



Postersitzung 21 a: Late-Breaking-Abstracts "Klinische Diabetologie"

Freitag, 03. Juni 2011, 13.00 – 14.00 Uhr

Messehalle 2

Vorsitz: A. Risse, Dortmund

P 280

Häufigkeit und Schwere des Diabetischen Fuß - Syndrom (DFS) bei 120293 Menschen mit Typ1- oder Typ2 Diabetes mellitus. Eine multizentrische Auswertung des DPV - Datensatzes 2005 – 2010

Risse A.¹, Holl R.², Fach E.M.³, Hungele A.², DPV Studiengruppe
¹Medizinische Klinik NORD, Diabetologie, Dortmund, Germany, ²Universität Ulm, Institut für Epidemiologie, Ulm, Germany, ³Diabetes Schwerpunktpraxis, Rosenheim, Germany

Im DPV (Diabetes Patienten Verwaltung), einer elektronischen Patientenakte werden diabetes - relevante Daten erfasst.

Methode: Anonymisierte Patientendaten werden gepoolt ausgewertet. Teilnehmerin Deutschland n= 313 (Kliniken, DSP) teil. Die Daten spiegeln eine selektive Population von Diabetologen und damit eine selektive Patientenpopulation. Der Datensatz ist für klinische Zwecke und praktische Arbeit mit einzelnen Patienten konzipiert. Die gepoolten Daten ermöglichen damit nur Vergleich und Hypothesengenerierung, keinesfalls Konstruktion von Kausalzusammenhängen. Da ein bundesweites Register fehlt, von vielen Denkstilgruppen Daten erhoben werden, sollen die vorgelegten Ergebnisse als Beitrag zu einer übergeordneten Diskussion verstanden werden.

Ergebnisse: Von 2005 bis 2010 wurden n = 120293 Patienten dokumentiert (T1D: 17468, T2D: 102825 ; m=51%, w=49%; T1D= 38,9J.; T2D= 68,4J). 4.4% T1D bzw. 7.3 % T2D litten an DFS. Bei T1DM wurden 79.9% der Patienten in die Wagner-Stadien 1 und 2, 20.1 % in höhere Stadien eingruppiert. Bei T2DM lag dieser Anteil mit 29.4 % deutlich höher. Die Verteilung der ätiologisch relevanten Parameter des DFS war: T1D: PNP: 91,1%, paVk: 59,7%; PNP + paVk: 57,4%, reine paVk: 2,3%. Bei T2D: PNP: 84,7%, paVk: 59,6%; PNP + paVk: 54,1%, reine paVk: 5,5%. Die Häufigkeit des DFS bei Menschen mit T2DM war bei Männern um 60 % höher als bei Frauen und stieg mit längerer Diabetesdauer und höherem Manifestationsalter signifikant an (alle p < 0.0001). Adjustiert für diese demographischen Variable waren Hypertension (+123 %), Phasen schlechter Stoffwechseleinstellung (+29.2 %) sowie Zigarettenrauchen (+14.6%) jeweils signifikant mit der Häufigkeit des DFS bei T2DM assoziiert (logistische Regressionsanalyse, alle p< 0.002). Bei T1DM lag das Risiko bei Männern um 33 % höher, Hypertension (+229%), erhöhte HbA1c-Werte (+80.4%), Adipositas (+91.3%) und Dyslipidämie (+46.9 %) korrelierten mit dem Risiko für DFS (alle p< 0.0002).

Diskussion: DFS nicht selten. Das häufige Vorkommen der paVk findet sich gleichermaßen in der Literatur. Die sehr geringe Anzahl reine paVk zeigt erneut, daß die wesentliche, notwendige und hinreichende Bedingung für die DFS - die diabetogene Polyneuropathie (anthropologische Konsequenz: Leibesinselschwund) ist. Auch nach erfolgreicher Therapie einer paVk bleibt die PNP als Rezidivursache bestehen. Das deutliche Überwiegen der Männer ist wahrscheinlich auf die höhere Prävalenz der paVk bei Männern in der Allgemeinbevölkerung (CAPRIE, 1996) zurückzuführen. Dies ist wahrscheinlich auch die Erklärung für das doppelt so hohe Amputationsrisiko bei Männern (Resnick, 2004). Die hier vorgestellten Routinedaten aus der spezialisierten diabetologischen Versorgung korrespondieren folglich mit aktuellen klinikbasierten und populationsbezogenen Studien.



