



### LB 1

#### Reduction of food intake by insulin detemir in comparison to regular human insulin

*Hallschmid M.<sup>1</sup>, Jauch-Chara K.<sup>2</sup>, Korn O.<sup>1</sup>, Lehnert H.<sup>3</sup>, Born J.<sup>1</sup>, Kern W.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Universität Lübeck, Institut für Neuroendokrinologie, Lübeck, Deutschland, <sup>2</sup>Universität Lübeck, Klinik für Psychiatrie, Lübeck, Deutschland, <sup>3</sup>Universität Lübeck, Medizinische Klinik I, Lübeck, Deutschland

**Background and aim:** Systemic insulin is considered to serve as a major negative feedback signal in the central nervous regulation of food intake. Due to its increased lipophilicity, the long-acting insulin analogue insulin detemir (DI) might cross the blood-brain barrier faster and in higher quantities than regular human insulin (RI) and exceed stronger effects on brain functions. To test this hypothesis, we recorded frontocortical EEG direct current (DC) potentials during DI and RI infusion and measured subsequent food intake.

**Methods:** Fifteen healthy, normal-weight men were examined in two hyperinsulinemic euglycemic clamp experiments taking place in the morning after an overnight fast. In both conditions, an insulin bolus injection (DI, 90 mU/kg body weight; RI, 17.75 mU/kg) was followed by a steady 90 min insulin infusion (2.0 vs. 1.0 mU/kg/min). To compensate for the relatively slower onset of the action of DI, a higher dosage was chosen to induce comparable peripheral effects of both compounds (as reflected by identical glucose infusions to maintain euglycemia;  $p > 0.93$ ). Mean blood glucose levels during the clamp period were likewise comparable between conditions ( $p > 0.38$ ). Twenty minutes after the end of infusion, subjects were allowed to eat ad libitum from a standardized breakfast buffet.

**Results:** During infusion, DI induced a negative DC potential shift that was significantly stronger compared to RI ( $p < 0.03$ ). Food intake following infusion was reduced by DI in comparison to RI infusion ( $1257 \pm 82$  vs.  $1560 \pm 139$  kcal,  $p < 0.04$ ).

**Conclusion:** Our results suggest that compared to RI, DI induces stronger effects on brain functions. This conclusion is supported by the more pronounced negative shift of EEG DC potentials observed during DI than RI infusion. In particular, DI may be assumed to exert more pronounced anorexigenic effects than RI on central nervous networks that control food intake. This mechanism may mediate the favourable effect of DI on body weight observed in clinical practice.

### LB 2

#### Postprandialer Fettgewebsblutfluss: Vergleich zweier subkutaner Fettdepots in vivo

*Manolopoulos K.N.<sup>1</sup>, Dennis A.L.<sup>1</sup>, Frayn K.N.<sup>1</sup>, Karpe F.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>University of Oxford, Oxford Centre for Diabetes, Endocrinology and Metabolism (OCDEM), Oxford, GB

**Hintergrund:** Der menschliche Körper weist unterschiedliche subkutane Fettdepots auf (abdominales und gluteofemorales Depot). Das abdominale Fettdepot ist mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von KHK, Insulinresistenz und dem metabolischen Syndrom assoziiert. Dagegen ist das gluteofemorale Depot mit protektiven Faktoren, wie niedrige Serumwerte für LDL-Cholesterin, Gesamtcholesterin, Triglyceriden und Glukose, assoziiert. Der Fettgewebsblutfluss (FBF) ist ein wichtiger Parameter im Fettgewebsmetabolismus, der den Zu- und Abfluss von Metaboliten und Adipokinen regelt. Es ist bekannt, dass Glukose oder Mahlzeiten den FBF im abdominalen Depot erhöhen. Ein differentieller FBF könnte Unterschiede im Metabolismus der beiden Depots erklären.

**Methodik:** Wir verglichen den FBF im abdominalen und femoralen Fettdepot nach oraler Einnahme von 75g Glukose in einer Gruppe junger (Alter  $28.8 \pm 11.2$ ), schlanker (BMI  $23.7 \pm 1.4$ ) Probanden ( $n=9$ , davon 6 Männer). Zur Messung des FBF benutzten wir die Standardmethode der Auswaschung von radioaktivem Xenon, das ins Fettgewebe injiziert wurde. Aus dem gemessenen zeitlichen Verfall der Radioaktivität wird, unter Berücksichtigung spezifischer Gewebefaktoren, der FBF kalkuliert. Der FBF wurde 40 Minuten vor (=präprandial) und 2 Stunden nach Einnahme der Glukose (=postprandial) gemessen.

