipoprotein concentrations. In a logistic regression model, BMI, hypertension and positive family history for DM2 were positively associated while the polymorphism remained negatively associated with DM2. In another logistic regression model, the Met72 carriers had a significantly increased risk for the presence of atherosclerotic disease (OR 1.77, 95% CI 1.02 – 3.1,  $P = 0.042$ ). In the same model the association of atherosclerosis with other known cardiovascular risk factors (age, sex, DM2, hypertension, smoking, and positive family history for premature CHD) was confirmed. **Conclusions:** In a German Caucasian population the Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene is associated with a decreased risk for DM2 and an increased risk for atherosclerosis.

63

**Assoziationen häufiger SNPs im FOXO1-Gen mit metabolischen Parametern bei Menschen mit erhöhtem Risiko für Typ-2-Diabetes***Müssig K<sup>1</sup>, Staiger H<sup>1</sup>, Machicao F<sup>1</sup>, Thamer C<sup>1</sup>, Machann J<sup>2</sup>, Schick F<sup>2</sup>, Stefan N<sup>1</sup>, Fritsche A<sup>1</sup>, Häring HU<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik IV, Tübingen, Deutschland, <sup>2</sup>Universitätsklinikum Tübingen, Radiologische Klinik, Tübingen, Deutschland

**Fragestellung:** Der Transkriptionsfaktor FOXO1A (forkhead box protein O1A) spielt eine entscheidende Rolle in der Vermittlung metabolischer Effekte von Insulin in der Leber und im Fettgewebe sowie in der Regulation der  $\beta$ -Zell-Funktion. Aus diesem Grunde gingen wir der Frage nach, ob genetische Variationen in dem für FOXO1A kodierenden FOXO1-Gen zu prädiabetischen Phänotypen, wie Insulinresistenz oder  $\beta$ -Zell-Dysfunktion, bei Menschen mit einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes beitragen. **Methodik:** Wir genotypisierten 941 Menschen mit einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes (erstgradige Angehörige mit Diabetes, vorheriger Gestationsdiabetes oder Übergewicht) für die zehn SNPs (single nucleotide polymorphisms) rs2701892, rs17446593, rs2755209, rs2721068, rs17446614, rs12865518, rs9532562, rs2951787, rs29842121 und rs2297627 und führten Korrelationsanalysen mit metabolischen Parametern durch. Zur metabolischen Charakterisierung erhielten alle Probanden einen oralen Glucosetoleranztest (OGTT) und eine Untergruppe zusätzlich einen hyperinsulinämisch-euglykämischen Clamp-Versuch. In einer Subgruppe von 309 Teilnehmern wurde die Körperfettverteilung mittels Magnetresonanztomographie bestimmt. **Ergebnisse:** Die zehn gewählten SNPs deckten 100% der häufigen genetischen Variationen (Minor-Allel-Frequenz  $\geq 0.10$ ) innerhalb des FOXO1-Gens ab ( $r^2 \geq 0.8$ ). Wir fanden signifikante Assoziationen der Minor-Allele der SNPs rs2297627, rs17446614 und rs2721068 mit einer verminderten Insulinsekretion und erhöhten Glucosespiegeln während des OGTT. Die Träger der Minor-Allele der SNPs rs2297627, rs9532562, rs2755209 und rs2721068 wiesen eine signifikant geringere nicht-viszerale Körperfettmasse auf. **Schlussfolgerungen:** Unsere Daten deuten daraufhin, dass häufige genetische Variationen im FOXO1-Gen möglicherweise Insulinsekretion, Glucosetoleranz und Fettgewebmasse beeinflussen.

64

**SLC30A8-Polymorphismen sind assoziiert mit frühem Diabetesbeginn von Typ 1***Ferrari U<sup>1</sup>, Gohlke H<sup>2</sup>, Bonifacio E<sup>1</sup>, Illig T<sup>2</sup>, Ziegler AG<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Institut für Diabetesforschung/TUM, München, Deutschland, <sup>2</sup>Institut für Epidemiologie, GSF, München-Neuherberg, Deutschland

**Hintergrund und Fragestellung:** Das SLC30A8 Gen codiert das Zinktransporter-Protein ZnT8, welches nur in pankreatischen Betainselzellen exprimiert wird. Ein Polymorphismus des Gens liegt vermehrt bei Patienten mit Typ-2-Diabetes (T2D) versus Kontrollen vor. Das Hauptallel von SLC30A8 Single Nucleotide Polymorphismus (SNP) rs13266634 ist bei nicht-diabetischen Verwandten von Patienten mit Typ-2-Diabetes

mit einer reduzierten Insulinsekretion nach oraler oder intravenöser Glucosestimulation assoziiert. Aufgrund der Rolle des SLC30A8 Gens in der Betazellfunktion, stellten wir die Hypothese auf, dass dieses zu gesteigerter Sensibilität für autoimmune  $\beta$ -Zellzerstörung in Typ-1-Diabetes führen könnte. Dazu analysierten wir SLC30A8-Genotypen in Patienten mit Typ-1-Diabetes und Kontrollen. **Methodik:** Insgesamt wurden 874 Diabetespatienten (w: 586) und 1023 Kontrollen (w: 349) genotypisiert. Die genetische Bestimmung der Patienten und Kontrollen erfolgte am SLC30A8 SNP rs13266634 mit der iPLEXTM Methode. Es fand eine Altersstratifizierung in folgenden Jahresgruppen statt: 0–5, 5–15, 15–20, 20–30, 30–50. **Ergebnisse:** Die SLC30A8 SNP rs13266634 Genotypenverteilung stimmte mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium in der Gesamtkohorte und in den Alterssubpopulationen ( $p > 0,1$ ) überein. Es gab keinen Unterschied zwischen Allel- und Genotypenhäufigkeiten zwischen Patienten mit Typ-1-Diabetes und Kontrollen. Eine erhöhte Prävalenz des C Allels (82%) liegt vor bei: Patienten mit Diabetesbeginn vor versus nach dem 5. Lebensjahr (67%;  $p = 0,0018$ ) und verglichen zur Kontrollpopulation (69%;  $p = 0,0084$ ). Gleiches galt für den CC Genotyp ( $p = 0,008$  versus späterem Diabetesbeginn;  $p = 0,027$  versus Kontrollen). Dieser Unterschied verstärkte sich bei Patienten, die den Diabetes in den ersten zwei Lebensjahren entwickelt hatten (C Allelhäufigkeit 88%). Bei diesen sehr jungen Patienten lag, wie auch sonst typisch für Patienten mit Typ-1-Diabetes, eine hohe Prävalenz des HLA DR3-DQ2/DR4-DQ8 Genotyps vor (60%). **Schlussfolgerungen:** Die Studie legt nahe, dass genetische Suszeptibilität der Betazellfunktion (SLC30A8) bei vorliegender Autoimmunität zu einer schnelleren Progression von Betazelldestruktion und früheren Krankheitsmanifestation führt. Das Ergebnis könnte Hinweise auf mögliche gemeinsame Pathomechanismen von Typ-1 und Typ-2-Diabetes geben.

65

#### Assoziation von Polymorphismen im Upstream Stimulatory Factor 1 (USF1) Gen mit Typ-2-Diabetes mellitus und LDL-Cholesterin bei Frauen aus der MONICA/KORA Fall-Kohorten-Studie

*Holzappel C<sup>1</sup>, Baumert J<sup>1</sup>, Grallert H<sup>1</sup>, Müller AM<sup>1</sup>, Thorand B<sup>1</sup>, Khuseyinova N<sup>2</sup>, Herder C<sup>3</sup>, Meisinger C<sup>1</sup>, Hauner H<sup>4</sup>, Wichmann HE<sup>1</sup>, König W<sup>2</sup>, Illig T<sup>1</sup>, Klopp N<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Helmholtz Zentrum München, Institut für Epidemiologie, München, Deutschland, <sup>2</sup>Universitätsklinikum Ulm, Innere Medizin II, Kardiologie, Ulm, Deutschland, <sup>3</sup>Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutsches Diabetes Zentrum, Düsseldorf, Deutschland, <sup>4</sup>Klinikum rechts der Isar, TUM, Ernährungsmedizin, München, Deutschland

**Hintergrund:** Der Upstream Stimulatory Factor 1 (USF1) ist ein Transkriptionsfaktor, welcher an der Regulation von Genen im Fett- und Glucosemetabolismus beteiligt ist. „Single Nucleotide Polymorphisms“ (SNPs) im USF1 Gen sind mit familiär kombinierter Hyperlipidämie (FCHL) assoziiert. Die Phänotypüberlappung von FCHL, Typ-2-Diabetes mellitus und Metabolischen Syndrom macht das USF1 Gen zu einem Kandidatengen für Typ-2-Diabetes mellitus, Metabolischen Syndrom und davon abhängigen Parametern. Ziel der Studie war es den Zusammenhang zwischen Polymorphismen im USF1 Gen und inzidentem Typ-2-Diabetes mellitus sowie den Lipidparametern Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin zu untersuchen. **Methodik:** Acht USF1 Polymorphismen wurden in 2067 Personen der MONICA/KORA Augsburg Fall-Kohorten-Studie genotypisiert (iPlex Assay, Sequenom). Die Studienpopulation war zwischen 35 und 74 Jahre alt und enthielt 498 inzidente Fälle von Typ-2-Diabetes mellitus. Aufgrund eines hohen Kopplungsungleichgewichts ( $r^2 \geq 0,80$ ) wurden nur sechs Polymorphismen und deren Haplotypen mittels multivariabler linearer Regressionsanalyse und multivariabler Überlebenszeitanalyse (Cox-Proportional-Hazards-Modell) statistisch ausgewertet. **Ergebnisse:** Für den SNP rs3737787 konnte eine Assoziation mit einem erniedrigten Risiko für inzidenten Typ-2-Diabetes mellitus bei heterozygoten Frauen gefunden werden (HR = 0.57; 95% KI: 0.38 – 0.87;  $p = 0.008$ ). Die Polymorphismen rs3813609 und rs1556259 waren signifikant mit erniedrigten LDL-Cholesterinspiegeln assoziiert ( $p = 0.001$ ;  $p = 0.00002$ ). Auch die Haplotypenanalyse zeigte einen Trend zur Assoziation mit LDL-Cholesterin. Bei Männern wurden keine signifikanten Assoziationen gefunden. Für Gesamtcholesterin und HDL-Cholesterin konnte eine schwache Assoziation gezeigt werden, welche nach der Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant war. **Schlussfolgerung:** Die Ergebnisse aus dieser Fall-Kohorten-Studie weisen darauf hin, dass Polymorphismen im USF1 Gen mit inzidentem Typ-2-Diabetes mellitus und erniedrigtem LDL-

Cholesterin assoziiert sind. Signifikante Assoziationen konnten nur für Frauen gezeigt werden.

66

#### Polymorphismen im IL-18 Gen sind mit der IL-18 Serumkonzentration und verschiedenen anthropometrischen Parametern assoziiert, aber nicht mit dem Typ-2-Diabetes-Risiko. Ergebnisse der MONICA/KORA Augsburg Fall-Kohorten Studie 1984–2002

*Thorand B<sup>1</sup>, Kolz M<sup>1</sup>, Herder C<sup>2</sup>, Müller M<sup>3</sup>, Baumert J<sup>1</sup>, Klopp N<sup>4</sup>, Lang O<sup>1</sup>, Khuseyinova N<sup>5</sup>, Meisinger C<sup>1</sup>, König W<sup>5</sup>, Illig T<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, Institut für Epidemiologie, Neuherberg, Deutschland, <sup>2</sup>Deutsches Diabetes Zentrum, Leibniz-Institut an der Heinrich-Heine-Universität, Institut für Klinische Diabetologie, Düsseldorf, Deutschland, <sup>3</sup>Ludwig-Maximilians-Universität, Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie, München, Deutschland, <sup>4</sup>Ludwig-Maximilians-Universität, Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie, Chair of Epidemiology, München, Deutschland, <sup>5</sup>Universitätsklinikum Ulm, Klinik für Innere Medizin II – Kardiologie, Ulm, Deutschland

**Fragestellung:** Interleukin-18 (IL-18) spielt eine zentrale Rolle in der angeborenen und erworbenen Immunität und prospektive Studien haben gezeigt, dass erhöhte IL-18-Serumkonzentrationen mit einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes einhergehen. Ziel der Studie war es, den Zusammenhang von vier tag SNPs im Gen für IL-18 (rs5744222, C>A; rs1946518, C>A; rs2043055, T>C; rs3882891, A>C) mit der IL-18 Serumkonzentration, verschiedenen anthropometrischen Parametern und dem Typ-2-Diabetes-Risiko zu untersuchen. **Methodik:** Die Analysen basieren auf Daten von Männern und Frauen im Alter von 35–74 Jahren, die an mindestens einer der drei MONICA/KORA Augsburg Surveys zwischen 1984–1995 teilgenommen haben. Für die Auswertungen zum Zusammenhang zwischen inzidentem Typ-2-Diabetes und SNPs im Gen für IL-18 wurde eine Fall-Kohorten Studie etabliert, in die alle bis zum 31.12.2002 diagnostizierten, inzidenten Typ-2-Diabetes Fälle eingeschlossen wurden (498 Fälle; 1569 nicht diabetische Personen). Die Querschnittsauswertungen basieren auf Daten einer stratifiziert nach Survey und Geschlecht zufällig gezogenen Substichprobe aller Teilnehmer der Surveys ( $n = 1986$ ). IL-18 Genpolymorphismen und IL-18 Serumkonzentrationen wurden mittels des Sequenom MALDI-TOF MS Systems bzw. mittels LUMINEX Technologie bestimmt. **Ergebnisse:** Das seltene Allel des in der Promoter Region des IL-18 Gens liegenden rs5744222 Polymorphismus sowie das häufige Allel des intronischen rs2043055-Polymorphismus waren mit niedrigeren IL-18 Serumkonzentrationen assoziiert ( $p < 0,001$ ). Haplotyp-Analysen zeigten, dass der einzige Haplotyp, der das seltene Allel des rs5744222-Polymorphismus enthielt (Haplotyp3), ebenfalls mit niedrigeren IL-18 Serumkonzentrationen assoziiert war ( $p = 0,0003$ ). Haplotyp3 war darüber hinaus signifikant mit einem erhöhten Body Mass Index ( $p = 0,047$ ) und einem erhöhten Taillenumfang ( $p = 0,007$ ) assoziiert. Weder in den rohen noch in den multivariabel adjustierten Modellen konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem der vier untersuchten IL-18 tag SNPs und dem Typ-2-Diabetes-Risiko beobachtet werden. **Schlussfolgerungen:** IL-18 Genvarianten sind sowohl mit einem günstigen (erniedrigte IL-18 Serumkonzentrationen) als auch mit einem ungünstigen (abdominelle Adipositas) Risikofaktorenprofil für Typ-2-Diabetes verbunden. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, dass keine der untersuchten IL-18 Genvarianten signifikant mit dem Typ-2-Diabetes-Risiko assoziiert war.

67

**RANTES/CCL5 Genpolymorphismen, Serumkonzentrationen und Typ-2-Diabetes-Risiko: Ergebnisse aus der MONICA/KORA Fall-Kohorten-Studie, 1984 – 2002**  
*Herder C<sup>1</sup>, Illig T<sup>2</sup>, Baumert J<sup>2</sup>, Müller M<sup>2</sup>, Klopp N<sup>2</sup>, Khuseynova N<sup>3</sup>, Meisinger C<sup>2</sup>, Poschen U<sup>1</sup>, Martin S<sup>1</sup>, Koenig W<sup>3</sup>, Thorand B<sup>2</sup>*  
<sup>1</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum, Düsseldorf, Deutschland,  
<sup>2</sup>Helmholtz Zentrum München, Neuherberg, Deutschland,  
<sup>3</sup>Universitätsklinikum Ulm, Ulm, Deutschland

**Fragestellung:** Das Adipokin RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted)/CCL5 gehört zur Familie der Chemokine. In Querschnittsstudien weisen Patienten mit Typ-2-Diabetes erhöhte RANTES-Spiegel im Blut auf, aber bislang ist nicht bekannt, ob diese erhöhten RANTES-Konzentrationen eine Ursache oder eine Folge der Erkrankung darstellen. In dieser Studie sollte daher in einem „Mendelian Randomisation“-Ansatz getestet werden, ob RANTES an der Entwicklung eines Typ-2-Diabetes beteiligt ist, indem die wechselseitige Assoziation von CCL5-Genpolymorphismen, systemischen RANTES-Konzentrationen und inzidentem Typ-2-Diabetes in einer großen prospektiven Studie untersucht wurde. **Methodik:** Die Studie beruht auf Daten von 502 Personen (293 Männer, 209 Frauen) mit inzidentem Typ-2-Diabetes und 1632 Nichtdiabetikern (859 Männer, 773 Frauen) aus der populationsbasierten MONICA/KORA Fall-Kohorten-Studie (mittlere Nachbeobachtungszeit  $\pm$  SD 10,1  $\pm$  4,9 Jahre). CCL5-Genotypen und RANTES-Serumkonzentrationen wurden mit MALDI-TOF bzw. ELISA bestimmt, und Assoziationen zwischen Genotypen, Haplotypen, Serumspiegeln und inzidentem Typ-2-Diabetes wurden berechnet. **Ergebnisse:** Die selteneren Allele von 4 Polymorphismen (SNPs) waren signifikant mit niedrigeren RANTES-Spiegeln assoziiert (P zwischen  $1,2 \times 10^{-9}$  und  $3,1 \times 10^{-8}$ ), aber weder Genotypen, Haplotypen noch Serumspiegel stellen Risikofaktoren für die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes dar. **Schlussfolgerungen:** Unsere Daten legen nahe, dass RANTES/CCL5-Genvarianten bzw. Serumspiegel keine kausale Rolle in der Pathogenese des Typ-2-Diabetes spielen und dass erhöhte RANTES-Konzentrationen im Blut von Diabetespatienten eine Folge der Hyperglykämie darstellen, nicht ihre Ursache. Unsere Befunde schließen jedoch nicht aus, dass RANTES eine lokale Rolle zum Beispiel im Fettgewebe spielt, wo RANTES-Expression und Freisetzung zur Einwanderung von Leukozyten und einer subklinischen chronischen Inflammation beitragen könnten.

68

**Association of FTO variants with BMI, fat mass and waist in the isolated population of Sorbs in Germany**  
*Tönjes A<sup>1</sup>, Zeggini E<sup>2</sup>, Kovacs P<sup>3</sup>, Böttcher Y<sup>1</sup>, Schleinitz D<sup>3</sup>, Morris AP<sup>2</sup>, Enigk B<sup>3</sup>, Rayner NW<sup>2</sup>, Hoffmann K<sup>4</sup>, Teupser D<sup>5</sup>, Thiery J<sup>5</sup>, Krohn K<sup>3</sup>, McCarthy M<sup>2</sup>, Stumvoll M<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig, Deutschland, <sup>2</sup>University of Oxford, Wellcome Trust Centre for Human Genetics, Oxford, GB, <sup>3</sup>Universität Leipzig, Interdisziplinäres Zentrum für Klinische Forschung, Leipzig, Deutschland, <sup>4</sup>Charité Berlin, Institut für Humangenetik, Berlin, Deutschland, <sup>5</sup>Universität Leipzig, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Leipzig, Deutschland

The association between common variants in the FTO gene with weight, adiposity, body mass index (BMI) and risk of obesity has now been widely-replicated in samples of European origin. Though the causal variant has yet to be identified, it most likely maps within a 47kb region of intron 1 of FTO. We evaluated the relationships between FTO variants and BMI and related traits in the Sorbic population, an isolate of Slavonic origin resident in Deutschland. In a sample of 929 Sorbs, we could replicate the previously-reported associations of intron 1 SNPs with BMI (e.g.  $p = 8.5 \times 10^{-5}$  for rs8050136). However, using genome-wide association data (Affymetrix 500k arrays) from 211 of these individuals, we also detected a second independent signal: a cluster of six highly-correlated SNPs mapping to intron 3 about 40–60 kb away from the originally reported SNPs (e.g. rs8053740:  $p = 1.3 \times 10^{-5}$  in the GWA,  $p = 2 \times 10^{-4}$  in the full set of 929 individuals). This second signal was substantiated by physiologically-consistent associations with waist circumference, fat mass, insulin and glucose levels. In conclusion, we extend the evidence that FTO-variants are associated with BMI by putatively identifying a second susceptibility-allele independent of that previously-described. Though further statistical analysis of this findings is hampered by the finite size of the Sorbic isolate, these findings should

encourage other groups to seek alternative susceptibility variants within FTO (and other established susceptibility loci) using the opportunities afforded by analyses in populations with divergent mutational and/or demographic histories.

69

**Die Doppelmutation D299G/T399I in der extrazellulären Domäne von TLR4 (toll-like-receptor 4) assoziiert mit Insulinresistenz in normal- bis übergewichtigen Nicht-Diabetikern**  
*Weyrich P<sup>1</sup>, Machicao F<sup>1</sup>, Staiger H<sup>1</sup>, Hennige A<sup>1</sup>, Stefan N<sup>1</sup>, Schick F<sup>2</sup>, Machann J<sup>2</sup>, Fritsche A<sup>1</sup>, Häring HU<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Universität Tübingen, Medizinische Klinik IV, Tübingen, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Tübingen, Experimentelle Radiologie, Tübingen, Deutschland

**Fragestellung:** Toll-like-receptor 4 (TLR4) wird u.a. von Myozyten/Adipozyten exprimiert und vermittelt die inflammatorische Wirkung von Fettsäuren. TLR4-/- Mäuse zeigen sich bzgl. Insulintransduktion und Insulinsensitivität weitgehend resistent gegenüber Lipidinfusionen oder fettreicher Ernährung. Wir haben deshalb die Rolle der genetischen Variabilität von TLR4 im Hinblick auf metabolische Parameter beim Menschen untersucht. **Methodik:** 1482 nicht-diabetische erstgradige Verwandte von Diabetikern wurden für verschiedene metabolische Parameter phänotypisiert (Anthropometrie, Plasmaglukose/-insulin, Serumlipide/-fettsäuren, OGTT, prozentuales Körperfett mittels Bioimpedanz + euglykämisch-hyperinsulinämischer „Clamp“, kernspintomographische Viszeral- und Leberfettbestimmung in Subgruppen). Nach Genotypisierung für die SNPs rs4986790 (D299G) und rs4986791 (T399I) führten wir lineare Regressionsanalysen logarithmisch transformierter Messdaten mit multivariabler Adjustierung bzgl. bekannter Einflussfaktoren durch. P-Werte  $< 0.05$  wurden als statistisch signifikant interpretiert. **Ergebnisse:** Die ko-segregierenden ( $D' = 1.0$ ,  $r^2 = 1.0$ ) und kodierenden (D299G/T399I) SNPs rs4986790/91 treten mit einer Allelfrequenz von 0.05 in der untersuchten Population (Alter:  $39.3 \pm 0.3$  Jahre) auf. Weder biometrische Parameter (Alter, Geschlecht, BMI, prozentuales Körperfett, Viszeral-/Leberfett) noch Lipide/Fettsäuren oder Insulinsekretion zeigten sich signifikant vom Genotyp beeinflusst. Hingegen zeigten sich normal- bis übergewichtige SNP-Träger (BMI:  $< 30$ ) signifikant insulinresistenter im OGTT ( $n = 996$ :  $20.5 \pm 0.4$  vs.  $17.7 \pm 1.1$ ; Mittelwerte  $\pm$  SEM,  $p = 0.006$  im adjustiert dominanten Modell) und Clamp ( $n = 369$ :  $0.102 \pm 0.003$  vs.  $0.081 \pm 0.01$  Glucoseinfusionsrate;  $p = 0.012$ ). Bei Probanden mit Adipositas (BMI  $> 30$ ) zeigte sich die Insulinsensitivität nicht vom TLR4-Genotyp beeinflusst ( $n = 466/133$ :  $p = 0.83/0.97$ ; jeweils für OGTT/Clamp). Die Interaktionsanalyse im multivariablen Modell zeigte, dass der BMI die entscheidende Einflussgröße bzgl. der Assoziation des insulinresistenten Phänotyps mit dem TLR4-Genotyp ist ( $p = 0.003$  im OGTT,  $p = 0.01$  im Clamp). **Schlussfolgerungen:** Die Doppelmutation D299G/T399I in der extrazellulären Domäne des TLR4 assoziiert mit einer um 16% höheren Insulinresistenz in normal- bis übergewichtigen nicht-diabetischen Probanden (BMI  $< 30$ ), während sich dieser Phänotyp bei manifester Adipositas (BMI  $> 30$ ) nicht mehr manifestiert. Entsprechend sollten zukünftige Fall-Kontroll-Studien an älteren Populationen die Relevanz der genetischen TLR4-Variabilität für die spätere Diabetesmanifestation untersuchen.

Freie Vorträge: Adipositas, Fettgewebe, Grundlagen I

70

**Transcription factor FBI-1 acts as a dual regulator in adipogenesis by coordinated regulation of cyclin-A and E2F-4**  
*Bilkovski R<sup>1</sup>, Oberhäuser F<sup>1</sup>, Droste A<sup>1</sup>, Gomolka M<sup>1</sup>, Leiser U<sup>1</sup>, Udelhoven M<sup>1</sup>, Krone W<sup>1</sup>, Laudes M<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Universität zu Köln, Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin, Köln, Deutschland

**Aims:** Generation of new adipocytes plays a major role in the development of obesity. We previously have shown that transcriptional repressor FBI-1 exerts a dual effect in the process of adipogenesis by inhibiting proliferation and promoting differentiation of preadipocytes. The aim of the present study was to identify FBI-1 regulated molecular effectors which could account for these effects. **Methods:** In order to investigate the effect of FBI-1 on human cyclin A and E2F-4 promoter activity, dual-luciferase assays as well as EMSA and CHIP assays were performed in pEGFP-FBI-1 overexpressing and control cells. For expression profiling of potential FBI-1 co-repressors during adipogenesis, 3T3-L1 cells were

differentiated into mature fat cells and HDAC-1, HDAC-2 and Sin3A levels were examined by western blotting at different time points of the differentiation process. Finally, using co-immunoprecipitation studies the interaction of pEGFP-FBI-1 and co-repressors was investigated. Results: Overexpressing FBI-1 in preadipocytes resulted in reduced expression of the cell cycle regulator cyclin A, which may explain FBI-1 induced inhibition of proliferation. Interestingly, FBI-1 repressed cyclin A promoter activity through an indirect mechanism that did not involve direct binding of FBI-1 to the promoter sequence, but rather FBI-1 inhibition of transcriptional activator Sp1 binding to a regulatory element at -452 to -443. We also show that FBI-1 promotes terminal preadipocyte differentiation through a mechanism involving decreased levels of expression of the PPAR $\gamma$  inhibitor E2F-4. FBI-1 significantly reduced E2F-4 promoter activity. Contrary to cyclin A, we found FBI-1 induced repression of E2F-4 is mediated by a direct mechanism via a FBI-1 regulatory element at -11 to -5. Since function of transcriptional repressors normally depends on the presence of regulatory co-factors we also performed expression profiling of potential FBI-1 co-repressors throughout adipogenesis. In these experiments Sin3A and HDAC-1 showed a similar expression pattern compared to FBI-1. Strikingly, co-immunoprecipitation studies revealed that FBI-1 binds Sin3A and HDAC-1 to form a repressor complex. Furthermore, by mutational analysis the aminoterminal POZ domain of FBI-1 was found to be important for Sin3A and HDAC-1 binding. Conclusions: Taken together, FBI-1 is the first transcriptional repressor shown to act as a dual regulator in adipogenesis exerting repressor activities on target genes by both, direct and indirect mechanisms.

71

#### Diet-induced gene expression of isolated pancreatic islets from a polygenic mouse model for the metabolic syndrome

Dreja T<sup>1</sup>, Jovanovic Z<sup>2</sup>, Rasche A<sup>3</sup>, Kluge R<sup>1</sup>, Herwig R<sup>3</sup>, Joost HG<sup>1</sup>, Yeo G<sup>2</sup>, Al-Hasani H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>German Institute of Human Nutrition, Department of Pharmacology, Nuthetal, Deutschland, <sup>2</sup>University of Cambridge, Institute for Medical Research, MRC Building, Cambridge, GB, <sup>3</sup>Max Planck Institute for Molecular Genetics, Department of Vertebrate Genomics, Berlin, Deutschland

**Aims:** NZL mice develop a polygenic disease pattern of obesity, hyperglycaemia and hyperinsulinemia which resembles the human metabolic syndrome. The prevalence for type-2 like diabetes is greatly increased in animals receiving a high-fat diet (HFD). However animals fed with a carbohydrate-free high fat-diet (CHFD) were protected from developing diabetes. In the present study NZL mice were fed HFD or CHFD and body weight, body fat and blood glucose were measured weekly. We observed that on both diets the animals became equally obese (~ 55 g) and glucose intolerant. However, even after wk 22 animals on CHFD were normoglycaemic whereas animals on the HFD developed early hyperglycaemia and diabetes. **Methods:** To identify diet-dependent gene expression patterns and to find possible candidate genes associated with type 2 diabetes, we performed genome-wide expression analyses with Affymetrix GeneChip arrays. We performed cryosections from the total pancreas from both diets (CHFD and HFD) and stained the slides with Cresyl-Violet. We then isolated the islet cells with laser capture microdissection (LCM), purified the pancreatic islet RNA and produced labelled cDNA without an amplification step. The cDNAs from these isolated islets were hybridised to Affymetrix Mouse 430 2.0 GeneChips. **Results:** Our analysis reveals that ~2300 transcripts are enriched in islets compared to total pancreas. On the other hand, ~1200 genes were differentially regulated by the dietary intervention. Pathway analysis indicates differential expression of genes annotated for OXPHOS, cell cycle progression, and endocrine function and signalling. Moreover, we identified novel candidate genes for type 2 diabetes by correlating our expression data with recent data from human genome-wide association studies (GWAS).