P 281

Die Behandlung von hochgradig adipösen PatientInnen mit langkettigen n-3 Fettsäuren reduziert die Fettgewebsexpression und Serumkonzentration von Entzündungsmarkern ohne Auswirkungen auf die Insulinsensitivität

Itariu B.K.¹, Vangala S.¹, Zeyda M.¹, Hochbrugger E.¹, Neuhofer A.¹, Prager G.², Stulnig T.¹

¹Medizinische Universität Wien/ Universitätsklinik für Innere Medizin III, Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel, Wien, Austria, ²Medizinische Universität Wien/ Universitätsklinik für Chirurgie, Wien, Austria

Eine chronische geringgradige Entzündungsreaktion bei Adipositas ist ein bedeutender Risikofaktor für die Entwicklung von Insulinresistenz und Typ 2 Diabetes mellitus. Die Fettgewebsentzündung ist durch die Akkumulation von Entzündungszellen und eine erhöhte Expression von Entzündungsmediatoren im Fettgewebe gekennzeichnet. Langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren der n-3 Familie (hier n-3-FS genannt) wirken entzündungshemmend und verbessern in Tierversuchen die Insulinsensitivität. Eine Behandlung adipöser Patienten mit n-3-FS könnte die systemische und lokale Entzündung vermindern und sich so positiv auf den Glucosestoffwechsel auswirken. In unserer klinischen Studie wurden 49 hochgradig adipöse Patienten ohne Diabetes randomisiert über acht Wochen mit 3,6 g/d n-3-FS (EPA, DHA) oder mit derselben Menge an Butterfett als Kontrolle behandelt. Am Ende der Behandlung wurde ein geplanter bariatrischer Eingriff durchgeführt, im Rahmen dessen viszerale und subkutane Fettgewebeproben entnommen wurden. Die Fettgewebsexpression von entzündlichen Genen (MCP-1, CCL-3, CD68, IL-6, TNF-alpha und HIF1-alpha) wurde mittels quantitativer real-time-PCR analysiert. Zirkulierende Entzündungsmarker wie IL-6 und hsCRP wurden am Anfang und am Ende der Behandlung bestimmt. Analog wurden oGTTs durchgeführt und Insulinsensitivitäts/-resistenz Indices wie HOMA-IR, CLIX und OGIS berechnet. Zur statistischen Auswertung haben wir den ungepaarten Student's t-Test bzw. die repeated measures ANOVA verwendet.

Im subkutanen Fettgewebe der mit n-3-FS behandelten Patienten zeigte sich eine signifikant verringerte Genexpression der Chemokine MCP-1 und CCL-3 und des Transkriptionsfaktors HIF-1a (jeweils $p \leq 0,05$). Die Genexpression der Zytokine IL-6 und TNF-alpha war grenzwertig signifikant reduziert ($p < 0,09$). Die Plasmakonzentration von IL-6 sank durch n-3-FS Behandlung signifikant ($-1,3 \pm 0,59$ pg/ml vs. $+0,03 \pm 0,33$ pg/ml, $p = 0,04$), jedoch blieb die hsCRP-Konzentration unverändert. Keine behandlungsbedingte Unterschiede zeigten sich zwischen den Gruppen bei allen untersuchten Indices zur Insulinsensitivität. Unseren Daten zeigen, dass n-3-FS zu einer lokalen sowie auch systemischen Verminderung der Adipositas-assoziierten Entzündung führen. Die Entzündungshemmung war in dieser Studie nicht von Veränderungen der Insulinsensitivität begleitet, was möglicherweise auf eine unzureichende Dosis oder Dauer der Behandlung zurückgeführt werden könnte.

Unterstützt von der ÖNB (Projekt Nr. 12735) und der Europäischen Kommission (FP7/2007-2013; Grant n° 201608; beide an TMS).



P 282

Cost-effectiveness of angiotensin-converting-enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers in newly diagnosed type 2 diabetes in Germany

Adarkwah C.C.^{1,2,3}, Gandjour A.^{2,4,5}

¹RWTH Universitätsklinikum Aachen, Medizinische Klinik III, Aachen, Germany, ²Institut für Gesundheitsökonomie und klinische Epidemiologie, Universität zu Köln, Köln, Germany, ³Maastricht University, Faculty of Health, Medicine and Life Science, Maastricht, Netherlands, ⁴Louisiana State University, Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, United States, ⁵Rice University, The James A. Baker III Institute for Public Policy, Houston, United States Minor Outlying Islands

Objective: Type 2 diabetes is the main cause of end-stage renal disease (ESRD) in Europe and the USA. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors slow down the progression of renal disease and therefore provide a renal-protective effect. However, uncertainty exists concerning the best time to start with ACE-inhibitor therapy. Furthermore, about 10% of patients develop ACE-inhibitor induced cough and thus are eligible for more expensive angiotensin II receptor blockers (ARBs). The aim was to assess the most cost-effective time to start an ACE inhibitor (or ARB therapy in the event of cough) in patients with type 2 diabetes in Germany.