**Ergebnisse:** Der präprandiale FBF im femoralen Depot ist niedriger als im abdominalen und zeigt postprandial ein dynamischeres Regulationsmuster als der abdominale FBF: Die Einnahme von Glukose führt zu einer Zunahme vom präprandialen Wert des FBF abdominal von maximal  $45\% \pm 29.6$  nach 80 Minuten und im femoralen Depot von maximal  $260\% \pm 120.8$  nach 60 Minuten. Der FBF beider Depots ist unabhängig von Alter und BMI. Dagegen korrelieren der abdominale und femorale

FBF signifikant positiv ( $r_s=0.8$ ,  $p=0.01$ ). Der femorale FBF korreliert mit der waist-to-hip ratio (WHR) signifikant negativ ( $r_s=-0.681$ ,  $p=0.04$ ).

**Schlussfolgerung:** Orale Glukose führt zu einer Zunahme des FBF im abdominalen und femoralen Fettdepot. Hier konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass der femorale FBF mit dem abdominalen FBF positiv korreliert. Dabei ist der gemessene präprandiale femorale FBF niedriger als der abdominale und zeigt eine höhere Modulation nach Glukosebelastung. Ein dynamischeres Regulationsmuster der Fettgewebsdurchblutung begünstigt eine differentielle Regulation der Aufnahme und Abgabe von Fettsäuren und Adipokinen im Fettgewebe in Relation zum Wechselspiel von präprandialem und postprandialem Status.

### LB 3

#### **Insulinunabhängige Hemmung der Lipolyse durch Translokation von cAMP-abbauenden Enzymen von der Zelloberfläche zu Lipidtröpfchen und Mikropartikeln in Adipozyten**

*Müller G.<sup>1</sup>, Wied S.<sup>1</sup>, Jung C.<sup>1</sup>, Nikolova D.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Sanofi-Aventis Pharma Deutschland, Department Metabolism, Frankfurt am Main, Deutschland

**Fragestellung und Methodik :** Die Freisetzung von Fettsäuren und Glycerin aus Lipidtröpfchen der Adipozyten (Lipolyse) ist durch eine Vielzahl von gegenregulatorischen Signalen (z.B. Insulin) und negativen Rückkopplungsmechanismen (z.B. Palmitat) strikt kontrolliert und in Typ 2 diabetischen Patienten signifikant erhöht. Die molekularen Mechanismen von drei verschiedenen anti-lipolytischen Agenzien wurden durch biochemische und zellbiologische Untersuchungen an Adipozyten der Ratte charakterisiert.

**Ergebnisse:** Die Inhibition der Isoproterenol-stimulierten Lipolyse durch Palmitat, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und den anti-diabetischen Sulfonylharnstoff, Glimepirid, beruht auf dem Abbau von cAMP in Adenosin durch die Glykosylphosphatidylinositol (GPI)-verankerte Phosphodiesterase, Gce1, und 5'-Nukleotidase, CD73. Die Analyse ihrer Gleichgewichtsverteilung nach Photoaffinitätsmarkierung und Aktivitätsbestimmung, wie auch ihrer Umverteilung nach metabolischer Markierung (Puls oder Gleichgewicht) ihrer GPI-Anker zeigt die Palmitat-, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- und Glimepirid-induzierte Translokation von Gce1 und CD73 mit intaktem GPI-Anker von speziellen Domänen der Plasmamembran ("Lipid Rafts") zu den Lipidtröpfchen. Die Translokation von Gce1 und CD73 und die damit einhergehende Inhibition der Lipolyse erfordert die Spaltung der GPI-Anker von nicht-translozierten GPI-Proteinen durch eine GPI-spezifische Phospholipase C (GPI-PLC). Die Lokalisierung von Gce1 und CD73 an den Lipidtröpfchen ist nur vorübergehend, da beide Proteine mit intaktem GPI-Anker in Mikropartikel verpackt durch Vesikularisierung der Plasmamembran ("Shedding") von den Adipozyten in das Inkubationsmedium abgegeben werden. Die Mikropartikel enthalten darüberhinaus Phospholipide und typische Proteine der Lipidtröpfchen (Perilipin-A), Lipid Rafts (Caveolin-1), Plasmamembran (Tetraspanin), des Zytoskeletts (Aktin) und Zytosols (Hitzeschockprotein 90). Inkubation von Adipozyten mit isolierten Mikropartikeln aus Adipozyteninkubationsmedium führt zum Transfer von Gce1 und CD73 von den Mikropartikeln zu den Lipid Rafts und Lipidtröpfchen der Empfängerzellen. Dies geht einher mit der Verringerung der Isoproterenol-stimulierten Lipolyse, die durch Inkubation mit Palmitat, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und Glimepiride weiter verstärkt wird.