72

#### Ausschaltung von Osteopontin reduziert die Insulinresistenz bei Diät-induzierter Adipositas in Mäusen

Kiefer FW<sup>1</sup>, Todoric J<sup>1</sup>, Weichhart T<sup>2</sup>, Geyeregger R<sup>1</sup>, Zeyda M<sup>1</sup>, Stulnig TM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Universität Wien, Universitätsklinik f. Innere Medizin III, Abteilung f. Endokrinologie u. Stoffwechsel, Wien, Österreich, <sup>2</sup>Medizinische Universität Wien, Universitätsklinik f. Innere Medizin III, Abteilung f. Nephrologie u. Dialyse, Wien, Österreich

**Einleitung und Fragestellung:** Adipositas ist mit einer chronischen Fettgewebsentzündung assoziiert, die einen prominenten Risikofaktor für Insulinresistenz und Entwicklung eines Typ-2-Diabetes darstellt. Das Glykoprotein Osteopontin (OPN) induziert die Expression einer Vielzahl von inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen. In einer früheren Studie stellten wir fest, dass die Genexpression von OPN im weißen Fettgewebe von dicken gegenüber dünnen Mäusen extrem hochreguliert ist. Ziel dieser Studie ist es, die Auswirkungen der OPN-Defizienz auf die Adipositas-induzierte Fettgewebsentzündung und die Stoffwechselregulation zu untersuchen. **Material und Methoden:** OPN-defiziente (Spp1<sup>-/-</sup>) und C57BL/6J Wildtyp (WT) Mäuse wurden für 20 Wochen mit einer fettreichen (HF) bzw. einer fettarmen Diät (LF) gefüttert. Drei Wochen nach einem Insulintoleranztest (ITT) wurden die Tiere getötet und Blutplasma, subkutanen und gonadales (intraabdominales) Fettgewebe gewonnen. **Ergebnisse:** Beide Mauslinien entwickelten unter HF eine Adipositas vergleichbaren Ausmaßes (Endgewicht 51.0 g ± 0.6 g bei WT, 50.0 ± 1.3 g bei Spp1<sup>-/-</sup>). Im ITT zeigte sich eine signifikant verbesserte Insulinsensitivität in Spp1<sup>-/-</sup> Mäusen auf HF verglichen mit WT Mäusen auf der gleichen Diät. Dieses Ergebnis wurde durch eine deutliche Verminderung der Plasmainsulinkonzentrationen sowie des HO-MA-IR in HF gefütterten Spp1<sup>-/-</sup> Mäusen unterstrichen. Die Genexpression von MCP-1 und TNF- $\alpha$  waren in Spp1<sup>-/-</sup> Mäusen auf HF Diät, um etwa 35% reduziert (P=0.06 bzw. 0.08). **Schlussfolgerung:** Ausschaltung von OPN verbessert signifikant die Insulinsensitivität bei Diät-induzierter Adipositas im Mausmodell wahrscheinlich durch Beeinflussung der Fettgewebsentzündung. Diese Daten weisen auf einen pathophysiologischen Zusammenhang zwischen OPN und Adipositas-assoziiierter Insulinresistenz hin. Die Arbeit wurde vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt (Projekt P18776-B11 und als Teil des CCHD Programms W1205-B09; beide an T.M. Stulnig).

73

#### Adipose tissue PGC1 alpha and PGC1 beta mRNA expression in visceral obesity and in response to exercise training

Ruschke K<sup>1</sup>, Klötting N<sup>1</sup>, Oberbach A<sup>1</sup>, Fasshauer M<sup>1</sup>, Stumvoll M<sup>1</sup>, Blüher M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig, Deutschland

**Aims:** The PPAR $\gamma$  co-activators 1 (PGC1) are major transcriptional regulators of several crucial aspects of oxidative metabolism, including mitochondrial biogenesis and respiration. We examined whether PGC1 alpha and/or PGC1 beta mRNA expression in human adipose tissue is fat-depot specific. We also studied whether their expression in adipose tissue is associated with metabolic parameters and whether their expression is regulated by intensive physical exercise. **Research design and methods:** We determined metabolic parameters and measured PGC1 alpha and PGC1 beta mRNA expression using quantitative real-time PCR in adipose tissue in an observational study of 153 subjects, and an interventional study of 60 subjects (20 each with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes) before and after intensive physical training for 4 weeks. **Results:** PGC1 alpha and PGC1 beta mRNA expression is 2 fold higher in visceral as compared to subcutaneous adipose tissue and highly correlated between the two depots. PGC1 alpha, but not PGC1 beta mRNA expression in visceral fat significantly correlates with measures of obesity and fat distribution as well as with parameters of insulin resistance and hyperglycemia even after adjustment for body fat mass. Physical training for 4 weeks resulted in significantly increased PGC1 alpha and PGC1 beta mRNA expression in subcutaneous fat. **Conclusions:** PGC1 alpha mRNA expression in visceral fat is associated with obesity and impaired insulin sensitivity. Increased PGC1 alpha and PGC1 beta mRNA expression after a 4 weeks training program may mediate the improvement of insulin sensitivity in response to exercise.



74

### Expression of the Bone Morphogenetic Protein Receptor 1A Gene (BMPR1A) in Adipose Tissue and BMPR1A Genetic Variation are Associated with Human Obesity

Böttcher Y<sup>1</sup>, Schleinitz D<sup>2</sup>, Unbehauen H<sup>1</sup>, Klötting N<sup>1</sup>, Ruschke K<sup>1</sup>, Enigk B<sup>2</sup>, Tönjes A<sup>1</sup>, Wolf S<sup>1</sup>, Tseng YH<sup>3</sup>, Blüher M<sup>1</sup>, Stumvoll M<sup>1</sup>, Kovacs P<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Leipzig, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Leipzig, Interdisziplinäres Zentrum für Klinische Forschung IZKF, Nachwuchsgruppe N06, Leipzig, Deutschland, <sup>3</sup>Joslin Diabetes Center, Harvard Medical School, Boston, USA

Family of bone morphogenetic proteins (BMP) is involved in regulation of adipogenesis. We measured the mRNA expression of BMP members in paired samples of visceral and subcutaneous adipose tissue from 198 subjects and examined its relation to obesity. Amongst others, mRNA expression of the human bone morphogenetic protein receptor 1A (BMPR1A) was significantly increased in both visceral and subcutaneous adipose tissue of 51 overweight (BMI > 25 and < 30 kg/m<sup>2</sup>) and 91 obese (BMI > 30 kg/m<sup>2</sup>) subjects compared with 56 lean subjects (BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>) (P < 0.05 and P < 0.001, respectively). BMPR1A is one of the three specific BMP-receptors which are essential for the bone morphogenetic protein signalling. The BMPR1A gene maps to human chromosome 10q23 and spans about 168 kb. To determine whether genetic variants within the BMPR1A are associated with mRNA expression in fat and whether these variants affect the pathophysiology of human obesity and type 2 diabetes (T2D), we sequenced the BMPR1A (13 exons, exon-intron boundaries, 5' and 3' UTRs) in DNA samples from 48 non-related Caucasian subjects to identify genetic variants. Twenty representative variants including HapMap tagging SNPs (single nucleotide polymorphisms) (www.hapmap.org) were genotyped for subsequent association studies on quantitative traits in 1808 German Caucasians with detailed metabolic testing (896 subjects without T2D and 912 subjects with T2D). In a case control study including 461 lean (BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>) and 678 obese (BMI > 30 kg/m<sup>2</sup>) subjects, four SNPs (rs7095025, rs7922846, rs11202222 and rs10788528) were significantly associated with obesity (all P < 0.05, adjusted for age and sex). Consistent with this, we found significant associations between BMPR1A SNPs and obesity/diabetes related quantitative traits (body mass index (BMI), circulating serum leptin, fasting plasma glucose, 2-hr plasma glucose in oral glucose tolerance test; all P < 0.05, adjusted for age, sex and BMI) in 896 subjects without T2D. Finally, the rs17426348 was moderately associated with T2D in 912 cases with T2D and 718 healthy controls with normal glucose tolerance (P = 0.05, adjusted for age, sex and BMI). In conclusion, association of both, BMPR1A expression in fat and BMPR1A genetic variation with obesity suggest that this gene may play a role in the pathophysiology of human obesity and T2D.

75

### Apelin mRNA expression in visceral obesity and in response to exercise training

Klötting N<sup>1</sup>, Krist J<sup>1</sup>, Ruschke K<sup>1</sup>, Fasshauer M<sup>1</sup>, Stumvoll M<sup>1</sup>, Blüher M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Molekulare Endokrinologie, Leipzig, Deutschland

**Aims:** Apelin was recently identified as an adipokine, which is up-regulated in insulin resistant and obese states. Insulin was shown to stimulate apelin expression and secretion in adipocytes. We studied whether apelin mRNA expression in adipose tissue and serum concentrations are associated with parameters of obesity, fat distribution and insulin sensitivity. In addition, we investigated circulating in response to an intensive 4 weeks exercise training program. **Research Design and methods:** We determined metabolic parameters, apelin serum concentrations and measured apelin mRNA expression in paired visceral and subcutaneous adipose tissue samples using quantitative real-time PCR. In addition, we measured circulating apelin before and after a 4 weeks exercise intervention study of 60 subjects (20 each with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes). **Results:** Visceral significantly correlates with SC apelin mRNA expression. There are no fat depot-dependent differences in apelin levels. Subjects with predominantly visceral fat accumulation and patients with type 2 diabetes have higher apelin serum concentrations than controls. Apelin mRNA expression is a significant, age, gender and BMI independent predictor of visceral fat area. The 4 weeks exercise training resulted in significantly reduced apelin serum concentrations. **Conclusions:** We identified apelin as a novel predictor of visceral fat accumulation. Reduced apelin serum

concentrations after a 4 weeks training program may contribute to the improvement of insulin sensitivity in response to exercise.

76

### Role of wnt-5a in the determination of human mesenchymal stem cells to preadipocytes

Bilkovski R<sup>1</sup>, Oberhäuser F<sup>1</sup>, Droste A<sup>1</sup>, Krone W<sup>1</sup>, Laudes M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität zu Köln, Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin, Köln, Deutschland

**Aims:** Increasing adipocyte size as well as numbers is important in the development of obesity, with adipocytes being generated from mesenchymal precursor cells. This process comprises the determination from mesenchymal stem cells (MSC) into preadipocytes (PA) and the differentiation of PA into mature fat cells. While the process of differentiation is highly investigated, the determination from MSC to PA in humans is poorly understood. Therefore, in the present study we have examined the role of different wnt molecules in the process of determination of human MSC into PA. **Methods:** Human MSC were prepared from umbilical cord blood. Human PA were isolated from fat biopsies of metabolically healthy men aged of 18 to 35 undergoing elective surgery. These two cell populations were analyzed by FACS and induced to differentiate into adipocytes and osteocytes. Expression of wnt-10b and wnt-5a in the two cell populations was compared by western-blot of whole cell lysates. Effect of wnt-5a in the process of determination was investigated by induction of adipogenesis and osteogenesis in the presence and absence of neutralizing wnt-5a antibodies in the culture medium. These antibody experiments were also used to investigate intracellular wnt-5a signalling in MSC. **Results:** The two cell populations, MSC and PA, showed similar expression of the mesenchymal surface markers CD29, CD44 and CD73 and were both negative for the hematopoietic surface markers CD34 and CD45. However, while MSC were able to differentiate into adipocytes and osteocytes, PA were only able to undergo adipogenesis, indicating that PA lost their pluripotency during determination. Wnt-10b was found not to be expressed at significant levels in human MSC and PA. However, examination of wnt-5a expression in the two cell populations resulted in significant (p < 0.01) higher levels in MSC compared to PA, suggesting wnt-5a down-regulation might be important in the determination of MSC to PA in humans. This was further supported by the fact that incubation of human MSC in medium containing neutralizing wnt-5a antibodies abolished the ability to undergo osteogenesis while adipogenesis was still possible. Finally, beta-Catenin levels were found to be similar in cells incubated with and without anti-wnt-5a antibodies, suggesting that wnt-5a signalling in MSC is mediated by the non-canonical pathway. **Conclusion:** These data suggest that down-regulation of wnt-5a expression plays a major role in the determination of human MSC to PA.

77

### Wirkungsunterschiede von Sitagliptin und Exenatide auf Nahrungsaufnahme, Körpergewicht, Glucosestimulierte Insulinsekretion und Magenentleerung in Tierexperimenten

Herrmann K<sup>1</sup>, Gedulin B<sup>1</sup>, Tatarkiewicz K<sup>1</sup>, Bhole D<sup>1</sup>, Kendall D<sup>1</sup>, Hargrove D<sup>1</sup>, Parkes D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, USA

**Fragestellung:** Exenatide (EXN) ist ein Inkretin Mimetikum, das ähnliche glukoregulatorische Eigenschaften wie menschliches GLP-1 besitzt, z.B. verstärkte Glucoseabhängige Insulinsekretion, verlangsamte Magenentleerung, reduzierte Nahrungsaufnahme (NA) sowie reduzierte postprandiale Glukagonsekretion. Sitagliptin (SGP) ist ein DPP-4 Inhibitor, der einen Konzentrationsanstieg des aktiven endogenen GLP-1 im Blut bewirkt. Hier werden die pharmakologischen Effekte von akuter Behandlung mit EXN vs. SGP verglichen. **Methodik:** Um die Wirkdauer von SGP zu untersuchen, erhielten männliche C57BL/6J Mäuse eine orale Dosis von 10 oder 50 mg/kg. Die Plasma-DPP-4-Aktivität wurde über 24 Std gemessen. EXN (20 µg/kg IP) und SGP (50 mg/kg PO) wurden db/db Mäusen 15 min vor einer Glucosebelastung (OGTT, 2 g/kg) verabreicht. Für die Messung der Nahrungsaufnahme und des Körpergewichtes erhielten einzeln gehalten und gefütterte männliche Ratten SGP (60 mg/kg PO) oder H<sub>2</sub>O 45 min (n = 7/Gruppe [Grp]), bzw. EXN (5 µg/kg IP) oder 10%DMSO (n = 7/Grp) 15 min vor der Dunkelperiode. Der Futterspender wurde alle 5 Sekunden über 24 h gewogen. Gewicht wurde 24 h nach Behandlung gemessen. Um die Magenentleerung zu bestimmen, erhielten wache, nüchterne, männliche Sprague-Dawley-

Ratten SGP (60 mg/kg) oder H<sub>2</sub>O per Magensonde zu t=-45 min, bzw. eine SC-Injektion von NaCl oder EXN (10 nmol/kg) zu t=-5 min; alle erhielten 33 mg Paracetamol zu t=0 per Magensonde (N=6-12/Grp). Das Erscheinen von Paracetamol im Plasma nach 30 min zeigt die Magenentleerungsgeschwindigkeit. **Ergebnisse:** 3 Std nach oraler Gabe von SGP (10 oder 50 mg/kg), war die DPP-4-Aktivität um 75% bzw. 90%, verglichen mit dem Basiswert, gesenkt und kehrte nach 24 h auf die Basiswerte zurück. In der EXN Grp stieg der Plasmainulinpiegel (gemessen als AUC<sub>0-120 min</sub>) nach einem OGTT um 86% (P < 0,05) an, und die Plasmaglukose (AUC<sub>0-120 min</sub>) sank um 47% (P < 0,01) verglichen mit den Kontrolltieren (KT). Es gab keinen Unterschied in der AUC für Insulin oder Glucose zwischen SGP-behandelten Mäusen und KT. SGP (60 mg/kg PO) hatte keinen Einfluss auf die über 24 h gemessene kumulative Nahrungsaufnahme (KNA), während EXN (5 µg/kg IP) die KNA über 24 h zu allen stündlichen Messungen signifikant reduzierte. Die mittlere KNA war in der EXN Grp nach 12 und 24 Std um 45% bzw. 33% reduziert (P < 0,01 vs. KT-Grp). Die Zunahme im Gewicht war in der EXN-Gruppe nach 24 h signifikant um 2,5% reduziert (P < 0,01) jedoch nicht bei SGP-behandelten Ratten, verglichen mit ihren jeweiligen KT-Grp. Orale Gabe von SGP (60 mg/kg) reduzierte die Magenentleerung um 39±4% vs. 90±2% mit SC verabreichtem EXN (10 nmol/kg) (P < 0,0001). In diesen Magenentleerungsstudien war die DPP-4 Aktivität bei t=30 min nur bei SGP-behandelten Ratten reduziert (91% von der KT-Grp, P < 0,001). **Schlussfolgerungen:** Diese In-vivo-Studien zeigen signifikante Wirksamkeit von Exenatide verglichen mit Sitagliptin auf mehrere physiologische Parameter, die zur verbesserten BZ-Kontrolle beitragen.

78

### Typ-2-Diabetes mellitus beeinflusst die Balance zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen in humanem epikardialen Fettgewebe

Swifka J<sup>1</sup>, Ruppe F<sup>2</sup>, Gams E<sup>2</sup>, Eckel J<sup>1</sup>, Rösen P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Deutsches Diabetes Zentrum, Pathobiochemie und Klinische Biochemie, Düsseldorf, Deutschland, <sup>2</sup>Heinrich-Heine-Universität, Klinik für Thorax- und kardiovaskuläre Chirurgie, Düsseldorf, Deutschland

Es wird postuliert, dass epikardiales Fettgewebe (Epi) lokal mit dem Myokard und den Koronargefäßen interagiert. Epi könnte das Herz und dessen Gefäße durch parakrine Sekretion von pro- und anti-inflammatorisch wirksamen Zytokinen modifizieren. Dies könnte für die Entwicklung von Entzündung und Atherosklerose bei adipösen Typ II Diabetikern von Bedeutung sein. Daher untersuchten wir die Expression von Zytokinen und charakteristischer Proteine (Glucosetransporter GLUT1 + 4), Hypoxieinduzierender Faktor 1α (HIFα), NO-Synthasen (NOS II+III), peroxisomale Proliferatorproteine (PPARs). Epi wurde von Diabetikern und Kontrollpersonen, die sich einer ACVB-OP unterzogen, entnommen. Epi wurde mittels Zytokinarray und Western Blot analysiert. Die Patienten unterschieden sich nicht signifikant in Bezug auf Alter (67 vs. 72 Jahre p > 0,05) und Körpergewicht (83,3 vs. 88,8 p > 0,05). Der BMI war hingegen bei Diabetikern leicht erhöht (26,2 vs. 29,7 kg/m<sup>2</sup> p < 0,01). Der Nüchternblutzucker betrug 5,7±0,2 vs. 8,2±0,5 mmol/L (p < 0,002), der postoperative Insulinbedarf war signifikant erhöht (pro 24 h: 45,9±7,5 vs. 100,9±18,7 U, p < 0,005). Die Menge an Epi war bei Diabetikern vergrößert, korrelierte aber weder mit dem Körpergewicht noch dem BMI. Im Epi konnten durch Arraytechnik 120 Zytokine identifiziert werden; bei 30 Zytokinen wurde statistisch signifikante Unterschiede zwischen Kontrollen und Diabetes nachgewiesen. Adiponectin, TGFβ, HCC4 und MCP1 waren hochsignifikant vermindert, hingegen Angiotensin II, Ckβ8-1, Gro, Interleukin 10 und Interleukin 15 deutlich erhöht waren. Die Veränderungen waren spezifisch für Epi, da derartige Veränderungen in subkutanem Fettgewebe nicht nachweisbar waren. HIF1α war bei beiden Fettgewebstypen im Bereich der Nachweisgrenze, die Expression von GLUT1 und 4 war bei Diabetikern nicht verändert. Im Gegensatz zur NOS II Expression war die NOS III bei Diabetikern signifikant verringert. Wir konnten keine Veränderungen der PPARs durch Diabetes mellitus Typ II nachweisen. Unsere Daten legen nahe, dass der Typ II Diabetes das Epi spezifisch beeinflusst. Das Verhältnis von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen im Epi könnte die Entwicklung einer entzündlichen Reaktion und der Insulinresistenz fördern. Unsere Daten stützen nicht die Hypothese, dass die beobachteten Veränderungen in der Zytokinexpression bei Diabetikern auf eine mit der Zunahme der Masse an Epi assoziierte Hypoxie zurückzuführen sind.

79

### Bedeutung der glucoseabhängigen Interaktion von Glucokinase und PFK-2/FBPase-2 in insulinproduzierenden Zellen

Langer S<sup>1</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>, Baltrusch S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** Die Glucokinase (GK) ist in den Beta-Zellen des Pankreas das Signalerkennungsenzym der glucoseinduzierten Insulinsekretion. Wir konnten eine Bindung der GK an das bifunktionelle Enzym 6-Phosphofruktose-2-kinase/Fruktose-2,6-bisphosphatase (PFK-2/FBPase-2) zeigen und nachweisen, dass in Beta-Zellen die PFK-2/FBPase-2 ein endogener Aktivator der GK-Enzymaktivität ist. Zudem konnten wir die Kollateralisation von GK und PFK-2/FBPase-2 zeigen. Es war das Ziel dieser Studie, Komplexbildung und -zerfall von GK und PFK-2/FBPase-2 zu untersuchen. **Methodik:** Die Wechselwirkung zwischen GK und PFK-2/FBPase-2 wurde in insulinproduzierenden MIN6 Zellen mit einem neuen Fluoreszenz-basierten Mammalian Two-Hybrid System untersucht. Die Kollateralisation von GK und PFK-2/FBPase-2 wurde mittels in vivo-Markierung mit den Fluoreszenzproteinen ECFP (enhanced cyan fluorescent protein) und EYFP (enhanced yellow fluorescent protein) bestimmt. Des Weiteren wurde die Assoziation dieser Fusionsproteine über FRET (fluorescence resonance energy transfer) zwischen ECFP und EYFP gemessen. **Ergebnis:** Das Mammalian Two-Hybrid System, das in insulinproduzierenden Zellen etabliert wurde, erlaubte die Untersuchung von Protein-Protein-Wechselwirkungen bei Modulation der extrazellulären Bedingungen. Bei Kultivierung der Zellen in Medium mit 25 mmol/l Glucose wurde eine Interaktion zwischen GK und PFK-2/FBPase-2 gemessen, die signifikant über der Negativkontrolle lag. Bei Verringerung der Glucosekonzentration im Medium auf 3 mmol/l fiel das Two-Hybrid Signal nahezu auf das Niveau der Negativkontrolle. Die Verteilung der Fluoreszenzproteine ECFP-GK und EYFP-PFK-2/FBPase-2 in der Zelle war vergleichbar mit der der endogenen Proteine. In Übereinstimmung mit den Two-Hybrid Ergebnissen waren die Fluoreszenzproteine bei höherer Glucosekonzentration stärker kollokalisiert. Zudem konnte bei einer Glucosekonzentration von 25 mmol/l eine direkte Bindung der Proteine mittels FRET nachgewiesen werden. Bei 3 mmol/l Glucose war kein FRET detektierbar. **Schlussfolgerung:** Die Interaktion der PFK-2/FBPase-2 mit der GK wird durch Glucose gefördert. Die PFK-2/FBPase-2 spielt daher in insulinproduzierenden Zellen eine wichtige Rolle bei der glucoseabhängigen Kompartimentierung und Regulation der GK. Die Interaktion von GK und PFK-2/FBPase-2 als physiologischer Regulationsmechanismus zur Steigerung der GK-Enzymaktivität kann als Zielstruktur für die Entwicklung neuer Therapieansätze in der T2DM Therapie dienen. Auch bietet unser in insulinproduzierenden Zellen etabliertes Mammalian Two-Hybrid System die Möglichkeit, Veränderungen der Interaktion dieser beiden regulatorisch wichtigen Enzyme unter metabolischen Bedingungen zu untersuchen, wie sie beim T2DM auftreten.

80

### Impaired Insulin Secretion in Mice lacking Adenosine A1 Receptor

Faulhaber-Walter R<sup>1</sup>, Mizel D<sup>2</sup>, Huang Y<sup>2</sup>, Schnermann J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Nephrologie, Hannover, Deutschland, <sup>2</sup>National Institute of Health, NIDDK, Bethesda, USA

**Introduction:** Adenosine has been reported to participate in maintaining glucose homeostasis. Adenosine A1 receptor (A1AR) deficient mice present with a disturbed glucose tolerance and insulin resistance. Aim of this present study was to investigate the secretory insulin function in A1AR deficient mice. **Methods:** Experiments were performed in male C57Bl/6 mice of the Adenosine A1 Receptor strain generated previously in our lab. Mice received standard chow. Chemicals were injected intraperitoneally. Blood was sampled by tail vein puncture. Glucose was measured by glucometer. Insulin by ELISA. Impaired glucose tolerance was evidenced by modified Belfiore Insulin Sensitivity Index (ISI). Insulin tolerance (ITT), 1st phase insulin secretion and L-arginine-stimulated insulin secretion were tested according to published procedures. Data were analyzed by two tailed T-test. **Results:** tAUCs calculated from ITT data were significantly higher in A1AR-/- in two age groups ([min\*mg-1\*dl-1]: 8-9wk: 17560±5608, n=8 vs. 7869±3238, n=5, p < 0.01; 20-27 wk: 17190±7398, n=6 vs. 9115±2537, n=6, p < 0.01). The slope of linear decline of glucose after insulin stimulation (KITT [%/min]) was lower in A1AR-/- (Wt vs. A1AR-/-: 8-9wk 2.76±0.9, n=5 vs.

1.65 ± 1.47%/min, n=8, n.s.; 20–27wk 2.0 ± 1.6, n=9 vs. 1.15 ± 0.29%/min, n=6, n.s.). Fasting plasma insulin was significantly higher in young A1AR<sup>-/-</sup> but not in mature mice (8 wk: 0.97 ± 0.12 vs. 0.34 ± 0.1 ng/ml; 20 wk: 0.88 ± 0.23 vs. 0.59 ± 0.06 ng/ml, n = 12 vs. 22, n.s.). A1AR<sup>-/-</sup> had a significantly decreased ISI compared to Wt (8wk: 0.3 ± 1.1, n=5 vs. 1.5 ± 0.52, n=6, p < 0.01; 20wk: 0.07 ± 0.02, n = 12 vs. 0.72 ± 0.12, n=5, p < 0.001). A1AR had higher baseline and stimulated insulin plasma levels at 8 wk (Wt: n=5 vs. A1AR<sup>-/-</sup>: n=9; 0 min: Wt: 0.56 ± 0.45 vs. A1AR<sup>-/-</sup> 0.71 ± 0.26 ng/ml, n.s.; 2.5 min: Wt: 0.76 ± 0.59 vs. A1AR<sup>-/-</sup> 0.96 ± 0.33 ng/ml, n.s.; 5 min: Wt: 0.83 ± 0.64 vs. A1AR<sup>-/-</sup> 1.07 ± 0.4 ng/ml, n.s.). In contrast, at 20 wk A1AR<sup>-/-</sup> had a negative response after glucose stimulus with lower insulin levels, reaching significance after 5 min (Wt: n=10, A1AR<sup>-/-</sup>: n=6; 0 min: Wt: 0.56 ± 0.25 vs. A1AR<sup>-/-</sup> 1.24 ± 1.0 ng/ml, n.s.; 2.5 min: Wt: 1.21 ± 0.9 vs. A1AR<sup>-/-</sup> 0.66 ± 0.6 ng/ml, n.s.; 5 min: Wt: 1.35 ± 0.65 vs. A1AR<sup>-/-</sup> 0.68 ± 0.37 ng/ml, p < 0.05). Glucose-independent insulin secretion showed physiological response curves for both groups. **Conclusion:** A1AR<sup>-/-</sup> mice develop impaired glucose tolerance and insulin resistance with a more pronounced phenotype in mature mice. A1AR participates in glucose stimulated insulin release. Compensation for loss of A1AR fails to achieve sufficient insulin release in mature mice. Lack of A1AR-activation does not impair insulin exocytosis. The defunct insulin secretion in Adenosine 1A receptor deficiency might be caused by impaired Glucose uptake. Future studies should therefore investigate Glucose uptake pathways in A1AR<sup>-/-</sup>.

81

### Die Bedeutung Stickstoffmonoxids für Zytokin-vermittelten ER Stress in insulinproduzierenden Zellen

Kacheva S<sup>1</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>, Gurgul-Convey E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** Inflammatorische Zytokine und insbesondere IL-1 $\beta$  spielen eine wichtige Rolle bei der Betazell-Zerstörung und T1DM Entwicklung. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind noch immer unbekannt. Kürzlich wurde die Hypothese aufgestellt, dass ER Stress in diesem Prozess von großer Bedeutung ist. Die Wirkungen verschiedener Zytokine sowie die Mitwirkung von NO am ER Stress sind bisher jedoch noch nicht detailliert untersucht worden. Daher sollten die Wirkungen verschiedener Zytokine und von NO auf den ER Stress in insulinproduzierenden Zellen untersucht werden. **Methodik:** INS 1E Zellen wurden für 72 Stunden mit IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  und IFN $\gamma$  allein oder in unterschiedlichen Kombinationen in Abwesenheit oder Anwesenheit eines iNOS Blockers (L-nitro-Arginin) inkubiert und anschließend wurde die Zellvitalität gemessen (MTT Assay). RNA wurde nach 6, 12 und 24 Std. Inkubation mit Zytokinen mit oder ohne iNOS Blocker isoliert und die Expression der ER Stress Marker (CHOP, Bip, XBP-1 und XBP-1 gespleißt) wurde mittels Real-Time PCR gemessen. **Ergebnisse:** IL-1 $\beta$  zeigte eine konzentrationsabhängige Toxizität in INS 1E Zellen bei maximaler Wirkung (Restvitalität 48%) nach 72 Std. bei einer Konzentration von 600 U/ml. TNF $\alpha$  (1850 U/ml) und IFN $\gamma$  (140 U/ml) waren ebenfalls toxisch, jedoch in geringem Maß als IL-1 $\beta$  (Restvitalität nach 72 Std., 74%, beziehungsweise 42%) Die Kombination von niedrigeren Konzentrationen von Zytokinen verringerte die INS 1E Zellvitalität erheblich stärker als jedes einzelne der Zytokine (Restvitalität 72 Std., IL-1+TNF 27%, IL-1+IFN 10%). Die Mischung von drei Zytokinen (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  und IFN $\gamma$  war die am stärksten toxische Kombination (Restvitalität nach 72 Std., 3.5%). Der iNOS Blocker schützte vor Zytokintoxizität (Restvitalität nach 72 h, 600 U/ml IL-1 77%, Mix 15%). Zytokine beeinflussen die Expression der ER Stress Marker mit maximaler Wirkung bei CHOP und Bip nach 12 Std. und bei XBP-1 gespleißt nach 24 Std. Die stärksten Induktoren von ER Stress waren IL-1 $\beta$  und die Zytokinmischung (IL-1 $\beta$  12 Std.: CHOP 760%, Bip 53%; 24 h: XBP-1 146%, XBP-1 gespleißt 130%; Mix 12 Std.: CHOP 920%, Bip 33%; 24 Std: XBP-1 143%, XBP-1 gespleißt 313%) TNF $\alpha$  beeinflusste sowohl die CHOP (12 Std. Mix: 150%) als auch die Bip (12 Std. Mix: 41%) Expression, während IFN $\gamma$  die CHOP und Bip Expression verringerte (12 Std. Mix: 71%, beziehungsweise 89%). Zytokin-induzierte CHOP Expression wurde vollständig durch iNOS Blocker supprimiert (12 Std., IL-1 7.6-gegenüber IL-1+iNOS Blocker 0.8-fach; 12 Std. Zytokinmix 9.2-fach gegen 0.9-fach, p < 0.05). Im Gegensatz dazu war die Bip Expression nicht von NO abhängig. Die Expression von XBP-1 und XBP-1 gespleißt war zum Teil von NO abhängig. **Schlussfolgerung:** Wir postulieren, dass NO Produktion zum ER Stress und somit zum Zytokin-vermittelten Zelltod der insulinproduzierenden Zellen beiträgt.