Methods: Three strategies were compared: treating all patients at the time of diagnosing diabetes, screening for microalbuminuria, and screening for macroalbuminuria. A lifetime Markov decision model with simulated 50-year-old patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus was developed using published data on costs and health outcomes and simulating the progression of renal disease with costs and benefits discounted at 3%. A statutory health insurance perspective was adopted. Quality-adjusted life expectancy, lifetime costs, and cost-effectiveness were the main outcomes.

Results: In the base-case analysis, the treat-all strategy is associated with the lowest costs and highest benefit and therefore dominates screening both for macroalbuminuria and microalbuminuria. A multivariate sensitivity analysis shows that the probability of savings is 89%.

Conclusions: Patients with type 2 diabetes should receive an ACE inhibitor immediately after diagnosis if they do not have any contraindications. The potential for cost savings (ie, reductions in health care expenditures) would be even larger if the prevention of cardiovascular events were considered.

P 283

Einfluss des TaqIA Polymorphismus im Dopamin D2 Rezeptor-Gen auf den Erfolg eines Gewichtsreduktionsprogrammes bei schwerer Adipositas

Winkler J.K.¹, Woehning A.¹, Schultz J.-H.², Roeder E.³, Nawroth P.P.¹, Wolfrum C.³, Rudofsky G.¹

¹Universitätsklinikum Heidelberg, Abteilung Innere Medizin I und Klinische Chemie, Heidelberg, Germany, ²Universitätsklinikum Heidelberg, Abteilung für Allgemeine Innere Medizin und Psychosomatik, Heidelberg, Germany, ³ETH Zürich, Institut für Lebensmittelwissenschaften, Ernährung und Gesundheit, Schwerzenbach, Switzerland

Fragestellung: Es wird angenommen, dass das Dopaminsystem im Striatum eine wichtige Rolle bei der Regulation des Essverhaltens und des Appetits spielt. Ferner ist bekannt, dass das A1-Allel der Genvariante rs1800497 im Dopamin D2 Rezeptor (DRD2) Gen mit einer



reduzierten Anzahl an Bindungsstellen für Dopamin im Striatum assoziiert ist. Beschrieben ist eine positive Assoziation zwischen BMI und dem Vorhandensein des DRD2 A1 Allels des SNP. Das A1-Allel scheint außerdem die Entwicklung eines pathologischen Essverhaltens zu begünstigen. Untersucht werden sollte der Einfluss des Polymorphismus auf den Gewichtsverlauf bei adipösen Patienten, die an einem konservativen Gewichtsreduktionsprogramm (OPTIFAST®52) teilnahmen.

Methodik: Bei adipösen Teilnehmern eines einjährigen Gewichtsreduktionsprogramms (OPTIFAST®52) wurde der TaqIA Polymorphismus mittels PCR-RFLP analysiert. Zu Studienbeginn (T_0), nach 12-wöchiger Fastenphase mit Formuladiät (T_1) und nach 40-wöchiger Stabilisierungsphase zum Ende des Programms (T_2) wurden jeweils Körpergewicht, Blutdruck sowie Laborparameter (Nüchtern-glucose, Insulin, Gesamtcholesterin, LDL, HDL, Triglyzeride) bestimmt. Die Hypothesen wurden mittels χ^2 - und Mann-Whitney-U-Test auf einem Signifikanzniveau von $\alpha=0.05$ getestet (SPSS Version 18.0).

Ergebnisse: Das Studienkollektiv bestand aus 202 adipösen Personen (135 Frauen, 67 Männer), die zwischen 2005 und 2010 am Gewichtsreduktionsprogramm OPTIFAST®52 teilnahmen. Zum Zeitpunkt T_0 betrug das Gewicht der Patienten 122.3 ± 22.2 kg (BMI: 41.7 ± 6.7 kg/m²). Die Genotypisierung ergab 2 % A1A1-, 64.9 % A2A2- und 33.2% A1A2-Genotypträger.

133 (65.8%) Patienten vollendeten das einjährige Programm, 69 (34.2%) brachen es vorzeitig ab. Die Abbruchrate wurde dabei nicht vom Genotyp beeinflusst ($p=0.54$). Im Rahmen einer „per protocol“-Analyse wurden nur Vollender des Programms weiter untersucht.

Die verschiedenen Genvarianten beeinflussten den prozentualen Gewichtsverlust im Gesamtkollektiv nicht (A1A1/A1A2 vs. A2/A2: $p=0.90$). Allerdings zeigte sich bei Vorliegen des A1-Allels bei jüngeren Frauen eine signifikant geringere prozentuale Gewichts- und BMI-Reduktion über den Gesamtzeitraum ($p=0.04$). Jüngere Patienten mit A1-Allel nahmen durchschnittlich in der Stabilisierungsphase an BMI-Punkten wieder etwas zu, während die ohne A1-Allel ihren BMI weiter reduzieren konnten ($p=0.05$).