**Schlussfolgerungen:** Adipozyten der Ratte besitzen einen Insulin-unabhängigen Mechanismus der Lipolyse-Hemmung, der auf der GPI-PLC-abhängigen Translokation von (c)AMP-abbauenden GPI-Proteinen von der Zelloberfläche zu den Lipidtröpfchen beruht (intrazelluläre Kommunikation). Diese anti-lipolytische Information wird durch Gce1- und CD73-enhaltende Mikropartikel an andere Adipozyten weitervermittelt (interzelluläre Kommunikation). Diese Ergebnisse werfen neues Licht auf Biogenese und Abbau von Lipidtröpfchen in Säugeradipozyten in Reaktion auf physiologische und pharmakologische Agenzien und könnten Angriffspunkte für eine zukünftige Diagnose (Mikropartikel) und Therapie (Gce1/CD73 Translokation) von Typ 2 Diabetes liefern.

### LB 4

#### **Nichtinvasive in vivo studien der Biology pankreatischer Inselzellen**

*Speier S.<sup>1</sup>, Nyqvist D.<sup>1</sup>, Cabrera O.<sup>2</sup>, Moede T.<sup>1</sup>, Köhler M.<sup>1</sup>, Leibiger B.<sup>1</sup>, Ricordi C.<sup>2</sup>, Leibiger I.<sup>1</sup>, Caicedo A.<sup>2</sup>, Berggren P.-O.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Karolinska Institute, The Rolf Luft Research Center for Diabetes and Endocrinology, Stockholm, Sweden, <sup>2</sup>University of Miami, Diabetes Research Institute, Miami, USA

**Fragestellung:** Unter physiologischen Bedingungen wird die Freisetzung von Insulin durch Glukose und komplexe Interaktionen einer Vielzahl autokriner, parakriner, hormoneller und nervöser Faktoren reguliert. Die Mehrzahl der funktionellen Studien an Betazellen wurde bisher jedoch an isolierten Inseln oder Zellen durchgeführt, welchen Signale durch das vasculäre oder nervöse System fehlen. Um die Komplexität der Signaltransduktion von Betazellen und die Mechanismen der Insulinfreisetzung in Gesundheit und Krankheit zu verstehen, müssen funktionelle Studien an

vaskularisierten und innervierten Inseln in vivo durchgeführt werden. Seit einigen Jahren werden Vorstöße unternommen Zellfunktion in vivo unter Gebrauch von bildgebenden Verfahren zu untersuchen. Leider missen nichtinvasive Techniken bis heute die nötige Auflösung und hochauflösende Verfahren können pankreatische Inseln in vivo schwerlich erreichen. Unsere neuartige Vorgehensweise besteht in der nichtinvasiven Abbildung pankreatischer Inseln mit hochauflösender Laser Scanning Mikroskopie (LSM), nachdem die Inseln in die vordere Augenkammer transplantiert wurden. Dabei nutzten wir die Kornea als natürliches Körperfenster.

**Methodik:** Isolierte Inseln wurden mit einer Injektion durch die Kornea in die vordere Augenkammer transplantiert. An spezifischen Zeitpunkten nach Transplantation wurden die Inseln durch die Kornea der anesthetisierten Maus, mit Confokaler und Zwei-Photonen LSM, abgebildet. Um LSM zu ermöglichen wurden transgene Mäuse, die fluoreszente Proteine exprimieren, verwendet und fluoreszente Indikatoren über die Blutbahn oder Perfusion der vorderen Augenkammer appliziert.