82

### Toll-Like Rezeptor 4 als Regulator inflammatorischer Adipozytenfunktionen bei der Entwicklung des Diabetes im Tiermodell

Gülden E<sup>1</sup>, Brüggemann J<sup>1</sup>, Burkart V<sup>1</sup>, Habich C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Klinische Diabetologie, Düsseldorf, Deutschland

**Fragestellung:** Neuere Beobachtungen zu metabolischen und immunologischen Parametern und zur Körpergewichtsentwicklung sowohl bei Patienten mit Diabetes als auch bei Tiermodellen weisen darauf hin, dass Adipozyten und ihre Mediatoren nicht nur die Entwicklung des Typ-2-Diabetes beeinflussen, sondern auch inflammatorische Prozesse bei der Pathogenese des Typ-1-Diabetes kontrollieren. Adipozyten besitzen wichtige Eigenschaften von natürlichen Immunzellen, wie Makrophagen, deren Funktionen wesentlich von Toll-like Rezeptoren (TLR), insbesondere TLR4, reguliert werden. Wir haben deshalb geprüft, ob TLR4 die Freisetzung von immunregulatorischen Adipozyten-Mediatoren kontrolliert, die eine mögliche Relevanz für die Diabetespathogenese besitzen. **Methodik:** Die Studien wurden an der Neuseeland Obese (NZO) Maus, einem Modell des metabolischen Syndroms, und der non-obese diabetic (NOD) Maus, einem Modell des Typ-1-Diabetes, durchgeführt. Adipozyten wurden aus viszeralem Fettgewebe isoliert und mit Lipopolysaccharid (LPS) als TLR4 Liganden stimuliert. Die Freisetzung der Zytokine TNF $\alpha$  und IL-6 sowie des Chemokins IL-8 wurden mittels ELISA quantifiziert. **Ergebnisse:** Die aus den Mäusen isolierten Adipozyten wiesen eine Reinheit von >99,2% auf, wie durch Oil-Red Färbung und den Nachweis des Makrophagen-Markers CD 11b in FACS Analysen bestätigt wurde. Durch den Nachweis des Reifungsmarkers Pref-1 wurden 75 ± 18% der Zellen als Präadipozyten identifiziert. In >90% der Zellen war eine TLR4 Expression nachweisbar. LPS (0–1000 ng/ml) induzierte in Adipozyten der NZO-Maus einen Anstieg der Freisetzung der Zytokine IL-6 von 2,7 ± 1,0 auf 4,5 ± 1,8 ng/ml und TNF $\alpha$  von 13,3 ± 0,6 auf 16,8 ± 2,5 pg/ml (p < 0,05). LPS steigerte die Freisetzung des Chemokins IL-8 von 1,9 ± 0,2 auf 11,7 ± 1,9 ng/ml (p < 0,05). Erste Hinweise zu einer Beteiligung TLR4 abhängiger Adipozytenfunktionen an der Entwicklung des Insulinmangeldiabetes stammen aus TLR4 defekten NOD Mäusen. Diese Tiere zeigten im Vergleich zu NOD Mäusen mit wildtyp TLR4 Expression eine beschleunigte Diabetesentwicklung verbunden mit einer vermehrten Zunahme des Fettgewebes zurückzuführen ist. In TLR4 defekten Adipozyten konnte durch LPS keine TNF $\alpha$  Bildung induziert werden, während der TLR9 Ligand CpG DNA (10  $\mu$ M) die TNF $\alpha$  Freisetzung von 34,1 ± 2,5 auf 44,3 ± 2,4 pg/ml erhöhte (p < 0,05). **Schlussfolgerungen:** Unsere Beobachtungen an Tiermodellen des metabolischen Syndroms und des Insulinmangeldiabetes zeigen, dass TLR4 die Freisetzung immunregulatorischer Adipozyten-Mediatoren und damit die Progression von Entzündungsreaktionen kontrolliert, die der Entwicklung einer diabetischen Stoffwechsellaage zugrunde liegen. Die Befunde lassen vermuten, dass TLR4 als zentraler Regulator von inflammatorischen Adipozytenfunktionen nicht nur bei der Entwicklung des Typ-2-Diabetes sondern auch bei der (Auto-)Immunpathogenese des Typ-1-Diabetes eine zentrale Rolle spielt.

83

### Der Einfluss antioxidativer Enzyme und proinflammatorischer Zytokine auf die Caspase-9 Aktivierung und die Bcl-2 Promotoraktivität in insulinproduzierenden Zellen

Mehmeti I<sup>1</sup>, Lortz S<sup>1</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** Der Typ-1-Diabetes mellitus wird durch die selektive Zerstörung der insulinsezernierenden Beta-Zellen des Pankreas verursacht. Dabei spielt die Aktivierung proapoptotischer Signalwege durch proinflammatorische Zytokine eine Schlüsselrolle. Wichtige zelluläre Zielstrukturen sind dabei die Mitochondrien, deren Integrität eine große Bedeutung für die Beta-Zellvitalität bzw. die Apoptoseinitiierung hat. In früheren Studien konnte in insulinproduzierenden Zellen, die die Katalase in Mitochondrien überexprimieren (MitoKat), eine erhöhte Expression des antiapoptotisch wirkenden Bcl-2 Proteins beobachtet werden. Daher war das Ziel dieser Studie, den Einfluss von Zytokinen und von zytoprotektiven Enzymen auf die Caspase-9 Aktivierung und die transkriptionelle Regulation von Bcl-2 zu charakterisieren. **Methodik:** Die Caspase-9 Aktivität von insulinproduzierenden RINm5F-Kontroll- sowie von überexprimierenden Zellen (zytosolische Katalase (CytoKat) und MitoKat) wurde mittels Durchflusszytometrie nach 24 h Zytokininkubation ermittelt. Die Quantifizierung der Bcl-2-Promotoraktivität erfolgte

nach transienter Transfektion mit einem Bcl-2-Promotor-Luciferasereporterkonstrukt (mit intaktem oder deletiertem cAMP-responsivem Element (CRE)) und anschließender 24stündiger Inkubation mit IL-1 $\beta$  bzw. mit einem Zytokinmix (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$ ). Um die funktionelle Bedeutung des CRE Bindungsmotivs innerhalb des Bcl-2 Promotors für die Regulation durch Zytokine aufzuklären, wurde zusätzlich ein Reporterkonstrukt unter Kontrolle eines CRE-Tetramers verwendet. **Ergebnisse:** Eine Zytokinexposition von RINm5F-Kontrollzellen führte im Vergleich zu unbehandelten Zellen zu einem signifikanten Anstieg der Caspase-9 Aktivität, während MitoKat überexprimierende Zellen keine signifikante Erhöhung der Caspase-9 Aktivität zeigten. Die Exposition von RINm5F Zellen mit Zytokinen führte zu einer Abnahme der CRE- und Bcl-2 Reporteraktivität. Dabei zeigte das Bcl-2 Promotor-konstrukt mit intakter CRE-Sequenz eine deutlich stärkere Abnahme der Bcl-2 Aktivität als das Promotorkonstrukt mit deletiertem CRE-Motiv. Die Überexpression der zytotoxischen CytoKat und MitoKat führte im Vergleich zu den Kontrollen zu einer vergleichbaren (CytoKat) bzw. signifikant erhöhten (MitoKat) Bcl-2 Promotoraktivität. **Schlussfolgerungen:** Die Beteiligung des intrinsischen Apoptosewegs am zytokinvermittelten Beta-Zelltod konnte durch die beobachtete Caspase-9 Aktivierung belegt werden. Die zytokinvermittelte Reduktion der CRE-Aktivität und der Bcl-2 Promotoraktivität deutet auf eine funktionelle Bedeutung dieses CRE-Motivs innerhalb des Bcl-2 Promotors hin. Die durch die MitoKat Überexpression erzielte höhere Bcl-2 Promotoraktivität und erniedrigte Caspase-9 Aktivierung stellt eine therapeutische Perspektive dar, um die initiale Beta-Zellzerstörung beim Autoimmundiabetes sowie die zytokinvermittelte Zerstörung nach der Transplantation insulinproduzierender Zellen zu verhindern.

84

#### Der Zeitpunkt der Einführung von Beikost beeinflusst das Risiko der Inselautoimmunität bei Kindern der Interventionsstudie BABYDIÄT

Pflüger M<sup>1</sup>, Hummel S<sup>1</sup>, Ziegler AG<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Diabetesforschung, München, Deutschland

**Hintergrund:** Der Typ-1-Diabetes (T1DM), eine Autoimmunerkrankung, ist eine der häufigsten chronischen Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter. Neben der genetischen Prädisposition spielen Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle. Frühere Studien lassen vermuten, dass eine frühe Einführung von Nahrungsmitteln wie Gluten, Früchte und Beeren das Risiko für Inselautoimmunität (IA) beeinflusst. Wir führen derzeit eine Interventionsstudie (BABYDIÄT) bei Neugeborenen mit einem erhöhtem T1DM-Risiko durch. Die diätetische Intervention besteht in einer glutenfreien Ernährung entweder in den ersten 6 Monaten (gemäß den deutschen Ernährungsempfehlungen) oder während des gesamten ersten Lebensjahres. Die Einführung von Nahrungsmitteln, Supplementen und verabreichten Medikamenten wird engmaschig beobachtet, um einen möglichen Zusammenhang zwischen diesen Faktoren und der Entwicklung von Inselautoantikörpern (IAK) feststellen zu können. **Methode:** Babydiät untersucht Kinder mit erhöhtem genetischen und familiären T1DM-Risiko ab dem 3. Lebensmonat bis zum dritten Lebensjahr in dreimonatlichen Abständen. Daten über neu eingeführte Nahrungsmittel wie Milch, Obst und Gemüse und verabreichte Antibiotika wurden im Rahmen eines Interviews im Alter von 3 Monaten erfasst und anschließend täglich von den Eltern in Wochenprotokollen notiert. Die IAK (IAA, GADA, IA-2A) werden in dreimonatlichen Abständen gemessen. Das Risiko für IA wurde anhand des Zeitpunkts der ersten Einführung von Beikost und Antibiotika verglichen. **Ergebnisse:** Das mediane Alter bei der Einführung von anderen Nahrungsmitteln als die Muttermilch lag bei 0,92 Monaten (Bereich 0 – 11 Monate), Gemüse bei 5,81 Monaten (Bereich 2,17 – 8,91 Monate) und Obst bei 6,05 Monaten (Bereich 3,02 – 9,99 Monate). Die frühe Einführung von Obst und Gemüse (< Median) erhöhte das Risiko der Entwicklung von IAK im Vergleich zu einer späteren Einführung (IAK Risiko mit 2 Jahren- 18% vs. 4%; HR 2,6, p=0,02). Kinder bekamen früher Obst und Gemüse, wenn die Mutter jung war und während der Schwangerschaft geraucht hat. Die Einführung von Formulanahrung (ja/nein oder Alter bei der Einführung) hatte keinen Einfluss auf die Entwicklung von IAK. Eine Behandlung mit Antibiotika erhielten 48 (43%) Kinder innerhalb des ersten Lebensjahres (mediane Behandlungsdauer: 10 Tage). Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Antibiotika-Einnahme und einem erhöhten Risiko für die IA gefunden werden. **Schlussfolgerung:** Diese Ergebnisse stimmen mit bisherigen Forschungsergebnissen aus Deutschland, USA und Finnland überein und lassen vermuten, dass die frühe Einführung von fester Nahrung das Risiko der Entwicklung von IAK in der frühen Kindheit erhöht.

85

#### Serum-Glucokortikoid-induzierbare Kinase 1 hemmt den Abbau des Insulin-Rezeptor-Substrates 2 in insulinsezernierenden Zellen

Avram D<sup>1</sup>, Leveringhaus J<sup>1</sup>, Hennige AM<sup>1</sup>, Hopp S<sup>1</sup>, Lang P<sup>2</sup>, Häring HU<sup>1</sup>, Ullrich S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Tübingen, Innere Medizin IV, Tübingen, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Tübingen, Physiologisches Institut, Tübingen, Deutschland

Die Serum-Glucokortikoid-induzierbare Kinase 1 (SGK-1) reguliert den Proteasom-abhängigen Proteinabbau von Membranproteinen. Sie wird in insulinsezernierenden Zellen durch Glucokortikoide induziert. Wir beobachteten, dass in INS-1 Zellen, die mit dem synthetischen Glucokortikoid Dexamethason (Dexa) behandelt wurden, das Insulin-Rezeptor-Substrat-2 (IRS-2) Protein, ohne gleichzeitigem Anstieg der IRS-2 mRNA, erhöht war. IRS-2 schützt beta-Zellen vor Zelltod. Wegen einer schnellen Proteinumsatzrate von IRS-2 wird dieser Schutz von Veränderungen der Synthese- und Abbauraten stark beeinflusst. In dieser Studie wurde untersucht, ob die Expression von SGK-1 für die Dexamethason-abhängige Erhöhung des IRS-2 Proteins verantwortlich ist. INS-1 Zellen wurden stabil mit hSGK-1 transfiziert. Expression und Phosphorylierung von Proteinen wurden anhand von Western Blots untersucht. Die Apoptoserate von insulinsezernierenden INS-1 Zellen wurde durch TUNEL Markierung bestimmt. Mitochondriales Potential wurde durch FACS Analyse nach Anfärbung mit Tetramethylrhodamine Ethylester (TMRE) evaluiert. Die stabile Transfektion von hSGK-1 in INS-1 Zellen veränderte die Proliferationsrate der Zellen nicht. Auch blieb die Glucose-induzierte Insulinsekretion unverändert. Die Zellen bauten, wie Kontroll-INS-1 Zellen, bei hoher Glucose ein stärker negatives mitochondriales Potential auf als bei niedriger Glucosekonzentration. Im Gegensatz dazu blieb in Dexa-behandelten Zellen das mitochondriale Potential auch bei hoher Glucosekonzentration niedrig. Dexa induzierte apoptotischen Zelltod und hemmte die Zellproliferation. Während in Kontroll-INS-1 Zellen nach 5-stündiger Cycloheximid-Hemmung der Proteinsynthese nur noch 50% des IRS-2 Proteins nachweisbar war, war die Menge an IRS-2 Protein in SGK-1 transfizierten Zellen unverändert. Diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass SGK-1 nicht am Dexa-induzierten Zelltod beteiligt ist. Im Gegenteil, SGK-1 hemmt den Abbau von IRS-2. Die erhöhte IRS-2 Menge verhindert jedoch die Glucokortikoid-induzierte Apoptose nicht. Erst die Stimulation der Tyrosinphosphorylierung von IRS-2 mit IGF-1 hemmt den Zelltod. Diese Beobachtungen könnten erklären, warum Glucokortikoide sowohl apoptotisch als auch anti-apoptotisch in insulinsezernierenden Zellen wirken können.

86

#### Untersuchungen zur Glucosehomöostase in insulinproduzierenden MIN6 Zellen

Kaminski MT<sup>1</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>, Baltrusch S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** Glucose ist der Stimulus für die Insulinsekretion in Beta-Zellen des Pankreas. Glucose wird über den Glucosetransporter GLUT2 in die Zelle aufgenommen und im ersten Stoffwechselschritt durch die Glucokinase phosphoryliert, die dadurch eine Glucose-sensorenfunktion übernimmt. Veränderungen der intrazellulären Glucosekonzentration beeinflussen zudem die Expression und posttranslationale Modifikation von Proteinen. Es ist daher das Ziel dieser Studie, die intrazelluläre Glucosekonzentration in Beta-Zellen zu verfolgen und Veränderungen im Glucosemetabolismus zu charakterisieren. **Methodik:** Die Änderungen der intrazellulären Glucosekonzentration wurden mithilfe von glucose-spezifischen FRET- (fluorescence resonance energy transfer) basierten Sensoren (FLIPglu) fluoreszenzmikroskopisch untersucht. FLIPglu Sensoren wurden sowohl in insulinproduzierenden MIN6-Zellen als auch in nicht insulinproduzierenden COS-7-Zellen exprimiert. Die Zellen wurden in Krebs Ringer Puffer ohne Glucose, mit 10 mmol/l Glucose oder 10 mmol/l Glucose plus 10 mmol/l 3-O-Methylglucose perfundiert. Die FRET Effizienz wurde aus den Fluoreszenzintensitäten EYFP/ECFP nach Anregung des ECFP berechnet. **Ergebnisse:** Ein Anstieg der Glucosekonzentration von 0 auf 10 mmol/l im Perifusionsmedium führte in den Zellen zu einem Anstieg der EYFP/ECFP Ratio. Damit konnte die Glucoseaufnahme in die Zellen direkt nachgewiesen werden. Bei anschließendem Entzug der Glucose aus dem Perifusionsmedium nahm die EYFP/ECFP Ratio wieder ab und ermöglichte die Charakterisierung des Glucosestoffwechsels. Veränderungen der intrazellulären Glucosekonzentration konnten mit dieser fluoreszenzmikroskopischen Technik in vivo gezeigt werden. Die Glucoseaufnahme war in MIN6-Zellen im Ver-

gleich zu COS-7-Zellen signifikant erhöht. Ebenso war der Glucosestoffwechsel in den insulinproduzierenden Zellen signifikant höher. In beiden Zelllinien konnte die Glucoseaufnahme durch Zugabe von 3-O-Methylglucose gehemmt werden. Dabei führte 3-O-Methylglucose nur in MIN6-Zellen zu einem vollständigen Verlust der Glucoseaufnahme. **Schlussfolgerung:** FLIPglu Glucosesensoren erlaubten erstmals die direkte Untersuchung des Glucosestoffwechsels in insulinproduzierenden MIN6-Zellen. Der effizientere Stoffwechsel dieser Zellen im Vergleich zu COS-7-Zellen resultiert aus der Expression des Glucosetransporters GLUT2 in Kombination mit der Glucokinase als phosphorylierendes Enzym. Diese neue fluoreszenzmikroskopische Technik wird die Aufklärung von Veränderungen der Glucoseaufnahme und des Glucosemetabolismus unter physiologischen Bedingungen und im T2DM ermöglichen.

87

### Eingrenzung der Suszeptibilitätsregion Iddm8 und Sequenzierung funktionell relevanter Kandidatengene in der LEW.1AR1-iddm Ratte, einem Tiermodell des humanen T1DM

Arndt T<sup>1</sup>, Weiss H<sup>2</sup>, Jörns A<sup>1</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>, Cuppen E<sup>3</sup>, Hedrich H<sup>4</sup>, Wedekind D<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Rostock, Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Rostock, Deutschland, <sup>3</sup>Hubrecht Laboratory, Utrecht, Niederlande, <sup>4</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Versuchstierkunde, Hannover, Deutschland

**Hintergrund:** Die LEW.1AR1-iddm Ratte ist ein Tiermodell des Typ-1-Diabetes mellitus (T1DM), das 1997 in dem MHC-congenen Inzuchtstamm LEW.1AR1 durch eine Mutation entstand. Mithilfe einer (BN x LEW.1AR1-iddm) x LEW.1AR1-iddm Rückkreuzungspopulation (Diabetesinzidenz 6,5%) konnten bisher drei Suszeptibilitätsregionen identifiziert werden: Iddm8 und Iddm9 (RNO1q45–54, RNO1p11–q11) sowie Iddm1 (RNO20p12 = MHCII Region). Die Kopplungsanalyse einer (PAR x LEW.1AR1-iddm) x LEW.1AR1-iddm Rückkreuzungspopulation (Diabetesinzidenz 13,5%) bestätigte zwei Suszeptibilitätsregionen (Iddm1 und Iddm8). Ziel der Studie ist es, (a) die Region Iddm8 mittels einer KASPar Analysen einzugrenzen, sowie (b) Kandidatengene im Bereich Iddm8 und Iddm1 zu sequenzieren, um die Gene, die an der Pathogenese des T1DM beteiligt sind, zu identifizieren. **Methode:** Die Feinkartierung der Iddm8 Region erfolgte unter Einsatz beider Rückkreuzungspopulationen mittels KASPar (Kbiosciences Allele Specific PCR) Analyse. Parallel dazu wurde die Sequenzierung potentieller Kandidatengene, welche auch für den humanen T1DM und T2DM eine funktionell wichtige Rolle spielen, mithilfe eines 3730XL DNA (Applied Biosystems) Sequenzers durchgeführt und unter Einsatz des Computerprogramms PolyPhred ausgewertet. **Ergebnisse:** Durch die auf SNPs basierende KASPar Methode konnte die in beiden unterschiedlichen Rückkreuzungspopulationen identifizierte Suszeptibilitätsregion Iddm8 weiter verkleinert werden. Nur dadurch kann eine weitere Eingrenzung der möglichen Kandidatengene und eine Sequenzierung der möglichst stark verkleinerten Region erfolgen. Insgesamt sind 54 potentielle Kandidatengene aus diesem Bereich sequenziert worden. Weitere Sequenzierungen zeigten, dass in der LEW.1AR1-iddm Ratte die Gene der bekannten Mutationen in anderen Tiermodellen, Iat5 (BB-DP Ratte) und cblb (KDP Ratte), unverändert sind. Im AIRE Gen (RNO 20), welches in der Pathogenese des T1DM beim Menschen eine wichtige Rolle spielt, konnten im Vergleich zum MHC kongenen Stamm LEW.1WR1 zwei SNPs in kodierenden Bereichen identifiziert werden. **Schlussfolgerungen:** Bisher war es nicht möglich, die Suszeptibilitätsregionen Iddm8 auf RNO1 der LEW.1AR1-iddm Ratte unter Einsatz von Mikrosatellitenmarkern weiter einzugrenzen. Die KASPar Methode bietet die Möglichkeit, mithilfe von single nucleotide polymorphisms (SNPs) chromosomale Abschnitte feiner zu kartieren. In dem eingegrenzten Iddm8 Bereich kartieren noch weitere Gene, von denen auch einige als funktionell interessante Kandidatengene für den T1DM des Menschen diskutiert werden, wie zum Beispiel SUMO4 (SMT3 suppressor) und Pcdcd11 (programmed cell death 11). Es ist interessant, dass in der Iddm8 Region weitere Gene identifiziert wurden, die sehr wahrscheinlich an der Pathogenese des T2DM des Menschen beteiligt sind, wie HHEX (hematopoietically expressed homeobox) und TCF7L2 (transcription factor 7-like 2, T-cell specific).

88

### Beeinflussung von Glucosetoleranz und Insulinsekretion durch Ca<sup>2+</sup>-regulierte Kaliumkanäle mittlerer Leitfähigkeit (SK4-Kanäle)

Düfer M<sup>1</sup>, Gier B<sup>1</sup>, Krippeit-Drews P<sup>1</sup>, Wolpers D<sup>1</sup>, Ruth P<sup>1</sup>, Drews G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Tübingen, Pharmazeutisches Institut, Pharmakologie und Toxikologie, Tübingen, Deutschland

**Fragestellung:** Für die Regulation der Insulinsekretion spielen neben ATP-abhängigen Kaliumkanälen (K<sub>ATP</sub>-Kanäle) auch spannungs- und Ca<sup>2+</sup>-gesteuerte Kaliumkanäle eine Rolle. Es wurde untersucht, ob durch Knockout des Ca<sup>2+</sup>-regulierten Kaliumkanals mittlerer Leitfähigkeit (SK4, K<sub>Ca</sub>3.1) die Stimulus-Sekretionskopplung pankreatischer Beta-Zellen und die Glucosehomöostase verändert werden. **Methodik:** Das Membranpotential wurde mit der Patch-clamp Technik bestimmt. Intrazelluläres Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) wurde fluoreszenzoptisch gemessen. Glucosetoleranz und Insulinsensitivität in vivo wurden an 12 Wochen alten männlichen SK4-Kanal Knockout (SK4-KO) Mäusen und ihren Wildtyp (WT) Geschwistern bestimmt (i.p. Injektion von 2 g/kg KG Glucose bzw. 0,7 I.E. Insulin/kg KG). **Ergebnisse:** Im Vergleich zu WT Mäusen zeigten SK4-KO Mäuse eine deutlich verbesserte Glucosetoleranz (Plasmaglukosekonzentration 120 min nach Glucoseinjektion: WT: 9,5 ± 1,2 mM; SK4-KO: 6,2 ± 0,5 mM; n = 5; p < 0,05). Die Insulinsensitivität zwischen WT und SK4-KO Mäusen war nicht verändert (Abfall der Plasmaglukosekonzentration 60 min nach Insulininjektion: WT: 39 ± 3%; SK4-KO: 47 ± 6%; n = 5–6). Da diese Befunde darauf hinweisen, dass SK4-Kanäle an der Regulation der Insulinsekretion beteiligt sind, wurde die Glucoseempfindlichkeit isolierter Beta-Zellen untersucht. Bei Stimulation mit 15 mM Glucose war die Frequenz der Ca<sup>2+</sup>-Aktionspotentiale in SK4-Kanal-defizienten Beta-Zellen signifikant höher als in WT Beta-Zellen (SK4-KO: 97 ± 5/min, n = 53 vs. WT: 74 ± 12/min, n = 18, p < 0,05). Die Erhöhung der Glucosekonzentration von 0,5 auf 6 mM induzierte bereits in 64% der SK4-KO Beta-Zellen elektrische Aktivität (n = 11; vs. 0% in WT Beta-Zellen, n = 7). Bei Steigerung der Glucosekonzentration auf 8 mM traten in allen untersuchten SK4-KO Beta-Zellen (n = 5) aber nur in 38% der WT Beta-Zellen (n = 8) Ca<sup>2+</sup>-Aktionspotentiale auf. Auch für [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> war die Glucoseschwelle in SK4-KO Beta-Zellen nach links verschoben. Die Glucosekonzentration, bei der die Hälfte der Zellen aktiviert war, betrug 5,7 mM für SK4-KO Beta-Zellen vs. 6,4 mM für WT Beta-Zellen. **Schlussfolgerung:** SK4-Kanäle tragen zur Regulation der Betazellfunktion bei. Die Modulation des Stroms durch diese Ionenkanäle könnte einen neuen therapeutischen Ansatz zur Behandlung von Insulinsekretionsstörungen bei Typ-2-Diabetes mellitus darstellen.

89

### Immunmodulierende Wirkung eines agonistischen CTLA-4 und modulierenden CD4 Antikörpers im LEW.1AR1-iddm Rattenmodell des Typ-1-Diabetes mellitus

Weiss H<sup>1</sup>, Siepert A<sup>1</sup>, Lehmann M<sup>1</sup>, Tiedge M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Rostock, Institut für Med. Biochemie und Molekularbiologie, Rostock, Deutschland

**Fragestellung:** Die LEW.1AR1-iddm Ratte ist ein genetisch determiniertes Tiermodell für den spontanen Typ-1-Diabetes mellitus (T1DM). Die Diabetesinzidenz beträgt 60%. Die Modulation des T-Zellrepertoires durch monoklonale Antikörper kann zu einem toleranten Immunstatus führen. Es war das Ziel dieser Studie, (a) einen agonistisch wirkenden, anti-humanen CTLA-4 Antikörper (H4) und (b) einen CD4<sup>+</sup> T-Zell-modulierenden Antikörper (RIB5/2) auf seine protektiven Wirkung zu untersuchen. **Methodik:** Diabetische LEW.1AR1-iddm Tiere (Blutglucose > 7,8 mmol/l) wurden nach Diagnose des Diabetes um den 60. Lebensstag über 10 Tage mit 5 x 5 mg Antikörper/kg KG i.p. behandelt. 20 Tage nach Diabetesmanifestation wurden die Tiere auf ihren Immunstatus sowie die Beta-Zellzerstörung untersucht. Bei Bedarf erfolgte eine supportive Gabe von Insulin. Folgende T-Zelloberflächenmarker wurden durchflusszytometrisch (FACS) untersucht: T-Zellrezeptor (R73), CD4 (Ox35), CD8 (341), CD25 (Ox39), CTLA-4 (CD 152). Pankreas, Milz, Lymphknoten wurden nach Tötung der Tiere morphologisch untersucht. **Ergebnisse:** Es erkrankten 16 von 24 Tieren (66%). 7 Tiere wurden mit H4, 8 Tiere mit RIB5/2 behandelt. 6 von 7 Tieren der H4 Kohorte bedurften einer Insulinbehandlung beginnend zwischen dem 5. und 10. Tag nach Diabetesmanifestation. 7 von 8 Tieren der RIB5/2 Gruppe bedurften einer Insulinbehandlung beginnend ab dem 4. bis 16. Tag nach Diabetesmanifestation. Bei einem Tier der RIB5/2 behandelten Gruppe war die diabetische Stoffwechsellaage reversibel. Die FACS Analysen zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Expression des T-Zell Rezeptors zwischen

Kontrollen, H4 und RIB5/2 Gruppe. Der Gehalt an CD4<sup>+</sup> T-Zellen war zwischen allen drei Gruppen signifikant unterschiedlich ( $p < 0,05$ ). Den niedrigsten Gehalt an CD4<sup>+</sup> T-Zellen zeigte die RIB5/2 behandelte Gruppe, den höchsten Gehalt zeigte die H4 behandelte Gruppe. Der Gehalt an CD8<sup>+</sup> T-Zellen war zwischen Kontrolle und RIB5/2 Gruppe signifikant erhöht ( $p < 0,001$ ) ebenso zwischen H4 und RIB5/2 ( $p < 0,001$ ). Die Tiere der RIB5/2 Gruppe zeigten ausserdem einen signifikant erniedrigten Gehalt an CD25<sup>+</sup> ( $p < 0,01$ ) und CD152<sup>+</sup> T-Zellen ( $p < 0,01$ ) im Vergleich zur Kontrolle. **Schlussfolgerung:** Die Gabe therapeutischer immunmodulierender Antikörper führte bei diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Ratten zu signifikanten Veränderungen in den Blut-Lymphozytenpopulationen, jedoch nicht zu einer Regeneration der Beta-Zellmasse bzw. einer verminderten Progression der Erkrankung. Die Reversion der manifesten diabetischen Stoffwechsellaage nach Gabe von RIB5/2 zeigt, dass die Modulation der CD4<sup>+</sup> T-Zellpopulationen einen positiven Einfluss auf die Beta-Zellmasse besitzt. Die Stimulation des CTLA-4 Signalwegs konnte im Gegensatz zum transgenen NOD Mausmodell die fulminante Zerstörung der Beta-Zellen nicht aufhalten. Weitere Versuche sollen das Potential modulierender therapeutischer Antikörper in der prädiabetischen Phase untersuchen.