**Ergebnisse:** Diabetische Mäuse wurden nach Transplantation von Langerhansschen Inseln in die vordere Augenkammer normoglykämisch. Weiterhin zeigten diese Mäuse physiologische Reaktionen zu Glukosetoleranztests. Wir konnten die Morphologie und Revaskularisierung transplanteder Inseln longitudinal verfolgen. Dabei beobachteten wir die Bildung eines dichten vaskulären Netzwerkes innerhalb von 28 Tagen. Ausserdem war es uns möglich wiederholt in Betazellen der selben Insel, nach systemischer Stimulation mit Glibenclamid, Änderungen in der freien zytoplasmatischen Kalziumkonzentration zu messen. Zuletzt beobachteten wir, nichtinvasiv, chemisch induzierten Zelltod nach systemischer Injektion eines Betazellgiftes.

**Schlussfolgerungen:** Wir haben eine neuartige Plattform fuer nichtinvasive und longitudinale Studien der Biology von Betazellen eingefuehrt. In Zukunft wird dies nicht nur die Untersuchung modulierender Faktoren der Betazellfunktion ermöglichen, sondern auch nichtinvasive Studien von Funktion und Ueberleben der Betazelle unter physiologischen und diabetischen Bedingungen. Zusätzlich erlaubt es in vivo Studien von Inseltransplantation und die Effekte physiologischer und pathologischer Faktoren darauf. Schliesslich kann es als experimentelles in vivo System zum Testen von Medikamenten genutzt werden.

## LB 5

### Induktion von Stress im endoplasmatischen Retikulum von INS-1 Zellen und humanen Inseln durch Glukose, TNF- $\alpha$ und IL-1 $\beta$

*Erbel S.<sup>1</sup>, Reers C.<sup>1</sup>, Jansky G.L.<sup>1</sup>, Nawroth P.P.<sup>1</sup>, Ritzel R.A.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universität Heidelberg, Klinik für Innere Medizin I und Klinische Chemie, Heidelberg, Deutschland

**Einleitung:** Der Diabetes mellitus Typ 2 ist durch Insulinresistenz, Betazell dysfunction und ein Betazelldefizit durch Apoptose gekennzeichnet. Eine wichtige Ursache dafür ist chronischer Betazellstress, insbesondere im endoplasmatischen Retikulum (ER). Auslöser von chronischem Betazellstress sind Insulinresistenz und Hyperglykämie, neuere Untersuchungen sprechen auch für eine Rolle der Adipokine.

**Fragestellung:** 1) Welche Stress-Signalwege werden in Betazellen im ER durch Glukose und/oder Adipokine aktiviert?

2) Wird die Betazellfunktion und das Betazellüberleben durch Betazellstress eingeschränkt?

3) Kann die Induktion von Betazellstress durch das Inkretinmimetikum Exenatide verhindert werden?

**Methodik:** INS-1 Zellen wurden bei 11 und 30mM Glukose und TNF- $\alpha$  (100ng/ml) oder IL-1 $\beta$  (50U/ml) über 1 Stunde statisch inkubiert (n=3 Experimente). Mittels Western Blot wurde die Expression von Stressmarkern des ERs (p-eIF2 $\alpha$ , p-JNK) bestimmt. Isolierte humane Inseln (n=3 Spender) wurden mit Glukose (5 und 30mM) und TNF- $\alpha$  (10ng/ml) oder IL-1 $\beta$  (50U/ml) über 48 Stunden statisch inkubiert. Humane Inseln wurden hinsichtlich ihrer Funktion (Insulinsekretionsanalyse) und Morphologie (TUNEL, CHOP) untersucht. Zusätzlich wurden humane Inseln unter identischen Bedingungen mit Exenatide (50nM) inkubiert.

**Ergebnisse:** In INS-1 Zellen wurden verschiedene Stress Signalkaskaden des ERs aktiviert: Die Expression von p-eIF2 $\alpha$  wurde durch 30mM Glukose um 32 $\pm$ 14% (p=0.07), durch TNF- $\alpha$  um 64 $\pm$ 14% (p=0.02) und durch IL-1 $\beta$  um 129 $\pm$ 15% (p=0.007, jeweils versus Kontrolle) gesteigert. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich für p-JNK (Glukose +27 $\pm$ 12%, p=0.08; TNF- $\alpha$  +53 $\pm$ 9%, p=0.01; IL-1 $\beta$  +163 $\pm$ 64%, p=0.06). In humanen Inseln wurde der ER-Stressmarker CHOP (perinukleär bzw. nukleär) durch 30 mM Glukose und TNF- $\alpha$  jeweils auf das 5- bzw. 8-fache (p<0.01 für alle Gruppen) und durch IL-1 $\beta$  auf das 6- bzw. 15-fache (p<0.001) gesteigert. Die Inseln funktion war nach 48h Inkubation mit TNF- $\alpha$  eingeschränkt (um 55 $\pm$ 3%, p<0.0001), während nach Inkubation mit 30mM Glukose oder IL-1 $\beta$  keine Funktionsveränderungen beobachtet wurden (p=n.s.). Analysen des Apoptosemarkers TUNEL zeigten eine erhöhte Apoptoseaktivität nach Inkubation mit 30mM Glukose oder TNF- $\alpha$  (Kontrolle: 1.2 $\pm$ 0.3% TUNEL-positive Zellen/Insel; 30mM Glucose: 2.9 $\pm$ 0.4%, p=0.003; TNF- $\alpha$ : 2.6 $\pm$ 0.4%, p=0.01), aber nicht nach IL-1 $\beta$  (1.9 $\pm$ 0.4%, p=0.15). Durch Inkubation mit Exenatide wurde die Stressinduktion in humanen Inseln (CHOP) in allen Gruppen reduziert (p<0.05). Die Zahl TUNEL-

positiver Zellen wurde durch Exenatide innerhalb von 48 h Inkubation nicht verändert.  
**Schlussfolgerung:** Glukose, TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  induzieren in Betazellen unterschiedliche ER-Stress Signalkaskaden. Durch Aktivierung des GLP-1 Rezeptors wird ER-Stress in Betazellen reduziert. ER-Stress, Betazellfunktion und Betazellapoptose werden jedoch nicht parallel reguliert.

## LB 6

### DRGs und Outcomes in der pädiatrischen Diabetologie

*Jcks A.<sup>1</sup>, Haastert B.<sup>2</sup>, Beyer P.<sup>3</sup>, Giani G.<sup>1</sup>, Grabert M.<sup>4</sup>, Holl R.<sup>4</sup>, DPV Wiss Initiative*

<sup>1</sup>Deutsches Diabetes-Zentrum, Institut für Biometrie und Epidemiologie, Düsseldorf, Deutschland,

<sup>2</sup>mediStatistica, Neuenrade, Deutschland, <sup>3</sup>Kinderklinik Oberhausen, Oberhausen, Deutschland,

<sup>4</sup>Universität Ulm, Institut für Epidemiologie, Ulm, Deutschland

**Fragestellung:** Seit 2003 wurden DRG's flächendeckend eingeführt. Potentielle Auswirkungen auf die Versorgung bei kindlichem Typ 1-Diabetes sind bisher nicht untersucht.

**Methodik:** Basis ist eine Kohorte aller Patienten aus pädiatrischen Kliniken der DPV-Initiative im Zeitraum 2000-2006. Klinische Zielvariablen und der Einfluss von DRGs sowie konfundierenden Variablen wurden mittels multivariater Analysen analysiert. Zur Berücksichtigung der Abhängigkeitsstrukturen innerhalb der Zentren und durch Messwiederholungen wurden gemischte (verallgemeinerte) lineare und Poisson Regressionsmodelle angepasst.