90

### Die Lipotoxizität gesättigter Fettsäuren führt zur Induktion von ER-Stress in insulinproduzierenden Zellen

Gehrmann W<sup>1</sup>, Elsner M<sup>1</sup>, Jörns A<sup>2</sup>, Lenzen S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Klinische Biochemie, Hannover, Deutschland, <sup>2</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Anatomie, Hannover, Deutschland

**Fragestellung:** Erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren können beim T2DM zu einer  $\beta$ -Zell-Dysfunktion und-Apoptose führen, wobei nur gesättigte Fettsäuren für insulinproduzierende Zellen toxisch sind, während ungesättigte Fettsäuren einen protektiven Effekt vermitteln. Die molekularen Mechanismen der Lipotoxizität sind dabei noch weitgehend ungeklärt. Als mögliche Ursachen der Toxizität werden unter anderem die Bindung von Fettsäuren an spezifische GPR-Rezeptoren und die Induktion von ER-Stress diskutiert. Veränderungen der normalen ER-Funktion führen zu einer Akkumulierung ungefalteter Proteine, die eine spezifische ER-Stressantwort hervorrufen. Ziele der vorliegenden Studie waren Genexpressionsanalysen von ER-Stressmarkergenen und GPR-Rezeptoren in insulinproduzierenden Zellen. **Methodik:** Die Zellviabilität von insulinproduzierenden RINm5F- und MIN6-Zellen wurde nach 24stündiger Inkubation mit verschiedenen Fettsäuren im MTT-Assay bestimmt. Die Expression der GPR40- und GPR120-Rezeptoren wurde in beiden Zelllinien mittels quantitativer RT-PCR gemessen. Die rezeptorvermittelte Stimulation von Fettsäuren auf die Insulinsekretion wurde in statischen Insulinsekretionen bestimmt. Der Einfluss von Fettsäuren auf die Expression der ER-Stressmarkergene Bip, CHOP, XBP-1 und XBP-1 spliced wurde durch quantitative RT-PCR und Westernblot ermittelt. Morphologische Veränderungen von RINm5F-Zellen nach Fettsäureinkubation wurden elektronenmikroskopisch analysiert. **Ergebnisse:** Die gesättigte Fettsäure Palmitinsäure ( $EC_{50} = 130 \mu M \pm 9$ ) hat einen ausgeprägten zytotoxischen Effekt auf RINm5F-Zellen, wohingegen MIN6-Zellen weitaus weniger sensitiv sind ( $EC_{50} = 993 \mu M \pm 123$ ). Die beiden Zelllinien unterscheiden sich auch deutlich in der Expression der GPR-Rezeptoren, diese werden in MIN6-Zellen aber nicht in RINm5F-Zellen exprimiert. In MIN6-Zellen sind Fettsäuren somit in der Lage rezeptorvermittelt die glucoseinduzierte Insulinsekretion zu steigern. Die ER-Stressmarkergene CHOP und XBP-1 spliced werden durch Palmitinsäure induziert, während die Expressionsniveaus von Bip und XBP-1 unverändert bleiben. Ölsäure hat keinen Effekt auf die Expression der ER-Stressmarkergene. Elektronenmikroskopische Analysen zeigen nach Palmitinsäureinkubation eine deutliche Schädigung des endoplasmatischen Reticulums jedoch nicht der Mitochondrien. Eine Inkubation mit Ölsäure führt hingegen zur Bildung von Lipidtröpfchen im Zytosol. **Schlussfolgerungen:** Die Toxizität von Palmitinsäure wird nicht über den GPR40- oder GPR120-Rezeptor vermittelt, da diese in den sensitiveren RINm5F-Zellen nicht exprimiert werden. Die Funktionalität des GPR40-Rezeptors konnte in MIN6-Zellen durch die stimulative Wirkung von Fettsäuren auf die Insulinsekretion gezeigt werden. Die Induktion von ER-Stressmarkergenen durch Palmitinsäure weist auf ER-Stress als möglichen molekularen Mechanismus für die Lipotoxizität hin.

### Freie Vorträge: Folgeerkrankungen, Makroangiopathie

91

### Nicht-invasive Diagnostik und Evaluierung von Biomarkern aus Urin mittels Proteomanalyse bei diabetischer Nephropathie

Suckau L<sup>1</sup>, Rossing K<sup>2</sup>, Novak J<sup>3</sup>, Zürlig P<sup>1</sup>, Coon J<sup>4</sup>, Mischak H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mosaiques diagnostics GmbH, Hannover, Deutschland, <sup>2</sup>Steno Diabetes Center, Gentoft, Dänemark, <sup>3</sup>University of Alabama at Birmingham, Department of Microbiology, Birmingham, USA, <sup>4</sup>University of Wisconsin-Madison, Departments of Chemistry and Biomolecular Chemistry, Madison, USA

**Fragestellung:** Die diabetische Nephropathie ist eine progressive Nierenerkrankung und ist in Deutschland mit über 30% die häufigste Ursache für dialysepflichtige Niereninsuffizienz. Derzeitige Diagnoseverfahren können eine Erkrankung nur sehr spät erkennen und müssen aufgrund ihrer zum Teil sehr unspezifischen Aussagen oftmals wiederholt werden. Unser Ziel war die Entwicklung einer spezifischen Nicht-invasiven Methode zur frühzeitigen Diagnose von chronischen Nierenerkrankungen aus Urin. **Material und Methoden:** Mit CE/MS gelingt es, mehr als 1000 Polypeptide aus Urin in einem Messvorgang von ca. 60 min zu analysieren. Nach weiteren Datenprozessierungsschritten, sowie Amplitudennormierungen mittels interner Standards, werden alle Daten der Urinanalyse von Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und diabetischer Nephropathie sowie gesunden Probanden in einer Datenbank abgelegt. **Ergebnisse:** Wir konnten spezifische Biomarker aus Urin für die Unterscheidung von Patienten mit diabetischer Nephropathie und Patienten mit anderen chronischen Nierenerkrankungen identifizieren und validieren. In einer Studie wurden über 305 Patienten untersucht und Biomarker mittels CE-MS definiert und validiert. Ein Panel von 40 Biomarkern ermöglicht die Unterscheidung von Patienten mit Diabetes mellitus von Gesunden nicht-diabetischen Individuen mit einer Sensitivität von 89% und einer Spezifität von 91%. Für eine signifikante Differenzierung zwischen Diabetes Patienten mit Normoalbuminurie und diabetischer Nephropathie wurden 102 Biomarker definiert. Ein Modell basierend auf 65 dieser Marker führte zu einer korrekten Identifizierung von diabetischer Nephropathie mit einer Sensitivität und Spezifität von 97% bei 70 geblindeten Patientenproben. Bei der Unterscheidung zwischen diabetischer Nephropathie und anderen chronischen Nierenerkrankungen konnte eine Sensitivität von 81% und eine Spezifität von 91% erreicht werden. Viele der Biomarker sind Fragmente vom Kollagen Typ I, welche bei Patienten mit diabetischer Nephropathie reduziert sind. **Schlussfolgerung:** Proteine zeigen erste pathologische Veränderungen bereits frühzeitig an, noch bevor es zum eigentlichen klinischen Erscheinungsbild einer Krankheit kommt. Zudem eröffnet sich die Möglichkeit durch Evaluierung des Therapieerfolges die Progression von diabetischer Nephropathie stark zu verlangsamen. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass Proteomanalysen aus Urinproben ein innovatives und leistungsfähiges Tool bei der Detektion von diabetes-assoziierten Nierenerkrankungen darstellen und somit vielleicht eine wertvolle Hilfe bei der frühzeitigen Diagnose und Prognose sind.

92

### Einfluss des Aufnahmeblutzuckerwertes bei nicht-diabetischen und diabetischen Patienten mit Erstinfarkt auf die Kurz- und Langzeitletalität

Beck J<sup>1</sup>, Meisinger C<sup>2</sup>, Heier M<sup>3</sup>, Hörmann A<sup>4</sup>, Hymer H<sup>3</sup>, König W<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Ulm, Medizinisches Zentrum, Innere Medizin II – Kardiologie, Ulm, Deutschland, <sup>2</sup>Klinikum Augsburg, MONICA/KORA Herzinfarktregister, Augsburg, Deutschland, <sup>3</sup>Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Institut für Epidemiologie, Neuherberg, Deutschland, <sup>4</sup>Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Institut für Ökonomie und Management im Gesundheitswesen, Neuherberg, Deutschland

**Fragestellung:** In verschiedenen Studien zeigte sich, dass der Aufnahmeblutzucker bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom häufig erhöht ist und mit einer erhöhten Komplikationsrate einhergeht. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob ein erhöhter Aufnahmeblutzuckerwert bei nicht-diabetischen und diabetischen Patienten mit Erstinfarkt mit einer erhöhten 28-Tages- sowie 1- bzw. 3-Jahresletalität assoziiert ist. **Methodik:** 1631 Patienten ohne und 659 Patienten mit Typ-2-Dia-

betes aus dem KORA-Herzinfarktregister Augsburg, im Alter von 25 bis 74 Jahren, die zwischen 1998 und 2003 einen Erstinfarkt erlitten, wurden in die Studie eingeschlossen. 2005/2006 wurde für alle Registerpatienten ein Mortalitäts-Follow-up durchgeführt. **Ergebnisse:** Von den Nichtdiabetikern verstarben 96 (5,9%) und von den Diabetikern 64 (9,7%) innerhalb von 28 Tagen. Die Ergebnisse der logistischen Regression ergaben im multivariabel adjustierten Modell für nichtdiabetische Herzinfarktpatienten mit Aufnahmeblutzuckerwerten von mehr als 152 mg/dl (oberstes Quartil, Q4) im Vergleich zum untersten Quartil (Q1) eine Odds Ratio (OR) von 2,82 (95% Konfidenzintervall (KI) 1,30 – 6,12) innerhalb von 28 Tagen zu versterben. Diabetiker mit Aufnahmeblutzuckerwerten von mehr als 278 mg/dl (Q4) im Vergleich zu Werten von < 152 mg/dl (Q1) wiesen im multivariablen Modell eine nicht signifikante OR von 1,45 (95% KI 0,64 – 3,31) auf. Nach Ausschluss der innerhalb 28-Tage Verstorbenen reduzierte sich die Patientenzahl auf 2086 (1501 Nichtdiabetiker und 567 Diabetiker). 134 (8,9%) der Nichtdiabetiker und 97 (17,1%) der Diabetiker waren bis 31.12.2005 verstorben. Zwischen Aufnahmeblutzuckerwerten und der 1-Jahres-Letalität zeigte sich bei Nichtdiabetikern ein erhöhtes jedoch vermutlich aufgrund der niedrigeren Fallzahl ein nicht signifikant erhöhtes relatives Risiko (RR) von 2,71 (95% KI 0,90 – 8,15) im multivariablen Cox Proportional Hazards Modell. Für Diabetiker mit Aufnahmeblutzuckerwerten von > 213 mg/dl im Vergleich zu Werten < 213 mg/dl (Cut-Point Median) ergab sich in der multivariablen Analyse ein RR von 0,99 (95% KI 0,34 – 2,82). Sowohl für Nicht-Diabetiker als auch für Diabetiker mit Aufnahmeblutzuckerwerten im obersten Quartil im Vergleich zu Personen im untersten Quartil zeigte sich im multivariablen Modell kein signifikant erhöhtes 3-Jahres-Letalitäts-Risiko. **Schlussfolgerung:** Nicht-diabetische Herzinfarktpatienten mit erhöhten Aufnahmeblutzuckerwerten stellen Hochrisikopatienten dar mit vor allem schlechter Kurzzeitprognose und bedürfen somit einer intensivierten Therapie.

93

#### Assoziation zwischen erhöhter Nüchtern-glucose und subklinischer Atherosklerose der Koronargefäße – Ergebnisse der Heinz Nixdorf Recall Studie

*Moebus S<sup>1</sup>, Stang A<sup>2</sup>, Möhlenkamp S<sup>3</sup>, Slomiany U<sup>1</sup>, Bauer M<sup>3</sup>, Bröcker-Preuss M<sup>4</sup>, Erbel R<sup>3</sup>, Mann K<sup>4</sup>, Jöckel KH<sup>1</sup>, für die Heinz Nixdorf Recall Studiengruppe*  
<sup>1</sup>Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie, Essen, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Halle/Wittenberg, Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Informatik, Halle, Deutschland, <sup>3</sup>Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Klinik für Kardiologie, Westdeutsches Herzzentrum Essen Epidemiologie, Essen, Deutschland, <sup>4</sup>Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Klinik für Endokrinologie, Zentrallabor Bereich Forschung und Lehre, Essen, Deutschland

**Fragestellung:** Kardiovaskuläre Erkrankungen sind häufig schon bei Erstdiagnose eines Diabetes mellitus Typ 2 präsent. Zudem zeigen prospektive Studien, dass bereits eine erhöhte Nüchtern-glucose im prä-diabetischen Bereich (Impaired Fasting Glucose, IFG) ein unabhängiger Risikofaktor für die koronare Herzkrankheit (KHK) ist. Inwieweit Zeichen einer subklinischen Atherosklerose bei Personen mit IFG feststellbar sind, ist bislang nicht geklärt. Ziel dieser Analyse ist es, den Zusammenhang von IFG und subklinischer Koronarsklerose bei Männern und Frauen zu untersuchen. **Methodik:** Die Daten stammen aus der Basisuntersuchung der Heinz Nixdorf Recall Studie, einer populationsbasierten, prospektiven Kohortenstudie im Ruhrgebiet, die seit Dezember 2000 durchgeführt wird. Einbezogen in die Analysen wurden 2184 Probanden (Alter 45 – 75 Jahre) ohne bekannte KHK bzw. bekannten oder unbekannt Diabetes mellitus, einer normalen Nüchtern-glucose (NFG: < 6,1 mmol/L) bzw. einer IFG (>= 6,1 – < 7,0 mmol/L). Koronarkalk (CAC) wurde mit Elektronenstrahltomographie, Risikofaktoren durch umfangreiche, standardisierte Messungen und Interviews erhoben. Um den Einfluss von Risikofaktoren abzuschätzen, wurden bivariate Analysen durch multiple logistische (CAC > 0) und ordinale Regressionsmodelle (Proportional Odds Model, POM, Kategorien CAC 0 – 10, 10 – 100, 100 – 400, > 400) kontrolliert für Alter, Rauchen, Übergewicht, Blutdruck, Gesamt- und HDL-Cholesterin ergänzt. Alle Analysen wurden nach Geschlecht getrennt ausgewertet. **Ergebnisse:** 633 (29%) der in die Analyse eingeschlossenen Probanden wiesen eine IFG auf, davon waren häufiger Männer als Frauen betroffen (37,2% respektive 22,3%). Probanden mit IFG beiderlei Geschlechts waren eher älter, wiesen häufiger Übergewicht,

einen erhöhten Hüftumfang sowie Bluthochdruck auf. Rauchen, Dyslipidämie und Medikamenteneinnahme fielen dagegen in bezug auf Geschlecht und Glucosestatus unterschiedlich aus. Die Ergebnisse der Regressionsanalysen zeigten ein erhöhtes krudes Odds Ratio (OR) bei Männern von 1,9 (95%-CI 1,3 – 2,7), für das Vorhandensein von Kalk (CAC > 0), das auch im volladjustierten Modell erhöht blieb (OR 1,6; 1,1 – 2,4), während bei Frauen das krude und adjustierte OR für das Vorhandensein von Kalk insgesamt niedriger lag (1,6; 1,2 – 2,2 resp. 1,3; 0,9 – 1,7). Andererseits änderte sich das OR bei den Frauen im POM nicht wesentlich, während bei den Männern keine Assoziation mehr zwischen Höhe der koronaren Verkalkung und IFG erkennbar war (adjustiertes OR 1,1; 0,8 – 1,4). **Schlussfolgerungen:** Erstmals konnten wir Assoziationen zwischen abnormalen Nüchtern-glucosewerten im prä-diabetischen Bereich und subklinischer Koronarsklerose in einer populationsbezogenen Stichprobe ohne koronare Herzerkrankung zeigen. Deutliche Geschlechts- und Altersunterschiede waren erkennbar. Die gezeigten Assoziationen ließen sich nicht mehr nachweisen, wenn die empfohlenen niedrigeren Grenzwerte der ADA für IFG (5,6 – 6,9 mmol/L) herangezogen wurden.

94

#### Bedeutung des Aufnahmeblutzuckerwertes bei nicht-diabetischen Patienten mit Erstinfarkt für die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes mellitus

*Beck J<sup>1</sup>, König W<sup>1</sup>, Heier M<sup>2</sup>, Hörmann A<sup>2</sup>, Sietas G<sup>4</sup>, Meisinger C<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Universität Ulm, Medizinisches Zentrum, Innere Medizin II – Kardiologie, Ulm, Deutschland, <sup>2</sup>Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Institut für Epidemiologie, Neuherberg, Deutschland, <sup>3</sup>Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Institut für Ökonomie und Management im Gesundheitswesen, Neuherberg, Deutschland, <sup>4</sup>Klinikum Augsburg, MONICA/KORA Herzinfarktregister, Augsburg, Deutschland

**Fragestellung:** Bei Patienten mit akutem Herzinfarkt finden sich bei Krankenhausaufnahme häufig erhöhte Glucosewerte. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob ein erhöhter Aufnahmeblutzuckerwert bei nicht-diabetischen Patienten mit Erstinfarkt im weiteren Verlauf mit einem erhöhten Typ-2-Diabetesrisiko einhergeht. **Methodik:** Die Studie basierte auf 1239 nicht-diabetischen Patienten des KORA-Herzinfarktregisters Augsburg, im Alter von 25 bis 74 Jahren, die zwischen 1998 und 2003 wegen eines Erstinfarktes in eines der Krankenhäuser der Studienregion Augsburg aufgenommen wurden und ihren Infarkt mind. 28 Tage überlebt haben. Im Jahre 2006 wurden im Rahmen eines schriftlichen Follow-ups alle noch lebenden Patienten unter anderem gefragt, ob, und wenn ja, wann bei ihnen ein Typ-2-Diabetes diagnostiziert wurde. Von den inzwischen verstorbenen Patienten wurden die Krankenakten hinsichtlich eines im Verlauf neu aufgetretenen Typ-2-Diabetes durchgesehen. **Ergebnisse:** Während des Follow-up-Zeitraums entwickelten 108 Patienten einen Typ-2-Diabetes. Für die prospektiven Cox Proportional Hazards Analysen wurden die Aufnahmeblutzuckerwerte in Quartile eingeteilt (< 111 mg/dl/111 – 127 mg/dl/128 – 152 mg/dl/≥ 153 mg/dl). Im Vergleich zu Personen mit Blutzuckerwerten unter 111 mg/dl hatten Personen mit Werten von 153 mg/dl und höher in der alters- und geschlechtsadjustierten Analyse ein relatives Risiko (RR) von 2,76 (KI 95%: 1,61 – 4,75), für einen inzidenten Typ-2-Diabetes. Auch im multivariablen Cox-Modell (nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, Behandlung mit Beta-Blocker, Diuretika, Hypertonie, Fettstoffwechselstörung, Rauchen und BMI), ergab sich für Personen mit Aufnahmeblutzuckerwerten von ≥ 153 mg/dl im Vergleich zu Werten < 111 mg/dl ein RR von 2,59 (95% KI: 1,49 – 4,49) innerhalb der nächsten Jahre einen Diabetes zu entwickeln. **Schlussfolgerung:** Nichtdiabetische Herzinfarktpatienten mit erhöhten Aufnahmeblutzuckerwerten haben ein signifikant erhöhtes Risiko innerhalb der nächsten Jahre nach dem Akutereignis einen Typ-2-Diabetes zu entwickeln und bedürfen somit einer engmaschigen Überwachung ihrer Blutzuckerwerte. Inwieweit bei diesen Patienten bereits zum Infarktzeitpunkt ein unentdeckter Diabetes mellitus oder ein Prädiabetes vorliegt bzw. das Infarktgeschehen an sich mit einem erhöhten Diabetesrisiko einhergeht muss in weiteren Studien untersucht werden.

95

### Pioglitazon in Kombination mit Atorvastatin verbessert die endotheliale Funktion und reduziert das kardiovaskuläre Risikoprofil

Wilhelm B<sup>1</sup>, Pfützner A<sup>1</sup>, Fuchs W<sup>2</sup>, Lehmann U<sup>2</sup>, Scharper F<sup>3</sup>, Weber M<sup>4</sup>, Müller J<sup>5</sup>, Konrad T<sup>6</sup>, Hanefeld M<sup>3</sup>, Forst T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Klinische Forschung und Entwicklung, Mainz, Deutschland, <sup>2</sup>Takeda Pharma GmbH, Aachen, Deutschland, <sup>3</sup>GW-TUD, Dresden, Deutschland, <sup>4</sup>Universitätsklinik, Endokrinologie, Mainz, Deutschland, <sup>5</sup>Acromion GmbH, Frechen, Deutschland, <sup>6</sup>Institut für Stoffwechselforschung, Frankfurt, Deutschland

**Fragestellung:** Die endotheliale Dysfunktion und entzündliche Prozesse in der Gefäßwand spielen eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung der Arteriosklerose. Ziel unserer Untersuchung war es, den Effekt von Pioglitazon in Kombination mit Atorvastatin auf die Intima Media Dicke (IMT), die Arterienelastizität, die endotheliale Funktion und verschiedene laborschemische Risikofaktoren bei Patienten mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko zu untersuchen. **Methode:** 148 Patienten (76 Männer, 72 Frauen; Alter: 61.4 ± 6.5 Jahre; BMI 29.2 ± 4.1 kg/m<sup>2</sup>; Mittelwert ± SD) mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko wurden im Rahmen einer doppel-blinden Studie randomisiert entweder mit Atorvastatin (40 mg) allein oder in Kombination mit Pioglitazon (45 mg) behandelt. Über einen Beobachtungszeitraum von 6 Monaten wurde die Intima Media Dicke (IMT), der Augmentationsindex (Aix@75) und die endotheliale Funktion nach Azetylcholin (LDF) untersucht. Zusätzlich wurden die Plasmaspiegel von hsCRP, MCP-1, MMP-9, P-Selectin, t-PA, Lipide, Adiponektin und die Lipide bestimmt. **Ergebnisse:** Atorvastatin alleine und in Kombination mit Pioglitazon führte zu einer Abnahme der IMT (0.923 ± 0.013 vs. 0.874 ± 0.012 mm and 0.921 ± 0.015 vs. 0.882 ± 0.015 mm; Mittelwert ± SEM; p < 0.05) und des Aix@75 (27.3 ± 1.2 vs. 25.9 ± 1.4 (p < 0.05) und 25.6 ± 1.4 vs. 24.8 ± 1.7%), während eine Verbesserung der endothelialen Funktion (LDF) nur nach Kombinationstherapie (373 ± 57 vs. 576 ± 153 AU; p < 0.05) zu beobachten war. Im Vergleich zur Monotherapie mit Atorvastatin führte die zusätzliche Gabe von Pioglitazon zu einer signifikant besseren Reduktion von hsCRP, tPA und der Triglyzeride sowie einer signifikant stärkeren Anhebung des HDL (jeweils p < 0.05). **Zusammenfassung:** Die zusätzliche Gabe von Pioglitazon zu Atorvastatin verbessert die endotheliale Funktion und weist additive Effekte im Lipidstoffwechsel auf.

96

### The endothelial thrombomodulin system protects against diabetic nephropathy through two independent mechanisms: role of the lectin-like domain

Vinnikov IA<sup>1</sup>, Kashif M<sup>1</sup>, Thati M<sup>1</sup>, Herzog SUE<sup>1</sup>, Nawroth PP<sup>1</sup>, Isermann B<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Heidelberg, Innere Medizin I, Heidelberg, Deutschland

**Objective:** The thrombomodulin (TM) protein C (PC) system is an endothelial dependent, cytoprotective system which has been initially identified based on its anticoagulant function. Following binding and inactivation of thrombin the complex of TM and thrombin activates PC via its EGF-domains 4–6. Activated PC (APC) has anticoagulant as well as cytoprotective properties. In addition TM mediates a direct cytoprotective effect through its lectin-like domain (LD), potentially via scavenging of HMGB-1 and thus preventing excess binding and activation of the receptor RAGE. The role of this endothelial system for diabetic microvascular complications had not been explored until recently. We were able to show that the TM-PC system prevents DN via inhibition of glomerular apoptosis in vivo (Isermann and Vinnikov et al, Nat Med Nov. 2007). Whether TM modulates DN in addition through its LD remained unresolved in these studies. **Design:** DN was evaluated in mice with targeted deletion of the LD of TM (TM<sup>LD</sup>/Led). TM<sup>LD</sup>/Led mice and wild type control littermates (wt) received multiple low dose streptozotocin injections. After 28 weeks of persistent hyperglycemia the mice were sacrificed and 1 kidney was isolated for protein and RNA extraction, while the other was perfusion fixed and worked up for histological analyses. **Results:** Expression levels of glomerular TM are decreased in diabetic wild-type mice, suggesting that loss of TM expression might contribute to DN. Albuminuria is increased in diabetic wt mice and further increased in diabetic TM<sup>LD</sup>/Led mice. Consistently, the histological indices were significantly higher in diabetic TM<sup>LD</sup>/Led mice. Likewise, markers of apoptosis (p53, Bax/Bcl ratio) were increased in diabetic TM<sup>LD</sup>/Led mice compared to diabetic wt mice. To further

delineate the underlying mechanism we determined HMGB1 concentrations in plasma samples. Preliminary results show that HMGB1 levels are higher in diabetic TM<sup>LD</sup>/Led mice than in diabetic wt mice. Increased levels of HMGB1 in diabetic TM<sup>LD</sup>/Led mice were associated with coagulation activation (increased TAT values). Since a recent report established that the cytotoxic effects of HMGB1 in sepsis depend on increased thrombin levels („double hit theory“) diabetic TM<sup>LD</sup>/Led mice were anticoagulated to inhibit thrombin with daily enoxaparin injections throughout the entire study period. Anticoagulation protected TM<sup>LD</sup>/Led mice against aggravated DN. This is consistent with cytotoxic effects of HMGB-1 in the presence of thrombin in diabetic TM<sup>LD</sup>/Led mice. **Conclusion:** These data establish that the LD of TM protects against DN, potentially by scavenging of HMGB1. We identify a new pathway through which TM modulates DN independent of PC activation and thus establish that the endothelial TM system protects against DN through two independent mechanisms. These data provide further evidence for causative role of endothelial dysfunction and loss of TM function in DN.

97

### Postprandiale Hyperglykämie erhöht oxidativen Stress und verschlechtert die kardiovaskuläre Funktion bei Patienten mit gut eingestelltem Typ-2-Diabetes mellitus im Vergleich zu gesunden Kontrollen – bestimmt durch Gewebe Doppler und Wave Intensity

Bibra H von<sup>1</sup>, Siegmund T<sup>1</sup>, Ceriello A<sup>2</sup>, Illmann A<sup>1</sup>, Schumm-Draeger PM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Städt. Klinikum Bogenhausen, Klinik für Endokrinologie, Diabetologie und Angiologie, München, Deutschland,

<sup>2</sup>Warwick Medical School, Coventry, GB

**Hintergrund und Fragestellung:** In Anbetracht der hohen Prävalenz und prognostischen Bedeutung der diastolischen myokardialen Dysfunktion bei Patienten mit Typ-2-Diabetes (D) prüften wir die Hypothese, dass der durch postprandiale Hyperglykämie verursachte oxidative Stress bei D Patienten mit kardiovaskulärer Dysfunktion vergesellschaftet ist. Die Untersuchung erfolgte mittels Gewebe Doppler und der neuen „Wave Intensity“ Technik im Vergleich zu Kontrollpersonen (C). **Methode:** Bei 31 D (58 ± 5 Jahre) und 46 C Personen (60 ± 10 Jahre) ohne Hypertonus und kardiovaskuläre Erkrankung wurden die Effekte eines Kohlenhydratfrühstücks (4 BE) auf oxidativen Stress und kardiovaskuläre Funktion nüchtern und 2 Std postprandial durch Messung von Nitrotyrosin, und systolischer (S') und diastolischer (E') Myokardgeschwindigkeit bestimmt. Gleichzeitig erfolgte durch ein kombiniertes Echo-tracking Doppler-System (ALOKA SSD-5500, Tokyo) die Dokumentation der traditionellen Steifigkeitsparameter der Art. Carotis com. sowie des früh-systolischen Maximums (W1) der „pulse wave intensity“, einem Maß des Energietransfers, welches mit jeder Pulsquelle in das arterielle Gefäßbett einhergeht. **Ergebnisse:** In D (HbA1c 7.0 ± 1.2%, HOMA-IR 9.6 ± 9.0) war der postprandiale Anstieg von Glucose, Insulin und, insbesondere von Nitrotyrosin, signifikant höher (p < 0.001). E' war niedriger (p < 0.001) aber das Frequenz-Druck Produkt (p < 0.007) und die Steifigkeits Parameter (p < 0.04) höher, wie auch W1 (11842 ± 8466 vs. 7949 ± 3911 mm Hg/s3, p < 0.02), das eine signifikante Korrelation mit dem Herzfrequenz-Druck Produkt hatte (r = 0.669, p < 0.001). In multivariaten Regressions-Modellen waren unabhängige Prädiktoren von E' das Alter, HOMA-IR und die postprandiale Änderung von Nitrotyrosin (R2 0.474), und für W1 das Herzfrequenz-Druck Produkt und HOMA-IR (R2 0.534). **Schlussfolgerungen:** Nur bei D ist der durch postprandiale Hyperglykämie verursachte oxidative Stress mit diastolischer Dysfunktion und gesteigertem myokardialen Sauerstoffbedarf sowie Energie Transfer in das steife Gefäßbett vergesellschaftet – und das bereits in Ruhe. In Anbetracht der bekannten Limitationen von Perfusion und mitochondrialer Energieherstellung im diabetischen Herzen bedeutet dieses Mismatch von Energie Bedarf und Angebot das progrediente Risiko myokardialer Schädigung für Patienten mit D und benötigt präventive therapeutische Strategien unter besonderer Berücksichtigung postprandialer Blutzuckernormalisierung.



98

### L-Carnosin verhindert die Akkumulation von extrazellulärer Matrix unter HochGlucose über Modifikation des TGF- $\beta$ Systems

Riedl E<sup>1</sup>, Köppel H<sup>1</sup>, Ehnert S<sup>2</sup>, Godoy P<sup>2</sup>, Sternik P<sup>1</sup>, Dooley S<sup>2</sup>, Yard BA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>V. Medizinische Klinik, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim, Deutschland, <sup>2</sup>II. Gastroenterologie, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim, Deutschland

**Fragestellung:** Die Vulnerabilität von Diabetikern eine diabetische Nephropathie (DN) zu entwickeln ist u.a. genetisch festgelegt. Wir konnten das Gen CNDP-1 (Serum Carnosinase) identifizieren, dessen Polymorphismus im Signalpeptid mit der Empfänglichkeit für DN assoziiert ist. Patienten, die homozygot für die kürzeste allelische Form (Mannheim Allel) des Gens sind, entwickeln seltener eine diabetische Nephropathie. Diese allelische Form geht mit niedriger Aktivität des Enzyms einher und führt somit zu höheren Carnosin (L-Carn) Spiegel. Durch welchen Mechanismus L-Carn protektiv wirkt ist bisher nur unzureichend geklärt. Das Signalmolekül TGF- $\beta$  spielt bei der Entwicklung der DN eine Schlüsselrolle. Es verursacht u.a. die Akkumulation von extrazellulärer Matrix (EZM), einem der Merkmale der DN. In der gegenwärtigen Studie untersuchen wir, ob L-Carn in humanen Mesangialzellen (MC) Einfluss auf TGF- $\beta$  und seine Signalwege hat. **Methodik:** Humane MC wurden für 14 Tage in Standardmedium  $\pm$  25mM Glucose  $\pm$  20mM L-Carnosin gezüchtet. In den Zellüberständen wurden die TGF- $\beta$  Konzentrationen mittels Bioassay gemessen. Des Weiteren wurde die Produktion von EZM (Fibronektin (FN) und Collagen VI (Col6)) durch quantitative PCR (LightCycler) bestimmt. Die Akkumulation der EZM wurde über indirekte Immunfluoreszenz bestimmt. Die TGF- $\beta$  Signalwege wurden mithilfe von Western Blot des ALK1- (pSmad 1/5/8) und des ALK5 (pSmad 2) Signalweges untersucht. **Ergebnisse:** HochGlucose induziert die FN- und Col6-Ablagerung um den Faktor 1,4 bzw. 1,6. Dieser Effekt konnte durch den Zusatz von L-Carn vollständig verhindert werden. Die Beobachtungen konnten auf mRNA Ebene bestätigt werden. Unter HochGlucose stieg die TGF- $\beta$  Konzentration der Überstände von 1,5 auf 2,0 ng/ml/10E6 Zellen an. Zusatz von L-Carn normalisierte die Werte (1,5 ng/ml/10E6 Zellen;  $p < 0,001$ ). Ebenso konnte die Akkumulation von FN und Col6 unter direkter Stimulation mit TGF- $\beta$  durch die Zugabe von L-Carn gehemmt werden. Die Stimulation unter HochGlucose gezüchteter MC mit TGF- $\beta$  zeigte eine Aktivierung sowohl von pSmad 1/5/8 als auch von pSmad 2, wobei die pSmad 2 Aktivierung überwogte. L-Carn reduzierte hierbei die Aktivierung von pSmad 2. Die exogene Inhibierung des ALK5 Signalwegs verhinderte die Akkumulation von Col6. **Schlussfolgerungen:** Unsere Daten zeigen, dass L-Carn die Akkumulation der extrazellulären Matrix auf zwei Wegen verhindert: Zum Einen normalisiert es erhöhte TGF- $\beta$  Spiegel und zum Anderen reduziert L-Carn die Aktivierung des profibrotischen ALK5 Signalweges.