**Ergebnisse:** Bisher liegen Daten zum Zeitpunkt der DRG-Einführung aus 65 Zentren vor. Im Zeitraum wurden 10.377 Patienten betreut (53% männlich, Alter bei Erstkontakt  $10,2 \pm 4,1$  Jahre, Diabetesdauer  $2,2 \pm 3,2$  Jahre). Der mittlere HbA1c lag bei 7,8% ( $\pm 1,5$ ). Inzidenzen (pro Personenjahr, 95% Konfidenzintervall) waren 0,27 (0,26-0,28) für schwere Hypoglykämien, 4,76 (4,73-4,79) für ambulante Kontakte, 0,44 (0,44-0,45) für stationäre Aufenthalte, und 2,48 (2,47-2,50) für stationäre Tage. Signifikante Zusammenhänge fanden sich zwischen DRG-Einführung und Inzidenzen schwerer Hypoglykämien (die Reduktion über die Kalenderjahre mit relativen Risiken (RR) gegenüber dem Jahr 2000 zwischen 0,76 (95% Konfidenzintervall 0,52-1,12, Jahr 2001) und 0,21 (0,12- 0,38, Jahr 2006) verringerte sich, RR: 1,85, 1,23-2,78) sowie ambulanter Kontakte (ebenfalls Verringerung der Reduktion über die Kalenderjahre, RR 1,08; 1,02-1,14). Keine signifikanten Zusammenhänge zeigten sich zwischen DRG-Einführung und HbA1c sowie stationären Aufenthalten und Tagen (jeweils adjustiert für Geschlecht, Alter, Diabetesdauer und Kalenderjahr).

**Schlussfolgerungen:** In den vorläufigen Auswertungen fanden sich Hinweise auf eine Veränderung von Versorgungsprozessen und klinischen Parametern im Zeitraum nach Einführung von DRGs. Die Ergebnisse müssen vor dem Hintergrund der komplexen Auswertung interpretiert werden. Die Daten der ausstehenden Zentren sind abzuwarten.

## LB 7

### Wirksamkeit von Etofibrat in der Behandlung der Retinopathia diabetica

*Emmerich K.-H.<sup>1</sup>, Poritis N.<sup>2</sup>, Stelmane I.<sup>3</sup>, Klindzane M.<sup>4</sup>, Erbler H.<sup>5</sup>, Goldsteine J.<sup>6</sup>, Görtelmeyer R.<sup>7</sup>*

<sup>1</sup>Klinikum Darmstadt, Augenklinik, Darmstadt, Deutschland, <sup>2</sup>Central Ophthalmologist, Riga, Lettland,

<sup>3</sup>MD, Riga, Lettland, <sup>4</sup>Baltic Institute of Pharmaceutical Investigation and Consulting, Riga, Lettland,

<sup>5</sup>Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Medizinische Hochschule, Hannover, Deutschland, <sup>6</sup>Baltic Institute of Pharmaceutical Investigation and Consulting, Riga, Lettland,

<sup>7</sup>Department of Scientific Methodology & Evaluation, Merz Pharmaceuticals GmbH, Frankfurt, Deutschland

**Ziel:** Die diabetische Retinopathie ist eine schwere Spätkomplikation mikrovaskulärer Veränderungen, die durch einen Diabetes mellitus hervorgerufen wird. Es stehen derzeit keine kurativen Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung. Bekannt ist, dass hohe Serumlipidwerte (z.B. Cholesterin) eine höhere Inzidenz und Schwere der Entwicklung einer diabetischen Makulopathie bei Diabetikern zeigen.

Die vorliegende randomisierte, plazebo-kontrollierte, Doppelblindstudie mit fast 300 Patienten, sollte den Effekt einer oralen Etofibrat-Therapie, in Bezug auf die Verbesserung der diabetischen Retinopathie bei Diabetes mellitus Typ II und der exsudativen diabetischen Makulopathie untersuchen.

**Methodik:** Etofibrat (Lipo-Merz®) ist eine oral zu verabreichende Substanz zur Behandlung von Lipidstoffwechselstörungen und wird seit mehr als 30 Jahren in dieser Indikation eingesetzt. In dieser Studie wurden über 10.000 Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ II untersucht und schließlich 296 Patienten randomisiert und in die Studie eingeschlossen. Einschlusskriterium war das Bestehen einer diabetischen Retinopathie und gleichzeitiger Fettstoffwechselstörung. Die Patienten erhielten

entweder 1000 mg Etofibrat pro Tag oder Plazebo und wurden über 12 Monate internistisch und ophthalmologisch untersucht (5 Visiten).

**Ergebnisse:** Nach 12 Behandlungsmonaten zeigte ein deutlich höherer Anteil der behandelten Patienten („Etofibratgruppe“) eine Verbesserung des ophthalmologischen Befundes (46% versus 32%,  $p < 0.001$ ). Außerdem zeigte sich ebenfalls eine signifikante Verbesserung der Serumlipidwerte im Vergleich zur Plazebogruppe.

**Schlussfolgerung:** Etofibrat kann unserer Meinung nach als sicheres und effektives Medikament zur Behandlung der diabetischen Retinopathie bei Diabetes mellitus Typ II angesehen werden.

## LB 8

### Markierung Insulin sezernierender INS-1E Zellen und muriner Langerhans-Inseln mit Resovist® zur nicht invasiven MR-Bildgebung

*Auer V.J.<sup>1</sup>, Schremmer-Danninger E.<sup>1</sup>, Bucher J.N.<sup>1</sup>, Schantz N.<sup>1</sup>, Raggi M.C.<sup>2</sup>, Reiser M.<sup>3</sup>, Stangl M.J.<sup>2</sup>, Berger F.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Technische Universität München, IMETUM Zentralinstitut für Medizintechnik, Garching, Deutschland,

<sup>2</sup>Technische Universität München, Transplantationschirurgie, München, Deutschland, <sup>3</sup>Ludwig-Maximilians-Universität München, Institut für klinische Radiologie, München, Deutschland

**Fragestellung:** Inseltransplantation als Therapie des Typ 1 Diabetes mellitus stellt bei ausgewählten Patienten eine Methode zur Verbesserung des Glukosestoffwechsels und zur Vermeidung schwerer Hypoglykämien dar. Der nicht invasive Nachweis von Ort, Verteilung und Viabilität der transplantierten Inseln *in vivo* nach Transplantation ist nötig, um das Transplantatüberleben zu verfolgen. Die MR-Bildgebung hat das Potential, magnetisch markierte Inseln zu visualisieren, da sie eine hohe räumliche Auflösung und einen hohen Bildkontrast bietet. Ziel der Studie war es, Viabilitätsassays und Protokolle zur *in vitro* Markierung und Visualisierung zu etablieren. Als Modell für mögliche, klinische Anwendungen dienten die Insulin sezernierenden INS-1E Zellen und murine Inseln, die mit FDA zugelassenen SPIOs behandelt und *in vitro* in einem klinischen Scanner visualisiert wurden.

**Methodik:** Zur *in vitro* Markierung der INS-1E Zellen wurden diese 3 Tage mit Ferucarbotran-Konzentrationen von 12,5µg/ml bis 1000µg/ml im Kulturmedium inkubiert. Die Aufnahme der SPIOs wurde gemessen, indem magnetisch markierte INS-1E Zellen von nicht markierten Zellen mit Hilfe eines Dauermagnets getrennt wurden. Die Viabilität der Zellen untersuchten wir mittels einer Doppelfärbung mit Ethidiumbromid zum Nachweis toter Zellen und Calcein AM zum Nachweis lebender Zellen und weiter mit einem WST-1 Test. Murine Primärinseln wurden mit 10µl/ml Resovist® im Kulturmedium inkubiert. Die statische Inkubation zur Beurteilung der Glukose stimulierten Insulinsekretion diente zu Testung der Zellfunktion. Zur Visualisierung im MRT wurde eine Schicht markierter INS-1E Zellen bzw. 5 bis 10 markierte Inseln zwischen zwei Schichten 4%iger Gelatine gebracht. Mit Hilfe des Kalziumindikators Fluo-3 wurde die intrazelluläre Kalziumkonzentration als Antwort auf Glukose untersucht.

**Ergebnisse:** SPIO markierte INS-1E Zellen zeigten keine veränderte Viabilität oder reduzierte Glukose stimulierte Insulinsekretion *in vitro*. Doppelfärbungen ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen markierten und nicht markierten Zellen. Dieses Ergebnis wurde erfolgreich durch den WST-1 Test bestätigt. Die Visualisierung der SPIO markierten INS-1E Zellen und Inseln erfolgte *in vitro* in einem klinischen 3T Scanner. Diabetische Ratten wurden nach Transplantation von 500 bis 1000 Inseln normoglykämisch. T2\*-gewichtete MRT Protokolle zur Visualisierung transplantierte Inseln in Ratte werden entwickelt.