99

### Einfluss des Carnosin/Carnosinase-1-Systems auf die Entwicklung der Diabetischen Retinopathie in einem Modell des Typ-2-Diabetes

Pfister F<sup>1</sup>, Sauerhöfer S<sup>2</sup>, vom Hagen F<sup>1</sup>, Moeller MJ<sup>2</sup>, Feng Y<sup>1</sup>, Hammes HP<sup>1</sup>

<sup>1</sup>V. Medizinische Klinik, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim, Deutschland, <sup>2</sup>Institut für Anatomie und Zellbiologie 1, Universität Heidelberg, Heidelberg, Deutschland

**Fragestellung:** Frühste morphologische Veränderungen des retinalen Gefäßsystems in der Entwicklung der Diabetischen Retinopathie sind der Verlust von Perizyten und der progressive Verschluss retinaler Kapillaren. Das natürlich vorkommende Dipeptid Carnosin besitzt biochemische Eigenschaften, wie die Neutralisierung von reaktiven Sauerstoffradikalen und die Inhibierung von AGEs. Das für die Hydrolyse von Carnosin verantwortliche Enzym ist die Carnosinase-1 (CN-1). Ziel dieser Studie ist, die Wirkung des Carnosin/CN-1 Systems auf die Entwicklung morphologischer Charakteristika der Diabetischen Retinopathie zu untersuchen. **Methodik:** In diabetischen db/db Mäusen wurde die Serum Spiegel von Carnosin entweder durch eine transgene Überexpression humaner CN-1 cDNA (db/db CN1+) erniedrigt oder durch die Substitution von 4mM L-Carnosin im Trinkwasser (db/db + Carnosin) erhöht. Diabetische db/db Mäuse dienten als Kontrollgruppe (db/db). Die Behandlung mit Carnosin erfolgte über einen Zeitraum von 20 Wochen. Alle Tiere wurden im Alter von 24 Wochen terminiert. Um den Einfluss des Carnosin/CN-1-Systems auf die retinale Perizytenbedeckung zu un-

tersuchen, quantifizierten wir die Perizytenbedeckung des retinalen mikrovaskulären Systems in Digestionspräparaten. **Ergebnisse:** In den transgenen db/db CN-1 Mäusen stiegen die Nüchternblutzuckerwerte und die HbA1c Werte signifikant früher an und übertrafen die der diabetischen Kontrolltiere, wohingegen die Körpergewichte reduziert waren. Diabetische db/db + Carnosin Mäuse entwickelten eine Hyperglykämie signifikant später und zeigten geringere Blutzuckerspiegel verglichen mit diabetischen Kontrolltieren. Die Behandlung mit Carnosin reduzierte den Verlust retinaler Perizyten um 11,5% (db/db + Carnosin vs. db/db;  $p < 0,01$ ), wohingegen transgene Tiere einen erhöhten Verlust von Perizyten von durchschnittlich 9% aufwiesen (db/db CN1+ vs. db/db;  $p < 0,05$ ). **Schlussfolgerung:** Unsere Ergebnisse zeigen, dass das Carnosin/CN-1 System die Perizytenbedeckung retinaler Kapillaren in einem Modell der diabetischen Retinopathie beeinflusst. Die Gabe von L-Carnosin reduziert den hyperglykämie induzierten Verlust retinaler Perizyten. Unsere Daten weisen auf die Bedeutung des Carnosin/CN-1-Systems in der Entwicklung der Diabetischen Retinopathie hin.

100

### Deutliche Erhöhung des kardiovaskulären Risikos bei älteren Diabetikern mit arterieller Verschlusskrankheit: 5-Jahresergebnisse der getABI Studie

Diehm C<sup>1</sup>, Darius H<sup>2</sup>, Pittrow D<sup>3</sup>, Allenberg JR<sup>4</sup>, Haberl RL<sup>5</sup>, Mahn M<sup>6</sup>, Tepohl HG<sup>7</sup>, Burghaus I<sup>8</sup>, Trampisch HJ<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Abt. für Kardiologie/Angiologie des Klinikums, Karlsbad-Langensteinbach, Deutschland, <sup>2</sup>I. Med. Klinik, Vivantes Klinikum, Berlin-Neukölln, Deutschland, <sup>3</sup>Institut für Klinische Pharmakologie der Univ., Dresden, Deutschland, <sup>4</sup>Abt. für Gefäßchirurgie der Univ., Heidelberg, Deutschland, <sup>5</sup>Abt. für Neurologie, Städt. Krankenhaus, München-Harlaching, Deutschland, <sup>6</sup>Sanofi-Aventis, Genf, Switzerland, <sup>7</sup>Angiologische Praxis, München, Deutschland, <sup>8</sup>Abt. für Med. Informatik, Biometrie und Epidemiologie der Univ., Bochum, Deutschland

**Hintergrund:** Die aktuellen Leitlinien des National Cholesterol Education Panel (NCEP ATP III) bzw. der ESC/EASD stufen den Diabetes mellitus (DM) und/oder die periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK) als Koronaräquivalent ein, welches im Rahmen sekundärpräventiver Maßnahmen intensiv zu behandeln ist. Wir quantifizierten das Mortalitätsrisiko von Patienten mit einer oder beider dieser Erkrankungen in der hausärztlichen Praxis. **Methodik:** Die German Epidemiological Trial on Ankle Brachial Index (getABI)-Studie ist eine seit 2001 laufende, prospektive, epidemiologische Beobachtungsstudie mit 6880 unselektierten Patienten  $\geq 65$  Jahre in 344 repräsentativen Hausarztpraxen in Deutschland. PAVK zu Studienbeginn war definiert als ABI-Wert  $< 0,9$ , oder Claudicatio intermittens, oder PAVK-bedingte Revaskularisation oder Amputation. DM wurde definiert als: Arztdiagnose oder Einnahme von oralen Antidiabetika bzw. Insulin, oder HbA1c  $> 7\%$ . Hazard Ratios (HR, 95% Konfidenzintervall) für Mortalität und inzidente kardiovaskuläre Ereignisse wurden mithilfe eines multivariaten Cox-Regressionsmodells ermittelt und nach den bekannten kardiovaskulären Risikofaktoren multivariat adjustiert. **Ergebnisse:** Zum Studienbeginn stellten sich die Patientencharakteristika wie folgt dar: mittleres Alter 72,5 Jahre, 58% Frauen, 46% derzeitige oder frühere Raucher, 65% mit arterieller Hypertonie, 52% mit Dyslipidämie, 25% mit DM. Bei jedem fünften Patienten (20,8%) wurde eine PAVK diagnostiziert. Von den Patienten ohne PAVK/DM (n=4125) waren nach 5 Jahren 8,5% verstorben, bei Patienten mit DM allein (n=1218) 12,6%, mit PAVK allein (n=904) 17,0%, und mit DM + PAVK (n=513) 28,1%. Im Vergleich zu Patienten ohne PAVK/DM lag nach multivariater Adjustierung das Risiko (HR) für Mortalität jeglicher Ursache für Patienten mit PAVK allein bei 1,6 (KI: 1,3 – 2,0), für Patienten mit DM allein bei 1,6 (KI: 1,3 – 1,9), und für Patienten mit PAVK + DM bei 3,0 (KI: 2,5 – 3,7). Es fand sich außerdem eine klare reziproke Assoziation zwischen abnehmendem ABI und erhöhter kardiovaskulärer Mortalität und Morbidität. **Schlussfolgerung:** Falls bei Patienten eine PAVK oder ein DM vorliegt, insbesondere aber beim gleichzeitigen Auftreten beider Erkrankungen, ist das Risiko eines vorzeitigen Todes bzw. des Auftretens kardiovaskulärer Ereignisse deutlich erhöht. Deshalb ist nachdrücklich zu empfehlen, Patienten in der hausärztlichen Praxis bezüglich des Vorliegens einer PAVK bzw. eines DM zu screenen, und die kardiovaskulären Risikofaktoren der betroffenen Patienten intensiv zu behandeln.

101

### Assoziation von Metabolischem Syndrom und vaskulärer Multimorbidität im Ganzkörper-MRT bei langjährigen Diabetikern

Findeisen HM<sup>1</sup>, Weckbach S<sup>2</sup>, Schönberg SO<sup>3</sup>, Stark RG<sup>4</sup>, Parhofer KC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinikum der Universität München, Medizinische Klinik II Grosshadern, München, Deutschland, <sup>2</sup>Klinikum der Universität München, Institut für Radiologie, München, Deutschland, <sup>3</sup>Universität Heidelberg – Fakultät Mannheim, Abteilung für klinische Radiologie, Mannheim, Deutschland, <sup>4</sup>Helmholtz Zentrum, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, München, Deutschland

**Hintergrund:** Vaskuläre Erkrankungen wie KHK, cerebrovaskuläre Erkrankungen und pAVK sind die Hauptursachen diabetischer Morbidität und Mortalität. Die Bedeutung des Metabolischen Syndroms (MS) als zusätzlicher vaskulärer Risikofaktor bei Diabetikern ist weiterhin nicht ganz geklärt. Mittels eines Ganzkörper-MRT-Protokolls wurde von 59 Diabetikern ein umfassender Gefäßstatus erhoben und die Assoziation von metabolischem Syndrom und Atherosklerose untersucht. **Methodik:** Typ 1 (n=19) und Typ 2 (n=40) Diabetiker (31 Männer, Alter 63 ± 13,1 Jahre) mit einer Diabetesdauer von mindestens 10 Jahren wurden mit einem Ganzkörper-MRT untersucht. Die hirnersorgenden und intrazerebralen Arterien, die abdominale Aorta und die Extremitätenarterien (einschließlich Fußarterien) wurden in einer Sitzung dargestellt. Die Atheroskleroseläsionen wurden in jedem Gefäß kategorisiert (6 Stufen von normal bis Verschluss) und daraus ein Gesamtscore (Summe der Läsionen geteilt durch die beurteilten Gefäße) errechnet. Anschließend wurde untersucht, ob das MS bzw. seine einzelnen Komponenten (Triglyzeride > 150 mg/dl; HDL < 40 mg/dl (männlich) < 50 mg/dl (weiblich); RR-systolisch > 130 mm Hg oder RR-dia-stolisch > 85 mm Hg oder antihypertensive Medikation; BMI > 30 kg/m<sup>2</sup>) mit einem hohen Score assoziiert sind (alters- und geschlechtsadjustiert, SAS 9.1). **Ergebnisse:** Der Score betrug zwischen 1,00 und 2,41 (Median 1,18). Bei 58% der Patienten lag ein MS vor (Typ-2-Diabetiker 73%, Typ-1-Diabetiker 26%). Alter (p=0,0008) und männliches Geschlecht (p=0,029) waren signifikant assoziiert mit dem Score (r<sup>2</sup>=0,23). Nach Alters- und Geschlechtskorrektur war der Score signifikant (p=0,02) höher bei Diabetikern mit MS (1,450 [1,328 – 1,572]) verglichen mit solchen ohne MS (1,108 [0,966 – 1,50]). Außerdem zeigte sich eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Anzahl der einzelnen MS-Komponenten und dem MRT-Score (Anstieg des Scores: 0,09/MS-Komponente; r<sup>2</sup>=0,23, p=0,038). Punktuell ermittelt waren Diabetestyp, HbA1c, und antidiabetische Medikation nicht mit dem Score assoziiert. In einer Subgruppenanalyse der Typ-2-Diabetiker zeigten sich vergleichbare Ergebnisse. **Schlussfolgerung:** Mittels Ganzkörper-MRT konnte gezeigt werden, dass in diesem Kollektiv von langjährigen Diabetikern Atherosklerose signifikant mit den Komponenten des MS assoziiert ist, während Diabetestyp, HbA1c und antidiabetische Medikation keine Assoziation zeigten. Das MS mit seinen Einzelkomponenten scheint daher ein stärkerer Prädiktor vaskulärer Läsionen zu sein als das Ausmaß der Hyperglykämie.

102

### Einfluss von Stoffwechsellkontrolle und Diabetestherapie auf die Hämoglobinspiegel bei Typ 2-Diabetikern mit und ohne Nephropathie

Collenberg E<sup>1</sup>, Raupp D<sup>1</sup>, Prat Knoll C<sup>1</sup>, Hasslacher C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>St. Josefskrankenhaus, Innere Medizin, Heidelberg, Deutschland

**Einleitung:** Eine Anämie ist bei Patienten mit Diabetes, insbesondere bei eingeschränkter Nierenfunktion, häufiger festzustellen als bei Stoffwechselgesunden. Ein erniedrigter Hämoglobinspiegel (Hb) wird als ein zusätzlicher Risikofaktor für die Entstehung von kardiovaskuläre Komplikationen angesehen. Der Einfluss der Stoffwechseleinstellung und die Art der antidiabetischen Therapie auf den Hb-Spiegel ist bisher kaum untersucht. **Methodik:** Bei 742 Patienten mit Typ-2-Diabetes wurden neben biographischen Daten folgende Befunde erhoben: Hb, HbA1c, errechnete Kreatinin Clearance (CCL nach Cockcroft), Art der antidiabetischen und antihypertensiven Therapie, hsCRP und Erythropoietinspiegel. Entsprechend der antidiabetischen Therapie wurden die Patienten stratifiziert in Gruppen mit oralen Antidiabetika (OAD; n=398), Insulin (INS; n=127) und Kombination von beiden (Komb; n=217). **Ergebnisse:** Die Hb-Spiegel nahmen erwartungsgemäß mit nachlassender Nierenfunktion ab, dabei bestand jedoch kein Unterschied zwischen den Therapiegruppen (OAD/INS/Komb). Die Behandlung mit Biguaniden bei Patienten mit CCL ≥ 90 ml/min bzw. CCL 60 – 90 ml/min beeinflussten den

Hb-Wert nicht. Die Gabe von RAS-blockierenden Substanzen war in den einzelnen Therapiegruppen (OAD/INS/Komb) ähnlich verteilt. Zur Untersuchung des Stoffwechseleinflusses wurden die Patienten entsprechend dem medianen HbA1c in Patienten mit besserer (HbA1c < Median) und schlechterer Einstellung (HbA1c ≥ Median) stratifiziert. Bei Patienten mit besserer Diabeteseinstellung lagen die Hb-Werte bei CCL < 60 ml/min. signifikant höher als bei schlechterer Einstellung (13,7 versus 13,1 g/dl; p < 0,05). Bei normaler (CCL ≥ 90 ml/min) oder mäßig eingeschränkter Nierenfunktion (CCL 60 – 90 ml/min) bestand kein Unterschied. Bei Verwendung von Analoginsulin lagen die Hb-Spiegel tendenziell höher (Humaninsulin 14,1 g/dl vs. Human-Analoginsulin-Kombination 14,2 g/dl vs. Analoginsulin 14,4 g/dl). **Zusammenfassung:** Die Güte der Stoffwechseleinstellung beeinflusst die Hämoglobinspiegel bei eingeschränkter Nierenfunktion. Die Art der Diabetestherapie (orale Antidiabetika versus Insulin) hat keinen Effekt auf die Hämoglobinspiegel, die Verwendung von Analoginsulin zeigte bei eingeschränkter Nierenfunktion tendenziell höhere Hämoglobinwerte.

### Freie Vorträge: Versorgungsforschung und Epidemiologie

103

### Integrierte Versorgung Diabetes in Bayern zwischen dem Diabeteszentrum der Fachklinik Bad Heilbrunn und den Diabetes-Schwerpunktpraxen: 1-Jahres-Ergebnisse

Liebl A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fachklinik Bad Heilbrunn, Diabetes- und Stoffwechsellzentrum, Bad Heilbrunn, Deutschland

**Fragestellung:** In Bayern läuft nur eine einzige Integrierte Versorgung für Diabetes mellitus (IV Diabetes), die von AOK, Barmer Ersatzkasse, DAK, Techniker Krankenkasse und den meisten BKKs getragen wird. Die IV Diabetes ergänzt die DMPs sinnvoll bei diabetesbezogener stationärer Behandlungsbedürftigkeit, und ermöglicht es ausschließlich Schwerpunktpraxen, besonders schwieriger therapierbare oder komplikations-trächtige Patienten mit Typ-1 oder Typ-2 Diabetes problemlos in das Diabeteszentrum der Fachklinik Bad Heilbrunn zur stationären Therapie einzuweisen. In der Fachklinik wird eine aufwendige problemzentrierte Diabetestherapie nach festgelegten Standards und auf dem Boden verschiedener Behandlungsmodule durchgeführt. Es erfolgt eine weit überdurchschnittliche Zahl an individualisierten Therapieeinheiten mit hohem personellem Aufwand. Die Kommunikation zwischen Zuweiser und Klinik ist standardisiert und eng. Ambulante Weiterbehandlung durch die Schwerpunktpraxen. Fester Bestandteil der IV Diabetes ist eine Qualitätssicherung nach den Standards der DDG. Hier werden die ersten 1-Jahres-Ergebnisse vorgestellt. **Methodik:** 1 Jahr nach Entlassung aus der IV Diabetes werden die einweisenden Schwerpunktpraxen per Fragebogen nach den Therapieergebnissen und neu aufgetretenen Komplikationen befragt. Ggf. werden die Patienten auch direkt kontaktiert. Die statistische Auswertung der metabolischen Ergebnisse erfolgt mittels t-Test für abhängige Stichproben. **Ergebnisse:** In 2006 und 2007 wurden insgesamt 266 Patienten in der IV Diabetes behandelt. Für n=121 (58 männlich, 46 Typ-1 Diabetes, mittl. Alter 64,8 Jahre (min. 4, max. 86), mittl. stationäre Behandlung 16,8 Tage (min. 5, max. 32)) liegen 1-Jahres-Daten der Qualitätssicherung vor. Reihenfolge der häufigsten Indikationen: psychologisch-psychoziale Problematik, fortschreitende Folgekomplikationen, Insulinresistenz, übermäßige Gewichtszunahme, Brittle-Diabetes und Hypoglykämien, diabetischer Fuß. HbA1c 8,51% (SD 1,53) vs. 8,11% (SD 1,00): n.s. (bei stationärer Aufnahme vs. 1 Jahr nach Entlassung). Nur Pat. mit Aufnahme-HbA1c > 8%: HbA1c 9,33% (0,83) vs. 7,94% (1,37): p=0,0006. HDL-Cholesterin 45,09 mg/dl (13,1) vs. 51,2 mg/dl (10,8): p=0,041. LDL-Cholesterin 120,3 mg/dl (24,38) vs. 102,0 mg/dl (15,85): p=0,0161. RR systol. 145,6 mm Hg (20,1) vs. 135,9 mm Hg (17,5): p=0,039. RR diast. 92,15 mm Hg (11,38) vs. 87,85 mm Hg (8,71): n.s. BMI 32,2 kg/m<sup>2</sup> (6,25) vs. 31,4 kg/m<sup>2</sup> (5,83): n.s. Nur Pat. mit Aufnahme BMI > 30: 36,44 kg/m<sup>2</sup> (4,07) vs. 33,13 kg/m<sup>2</sup> (3,79): p=0,026, 2 schwere Hypoglykämien im Jahr nach Entlassung vs. 11 im Jahr vorher. Keine Amputationen, Apoplexe oder Herzinfarkte nach Entlassung (17 Herzinfarkte anamnestisch vor IV Diabetes bekannt). **Schlussfolgerungen:** IV Diabetes konnte durch ein sinnvolles Zusammenspiel von Diabetes-Schwerpunktpraxen und Fachklinik das Risikoprofil problematischer Patienten substanzial verbessern, sowie Hypoglykämien und mutmaßlich Spätkomplikationen verringern.

104

### Veränderung der Insulindosis aufgrund schwerwiegender Hypoglykämien (SHYP) – Ergebnisse aus einem regionalen Pharmakovigilanzzentrum (PVZ)

Günther IR<sup>1</sup>, Henzen B<sup>1</sup>, Hippus M<sup>1</sup>, Fünfstück R<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Friedrich Schiller Universität Jena, Klinische Pharmakologie, Jena, Deutschland, <sup>2</sup>Sophien- und Hufeland-Klinikum, Innere Medizin 1, Weimar, Deutschland

**Fragestellung:** Schwerwiegende Hypoglykämien (SHYP) gehören zu den häufigsten Ursachen für arzneimittelassoziierte Krankenhauseinweisungen. Es sollte untersucht werden, inwieweit das Ausmaß erfolgreicher Korrekturen der Insulintagesdosis während der Behandlung auf einer diabetologischen Station mit Parametern, die in der Datenbank des PVZ erfasst werden, korreliert, um daraus ggf. Ansatzpunkte für die Vermeidung von SHYPs zu identifizieren. **Methodik:** Die stationären Aufnahmen in das regionale PVZ zwischen Januar 2002 und Mai 2007 aufgrund von SHYPs unter Insulintherapie wurden analysiert. SHYPs wurden als die Krankenhausaufnahme (KHA) bedingende unerwünschte Arzneimittelwirkung nach standardisiertem Algorithmus des Netzwerkes nationaler regionaler PVZ erfasst und bewertet. Es wurde nach Korrelationen (Spearman-Rho, zweiseitiger Test) zwischen Insulindosisänderung (IDdiff = ID Hypoglykämiezeitpunkt-ID Entlassung) und relativer Insulintagesdosis (IDrel), HbA1C, Kreatininclearance (CLcr), Alter, Körpergewicht und BMI gesucht. (Gefördert durch BfArM, V-5329/68502/2005) **Ergebnisse:** Von 238 insulinbehandelten Patienten mit SHYP (135/103 weiblich/männlich; Alter 79 (31–98)\* bzw. 67 (23–88)\* Jahre,  $p < 0,001$ ) erhielten zum Zeitpunkt der KHA 34 zusätzlich eine Therapie mit oralen Antidiabetika (OAD). In nur 17% der Fälle lag eine normale CLcr nach Cockcroft-Gault ( $> 90$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), in 62% dagegen eine mäßige oder schwere Einschränkung der Nierenfunktion (CLcr zwischen 30 und 60 oder  $< 30$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) vor. Die Insulin-Tagesdosis war zum Zeitpunkt der Entlassung im Vergleich zur Aufnahme im Median 10 IE niedriger bei alleiniger Insulingabe zum Zeitpunkt der SHYP. Bei Therapie mit Insulin und OAD wurde Insulin im Median um 15 IE/Tag reduziert und die OAD-Behandlung in dreiviertel der Fälle abgesetzt. In der Gesamtstichprobe gab es Korrelationen zwischen IDdiff und IDrel ( $k = 0,454$ ;  $p < 0,001$ ) sowie HbA1c ( $k = -0,300$ ;  $p < 0,001$ ), Alter ( $k = 0,230$ ;  $p < 0,001$ ) und CLcr ( $k = -0,152$ ;  $p = 0,033$ ). Bei Differenzierung nach Diabetes Typ 1 und 2 gab es signifikante Korrelationen lediglich bei Typ 2-Diabetikern zwischen IDdiff und IDrel sowie HbA1c, wobei vor allem bei den Patienten mit alleiniger Insulintherapie und Complianceproblemen die Insulindosis umso mehr vermindert wurde, je niedriger der HbA1c-Wert (6,95%; 3,7%–11,3%)\* war. (\*Median und Range;  $k$  = Korrelationskoeffizient) **Schlussfolgerungen:** Bei den Typ 2-Diabetikern korrelierte das Ausmaß der Dosisreduktion infolge der KHA aufgrund einer SHYP positiv mit der relativen Insulintagesdosis. Außerdem zeigte sich eine mäßige negative Korrelation mit dem HbA1c-Wert, vor allem bei Patienten mit mangelnder Compliance. Dies legt nahe, in der ambulanten Betreuung insbesondere den Patienten mit guter glykämischer Kontrolle unter relativ hoher körpereigenschaftsbezogener Insulindosierung erhöhtes Augenmerk hinsichtlich Compliance und Hypoglykämiegefährdung zu schenken.

105

### Wie groß ist die Streubreite der Nierenschwelle für Glucose bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 – Ergebnisse einer Querschnittsuntersuchung in einer poliklinischen Ambulanz

Weimer D<sup>1</sup>, Kloos C<sup>2</sup>, Wolf G<sup>2</sup>, Müller UA<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Diabetologische Schwerpunktpraxis Dr. med. C. Lindloh, Jena, Deutschland, <sup>2</sup>Klinik für Innere Medizin III der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Jena, Deutschland

**Ziel:** Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 ohne Insulintherapie ist die Messung der postprandialen UrinGlucose durch den Patienten, zusammen mit der Teilnahme an einem strukturierten Schulungs- und Behandlungsprogramm, das wichtigste Element zur Abstimmung von Ernährung, Bewegung, endogener Insulinsekretion bzw. Insulinresistenz. Diese Form der Selbstkontrolle unterliegt jedoch häufiger Kritik, da Untersuchungen eine große interindividuelle Variabilität für die Nierenschwelle von Glucose (gRT) dokumentierten. Zudem liegen keine verlässlichen Daten vor, ob die Diabetesdauer oder höheres Alter zu einer deutlich veränderten Nierenschwelle führen. Die vorliegende Untersuchung soll prüfen, ab welcher Blutglucosekonzentration Glucose über den Urin ausgeschieden wird und einen Hinweis liefern, wie häufig möglicherweise eine Indikation zur Blutglucoseselbstkontrolle besteht.

**Methodik:** Bei 22 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 wurde in einer nicht selektierten Querschnittsanalyse mithilfe einer Testmahlzeit und Parallelmessung von Blut- und UrinGlucose die Nierenschwelle (im Folgenden „gRT“ genannt) für Glucose untersucht. Bei 19 Patienten konnten ausreichend hohe Blutglucosewerte erreicht werden, so dass Glucose im Urin messbar wurde. Die untersuchten Männer und Frauen hatten im Mittel ein Alter von 63 Jahren, eine Diabetesdauer von 17 Jahren und einen BMI von 31 kg/m<sup>2</sup>. Das HbA1c lag bei 7,4%. Zwei Drittel der Patienten führten eine Insulintherapie durch. **Ergebnis:** Die mittlere aufsteigende gRT lag bei einer Blutglucosekonzentration von  $11,1 \pm 1,88$  mmol/l (Spanne 8,4–13,6). Dabei war die gRT bei 22% unterhalb von 9,0 mmol/l, bei 33% zwischen 9,0 und 11,9 mmol/l und bei 44% größer gleich 12 mmol/l zu finden. Die absteigende gRT wurde bei einer mittleren Blutglucosekonzentration von  $10,8 \pm 1,87$  mmol/l (Spanne 8,3–14,3) erfasst. Dabei war diese gRT bei 22% der Patienten unterhalb von 9,0 mmol/l, bei 56% zwischen 9,0 und 11,9 mmol/l und bei 22% größer gleich 12 mmol/l. Die absteigende gRT war positiv mit der Diabetesdauer ( $r = 0,491$ ;  $p = 0,038$ ), dem BMI ( $r = 0,641$ ;  $p = 0,004$ ) und der mittleren Blutglucosekonzentration ( $r = 0,745$ ;  $p < 0,001$ ) assoziiert. **Schlussfolgerung:** Die vorliegende Untersuchung liefert einen Hinweis darauf, dass die gRT eine große individuelle Variationsbreite hat und bei 50% der Patienten ober- oder unterhalb des bisher angenommenen Blutglucosebereiches liegen könnte. Therapeutisch relevant ist hierbei v.a. eine erhöhte gRT, da dadurch unbemerkt hohe Blutzuckerwerte vorhanden sind. Ein regelmäßiger Abgleich mit dem HbA1c ist deshalb unerlässlich. Die Bestimmung der gRT sollte erfolgen, wenn HbA1c und gRT unplausibel sind und könnte insbesondere für Patienten, die eine längere Diabetesdauer und/oder Übergewicht haben sinnvoll sein, um eine Unterschätzung des Blutglucosespiegels zu vermeiden.

106

### 13 Jahre externes Benchmarking für pädiatrische Diabeteszentren in Deutschland und Österreich: Longitudinale Analyse über insgesamt 36518 Patienten in pädiatrisch-diabetologischer Betreuung

Warncke K<sup>1</sup>, Knerr I<sup>2</sup>, Mix M<sup>3</sup>, Thon A<sup>4</sup>, Schober E<sup>5</sup>, Beyer P<sup>6</sup>, Hungele A<sup>7</sup>, Grabert M<sup>7</sup>, Rabl W<sup>1</sup>, Holl RW<sup>7</sup>  
<sup>1</sup>Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, München, Deutschland, <sup>2</sup>Universitätsklinikum Erlangen, Kinder- und Jugendklinik, Erlangen, Deutschland, <sup>3</sup>Universitätsklinik Rostock, Kinderklinik, Rostock, Deutschland, <sup>4</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland, <sup>5</sup>Medizinische Universitätsklinik Wien, Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, Wien, Österreich, <sup>6</sup>Evangelisches Krankenhaus Oberhausen, Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Duisburg/Essen, Klinik für Kinder und Jugendliche, Oberhausen, Deutschland, <sup>7</sup>Universität Ulm, Institut für Epidemiologie, Ulm, Deutschland

**Fragestellung:** Eine standardisierte Dokumentation über längere Zeiträume ist die Basis, um Veränderungen der Prozess- und Ergebnisqualität chronischer Krankheiten zu objektivieren. Die vorliegende Auswertung zeigt Änderungen der pädiatrisch-diabetologischen Versorgung in Deutschland und Österreich über die letzten 13 Jahre. **Methodik:** Seit 1995 basiert die DPV-Wiss-Initiative auf der kontinuierlich weiterentwickelten Dokumentationssoftware zur prospektiven Verlaufsdokumentation DPV (<http://dpv.mathematik.uni-ulm.de>). Zweimal jährlich werden anonymisierte Daten aus den Behandlungszentren exportiert und zentral ausgewertet (SAS-Software). Inkonsistente Daten werden an die Behandlungszentren zur Überprüfung und Korrektur zurückgeschickt. Für die hier vorgestellte Analyse pädiatrischer Behandlungsqualität wurden Daten von insgesamt 36 518 Patienten aus 190 pädiatrischen Therapieeinrichtungen (183 Zentren mit wohnortnaher Langzeitbetreuung, 7 Reha-Kliniken) mit Typ-1-Diabetes ausgewertet (DM-Manifestation vor dem 18. Lebensjahr, aktuelles Alter entsprechend den DMP-Vorgaben maximal 21 Jahre). **Ergebnisse:** Im Beobachtungszeitraum nahm die Intensität der Insulintherapie deutlich zu: Während 1995 28% der Patienten 4 mal täglich oder öfter Insulin injizierten und weniger als 1% eine Insulinpumpe verwendeten, stiegen diese Prozentzahlen auf 59% bzw. 21% in der ersten Jahreshälfte 2007 an ( $p < 0,0001$ ). Der Anteil schnellwirkender Analoga stieg von 0,7 auf 48%, der Anteil langwirkender Analoga von 0 auf 42% an. Die Frequenz der täglichen Blutzuckermessungen stieg im Mittel von 3,7 Messungen im Jahr 1995 auf 5,6 Messungen pro Tag im Jahr 2007 ( $p < 0,0001$ ). Der mittlere HbA1c-Wert sank von  $7,8 \pm 1,7\%$  im Jahr 1995 auf  $7,5 \pm 1,5\%$  in der ersten Jahreshälfte

2007 ( $p < 0.0001$ ). Die Rate schwerer Hypoglykämien (Definition: Bewusstlosigkeit/Krampfanfall) sank von 21.8 auf 11.6 Ereignisse pro 100 Patientenjahre ( $p < 0.0001$ ). Das Auftreten der diabetischen Ketoazidose unter Therapie war dagegen konstant bei 4–5 Ereignissen pro 100 Patientenjahre. **Schlussfolgerung:** Langfristige Projekte zur Qualitätssicherung und versorgungsepidemiologischen Forschung sind auch in Deutschland/Österreich möglich. In der pädiatrischen Diabetologie zeigen sich Veränderungen der Behandlungsprozesse (Intensivierung von Insulintherapie und Stoffwechselfbstkontrolle), sowie eine erfreuliche Verbesserung der durchschnittlich erzielten Stoffwechseleinstellung anhand des DCCT-standardisierten HbA1c-Wertes und der Hypoglykämierate. Seit dem Jahr 2000 wird die DPV-Software auch zur Dokumentation der internistisch-diabetologischen Versorgungsqualität eingesetzt.

107

### Langzeitprognose für die Häufigkeit der Diabeteserkrankung in Deutschland

Heinke P<sup>1</sup>, Augstein P<sup>1</sup>, Salzsieder E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Diabetes Karlsburg, Karlsburg, Deutschland

**Fragestellung:** Mittels eines neuartigen Prognosemodellansatzes sollte untersucht werden, ob sich die Entwicklung der Diabeteshäufigkeit in Deutschland besser als bisher beschreiben lässt und ob daraus gesicherte Vorhersagen für künftige Entwicklungen abgeleitet werden können. **Methodik:** Die derzeitigen Angaben zur Diabeteshäufigkeit in Deutschland variieren zwischen 4 und 8 Millionen und sind damit kaum in der Lage, eine ausreichend zuverlässige Darstellung der tatsächlichen epidemiologischen Ist-Situation zu liefern und daraus mit ausreichender Sicherheit Schlussfolgerungen z. B. für die Planung präventiver Maßnahmen abzuleiten. Im Institut für Diabetes Karlsburg wurde von uns daher auf der Grundlage des bevölkerungsbezogenen Diabetesregisters der ehemaligen DDR ein Modell zur prognostischen Schätzung der Diabeteshäufigkeit in Deutschland entwickelt und validiert. Es besteht aus drei Kompartimenten: Nichtdiabetiker, insulin- und nichtinsulinbehandelte Diabetiker. Für alle drei Gruppen sind als Verweildauer ihre Überlebenskurven in das Prognosemodell integriert worden, wobei die Diabetiker im Vergleich zu den Nichtdiabetikern mit einer verminderten Lebenserwartung eingehen. Die Anpassung des Modells erfolgt anhand von Stichprobenanalysen sowie jeweils den jährlich neuesten Zahlen zu Bevölkerungsstruktur, Neugeborenenzahlen und Lebenserwartungen der statistischen Bundesämter. **Ergebnisse:** Mit diesem Modellansatz wurden, ausgehend vom Jahr 1989 folgende Diabetikerzahlen für Deutschland prognostiziert: 1989: 3,580 Millionen, 2005: 5,634 Millionen, und 2020: 7,010 Millionen Diabetiker. Das entspricht einer Erhöhung der Prävalenz von 4,19% im Jahr 1989 auf 7,31% im Jahr 2020. Der weibliche Bestand an Diabetikern steigt im Vergleich zum Jahr 2005 um 17,6%, der männliche um 33,4%. Dieses ist vor allem bedingt durch die Veränderung der Bevölkerungsstruktur. Berücksichtigt wurde im Modellansatz auch der Einfluss der Verlängerung der Lebenserwartung der Diabetiker infolge einer verbesserten Behandlung. **Schlussfolgerung:** Das erarbeitete und getestete Prognosemodell erlaubt erstmalig in Deutschland eine valide Vorhersage epidemiologischer Daten sowie quantitative Aussagen zu qualitätsverbessernden Einflussfaktoren auf die Entwicklung der Diabeteshäufigkeit.

108

### Auswirkungen einer DMP-Registrierung auf den 12-Monats-Krankheitsverlauf bei Patienten mit Typ-2-Diabetes: Ergebnisse der DETECT Studie

Pieper L<sup>1</sup>, Huppertz E<sup>1</sup>, Klotsche J<sup>1</sup>, Eichler T<sup>1</sup>, Pittrow D<sup>2</sup>, Stridde E<sup>1</sup>, Wittchen HU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Technische Universität Dresden, Institut für Klinische Psychologie und Psychotherapie, Dresden, Deutschland, <sup>2</sup>Technische Universität Dresden, Institut für Klinische Pharmakologie, Dresden, Deutschland

**Hintergrund:** Disease Management Programme (DMP) sollen die Versorgung chronisch kranker Patienten verbessern und die an der Versorgung beteiligten Einrichtungen stärker miteinander vernetzen. Für den Typ-2-Diabetes (T2D) wurden 2003 bundesweit DMPs eingeführt. **Fragestellung:** Wie hoch ist der Anteil DMP-registrierter T2D-Patienten im Jahr 2003 in der primärärztlichen Versorgung? Unterscheiden sich registrierte und nicht registrierte Diabetespatienten hinsichtlich Alter, Erkrankungsdauer, Stoffwechseleinstellung, Folgeerkrankungen oder anti-diabetischer Therapie voneinander? Wie wirkt sich eine DMP-Registrierung auf die Stoffwechseleinstellung, die Therapie und die Prävalenz von Folgeerkrankungen nach 12 Monaten aus? **Methode:** Zur Beantwortung der Fragestellung wurden Daten von 860 Typ-2-Diabetes Patienten aus

dem Längsschnitt-Teil der DETECT Studie ([www.detect-studie.de](http://www.detect-studie.de)) herangezogen. Diese Patienten wurden 2003 standardisiert (Arzt- und Patientenfragebogen, Laboruntersuchung) dokumentiert und nach 12-Monaten nachuntersucht. Der Arztfragebogen enthielt jeweils Diagnosen, Angaben zur DMP-Registrierung und zur Therapie. Standardisierte Laboruntersuchungen lieferten Daten zur Stoffwechseleinstellung. Häufigkeits-Unterschiede wurden über Odds Ratios (ORs) mit 95% Konfidenzintervallen (KI(95%)) mittels logistischer Regression berechnet, adjustiert wurde nach Alter und Geschlecht. **Ergebnisse:** 2003 (Baseline-Untersuchung) waren 37,4% der T2D-Patienten in einem DMP registriert. Zu diesem Zeitpunkt unterschieden sich diese Patienten nur im Hinblick auf mikrovaskuläre Erkrankungen von den nicht registrierten Patienten. Sie hatten häufiger eine Neuropathie (OR:1.8; KI(95%): 1.3–2.6) sowie seltener eine Nephropathie (OR: 0.5; 95% KI: 0.3–1.0). Alter, Erkrankungsdauer, Stoffwechseleinstellung, makrovaskuläre Komplikationen oder anti-diabetischer Therapie zeigten keine signifikanten Unterschiede. Beim 12-Monats Follow-up fanden sich in der Dokumentation der 2003 DMP-registrierten T2D-Patienten häufiger kardiovaskuläre Erkrankungen (OR:2.6 KI(95%):1.5–4.4). Die Patienten wurden häufiger mit Insulin (OR:2.0; KI(95%): 1.1–3.6), einer Kombinationstherapie aus Insulin und oralen Antidiabetika (OR: 2.3; KI(95%): 1.2–4.3) sowie mittels Diät und Bewegungsmaßnahmen (OR: 2.0; KI(95%): 1.0–3.8) behandelt. **Schlussfolgerungen:** In den ersten 12 Monaten der DETECT-Längsschnitt-Studie zeigte sich bei den T2D-Patienten mit DMP-Registrierung eine Intensivierung der anti-diabetischen Behandlung. Auffällig ist, dass nach 12 Monaten vermehrt makrovaskuläre Erkrankungen dokumentiert werden. Eine Verbesserung der Stoffwechseleinstellung zeigte die Patientenkohorte in den ersten 12 Monaten nicht. Weiterführende Erkenntnisse werden von den Daten der kürzlich abgeschlossenen 4-jährigen Nachuntersuchung der Studien-Kohorte erwartet. \*Förderung: unrestricted educational grant der Pfizer GmbH, Karlsruhe

109

### Bessere Diabetes- und Hochdrucktherapie in der Primärversorgung: Entwicklung der Behandlungsqualität im Diabetes-TÜV der Deutschen BKK von 1997 bis 2006

Müller UA<sup>1</sup>, Müller N<sup>1</sup>, Kloos C<sup>1</sup>, Berner R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin III, FB Endokrinologie und Stoffwechselerkrankungen, Jena, Deutschland, <sup>2</sup>Deutsche BKK, Stuttgart, Deutschland

**Fragestellung:** Mit guten HbA1c- und Blutdruckwerten kann das Auftreten diabetischer Folgeerkrankungen verhindert oder verzögert werden. Der Diabetes-TÜV dient der Früherkennung diabetischer Folgeerkrankungen und wurde 1997–2000 in einem Modellprojekt für die Stadt Wolfsburg in Kooperation mit dem Zentralinstitut für die Kassärztlichen Versorgung (ZI), der Klinik für Stoffwechselerkrankungen und Ernährung der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf und der Kassärztlichen Vereinigung (KV) Niedersachsen erprobt und ab 2002 bundesweit fortgeführt. Die Deutsche BKK ist im Januar 2003 mit bundesweit ca. 1.1 Mio. Versicherten als größte deutsche Betriebskrankenkasse aus der Volkswagen BKK und der BKK DIE POST entstanden. Die Daten zur Behandlungsqualität auf Primärversorgungsebene über eine Dekade werden dargestellt. **Methodik:** Zur Früherkennung diabetischer Folgeerkrankungen bei Versicherten der Deutschen BKK werden einmal jährlich Daten zur Diabetestherapie, zur Behandlungsqualität (HbA1c, Blutdruck, Albuminurie, Kreatinin) und ein detaillierter Fußbefund erhoben. Aus 140 bis 351 Arztpraxen liegen 15111 Erfassungsbögen aus dem Zeitraum 1997–2000 und 2002 bis 2006 vor. Für 2001 liegen fast keine Daten vor, da der Modellversuch beendet war und das Nachfolgeprojekt noch nicht begonnen hatte. **Ergebnisse:** Der mittlere Blutdruck der Dekade betrug 142,5/80,8 mm Hg und der mittlere HbA1c 7.13%. In den 10 Jahren sanken systolischer (-10.5 mmHg) und diastolischer Blutdruck (-4 mmHg), sowie der HbA1c-Wert (-0.6%) signifikant ab. Der Abfall von Blutdruck und HbA1c ist kontinuierlich über den gesamten Beobachtungszeitraum nachweisbar (Bonferroni). Die Ergebnisse im Einzelnen (Jahr; Patienten; RR syst./diast.; HbA1c):

- 1997: n = 668; 149,0/82,9; 7,62;
- 1998: n = 1370; 147,2/82,8; 7,69;
- 1999: n = 1335; 146,0/82,3; 7,54;
- 2000: n = 1067; 144,4/81,8; 7,34;
- 2002: n = 1675; 141,9/81,0; 7,05;
- 2003: n = 2698; 142,6/81,0; 6,90;
- 2004: n = 1723; 141,0/80,3; 6,86;
- 2005: n = 2311; 140,1/79,7; 6,94;
- 2006: n = 2249; 138,5/78,8; 7,07;

**Schlussfolgerungen:** Die Behandlungsqualität von Patienten mit Diabetes mellitus hat sich im Zeitraum 1997 bis 2006 deutlich verbessert. Die Verbesserungen von Blutdruck und HbA1c sind fast mit den Ergebnissen der UKPDS (RR systolisch -10; RR diastolisch -5 mmHg; HbA1c -0,9%) vergleichbar. Die Dokumentationshäufigkeit einmal pro Jahr hat sich als ausreichend für das Monitoring der Behandlungsqualität erwiesen.

110

### Telemedizinisch-gestütztes Diabetikerbetreuungsnetzwerk im Rahmen eines Vertrages zur integrierten Versorgung

Salzsieder E<sup>1</sup>, Augstein P<sup>1</sup>, Vogt L<sup>2</sup>, Kohnert KD<sup>1</sup>, Heuzeroth V<sup>3</sup>, Boddenberg P<sup>4</sup>, Lewin E<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institut für Diabetes Karlsburg, Karlsburg, Deutschland,

<sup>2</sup>Diabetes Service Center, Karlsburg, Deutschland, <sup>3</sup>BKK

Taunus, Frankfurt, Deutschland, <sup>4</sup>PHTS Telemedizin, Düsseldorf, Deutschland

**Fragestellung:** Mit den hier vorgestellten Untersuchungen sollte auf die Fragestellung, ob das Konzept eines telemedizinisch-gestützten Diabetikerbetreuungsnetzwerks (IDN-Konzept) geeignet ist, kurzfristig die Stoffwechselführung von Patienten mit Typ-2-Diabetes zu verbessern, eine Antwort gefunden werden. **Methodik:** Abweichend von den Regelungen des Sozialgesetzbuches, ist mit dem 2004 in Kraft getretenen GKV-Modernisierungsgesetz erstmalig die Möglichkeit geschaffen worden, im Rahmen von Verträgen zur integrierten Versorgung medizinisch orientierte Dienstleistungen patientenbezogen und über Sektoren hinweg entsprechend den Gesundheitsbedürfnissen anzubieten. Aufgrund seiner heterogenen Versorgungsstruktur und seiner ökonomischen Dimension ist das gerade für den Bereich Diabetes von herausragender Bedeutung. Vor diesem Hintergrund hat die Taunus BKK im Frühjahr 2006 mit dem telemedizinischen Dienstleistungsanbieter PHTS Düsseldorf und dem Institut für Diabetes Karlsburg einen Vertrag (IV-Vertrag) zur integrativen Diabetikerbetreuung (DIABETIVA®) abgeschlossen und über eine einjährige Pilotphase mit loco-regionalem Ansatz bundesweit in die Versorgungspraxis eingeführt. Im Kern handelt es dabei um die Zusammenführung von Home Care (Betreuung durch den Patienten selbst), Outpatient Care (Allgemeinpraktiker, diabetologische Schwerpunktpraxen), Gesundheitsdienstleistungserbringer (Diabetes Service Center) und Kostenträger (GKV) zu einem Versorgungsnetzwerk mit Telemedizin als Informations- und Serviceplattform sowie dem Karlsburger Diabetes-Management System KADIS® als Evidenz-basiertes Entscheidungsunterstützungssystem. **Ergebnisse:** Nach erfolgreichem Verlauf der Pilotphase des IV-Vertrages in den Bundesländern Thüringen und Hessen, erfolgte 2007 dessen bundesweite Einführung. In das Diabetikerbetreuungsnetzwerk sind derzeit 384 Patienten eingeschrieben, die von 162 Arztpraxen, darunter 30 diabetologischen Schwerpunktpraxen betreut werden. Die ersten Ergebnisse weisen für die im IV-Netzwerk eingeschriebenen Patienten eine deutliche Verbesserung der Diabetikerbetreuung aus. Der mittlere HbA1c-Wert wurde in Rahmen des IV-Vertrages von anfänglich 7,1% auf 6,9% nach den ersten 3 Monaten und auf 6,7% nach 6 Monaten abgesenkt. **Schlussfolgerungen:** Das Konzept eines integrativen Diabetikerbetreuungsnetzwerks mit telemedizinischer Informations- und Kommunikationsplattform sowie Evidenz-basierter Entscheidungsunterstützung hat das außerordentliche Potenzial die Diabetikerbetreuung im Rahmen von Verträgen zur integrierten Versorgung nachhaltig zu verbessern.

111

### Epidemiologie des Typ-1-Diabetes im Kindes- und Jugendalter in Deutschland – aktuelle Daten aus dem Baden-Württemberger Diabetes-Inzidenzregister

Ehehalt S<sup>1</sup>, Willasch A<sup>2</sup>, Hub R<sup>1</sup>, Ranke MB<sup>1</sup>, Neu A<sup>1</sup>, für die DIARY-Group Baden-Württemberg

<sup>1</sup>Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Sektion Pädiatrische Endokrinologie, Tübingen, Deutschland,

<sup>2</sup>Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Hämatologie Onkologie, Frankfurt, Deutschland

**Fragestellung:** Aus nahezu allen Teilen der Welt wird berichtet, dass Kinder und Jugendliche zunehmend häufiger am Typ-1-Diabetes erkranken. Anhand der vorliegenden Analyse sollen aktuelle Zahlen zur Häufigkeit der kindlichen Zuckerkrankheit in Baden-Württemberg (BW) vorgelegt werden. **Material und Methoden:** Das Baden-Württemberger Diabetes-Inzidenzregister erfasst seit 20 Jahren fortlaufend alle Kinder und Jugendlichen im Alter von 0 bis 14 Jahren mit Manifestation eines

Typ-1-Diabetes. In die Erhebung eingeschlossen sind alle Kinder- und Jugendkassen des Landes (n = 31) sowie eine Diabetes-Fachklinik. Die durch die Capture-Mark-Recapture-Methode ermittelte Erfassungsgenauigkeit (Kombination aus Primär- und Sekundärdatenquelle) beträgt 98,1%. Insgesamt sind 5.108 Diabetesmanifestationen in diesem Register erfasst. **Ergebnisse:**

1. Die Gesamtinzidenzrate (1987 – 2006) beträgt 15,3/100.000/Jahr (95%-CI 14,9 – 15,7). Der durchschnittliche jährliche Anstieg der Neuerkrankungsrate beträgt in diesem Zeitraum 4,4% (95%-CI 3,9 – 4,9).
2. Jungen und Mädchen erkranken gleich häufig (Jungen 15,5/100.000/Jahr, 95%-CI 14,9 – 16,1 vs. Mädchen 15,1/100.000/Jahr, 95%-CI 14,5 – 15,7, p = 0,7).
3. 10- bis 14-Jährige erkranken am häufigsten, gefolgt von den 5- bis 9- und den 0- bis 4-Jährigen (0- bis 4-Jährige 10,7/100.000/Jahr 95%-CI 10,1 – 11,3 vs. 5- bis 9-Jährige 16,5/100.000/Jahr, 95%-CI 15,7 – 17,2 vs. 10- bis 14-Jährige 18,7/100.000/Jahr, 95%-CI 17,9 – 19,5, p < 0,0001).
4. Der durchschnittliche jährliche Anstieg der Neuerkrankungsrate ist bei den 0- bis 4-Jährigen am größten, gefolgt von den 5- bis 9- und den 10- bis 14-Jährigen (0- bis 4-Jährige 7,2%, 95%-CI 5,9 – 8,6 vs. 5- bis 9-Jährige 4,3%, 95%-CI 3,8 – 4,7 vs. 10- bis 14-Jährige 2,9%, 95%-CI 2,7 – 3,1).

**Schlussfolgerung:** Kinder und Jugendliche erkranken in Deutschland zunehmend häufiger am Typ-1-Diabetes. Besonders die jüngeren Altersgruppen sind hiervon betroffen (Linksverschiebung).

### Freie Vorträge: Insulinwirkung und -resistenz

112

### Eine Aktivierungskassette aus vier benachbarten ZBP89/SP1 Bindungsstellen steuert die Aktivität des IRS-2 Promotors in neuronalen Geweben

Udelhoven M<sup>1</sup>, Leeser U<sup>1</sup>, Pasiaka M<sup>1</sup>, Hettich MM<sup>1</sup>, Freude S<sup>1</sup>, Laudes M<sup>1</sup>, Krone W<sup>1</sup>, Schubert M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinikum der Universität zu Köln, Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin und Zentrum für Molekulare Medizin Köln (ZMMK), Köln, Deutschland

**Hintergrund:** Insulinrezeptorsubstrat(IRS)-2 wird ubiquitär im Gehirn exprimiert und spielt eine wichtige Rolle in der Regulation der Energiehomöostase und Fertilität im Hypothalamus. Überraschenderweise haben bereits geringe Veränderungen der neuronalen IRS-2 Expression drastische Effekte auf die Lebensdauer *in vivo*. Die Transkriptionsregulation von IRS-1/-2 und IRS-4 in neuronalen Zellen ist noch nahezu unbekannt. Daher haben wir im folgenden Projekt die transkriptionelle Regulation von IRS-2 sowie IRS-1/-4 in neuronalen Zellen untersucht. **Methodik:** Zur Analyse der IRS-2 Promotorsteuerung wurde eine Hypothalamus- (GT1 – 7) sowie eine Neuroblastoma-Zelllinie (SHSY5Y) als neuronales Modell verwendet. Die Promotoren von IRS-1/-2 und IRS-4 wurden kloniert und in dualen Luziferase Reporterassays eingesetzt. Dabei wurden für IRS-2 mittels distal verkürzter Reporterkonstrukte neue Transkriptionsfaktorbindungsstellen identifiziert. Deren Bindungseigenschaften wurden über EMSA und Mutationsanalysen sowie siRNA weiter untersucht. Zudem konnte die Spezifität der identifizierten Region im Vergleich zu nicht neuronalen Geweben gezeigt werden. **Ergebnisse:** Wir konnten zeigen, dass der IRS-2 Promotor im Vergleich mit den Promotoren von IRS-1 und IRS-4 in unseren neuronalen Modellsystemen am stärksten aktiviert wird. -779 – 688bp vom IRS-2 Translationsstart entfernt identifizierten wir eine Aktivierungskassette, die aus vier benachbarten Bindungsstellen für die Transkriptionsfaktoren ZBP89 und SP1 besteht. Diese sind für ca. 75% der Aktivität des IRS-2 Promotors in neuronalen Geweben verantwortlich. Nach Mutation in verschiedenen Kombinationen konnte einer Bindungsstelle eine zentralere Bedeutung zugewiesen werden. Zudem konnten wir über EMSA zeigen, dass diese und die proximale Bindungsstelle die Faktoren ZBP89 und SP1 (oft als Repressor/Aktivator-Paar beschrieben) in entgegengesetzter Affinität binden. Die Aktivität des IRS-2 Promotors konnte durch Inhibition der PI-3 Kinase um das 2,3-fache gesteigert werden. Die vierte Bindungsstelle zeigt eine verminderte ZBP Bindung mit fallender PI-3 Kinase Aktivität. **Zusammenfassung:** Wir konnten eine Aktivierungskassette im distalen humanen IRS-2 Promotor (-779 – 688bp) identifizieren, die die Aktivität des Promotors in neuronalen Zellen steuert. Deren Funktionalität beruht auf dem Zusammenspiel von ZBP89 und SP1 an vier benachbarten Bindungsstellen. Zudem konnten wir eine negative Rückkopplung dieses Systems zum IR-Signalweg über die PI-3 Kinase zeigen.

113

**A dual role of the N-terminal FQQI motif in GLUT4 trafficking**Bernhardt U<sup>1</sup>, Joost HG<sup>1</sup>, Al-Hasani H<sup>1</sup><sup>1</sup>Deutsches Institut für Ernährungsforschung (Potsdam-Rehbrücke), Pharmakologie, Nuthetal, Deutschland

**Background and aims:** Insulin stimulation of muscle and adipose cells results in a rapid and reversible translocation of GLUT4 from storage vesicles to the plasma membrane. A N-terminal phenylalanine-containing amino acid motif (F5QQI) is required for the endocytosis and subsequent sorting of GLUT4 into the vesicles. The F5A-mutant of GLUT4 accumulates at the cell-surface in an insulin-independent manner. In previous experiments, we identified the FQQI-motif as binding partner for the heterotetrameric adapter protein complexes AP-1 and AP-2. Our data suggested that the F5-motif is involved in endocytosis of the transporter via an AP-2-mediated-pathway. Analysis of the F5A-GLUT4 recycling kinetics indicated a role of the phenylalanine motif and AP-1 in a post-endosomal sorting step. In order to prove an involvement of AP-1 in GLUT4 recycling, we analyzed GLUT4 targeting in adipose cells lacking either AP-1 or AP-2 respectively. **Material and methods:** We used N-terminal GST-GLUT4 fusion proteins (F5, F5A, F5Y) in GST-pulldown assays to map the GLUT4/ $\mu$ 1-interaction with in vitro translated  $\mu$ 1-adaptin. We established a lentivirus-expression system to introduce an epitope-tagged HA-GLUT4-GFP reporter into 3T3-L1 adipocytes. To identify the precise role of the APs in GLUT4 recycling, we generated AP-1 and AP-2 knockdown cells by RNA interference (RNAi). The subcellular localization of HA-GLUT4-GFP and endogenous GLUT4 was analyzed by confocal microscopy and biochemical methods. **Results:** We could confirm the interaction of the N-terminal phenylalanine motif of GLUT4 and  $\mu$ 1-adaptin on the protein level. Efficiency of the lentiviral transfection of 3T3-L1 cells with the GLUT4 construct was 80%. The HA-tagged GLUT4-GFP is translocated to the plasma membrane after insulin stimulation. Furthermore, we were successful in designing siRNA oligonucleotides for specific knockdown of mouse AP-1 and AP-2 complexes, respectively. The analysis of the HA-GLUT4-GFP reporter in AP-1 knockdown adipocytes revealed that AP-1 depletion leads to a substantial, insulin-independent accumulation of the HA-GLUT4-GFP reporter at the cell surface. This effect was reproducible for endogenous GLUT4 in AP-1 depleted cells. In addition, we measured an increased basal glucose uptake in AP-1 knockdown 3T3-L1 adipocytes, indicating that endogenous GLUT4 also accumulates at the cell surface in response to AP-1 depletion. **Conclusion:** Our data clearly indicate a role of AP-1 and AP-2 in GLUT4 sorting, and a dual role of the F5QQI motif in GLUT4 trafficking and endocytosis.

114

**Veränderungen im Glucosemetabolismus nach leberspezifischer Deletion der GTPase ARFRP1 in der Maus**Hesse D<sup>1</sup>, Hommel A<sup>1</sup>, Zahn C<sup>1</sup>, Augustin R<sup>1</sup>, Henkel J<sup>2</sup>, Püschel GP<sup>2</sup>, Joost HG<sup>1</sup>, Schürmann A<sup>1</sup><sup>1</sup>Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Pharmakologie, Nuthetal, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Potsdam, Institut für Ernährungswissenschaft, Biochemie der Ernährung, Nuthetal, Deutschland

**Fragestellung:** Das ADP-ribosylation factor related protein1 (ARFRP1) ist ein Mitglied der Ras-verwandten membranassoziierten monomeren GTPasen, die als molekulare Schalter im intrazellulären Vesikeltransport, in der Organisation des Golgi-Apparates und im Lipidmetabolismus fungieren. ARFRP1 spielt eine wichtige Rolle in der Funktion des trans-Golgi-Netzwerkes, indem es Proteine wie ARL1 und Golgin-245 an den Golgi rekrutiert. ARFRP1 ist ubiquitär exprimiert, hohe Expressionslevel wurden in der Leber, im Fettgewebe, in der Niere und im Darm nachgewiesen. Um die Funktion von *Arfrp1* in der Leber aufzuklären, wurde *Arfrp1* in diesem Organ spezifisch ausgeschaltet. **Methodik:** Die leberspezifische Deletion von *Arfrp1* erfolgte mittels des Cre/loxP-Rekombinationssystems. *Arfrp1*<sup>lox/lox</sup>-Mäuse wurden mit Mäusen verpaart, die die Cre-Rekombinase unter der Kontrolle des Hepatozyten-spezifischen Albuminpromotors (Alb-Cre) exprimieren. Körpergewicht, Lebergewicht, Blutglucosespiegel und die Expression von metabolisch relevanten Transkripten wurden analysiert. **Ergebnisse:** Die leberspezifischen *Arfrp1*-Nullmutanten (*Arfrp1*<sup>liv/-</sup>) zeigten eine frühe Wachstumsretardierung (Woche 5: *Arfrp1*<sup>lox/lox</sup> 22,1 ± 2,5 g; *Arfrp1*<sup>liv/-</sup> 16,0 ± 2,1 g) begleitet von einem signifikant reduzierten Lebergewicht (*Arfrp1*<sup>lox/lox</sup> 1,28 ± 0,26 g; *Arfrp1*<sup>liv/-</sup> 0,83 ± 0,18 g). Darüber hinaus zeigten *Arfrp1*<sup>liv/-</sup>-Mäuse niedrigere Blutglucosespiegel und verminderte Glycogenspeicher in der Leber im Vergleich zu Kontrolltieren. Während

die mRNA-Level glycolytischer Enzyme und des Glucosetransporters GLUT2 eine Erhöhung aufwiesen, war die Proteinmenge von GLUT2 stark reduziert und deutlich weniger GLUT2 in Plasmamembranen der *Arfrp1*<sup>liv/-</sup>-Hepatozyten nachweisbar. Dies deutet auf eine Beeinträchtigung der Glucoseaufnahme und/oder der Glucosefreisetzung in der Leber hin. Immunhistologische Färbungen des trans-Golgi-Markers TGN38 kennzeichneten eine deutliche Beeinträchtigung der Organisation des trans-Golgi in den Lebern der *Arfrp1*<sup>liv/-</sup>-Mäuse. **Schlussfolgerung:** Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Wachstumsretardierung der *Arfrp1*<sup>liv/-</sup>-Mäuse eine Konsequenz eines reduzierten Energiemetabolismus ist, ausgelöst durch einen verminderten Glucosetransport. Als mögliche Erklärung wäre eine regulatorische Funktion von ARFRP1 bei der Prozessierung und/oder dem Targeting von Proteinen wie dem Glucosetransporter GLUT2 zu sehen.