**Schlussfolgerung:** Die Markierung Insulin sezernierender INS-1E Zellen und muriner Inseln verändert nicht deren Viabilität. Sie ermöglicht aber im MRT Bildkontrast.

## LB 9

### A simple test to differentiate GLP-1 and GIP effects on the endocrine pancreas

*Berg S.<sup>1</sup>, Heinke P.<sup>1</sup>, Salzsieder E.<sup>1</sup>, Kohnert K.-D.<sup>1</sup>, Freyse E.-J.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Institut für Diabetes 'Gerhardt Katsch' Karlsburg, Karlsburg, Deutschland

**Background:** Effects of GLP-1 and GIP were too seldom compared under comparable experimental and clinical conditions. The injection test was applied to measure the relative insulin response after GLP-1 and GIP bolus followed by an uniform glucose stimulus. It should be clarified, how far the test is suited to elaborate a dose-response-relationship.

**Methods:** In catheterized Wistar rats, GLP-1 ((7-36) amide; Neo MPS; Strasbourg, France) or GIP (Probiodrug AG, Halle/Saale, Deutschland), solved in 0.1 % BSA in saline, were injected followed by an IVGTT (intra-vasal glucose tolerance test; 0.4 g/kg b.w. glucose) at 0 min. Arterial blood for blood glucose (BG) and plasma insulin (I) were taken (-5, 0 min and 1, 2, 5, 10, 15, 25, 40 and 60 min).

AUC0-25min were calculated, insulinogenic Index (il; quotient of insulin and blood glucose area (ng/mmol)) and glucose assimilation coefficient KG (%/min; Conard (1955)) were calculated from IVGTT. To compare treatment groups with the control group, the two-tailed t-test with Bonferroni-Holm correction was chosen. Within-group changes were tested by t-test, a \*p<0.05 was considered significant.

**Results:** GIP led to a dose (0 to 8 nmol/kg b.w.) dependent increase of glucose efflux (G-AUC0-25min; 0: 202±20, 0.5: 186±22, 1.0: 169±32\*, 1.5: 186±24, 2.0: 149±12\*, 4.0: 141±13\*, 8: 136±7\* mmol•min/ml) and glucose stimulated insulin secretion (I-AUC0-25min; 0: 57±27, 0.5: 43±21, 1: 58±13, 1.5: 75±62, 2: 252±85\*, 4: 232±122\*, 8: 425±133\* ng•min/ml), as confirmed by KG (0: 13.63±2.74, 0.5: 12.36±1.42, 1: 12.72±2.74, 1.5: 12.86±1.98, 2: 18.37±2.11\*, 4: 18.96±2.65\*, 8: 19.20±2.28\* %/min) and il (0: 0.47±0.30, 0.5: 0.24±0.12, 1: 0.67±0.90, 1.5: 0.44±0.44, 2: 2.14±1.14\*, 4: 1.60±0.70\*, 8: 3.14±1.13\*ng/mmol). GLP-1 tests ( 0, 2 and 4 nmol/kg) resulted in lower glucose efflux (G-AUC0-25min; 0: 198±22, 2.0: 195±8, 4.0: 209±30 mmol•min/ml; KG, 0: 6.23±1.81, 2: 6.67±2.75, 4: 8.11±2.72 %/min) and insulin responses (I-AUC0-25min; 0: 65±42, 2: 65±16, 4: 76±32 ng•min/ml; il, P: 0.34±0.26, 2: 0.34±0.09, 4: 0.39±0.23 ng/mmol). Thus, about 1.5 nmol GIP and 4 nmol GLP-1 raised insulin secretion to a comparable extent (I-AUC0-25min 75±62 vs. 76±32 ng•min/ml; il 0.44±0.44 vs. 0.39±0.23 ng/mmol; NS) in healthy Wistar rats.

**Conclusion:** The tests identify dose dependent effects of incretins, but whether a strong linearity exists has to be investigated in further detailed tests. GLP-1 seems to stimulate less efficiently than GIP insulin secretion after the glucose stimulus in Wistar rats. More tests are necessary to find the optimal time window for the hormonal effects of GLP-1 and GIP.

We thank S. Manhardt from Probiodrug AG in Halle/Saale, who synthesized the GIP compound.