115

**Erhöhung des muskulären Phosphodiester-Gehaltes bei Typ-2-Diabetes mellitus**Szendrödi J<sup>1</sup>, Schmid Al<sup>2</sup>, Chmelik M<sup>2</sup>, Brehm A<sup>3</sup>, Krssak M<sup>2</sup>, Nowotny P<sup>4</sup>, Waldhäusl W<sup>4</sup>, Wolzt M<sup>4</sup>, Roden M<sup>1</sup><sup>1</sup>Karl-Landsteiner Institut für Endokrinologie und Stoffwechsel, Wien, Österreich, <sup>2</sup>Exzellenzzentrum für Magnetresonananz, Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich, <sup>3</sup>1. Med. Abt Hanusch Krankenhaus, Wien, Österreich, <sup>4</sup>Innere Med. 3, Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich

**Hintergrund:** Ernährungsgewohnheiten und oxidativer Stress beeinflussen die Zusammensetzung der Zellmembran und Freisetzung von Lipid-Signalen wie Diazylglycerol oder Inositol-Phosphaten. Diese sind an der Entwicklung der Insulinresistenz im Skelettmuskel beteiligt. Zur Untersuchung der Beziehung zwischen Membranphospholipiden und Insulinsensitivität, bestimmten wir den muskulären Gehalt an Phosphodiestern bei Gesunden und Patienten mit Typ-2 Diabetes (T2DM). **Methodik:** Wir untersuchten T2DM (Alter: 59 ± 6a; BMI: 27 ± 3 kg/m<sup>2</sup>; HbA1c: 6.9 ± 0.7%), gesunde ältere (CONa: 57 ± 6 a; 26 ± 3 kg/m<sup>2</sup>; 5.5 ± 0.3%) und jüngere Probanden (CONj: 27 ± 2a, P < 10 - 3 vs. T2DM und CONa; 23.3 ± 2 kg/m<sup>2</sup>, P < 0.05 vs. T2DM; 5.2 ± 0.2% P < 10 - 6 vs. T2DM). Ein hyperinsulinämisch-(40 mU · m<sup>-2</sup> · min<sup>-1</sup>)-euglykämischer-(~100 mg/dl) Clamptest wurde zur Bestimmung der Insulinsensitivität (M) durchgeführt. Konzentrationen der Phosphodiester (PDE) wurden mittels 31P Magnetresonananzspektroskopie (MRS) im Wadenmuskel bestimmt. Der Fettgehalt von M. soleus (IMCL) und der Leber (HCL) wurden mittels 1 H MRS gemessen. **Ergebnisse:** Die Konzentration von PDE war in CONj um etwa 31% geringer als in CONa und T2DM (T2DM: 2.8 ± 0.2, CONa: 2.5 ± 0.2, CONj: 1.8 ± 0.1 mmol/l, P = 0.002), T2DM hatten ~5mal höhere HCL (14.1 ± 8.3, CONo: 3.3 ± 4.4, CONy: 2.2 ± 1.8%; P < 0.0005 vs. T2DM) während IMCL vergleichbar waren. Die M-Werte der T2DM waren ~50% niedriger (5.4 ± 1.9, CONa: 8.3 ± 1.4, CONj: 12.2 ± 2.6 mg.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>; P < 0.05). PDE korrelierten negativ mit M (r = -0.620, P < 0.001), jedoch positiv mit Alter (r = 0.610, P < 0.001) und BMI (r = 0.672, P < 0.001). In der gesamten Population sowie innerhalb der Gruppe der T2DM korrelierten PDE positiv mit dem HbA1c (r = 0.672, P < 0.001) und der Nüchtern-Plasmaglukose (r = 0.614, P < 0.001), waren jedoch unabhängig vom IMCL-Gehalt. **Schlussfolgerung:** Die Erhöhung des Phosphodiester-Gehaltes bei T2DM weist auf eine geänderte Zusammensetzung der Membranphospholipide hin. Diese erscheint eng assoziiert mit dem Ausmaß der Insulinresistenz und der Stoffwechselkontrolle.

116

**Interleukin-1 $\beta$  und oxidativer Stress wirken gegensätzlich auf die IRS-1- und IRS-2-Promotoraktivität in HepG2-Zellen**Hettich MM<sup>1</sup>, Udelhoven M<sup>1</sup>, Bertram B<sup>1</sup>, Leeser U<sup>1</sup>, Krone W<sup>1</sup>, Schubert M<sup>1</sup><sup>1</sup>Klinikum der Universität zu Köln, Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin und Zentrum für Molekulare Medizin Köln (ZMMK), Köln, Deutschland

**Hintergrund:** Die Bedeutung der Insulinrezeptorsubstrat(IRS)-Proteine-1/-2 für den hepatischen Glucosestoffwechsel und die Aktivierung nachgeschalteter Signalwege ist bereits ausführlich *in vivo* und *in vitro* untersucht worden. Jedoch ist über die Transkriptionsregulation der verschiedenen IRS-Proteine auf molekularer Ebene nur wenig bekannt. Im vorliegenden Projekt werden daher die Wirkung von oxidativem Stress und dem proinflammatorischen Zytokin Interleukin(IL)-1 $\beta$  auf die Promotoraktivität in HepG2-Zellen untersucht. **Methodik:** Nach Klonierung

der humanen IRS-1- und IRS-2-Promotoren wurden sukzessiv verkürzte Promotorfragmente transient in HepG2-Zellen transfiziert und mittels eines dualen Luziferase Reporterassays analysiert. Um mögliche die IRS-1/-2-Transkription modulierende Signalwege zu identifizieren, wurden HepG2-Zellen mit den entsprechenden IRS-1/-2-Promotorregionen transfiziert. Die transfizierten Zellen wurden dann mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, IL-1 $\beta$  und PD98,059 behandelt und bezüglich der Promotoraktivität analysiert. **Ergebnisse:** Es konnte im IRS-1 Promotor eine Sequenz identifiziert werden, die 2420 bp vom Translationsstart entfernt lag und die stärkste basale Promotoraktivität in HepG2 Zellen zeigte. Im IRS-2 Promotor hingegen lag die Region stärkster basaler Promotoraktivität 688 bp vom Translationsstart entfernt. Um den Einfluss von Erk auf die basale Promotoraktivität zu untersuchen, wurden entsprechend transfizierte HepG2-Zellen mit PD98,059 inkubiert. Dies führte zu einer Verdoppelung der IRS-1-Promotoraktivität und einer nahezu vollständigen Suppression der IRS-2-Promotoraktivität. Die Behandlung von HepG2-Zellen mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> führte zu einem Abfall der IRS-1-Promotoraktivität um ca. 40%, jedoch zu einem Anstieg der IRS-2-Promotoraktivität um ca. 40%. Präinkubation der IRS-2-Promotor-transfizierten Zellen mit PD98,059 führte zu einer kompletten Inhibition der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induzierten Promotoraktivität. Ein ähnliches Reaktionsmuster konnte durch eine Inkubation mit IL-1 $\beta$  gezeigt werden mit einem Abfall der IRS-1- und einem Anstieg der IRS-2-Promotoraktivität um ca. -50%, bzw. +40%. Auch die IL-1 $\beta$ -stimulierte IRS-2-Promotoraktivität ließ sich durch eine Präinkubation mit PD98,059 komplett supprimieren. **Zusammenfassung:** Überraschenderweise beeinflussen IL-1 $\beta$  und oxidativer Stress die IRS-1- und IRS-2-Promotoraktivität gegensätzlich. Der IRS-2-Promotor wird durch oxidativen Stress und IL-1 $\beta$  Erk-abhängig aktiviert, während diese Faktoren zu einer Inaktivierung des IRS-1-Promotors führen. Außerdem ist die basale Aktivität beider Promotoren durch die Inhibition des MAP-Kinasenwegs entgegengesetzt beeinflusst.

117

#### Synergistische Wirkung von AMP-aktivierter Proteinkinase und Calcineurin auf den Mitochondriengehalt der Skelettmuskulatur

Röckl KSC<sup>1</sup>, Toyoda T<sup>2</sup>, Brandauer J<sup>2</sup>, Fujii N<sup>2</sup>, Hirshman MF<sup>2</sup>, Goodyear LJ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Med. Klinik Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, Diabetes Zentrum, München, Deutschland, <sup>2</sup>Joslin Diabetes Center and Harvard Medical School, Boston, USA

Mitochondrien spielen eine wichtige Rolle im Glucosestoffwechsel der Skelettmuskulatur, und eine mitochondriale Dysfunktion ist mit einem erhöhten Risiko für Glucoseintoleranz und Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert. Die Stoffwechsellzyme, AMP-aktivierte Proteinkinase (AMPK) und Calcineurin, können den Mitochondriengehalt der Muskulatur beeinflussen. In dieser Studie wurde erstmals untersucht, wie sich die gleichzeitige Inaktivierung von AMPK und Calcineurin auf den Mitochondriengehalt der Skelettmuskulatur auswirkt. Des Weiteren wurde geprüft, ob die trainingsbedingte Induktion von Mitochondrien durch die gleichzeitige Inaktivierung der AMPK- und Calcineurin-Signaltransduktionswege gehemmt werden kann. Wildtyp Mäuse und transgene Mäuse mit einer muskelspezifischen, inaktivierenden Mutation der AMPK $\alpha$ 2 Untereinheit ( $\alpha$ 2iTG) wurden 6 Wochen lang mit Placebo oder mit dem Calcineurin Hemmstoff, Cyclosporin A (25 mg/kg täglich), behandelt. Zur Untersuchung von Trainingsadaptionen wurde ein Teil der Mäuse gleichzeitig durch freiwilliges Laufen trainiert. Als Mitochondrienmarker wurde die Citratsynthase (CS) Aktivität sowie die Expression der mitochondrialen Proteine Succinatdehydrogenase b (SDHb) und Uncoupling Protein-3 (UCP3) bestimmt. Ebenso wurde die Expression des Schlüsselenzyms für mitochondriale Biogenese, PPAR $\gamma$  Co-Aktivatoren 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) gemessen. Die Phosphorylierung von AMPK und dem AMPK Substrat, Acetyl-CoA Carboxylase, blieb durch die Calcineurin-Hemmung unbeeinflusst, was gegen eine direkte Interaktion zwischen dem AMPK- und dem Calcineurin Signaltransduktionsweg spricht. Im untrainierten Zustand waren die Mitochondrienmarker in Cyclosporin-behandelten Wildtyp Mäusen und in  $\alpha$ 2iTG Mäusen in ähnlichem Maße reduziert (CS Aktivität: 24%\* bzw. 23%\*, SDHb: 42%\* bzw. 31%\*, UCP3: 16% bzw. 18%, PGC-1 $\alpha$ : 33%\* bzw. 32%\*, \* p < 0,05 gegenüber Placebo-behandelten Wildtyp Mäusen). Die kombinierte Hemmung von AMPK und Calcineurin in Cyclosporin-behandelten  $\alpha$ 2iTG Mäusen ging tendenziell mit einer zusätzlichen Reduktion der Mitochondrienmarker einher (CS Aktivität: 37%\*, SDHb: 36%\*, UCP3: 31%\*, PGC-1 $\alpha$ : 46%\*, \* p < 0,01 gegenüber Placebo-behandelten Wildtyp Mäusen), was einen additiven Effekt von AMPK und Calcineurin auf den Mitochondriengehalt anzeigt. 6-wöchiges Lauftraining induzierte eine Erhö-

hung der Mitochondrienmarker. Diese Induktion wurde auch durch die kombinierte Inaktivierung der AMPK- und Calcineurin Signaltransduktion nicht reduziert. Zusammenfassend sprechen unsere Daten dafür, dass AMPK und Calcineurin additive Wirkungen haben und daher vermutlich über parallele Signalwege den Mitochondriengehalt der Skelettmuskulatur regulieren. Da bei gleichzeitiger Inhibition von AMPK und Calcineurin körperliches Training dennoch zu einer unverminderten Mitochondrieninduktion im Muskel führt, müssen weitere Signalwege, insbesondere im Trainingszustand, an der Regulierung des Mitochondriengehaltes beteiligt sein.

118

#### Fetteiche Ernährung induziert dosisabhängig eine zerebrale Insulinresistenz und vermindert die kognitive Leistung in vivo

Freude S<sup>1</sup>, Ehlkes T<sup>2</sup>, Kopp V<sup>2</sup>, Leeser U<sup>1</sup>, Krone W<sup>1</sup>, Schröder H<sup>3</sup>, Blokland A<sup>2</sup>, Schubert M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinikum der Universität zu Köln, Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin und Zentrum für Molekulare Medizin Köln (ZMMK), Köln, Deutschland, <sup>2</sup>Maastricht University, Faculty of Psychology, Department of Neurocognition, Maastricht, Niederlande, <sup>3</sup>Klinikum der Universität zu Köln, Institut für Anatomie II, Köln, Deutschland

**Hintergrund:** Klinische Studien zeigen eine Assoziation zwischen Diabetes mellitus Typ 2 und verminderter Gedächtnisleistung, Demenz und neurodegenerativen Erkrankungen. Insbesondere Patienten, die hohe Insulindosen zur Blutzuckereinstellung benötigen, scheinen eine Risikogruppe darzustellen. Insulin ist zwar in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu passieren, aber lediglich eine geringe Menge einer peripher injizierten Insulin-Dosis erreicht das ZNS. Um die Auswirkungen einer fettreichen, hochkalorischen Ernährung und der damit verbundenen Hyperinsulinämie auf die zentrale Insulinrezeptor(IR)-Signaltransduktion und die kognitive Leistungsfähigkeit zu untersuchen, wurden C57/BL6-Mäuse mit unterschiedlichen Diäten gefüttert und analysiert. **Methodik:** 30 männliche C57/BL6-Mäuse wurden ab einem Alter von 4 Wochen über 6 Monate mit drei verschiedenen Diäten gefüttert: Standarddiät (STD, 5% Fett), fettreiche Diät (HFD) mit 15% oder 30% Fett (15%HFD, 30%HFD). Es erfolgte eine metabolische Charakterisierung (Glucosekonzentration, Insulinkonzentration, Insulin-Toleranztest, Körpergewicht) und eine Analyse der zerebralen IR-Signaltransduktion mittels Western Blot. Die kognitive Leistungsfähigkeit der Tiere wurde mithilfe des Morris Water Maze Task untersucht. **Ergebnisse:** Die 15% und 30%HFD-Tiere zeigten im Vergleich zu STD-Mäusen signifikant erhöhte Nüchternblutzuckerwerte (1,6- bzw. 1,5-fach), Insulinspiegel (7,2- bzw. 24-fach) und Körpergewichte (1,5- bzw. 1,7-fach) (p < 0,001, n = 8). Auch im Insulin-Toleranztest ergaben sich zum Zeitpunkt 60 min nach Insulininjektion signifikant erhöhte Blutzuckerwerte bei den 15% und 30%HFD-Mäusen verglichen mit STD-Tieren (1,6- bzw. 1,5-fach, p < 0,05, n = 8). Western Blot Analysen aus Gehirnlisaten ergaben im Vergleich zur STD eine um 30% erniedrigte IR-Expression in der 30%HFD-Gruppe (p < 0,001, n = 8). Ausserdem zeigte sich eine um 26% verminderte Phosphorylierung der Glycogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ <sup>ser9</sup>) (p < 0,01, n = 8) und eine um 81% reduzierte Phosphorylierung der Extrazellulär Regulierten Kinase-1/-2 (Erk-1/-2) (p < 0,01, n = 8). Dies entspricht einer verminderten Aktivierung der IR-Signaltransduktion (PI3-Kinaseweg, MAP-Kinaseweg). Im Morris Water Maze Task zeigten die 30%HFD Tiere im Vergleich zur STD ein signifikant schlechteres Ergebnis (escape latency, distance moved). **Zusammenfassung:** Die Ernährung mit 30%HFD führt bei männlichen C57/BL6-Mäusen zu einer verminderten Expression des IR im ZNS und zu einer reduzierten Aktivität der IR-Signaltransduktion. Mit dieser 30% HFD ist eine verminderte Leistungsfähigkeit im Morris Water Maze Task assoziiert.

119

#### Die Prohibitin-1-Proteinexpression im humanen Skelettmuskel ist mit der Insulinempfindlichkeit korreliert

Schechinger W<sup>1</sup>, Hojlund K<sup>2</sup>, Levin K<sup>2</sup>, Beck-Nielsen H<sup>2</sup>, Klein HH<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Berufsgenossenschaftliches Universitätsklinikum Bergmannsheil GmbH, Klinik für Innere Medizin I, Bochum, Deutschland, <sup>2</sup>Odense University Hospital, Odense, Dänemark

Prohibitin-1 (PHB-1) ist ein in hohem Maße konserviertes nukleäres Protein, welches primär mitochondrial lokalisiert ist und eine Rolle bei der mitochondrialen Biogenese und Funktion spielt. PHB-1

assoziiert mit dem *Mitochondrialen Komplex-1* und es gibt Hinweise, dass es an der Regulation der mitochondrialen Atmung sowie des Zellzyklus beteiligt ist. Bei Adipocytin wurde gefunden, dass PHB-1 die Pyruvatkarboxylase, ein Enzym welches den Zitratzyklus mit Substraten versorgt, inhibiert. Hier wurde die PHB-1-Proteinexpression in Skelettmuskelbiopsien untersucht, die bei basalem Insulinspiegel und am Ende eines dreistündigen euglykämisch-hyperinsulinämischen Klemmversuchs (clamp, Insulininfusionsrate: 40mU/m<sup>2</sup>/min) aus dem *m. vastus lateralis* bei 10 schlanken (S; BMI = 24.2 ± 0.5 kg/m<sup>2</sup>), 11 übergewichtigen (Ü; BMI = 33.7 ± 1.4 kg/m<sup>2</sup>) und 10 übergewichtigen Typ 2-diabetischen (ÜD; BMI 33.5 ± 1.1 kg/m<sup>2</sup>, HBA<sub>1c</sub> = 7.8 ± 0.5) Probanden entnommen wurden. Die Proteinexpression von PHB-1 wurde im Westernblot mit einer laserinduzierten Fluoreszenzmethode erfasst, die ein hohes Maß an Linearität und dynamischer Breite gewährleistet. Die PHB-1 Proteinexpression (in AU) war sowohl bei den basal entnommenen als auch bei den im Clamp entnommenen Biopsien bei S am höchsten und bei ÜD am niedrigsten, und die Erhöhung der Insulinkonzentration im Clamp war ohne Effekt (basale Biopsien: 320 ± 52 bei S, 283 ± 50 bei Ü und 169 ± 35 bei ÜD; clamp-Biopsien: 361 ± 78 bei S, 250 ± 59 bei Ü und 179 ± 35 bei ÜD). Ein Analyse mit allen 31 Probanden ergab positive Korrelationen (Spearman-Rangkorrelation) der PHB-1-Expression mit der clamp-Glucoseinfusionsrate (basale Biopsien r = 0,49, p < 0,05; clamp-Biopsien 0,49, p < 0,05), der clamp-Glucoseverschwinderate (basale Biopsien: r = 0,39, p < 0,05; clamp Biopsien: r = 0,42, p < 0,05) sowie der clamp-Glucoseoxidation (basale Biopsien: r = 0,33, p = 0,06, clamp Biopsien: r = 0,40, p < 0,05). Mit den basalen Insulinspiegeln war die PHB-1-Expression negativ korreliert (basale Biopsien: r = -0,48, p < 0,05; clamp Biopsien: r = -0,45, p < 0,05). Mit dem BMI bestand keine signifikante Korrelation (basale Biopsien r = -0,13, clamp Biopsien r = -0,33). Unsere Daten zeigen (1.) dass die PHB-1-Proteinexpression im humanen Skelettmuskel positiv mit der Insulinsensitivität und der insulinstimulierten Glucoseoxidation korreliert ist und (2.) dass eine reduzierte PHB-1-Proteinexpression eine Rolle bei der Typ 2-Diabetes-assoziierten Insulinresistenz spielen könnte.

120

#### Analyse der Insulinsignaltransduktion in einer cGMP-abhängigen Proteinkinase Typ I (cGKI)-defizienten Mauslinie

Lutz SZ<sup>1</sup>, Hennige AM<sup>1</sup>, Feil S<sup>2</sup>, Feil R<sup>2</sup>, Häring HU<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Eberhard-Karls-Universität, Innere Medizin IV, Tübingen, Deutschland, <sup>2</sup>Interfakultäres Institut für Biochemie, Tübingen, Deutschland

**Fragestellung:** Der NO/cGMP/cGKI-Signalweg reguliert Zellfunktionen in Organen, die für die Entstehung von Diabetes mellitus relevant sind. In vitro stimuliert NO in Beta-Zellen die Insulinsekretion über cGMP-abhängiger Hemmung von ATP-Kanälen. Eine Beeinflussung der Vitalität der Beta-Zellen durch cGMP über die Modulation der Apoptose wurde ebenfalls beschrieben. Eine mögliche Funktion der cGKI bei der Entstehung von Diabetes mellitus wurde jedoch bislang nicht systematisch untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Rolle der cGKI bei der Entstehung von Diabetes mellitus in vivo aufzuklären und mögliche Interaktionen zwischen dem NO/cGMP/cGKI- und dem Insulinsignalweg zu beleuchten. **Methodik:** cGKI-defiziente (KO)-Mäuse wurden in vivo im Hinblick auf Glucosetoleranz, Insulinsensitivität und Glukagonsekretion untersucht. Insulin- und Glukagonbestimmungen erfolgten mithilfe von Radioimmunoassays. Expression und Phosphorylierung von Proteinen des Insulinsignalwegs wurden in Leber und Skelettmuskel vor und nach intracavaler Insulinstimulation durch Western-Blotting untersucht. **Ergebnisse:** Nach Nahrungskarenz zeigten cGKI KO-Mäuse im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöhte basale Glucosewerte. Die basalen Insulinspiegel waren nach Nahrungskarenz tendenziell niedriger, die Glukagonspiegel tendenziell höher, ohne jedoch das Signifikanzniveau zu erreichen. Im Glucosetoleranztest wurde kein Unterschied zwischen cGKI KO-Mäusen und ihren Kontrollen festgestellt, wohingegen die KO-Mäuse im Insulinstimulationstest eine erhöhte Insulinsensitivität zeigten. Nach intracavaler Insulinstimulation wurde im Skelettmuskel von cGKI KO-Mäusen eine erhöhte Tyrosinphosphorylierung des Insulinrezeptors (IR), diskreter auch des Insulinrezeptorsubstrats-1 (IRS-1) und der Proteinkinase B festgestellt. Im Lebergewebe der KO-Mäuse ergab sich dagegen eine reduzierte Tyrosinphosphorylierung von IR und IRS-1 nach Insulinstimulation. **Schlussfolgerungen:** Die vorliegenden Ergebnisse sprechen für eine Interaktion zwischen dem NO/cGMP/cGKI- und dem Insulinsignalweg. cGKI KO-Mäuse zeigen zwar eine erhöhte Insulinsensitivität im Skelettmuskel, jedoch auch eine hepatische Insulinresistenz und erhöhte Nüchternglucosespiegel. Hierzu könnten erhöhte Glukagonwerte beitragen.

Freie Vorträge: Adipositas, Fettgewebe, Grundlagen II

121

#### Expression des Erythropoietin Rezeptors in humanem Fettgewebe

Möller K<sup>1</sup>, Bieschke D<sup>2</sup>, Wieczorek A<sup>2</sup>, Langenbuch C<sup>2</sup>, Deuretzbacher G<sup>3</sup>, Friedrich M<sup>4</sup>, Müller-Wiefel DE<sup>1</sup>, Algenstaedt P<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Universitätsklinikum Hamburg, Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Pädiatrische Nephrologie, Hamburg, Deutschland, <sup>2</sup>Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, III. Medizinische Klinik und Poliklinik, Hamburg, Deutschland, <sup>3</sup>Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Klinik und Poliklinik für Orthopädie, Hamburg, Deutschland, <sup>4</sup>Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Klinik und Poliklinik für Urologie, Hamburg, Deutschland

**Fragestellung:** Erythropoietin Rezeptoren (EPOR) wurden in den letzten Jahren in einer Vielzahl von nicht hämatopoetischen Zellen identifiziert. Der Nachweis eines EPOR in humanem Fettgewebe wurde bisher nicht erbracht. Erythropoese stimulierende Faktoren (ESF) werden seit langem routinemäßig zur Behandlung der renalen Anämie bei chronisch nierensuffizienten Kindern eingesetzt. Neuere Forschungsergebnisse lassen vermuten, dass ESF protektive Effekte auf die Entstehung der Arteriosklerose haben könnten. Möglicherweise könnte dieser Effekt über eine Regulation verschiedener Adipozytokine erfolgen, die im Fettgewebe eine wesentliche Rolle spielen. Ziel der Studie war es, den Effekt von ESF Stimulation an humanen Fettgewebsproben zu untersuchen, insbesondere die mögliche Expression eines gewebsspezifischen EPOR. **Methodik:** Intraoperativ wurde Fettgewebe von normalgewichtigen, nicht diabetischen Kindern (n = 23; m: 15, w: 8, Alter 0,6 – 14,8 Jahre) im Rahmen eines elektiven urologischen Eingriffes entnommen. Anschließend wurden alle Proben für insgesamt 72 Stunden in Kultur gehalten. Die Gewebeproben wurden für 24, 48 und 72 Stunden entweder mit 10IE ESF je 1 ml Kulturmedium inkubiert oder unbehandelt als Kontrolle geführt. Die m-RNA aus den Adipozyten wurde nach Standardprotokoll isoliert. Nach Herstellung der cDNA wurde eine relative Quantifizierung mittels Real-time PCR mit spezifischen Primern für den EPOR durchgeführt. Der Rezeptor Nachweis auf Proteinebene erfolgte durch Western-Blot Analyse. Die statistische Analyse erfolgte mittels Wilcoxon-Test. **Ergebnisse:** Die Expression des EPOR auf RNA- und Protein-Ebene konnte sowohl im subkutanen als auch im viszeralen Fettgewebe nachgewiesen werden. Nach ESF Stimulation konnte im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle ein Anstieg der mRNA Expression des EPOR nach 48 h im Mittel um 65% (SD 1,36) detektiert werden. Der Anstieg der EPOR mRNA Expression nach 48 h ESF-Inkubation war signifikant höher als nach 24 h (p = 0,04) **Schlussfolgerung:** Erstmals konnte der Nachweis der Expression des EPOR in humanen Fettgewebsproben erbracht werden, sowie eine Regulation durch ESF. Dies lässt einen direkten Effekt von ESF auf regulatorische Mechanismen in humanem Fettgewebe vermuten, welches für einen Einfluss von ESF auf die Entstehung der frühzeitigen Atherosklerose sprechen könnte.

122

#### Leptin-Sensitivität wurde in Leptin-resistenten Diet-Induced Obese (DIO) Ratten wiederhergestellt: Synergistischer Effekt von Amylin und Leptin auf die Reduktion von Körpergewicht und Fett

Schönamsgruber E<sup>1</sup>, Herrmann K<sup>1</sup>, Roth J<sup>1</sup>, Weyer C<sup>1</sup>, Parkes D<sup>1</sup>, Baron A<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, USA

**Einleitung:** Das Körpergewicht wird durch eine komplexe Interaktion der Signale für Langzeit-Adipositas (z.B. Leptin als hypothalamisches Signal) und Kurzzeitsättigung (z.B. Amylin, ein Rhombenzephalon-Signal) reguliert. Wir stellten die Hypothese auf, dass die Kombination von Amylin und Leptin additive/synergistische Effekte auf das Körpergewicht bei DIO aufweist. **Methodik:** DIO-Ratten erhielten subkutane Pumpen, mit denen entweder Vehikel (i.e. Placebo), Ratten-Amylin (100 µg/kg/Tag), Maus-Leptin (500 µg/kg/Tag) oder Amylin (100 µg/kg/Tag)+Leptin (500 µg/kg/Tag) über 14 Tage appliziert wurde. **Ergebnisse:** Die jeweiligen Änderungen im Körpergewicht waren: Leptin: +0,6%, Amylin: -3,4%\* und Amylin+Leptin: -7,1%\*# (\* p < 0,05 vs. Placebo, #p < 0,05 vs. Amylin). Die kumulative Nahrungsaufnahme in Gramm: Placebo: 222, Leptin: 221, Amylin: 189\* und Amylin+Leptin: 160\*# (\* p < 0,05 vs. Placebo, #p < 0,05 vs. Amylin). Amylin+Leptin erhöhte die Fett-Oxidation im Lichtzyklus und den Energieverbrauch im Dunkelzyklus (p < 0,05 vs. Placebokontrollen), wobei die Effekte nach Behand-



lung mit den jeweiligen Einzelsubstanzen nicht zu beobachten waren. Die Änderungen von Körpergewicht, Nahrungsaufnahme und Energieverbrauch in der Kombinationsgruppe stützt die Hypothese, dass Amylin die Leptin-Sensitivität bei DIO wiederherstellt. Wir prüften, ob die Körpergewichtssynergie von Amylin+Leptin lediglich auf eine Kalorienrestriktion zurückzuführen war, oder allein durch Amylin vermittelt wurde. Änderungen in Körper-Gewicht und -Komposition wurden in Paarfütterungs (PF)-Versuchen untersucht. Ratten erhielten Leptin und genauso viel Nahrung wie Ratten unter Amylin-Behandlung (PF+Leptin). Diese Gruppe wurde mit der Amylin+Leptin Gruppe verglichen. Die Änderungen im Körpergewicht waren: Leptin: -2,7%, Amylin: -6,7%, PF+Leptin: -6,9%\* und Amylin+Leptin: -12,0%\*\* (\* p < 0,05 vs. Placebo # p < 0,05 vs. Amylin und PF+Leptin). Die Körpergewichtsabnahme nach Amylin+Leptin - Gabe war auf eine Reduktion des Körperfettanteils (p < 0,05 vs. Placebokontrolle) zurückzuführen, mit einem relativen Anstieg des Anteils fettarmen Gewebes. **Schlussfolgerung:** Die Amylin+Leptin Kombination: (1) induzierte eine reproduzierbare, synergistische, sowie anhaltende Gewichtsabnahme, (2) verminderte spezifisch die Adipositas ohne das fettarme Gewebe zu verändern, und (3) zeigte Effekte durch multiple Mechanismen, die teilweise von Amylin's anorexigenen Eigenschaften trennbar waren. Diese Studien liefern präklinischen „proof of concept“ dafür, dass Amylin die Leptin-Sensitivität wiederherstellt, ein Befund, der in präklinischen und klinischen Untersuchungen weiter untermauert werden muss.

123

### Reduktion der IL-6 und TNF-alpha Expression in viszeralem Fettgewebe adipöser Patienten nach Inkubation mit Erythropoese stimulierendem Faktor (ESF)

*Langenbuch C<sup>1</sup>, Möller K<sup>2</sup>, Bieschke D<sup>1</sup>, Wieczorek A<sup>1</sup>, Deuretzbacher G<sup>3</sup>, Strate T<sup>4</sup>, Müller-Wiefel DE<sup>2</sup>, Algenstaedt P<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Zentrum für Innere Medizin, III. Med. Klinik und Poliklinik, Hamburg, Deutschland, <sup>2</sup>Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Pädiatrische Nephrologie, Hamburg, Deutschland, <sup>3</sup>Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Klinik und Poliklinik für Orthopädie, Hamburg, Deutschland, <sup>4</sup>Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie, Hamburg, Deutschland

**Fragestellung:** Bei der Entstehung der Atherosklerose wird der Inflammation eine bedeutende Rolle zugesprochen. Verschiedene Zytokine, vor allem IL-6 und TNF-alpha, werden dabei vermehrt exprimiert. Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz besteht ein deutlich erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. Patienten, die routinemäßig bei renaler Anämie mit ESF behandelt wurden, wiesen bei erhöhten Adiponektinspiegeln ein erniedrigtes kardiovaskuläres Risiko auf. Neben Verbesserung der Mikrozirkulation scheint ESF direkte antiatherosklerotische Eigenschaften z. B. durch Reduktion der Inflammation zu besitzen. Ziel dieser Arbeit war es, anhand viszeraler Fettgewebeproben von normal- und übergewichtigen Erwachsenen, den Einfluss von ESF auf die Expression der inflammatorischen Adipozytokine IL-6 und TNF-alpha zu untersuchen. **Methodik:** Intraoperativ wurde viszerale Fettgewebe von normalgewichtigen (n = 8, mittlerer BMI 22,91 ± 1,37 kg/m<sup>2</sup>) und übergewichtigen (n = 11, mittlerer BMI 31,39 ± 8,45 kg/m<sup>2</sup>) Patienten im Rahmen eines chirurgischen Eingriffes entnommen. Das Gewebe wurde insgesamt 72 Stunden in Kultur gehalten und entweder als Kontrolle unbehandelt belassen oder für 24 h, 48 h bzw. 72 h mit 10IE ESF/ml Kulturmedium inkubiert. Anschließend wurde die mRNA nach Standardprotokoll isoliert. Nach Umschreibung in cDNA wurde eine relative Quantifizierung mittels Real-Time PCR mit spezifischen Primern für IL-6 und TNF-alpha durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Wilcoxon-test. **Ergebnisse:** Die mRNA-Expression für IL-6 sinkt im viszeralen Fettgewebe übergewichtiger Patienten (BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>) um 50% nach 24 h (\*p = 0,046), um 59% nach 48 h (p = 0,055) und um 80% nach 72 h (\*p = 0,028) ESF-Inkubation im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle, ebenso die TNF-alpha mRNA-Expression um 45% nach 24 h (p = 0,074), um 52% nach 48 h (\*p = 0,050) und um 44% nach 72 h (\*p = 0,050). Im Fettgewebe normalgewichtiger Patienten (BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>) ergaben sich für IL-6 und TNF-alpha keine signifikanten Veränderungen der mRNA-Expression nach ESF-Inkubation. **Schlussfolgerung:** Diese Studie zeigt, dass die ESF Stimulation humaner Fettgewebeproben einen inhibierenden Effekt auf die mRNA-Expression der inflammatorischen Adipozytokine IL-6 und TNF-alpha ausüben kann. Die Reduktion der Expression

dieser inflammatorischen Adipozytokine kann Hinweis auf eine antiinflammatorische Wirkung von ESF sein. Diese Daten lassen erstmalig vermuten, dass ESF über Verbesserung der Mikrozirkulation hinaus durch Reduktion inflammatorischer Adipozytokine auch ein antiatherogener Effekt zugesprochen werden könnte.

124

### Das Stressprotein Hsp60 induziert die Bildung von Adipozyten-Mediatoren, die zur Aktivierung diabetes-assoziiertes Entzündungsreaktionen führen

*Habich C<sup>1</sup>, Gülden E<sup>1</sup>, Brüggemann J<sup>1</sup>, Mollerus S<sup>1</sup>, Burkart V<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Klinische Diabetologie, Düsseldorf, Deutschland

**Fragestellung:** Adipozyten und ihre Mediatoren tragen wesentlich zur Entwicklung von chronischen Entzündungsvorgängen bei, die zur Entstehung von Diabetes und diabetes-spezifischen Komplikationen führen. Die immunregulatorischen Funktionen von Adipozyten sind denen natürlicher Immunzellen vergleichbar. Neuere Untersuchungen zeigen, dass die Bildung und Freisetzung von immunregulatorischen Mediatoren aus natürlichen Immunzellen wesentlich von autologen Stressproteinen wie Hitzeschockprotein 60 (Hsp60) kontrolliert werden. Derzeit gibt es keine Erkenntnisse zur Wirkung von Stressproteinen wie Hsp60 auf Adipozyten und ihrer Bedeutung in chronischen, diabetes-assoziierten Entzündungsreaktionen. Im Hinblick auf die Entwicklung von Interventionsstrategien zur Modulation dieser Entzündungsreaktionen wurde erstmals der modulatorische Effekt von Hsp60 auf Adipozyten verschiedener Reifungsstadien untersucht. **Methodik:** Die Hsp60-vermittelte Induktion von Entzündungsmediatoren (u. a. IL-6, KC, MCP-1) wurde in der murinen Adipozyten Linie 3T3-L1 in verschiedenen Reifungsstadien mittels ELISA/Multiplex-Assay untersucht. Der Differenzierungszustand der Adipozyten wurde mit entsprechenden Antikörpern gegen adipozytenspezifische Reifungsmarker in FACS-Analysen kontrolliert. **Ergebnisse:** Erstmals konnte ein regulatorischer Effekt von Hsp60 auf Präadipozyten und Adipozyten nachgewiesen werden. Nach Inkubation von 3T3-L1 Präadipozyten mit Hsp60 (1, 10 und 20 µg/ml) kam es zur konzentrationsabhängigen, signifikanten Freisetzung der Mediatoren IL-6 (113 ± 1 bis 459 ± 45 pg/ml), KC (2 ± 1 bis 31 ± 2 ng/ml) und MCP-1 (16 ± 1 bis 39 ± 7 ng/ml). Die Inkubation von reifen 3T3-L1 Adipozyten mit Hsp60 führte zu einer höheren Freisetzung der Mediatoren IL-6 (bis 2208 ± 202 pg/ml), KC (bis 43 ± 6 ng/ml) und MCP-1 (bis 78 ± 8 ng/ml). Wurde die Bildung der Mediatoren in reifen Adipozyten nach unterschiedlicher Kulturdauer (13 versus 21 Tage) verglichen, so konnten keine signifikanten Unterschiede in der Hsp60-vermittelten Induktion der Entzündungsmediatoren IL-6 und KC nachgewiesen werden, während die MCP-1 Bildung abnahm. In ersten Analysen konnten wir zeigen, dass Adipozyten den Toll-like Rezeptor 4 (TLR4) in Abhängigkeit vom Reifungsstadium unterschiedlich stark exprimieren. Unsere bisherigen Befunde deuten daraufhin, dass TLR4 an der Interaktion von Adipozyten mit Hsp60 beteiligt ist. **Schlussfolgerung:** Unsere Beobachtungen an Adipozyten verschiedener Reifungsstadien weisen auf eine Rezeptor-vermittelte Induktion von Entzündungsmediatoren durch das Stressprotein Hsp60 hin. Damit konnte Hsp60 als wichtiger Regulator der Adipozytenfunktionen identifiziert werden, die zur Entwicklung chronischer, diabetes-assoziiertes Entzündungsreaktionen beitragen. Daraus ergeben sich erfolversprechende Ansätze zur Entwicklung möglicher früher Interventionsstrategien.

125

### CB1-Rezeptoren in humanen Skelettmuskelzellen sind am negativen Crosstalk zwischen Fettgewebe und Muskulatur beteiligt

*Eckardt K<sup>1</sup>, Sell H<sup>1</sup>, Cramer A<sup>1</sup>, Eckel J<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf, Deutschland

**Fragestellung:** Cannabinoid-Typ1-Rezeptoren (CB1R) werden sowohl im zentralen und peripheren Nervengewebe als auch in verschiedenen peripheren Zelltypen wie Adipozyten und Leberzellen exprimiert. Der Einsatz von spezifischen CB1R-Antagonisten wie Rimonabant ist ein innovativer Therapieansatz in der Behandlung von Adipositas, da hierdurch eine Reduktion der Nahrungsaufnahme bewirkt wird. Zusätzlich konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass auch Effekte in peripheren Geweben an der positiven Gesamtwirkung von Rimonabant beteiligt sind. Aktuelle Daten lassen darauf schließen, dass im humanen Fettgewebe Endocannabinoide produziert werden. Wir haben in unserer

Studie untersucht, ob das Endocannabinoidsystem am negativen Crosstalk zwischen Fettgewebe und Skelettmuskulatur beteiligt ist. **Methodik:** In differenzierten humanen Skelettmuskelzellen (SkM) verschiedener Spender wurde die Proteinexpression des CB1R untersucht. Die Zellen wurden mit Adipozyten-konditioniertem Medium (CM) bzw. dem Endocannabinoid Anandamid (0.1 – 10  $\mu$ M) allein oder in Kombination mit dem CB1R-Antagonisten AM251 behandelt. Anschließend wurde die Akt-Phosphorylierung nach Insulinstimulation analysiert. **Ergebnisse:** Wir haben in SkM verschiedener Spender den CB1R auf einem Proteinexpressionsniveau detektiert, das dem von differenzierten humanen Adipozyten entspricht. Die Inkubation mit CM bzw. Anandamid führte zu einer Verminderung der Akt-Phosphorylierung von ~60% bzw. von bis zu ~40% nach Stimulation mit Insulin. Durch die Behandlung der Zellen mit AM251 konnte der Effekt des CM zur Hälfte reduziert werden, während der Effekt von Anandamid komplett aufgehoben werden konnte. **Schlussfolgerungen:** Unsere Ergebnisse zeigen, dass das CB1R-System bei der Entstehung von Insulinresistenz im humanen Skelettmuskel eine Rolle spielen könnte. Die Beteiligung des CB1R konnte durch Einsatz des spezifischen CB1R-Antagonisten AM251 gezeigt werden, der die Wirkung des CB1R-Agonisten Anandamid aufhob. Der Effekt von AM251 auf die CM-bedingte verminderte Aktivierung der Akt unterstützt die Beobachtung, dass Adipozyten Faktoren sekretieren, die über den CB1R in die Insulinsignalkette eingreifen und an der Entwicklung einer Insulinresistenz beteiligt sind. Wir schließen aus unseren Resultaten, dass CB1R-Antagonisten zusätzlich zur Reduktion der Nahrungsaufnahme eine erhebliche anti-diabetische Wirkung haben könnten, die auf eine Verbesserung der Insulinsensitivität im humanen Skelettmuskel zurückzuführen ist.

126

### Einfluss von Diät und Training auf Gewichtsentwicklung und Metabolismus IL-6-defizienter Mäuse

Hoene M<sup>1</sup>, Fritsche L<sup>1</sup>, Lehmann R<sup>1</sup>, Hennige AM<sup>1</sup>, Mertens I<sup>1</sup>, Häring HU<sup>1</sup>, Schleicher E<sup>1</sup>, Weigert C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Tübingen, Innere Medizin, Tübingen, Deutschland

Interleukin-6 (IL-6) gilt als potenzieller Trainingsfaktor, weil es vom kontrahierenden Skelettmuskel produziert und freigesetzt wird und den Glucose- und Lipidstoffwechsel beeinflusst. Ziel dieser Studie war es, in IL-6-defizienten C57BL6/J-Mäusen, die Standard- oder energiereiches Futter erhielten, metabolische Effekte freiwilligen Laufens und die Laufleistung zu untersuchen. Mäuse in Einzelhaltung erhielten im Alter von 10 Wochen Laufräder und Standard- (10,77% Kalorien aus Fett, 7,57% aus Saccharose) oder energiereiches Futter (19,53% Kalorien aus Fett, 11,47% aus Saccharose). Während der ersten 10 Wochen liefen IL-6 Knockout (KO)-Mäuse, die eine energiereiche Diät erhielten, signifikant mehr als Wildtyp (WT)-Kontrolltiere (13,3  $\pm$  2,5 vs. 8,7  $\pm$  1,8 km/d,  $p < 0,05$ ). Eine ähnliche Tendenz zeigte sich bei Tieren, die Standard-Futter erhielten. Der Unterschied zwischen WT- und KO-Mäusen mit energiereicher Diät war in den folgenden 10 Wochen noch ausgeprägter, wobei die Laufleistung in beiden Gruppen, möglicherweise aufgrund der erfolgten Gewichtszunahme, abnahm (9,9  $\pm$  0,7 vs. 4,5  $\pm$  1,6 km/d,  $p < 0,01$ ). Unabhängig vom Futter war die Gewichtszunahme der WT-Mäuse während des 20-wöchigen Laufens größer als die der KO-Tiere (energiereich: KO 9,8  $\pm$  0,6 g, WT 14,9  $\pm$  1,8 g; Standard: KO 4,1  $\pm$  0,4 g, WT 5,9  $\pm$  0,5 g). Mäuse in den Kontrollgruppen ohne Laufrad nahmen tendenziell stärker zu als die korrespondierenden Läufer-Gruppen. In der Kontrollgruppe mit Standarddiät wiesen die IL-6-defizienten Tiere im Alter von 9 Monaten eine niedrigere Nüchtern-glucose (116  $\pm$  5 vs. 143  $\pm$  5 mg/dl,  $p < 0,005$ ) und eine tendenziell verbesserte Glucose-Elimination während eines Glucose-Toleranz Tests (AUC 321  $\pm$  14 vs. 375  $\pm$  20 mg<sup>2</sup>/min/l,  $p = 0,058$ ) auf. Im Gegensatz zum freiwilligen Laufen war die Ausdauerleistung der KO-Mäuse auf dem Laufband deutlich schwächer (57 min gegenüber 112 min). Zudem gibt es Hinweise auf einen veränderten Lipidstoffwechsel. Während bei WT-Mäusen die erwartete Reduktion der Fettsäurespiegel unter Training zu beobachten war (654  $\pm$  37 vs. 967  $\pm$  77 mg/dl), wiesen KO-Läufer höhere Plasmakonzentrationen an freien Fettsäuren auf als die KO-Kontrolltiere (949  $\pm$  99 vs. 772  $\pm$  54 mg/dl). Obwohl IL-6 für eine normale Ausdauerleistung notwendig zu sein scheint, kann IL-6-Defizienz in Mäusen die freiwillige Laufleistung erhöhen. Dies könnte dazu beitragen, dass es zu einer geringeren Gewichtszunahme dieser KO-Mäuse kommt. Das derzeitige Verständnis von IL-6 als Trainingsfaktor mit Potenzial zur Gewichtsreduktion bedarf demnach weiterer Aufklärung.

127

### Adiponectin verändert das Sekretom von humanen Adipozyten und reduziert die proliferative Wirkung von konditioniertem Fettzellmedium an koronaren glatten Muskelzellen

Lamers D<sup>1</sup>, Sell H<sup>1</sup>, Paßlack W<sup>1</sup>, Lehr S<sup>1</sup>, Eckel J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institut für klinische Biochemie und Pathobiochemie, Düsseldorf, Deutschland

**Fragestellung:** Das Fettgewebe ist als endokrines Organ durch die Produktion einer Vielzahl von inflammatorischen Adipokinen, wie IL-6, TNF alpha, PAI-1 oder Angiotensin gekennzeichnet. Die gesteigerte Freisetzung dieser Adipokine kann negativ auf die Gefäßwand einwirken und spielt möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der Atherosklerose. Adiponectin, ein bekanntes anti-inflammatorisches Adipokin, kann autokrin das Sekretom der Fettzelle verändern und die Produktion anti-inflammatorischer Adipokine reduzieren. Ziel dieser Studie war es, die durch Adiponectin regulierten Fettzellprodukte durch vergleichende Proteinpattern-Analyse zu charakterisieren und die direkte anti-atherogene Wirkung auf Gefäßzellen (koronare glatte Muskelzellen, SMC) zu bestimmen. **Methodik:** Aus dem Brust- und Bauchfettgewebe von gesunden Patienten, die sich einer plastischen Chirurgie unterzogen, wurden Präadipozyten isoliert und in vitro zu Adipozyten differenziert. Fettzell-konditionierte Medien (CM, CM mit 10 nm Adiponectin) wurden über 48 h gesammelt und für die vergleichende Proteomanalyse der sekretierten Proteine mittels Ultrafiltration konzentriert. Die Proteine wurden dann mithilfe der 2-dimensionalen Gelelektrophorese-Technik über einen Bereich von pH 4–9 aufgetrennt und spezifische Veränderungen innerhalb der komplexen Proteinmuster mithilfe der Proteomweaver-Software analysiert. Die proliferative Wirkung des konditionierten Mediums auf SMC wurde mittels BrdU Einbau in die DNA bestimmt. **Ergebnisse:** Nach der Auftrennung der CM auf 2D-Gele (pH-Bereich 4–9), konnten mehr als 1600 Proteinspots reproduzierbar detektiert werden. Von diesen zeigten 63 Proteinspots signifikante Unterschiede zwischen CM und CM mit Adiponectin, welche in einem nächsten Schritt mittels MALDI-Massenspektrometrie identifiziert werden sollen. Auf den SMC bewirkte das CM einen fast dreifachen Anstieg der Proliferation im Vergleich zum Kontrollmedium (+286  $\pm$  6%,  $p < 0,001$ ). Durch die Zugabe von Adiponectin konnte die Proliferation signifikant reduziert werden (-80  $\pm$  7%,  $p < 0,05$ ). **Schlussfolgerung:** Die Ergebnisse der vergleichenden Sekretomanalyse zeigen, dass Adiponectin die Sekretion von humanen Fettzellen verändert. CM wirkt proliferativ auf glatte Muskelzellen, wobei Adiponectin diese proliferative Wirkung deutlich vermindert und somit eine anti-atherogene Wirkung vermittelt. Mit der vergleichenden Sekretomanalyse ergibt sich nun die Möglichkeit potentielle Faktoren zu identifizieren, die für die proliferative Wirkung des CM verantwortlich sind und durch Adiponectin reguliert werden.

128

### Expression profiles of human adipocyte differentiation in the SGBS cell model

Büttner P<sup>1</sup>, Blüher M<sup>2</sup>, Wabitsch M<sup>3</sup>, Kiess W<sup>1</sup>, Körner A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Leipzig, University Hospital for Children & Adolescents, Leipzig, Deutschland, <sup>2</sup>University of Leipzig, Dept. of Internal Medicine III, Leipzig, Deutschland, <sup>3</sup>University of Ulm, Dept. of Pediatric Endocrinology, Ulm, Deutschland

Current information on transcriptional control of adipocyte differentiation is mainly derived from mouse model systems. We differentiated human preadipocytes of the SGBS cell line into mature adipocytes and characterized the alterations in gene expression patterns with whole genome microarrays. 248 genes were significantly ( $fdr < 0,05$ ) altered more than 5-fold during the differentiation process. Amongst these genes we recovered well known markers of adipogenesis such as adiponectin, C/EBP $\alpha$  or PPAR $\gamma$ . Altogether 31% of the upregulated genes were associated with lipid metabolism. Principal component analysis correctly grouped, early differentiation stages and late differentiation stages. SGBS data were then compared to microarray data from differentiating mouse 3T3-L1 cells and human primary cells of different fat tissue depots. Overall, gene expression patterns were similar but differences related to species and fat tissue depot were detected. These data indicate that SGBS cells are a valid model of human adipogenesis. We applied this model system to identify 12 genes whose expression in vitro is applicable to classify preadipocytes vs. mature vs. late adipocytes.

Prospectively, the SGBS model can be used to identify new regulators, transcription factors or therapeutical targets of human adipogenesis.

129

### Einfluss von Normoxie und Hypoxie auf humane Präadipozyten und Adipozyten mit Folgewirkungen für mikrovaskuläre Endothelzellen

Mack I<sup>1</sup>, Bader BL<sup>1</sup>, Görlach A<sup>2</sup>, Hauner H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Technische Universität München, Else-Kröner-Fresenius-Zentrum, Lehrstuhl f. Ernährungsmedizin, Freising-Weihenstephan, Deutschland, <sup>2</sup>Deutsches Herzzentrum, Technische Universität München, Experimentelle Kinderkardiologie, Abt. für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler, München, Deutschland

**Zielsetzung:** Bei Adipositas kommt es zu einer vermehrten Einwanderung von Immunzellen, wie z.B. Monozyten und T-Zellen in das Fettgewebe. Bei diesem Infiltrationsprozess spielt das mikrovaskuläre Endothel als Barriere zwischen Fettgewebe und zirkulierenden Immunzellen im Blut eine aktive Rolle. Mit der Fettgewebsexpansion kommt es dort lokal zu einem hypoxischen Milieu (Befunde aus Mausmodellen) und zur Synthese von pro-inflammatorischen Molekülen. Ziel des Projektes ist die Aufklärung der zellulären Interaktionen und molekularen Mechanismen zwischen Prä/Adipozyten und Endothelzellen unter verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen sowie die Identifizierung von Faktoren in diesem Wechselspiel. **Material und Methoden:** Um die erwähnten Vorgänge *in vitro* untersuchen zu können, wurden Co-Kultursysteme und sensitive Nachweismethoden entwickelt. Es wurden die humane SGBS-Zelllinie für humane Präadipozyten und Adipozyten und die humanen mikrovaskulären Endothelzellen (HMEC-1) verwendet. Die HMEC-1 Zellen wurden mit konditionierten Medien von SGBS-Präadipozyten- und Adipozyten stimuliert und anschließend auf deren biologischen Antworten, wie beispielsweise endotheliale Aktivierung und inflammatorische Antwort mittels eines Monozytenadhäsionsstests, ICAM-1-ELISA und qRT-PCR Analysen analysiert. Die SGBS-Zellen wurden mittels qRT-PCR bzw. deren konditionierten Überstände mittels ELISA- und Multiplexing Techniken charakterisiert. Die Omics-Technologien werden zur weiteren Analyse herangezogen. **Ergebnisse:** Präadipozyten zeigten im Vergleich zu den Adipozyten sowohl auf RNA als auch auf Proteinebene im Überstand ein deutlich höhere Expression von pro-inflammatorischen Cytokinen wie z.B. IL-6, IL-8, PAI-1, MCP-1 und VEGF. Das Endothel selbst reagierte signifikant weniger pro-inflammatorisch auf Adipozyten-konditioniertes Medium als auf Präadipozyten-konditioniertes Medium. Moderate Hypoxie (4% O<sub>2</sub>) erhöhte das Sekretionsmuster pro-inflammatorischer Moleküle von Präadipozyten und Adipozyten geringfügig und verstärkte die Monozytenadhäsion auf HMEC-1. **Zusammenfassung:** Das Sekretionsmuster der Präadipozyten ist deutlich stärker pro-inflammatorisch ausgeprägt als das der Adipozyten. Präadipozyten scheinen zudem proinflammatorische Signalwege in Endothelzellen stärker zu beeinflussen als Adipozyten. Unter moderater Hypoxie, wie sie vermutlich im Fettgewebe bei Adipositas auftritt, verändert sich das Sekretionsmuster der Präadipozyten und Adipozyten geringfügig, reicht aber dennoch aus, die Monozytenadhäsion auf den Endothelzellen zu erhöhen. Diese *in vitro* Befunde deuten darauf hin, dass Präadipozyten einen unterschätzt wichtigen Anteil bei der Freisetzung von Adipokinen im Fettgewebe leisten können und somit auch parakrine und endokrine Auswirkungen mitbestimmen.

Poster

Folgeerkrankungen, Mikroangiopathie, Neuropathie, diabetischer Fuß I

130

### Klinische Charakteristika bei Typ-2-Diabetikern mit einer Nephropathie in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Anämie

Klein BC<sup>1</sup>, Klotaf R<sup>1</sup>, Bach D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinikum Krefeld, Medizinische Klinik III, Krefeld, Deutschland

**Fragestellung:** Bei Typ-2-Diabetikern (T2D) ist das kardiovaskuläre Risiko gegenüber Nichtdiabetikern deutlich erhöht. Dieses Risiko wird durch eine zusätzlich vorliegende Nierenfunktionseinschränkung weiterhin verstärkt. Die häufig anzutreffende Hämoglobinniedrigkeit niereninsuffizienter Diabetiker stellt einen weiteren eigenständigen kardiovaskulären Risikofaktor dar und fördert die Progressionsrate zur ter-

minalen Niereninsuffizienz. Wir untersuchten, wie häufig eine Anämie in einem Kollektiv von T2D mit Nephropathie vorliegt und analysierten einflussnehmende klinische Parameter. **Methode:** Von 8/1999 bis 12/2007 untersuchten wir prospektiv 328 nicht selektierte T2D mit einer Nephropathie, die sich konsekutiv in unserem nephrologisch-diabetologischen Zentrum vorstellten. Die Patienten wiesen eine chronische, nicht terminale Nierenerkrankung unterschiedlicher Ausprägung und Ätiologie auf. Entsprechend ihres mittleren Hämoglobin-Wertes (Hb) wurden die Patienten in eine Gruppe mit vorliegender Anämie (Hb ≤ 12 g/dl) und eine Gruppe ohne Anämie (Hb > 12 g/dl) unterteilt. Hinsichtlich ihrer Korrelation zum Hb-Wert wurden verschiedene klinische Parameter analysiert. **Ergebnisse:** Die 328 T2D (56% männlich) wiesen unabhängig vom vorliegenden Hb folgende Charakteristika auf: Alter 68 ± 11 Jahre, Diabetesdauer 14 ± 11 Jahre, HbA1c 8 ± 2%, BMI 29 ± 6 kg/m<sup>2</sup>, Blutdruck 144 ± 24/80 ± 12 mm Hg, ECC 40 ± 34 ml/min, Kreatinin 2,9 ± 2,1 mg/dl, Mikroalbuminurie 72%, Proteinurie 1,7 ± 2,5 g/die, Hämoglobin 12 ± 2 g/dl, Cholesterin 208 ± 62 mg/dl, Triglyzeride 289 ± 300 mg/dl. Eine Anämie lag bei 54,7% (n = 162) der Patienten vor. Signifikant häufiger findet sich eine Anämie bei Frauen (63%, p = 0,013). Das Vorliegen einer Anämie hängt signifikant und geschlechterunabhängig von der Nierenfunktion und ihrer Ausprägung ab (P = 0,001). Je geringer die Nierenleistung, umso häufiger ist eine Anämie nachweisbar. Im Stadium 1 der chronischen Niereninsuffizienz (NI) (ECC > 90 ml/min) wiesen 5,6%, im Stadium 2 (ECC 89 – 60 ml/min) 18%, im Stadium 3 (59 – 30 ml/min) 42%, im Stadium 4 (ECC 29 – 15 ml/min) 66% und im Stadium 5 (ECC < 15 ml/min) 83% der T2D eine Anämie auf. Die Anämie ist signifikant mit einem niedrigen HbA1c (p = 0,000), Cholesterin- (p = 0,001) und Triglyzeridspiegel (p = 0,008), einer höheren Mikroalbuminurie (p = 0,006) und Proteinurie (p = 0,04) korreliert. Bei vorliegender Anämie tritt eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) und eine diabetische Retinopathie gehäuft auf. **Schlussfolgerung:** Eine Anämie findet sich bei 55% der analysierten T2D, die eine mäßiggradige Niereninsuffizienz (NI) aufwiesen. Bereits bei leichtgradiger NI weisen 18% der Patienten eine Anämie auf. Die Häufigkeit der Anämie steigt mit nachlassender Nierenfunktion. Frauen weisen häufiger eine Anämie als Männer auf. Die vermehrte Auftreten von pAVK und diabetischer Retinopathie bei Anämie belegt die Bedeutung der frühzeitigen Diagnose und Therapie der Anämie im Rahmen einer interdisziplinären Zusammenarbeit.

131

### Vergleichende Messung der Urin-Albuminausscheidung im normo- und mikroalbuminurischen Bereich

Prat Knoll C<sup>1</sup>, Leonhardt J<sup>1</sup>, Kulozik F<sup>1</sup>, Hasslacher C<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>St. Josefskrankenhaus, Innere Medizin, Heidelberg, Deutschland

**Einleitung:** Die Mikroalbuminurie ist ein etablierter Risikomarker für renale und kardiovaskuläre Komplikationen. Neue Untersuchungen weisen darauf hin, dass insbesondere das kardiovaskuläre Risiko bereits unterhalb dieses Bereiches beginnt, wobei ein eigentlicher Schwellenwert nicht besteht. Die exakte Messung der Albuminkonzentration (AK) in derart niedrigen Bereichen ist bisher nur durch Labormethoden möglich. Für die patientennahe Sofortdiagnostik stehen bisher nur Teststreifen zur Verfügung (Micral-Test®, Microalbustix®), die die AK nur semiquantitativ wiedergeben. Für die exakte quantitative Albuminbestimmung im Urin steht für die Sofortdiagnostik seit kurzem das HemoCue Albumin 201® zur Verfügung. Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, die Albuminausscheidung bei Diabetespatienten in einem Bereich von 0 – 50 mg/l mit verschiedenen Methoden vergleichend zu messen. **Methodik:** Bei 149 Patienten mit Diabetes wurden im frisch gelassenen Morgenurin die AK mit folgenden Methoden bestimmt: nephelometrischer Immunoassay (neph.A.) = Goldstandard (Dade Behring®), HemoCue Albumin 201® (turbidimetrische Messung), semiquantitativ mit dem Micral-Test® und Microalbustix®. Ausgewertet wurden nur Urin-AK bis max. 50 mg/l. **Ergebnisse:** Bei 102 Patienten lag die AK mit dem neph.A. unter 10 mg/l, die Messungen mit dem HemoCue® stimmten in 101 Fällen damit überein. Bei 23 Pat. mit AK zwischen 10 und 20 mg/l (neph.A.) lag die AK bei HemoCue® in 3 Fällen in diesem Bereich, in 21 Fällen < 10 mg/l. Bei 24 Pat. mit AK 20 – 50 mg/l (neph.A.) stimmten die Messungen mit HemoCue® in 11 Fällen überein. Zwischen den AK-Werten mit nephelometrischer und HemoCue®-Messung bestand eine signifikante Korrelation (r = 0,8858; p < 0,0001). Bei Micral-Test® „negativ“ (n = 120) lagen die AK bei Messung mit neph.A. in 118 Fällen < 20 mg/l. Bei Micral-Test® „ca. 20 mg/l“ betrug der Mittelwert der nephelometrisch gemessene AK 20,6 mg/l, der Bereich der AK lag zwischen 4,1 und 46 mg/l. Bei Microalbustix® „10 mg/l“ betrug der Mittelwert bei