Schlussfolgerungen: Die Ergebnisse legen nahe, dass das A1-Allel des TaqIA Polymorphismus den Gewichtsverlauf bei jüngeren Frauen, insbesondere in der Stabilisierungsphase, negativ beeinflusst. Möglicherweise sind es psychologische Faktoren im Sinne eines gestörten Essverhaltens, die bei Vorliegen des Risikoallels A1, bei jüngeren Frauen die Gewichtsabnahme erschweren.

P 284

Prävalenz der chronischen Nierenerkrankung bei Typ 2 Diabetikern in hausärztlicher Behandlung in Deutschland - Erste Ergebnisse der PräDiaNe-Studie

Merker L.¹, Gallwitz B.², Schöne K.³, Waldeck B.³
¹Diabetes- und Nierenzentrum, Dormagen, Germany, ²Medizinische Klinik IV Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Germany, ³Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Medical Affairs Germany, Ingelheim, Germany

Fragestellung: In Deutschland gibt es bisher keine systematische, flächendeckend repräsentative Erhebung zur Prävalenz der Nierenschädigung bei Menschen mit Typ 2 Diabetes. Das Erkennen einer Störung der Nierenfunktion hat erhebliche Auswirkungen auf die Behandlung und die Prognose der Betroffenen.

Methodik: Es werden in Deutschland 2500 Patienten mit Typ 2 Diabetes aus 250 unter epidemiologischen Gesichtspunkten randomisierten Hausarzt-Praxen einmalig untersucht. Diabetologische Schwerpunktpraxen sind ausgeschlossen. Dabei wurde der DMP-Datensatz



um einen Arztfragebogen zur Nierenfunktionseinschränkung, Begleiterkrankungen des Diabetes sowie Diagnostik und Therapie der arteriellen Hypertonie ergänzt. Die Urinuntersuchung erfolgte als Streifentest sowie Mikroalbuminurie-Nachweis lokal, ergänzend wurden im Zentrallabor Kreatinin, HbA_{1c} sowie die Albuminurie/Kreatinin-Ratio (ACR) bestimmt und die Nierenfunktion nach der MDRD-Formel errechnet. Patienten mit signifikanter Leukozyturie und/oder Nitriturie wurden bei der ACR-Ermittlung ausgeschlossen. Die Studie wird nach GCP durchgeführt, ein positives Ethikvotum der beteiligten Ärztekammern liegt vor. Die Statistik erfolgt deskriptiv. Etwa 10% der beteiligten Praxen werden monitoriert, um die Datenqualität zu sichern. Die Patienten sollen bis Ende Mai 2011 eingeschlossen werden. Hier werden die ersten Daten vorgestellt.

Ergebnisse: Von insgesamt über 4000 angeschriebenen Praxen antworteten etwa 5 %. Bisher wurden 373 Patienten (213 Männer und 160 Frauen) ausgewertet. Folgende Durchschnittswerte wurden ermittelt: Alter 69,9 Jahre, BMI 30,4 kg/m², HbA_{1c} 6,8 %, Diabetesdauer 8,3 Jahre. 79,9 % hatten eine art. Hypertonie, Dauer 10,9 Jahre, 96,3 % wurden behandelt, 37,3 % erreichten einen Blutdruck < 130/80 mm Hg. 84,5 % der Patienten hatten Begleiterkrankungen. Niereninsuffizienz CKD-Stadium 3 lag bei 25,7 % vor; diese war bei 43,8 % vorbekannt. Eine erhöhte ACR hatten 31,2 % (davon fast 2/3 Männer). Ein Albuminuryscreening erfolgte alle 8,5 Monate, eine Kreatininbestimmung alle 3,6 Monate. Die eGFR wurde bei 56,2 % und die Kreatinin-Clearance nach Cockcroft-Gault bei 9,2 % berechnet. Eine eGFR >60 ml/min/1,73m² und keine Albuminurie hatten 54,1 %, eine isolierte Mikroalbuminurie 17,8 %, eine isolierte Makroalbuminurie 2,9 %, eine Makroalbuminurie und eGFR < 60 ml/min/1,73m² hatten 2,2 %, eine isolierte eGFR < 60 ml/min/1,73m² bei 14,6 % sowie eine Mikroalbuminurie und eGFR < 60 ml/min/1,73m² hatten 8,2 %.

Schlussfolgerungen: Das Albuminscreening reicht zur Erkennung des Nierenschadens nicht aus. Die eGFR sollte bei jeder Kreatininbestimmung automatisch ermittelt werden, gerade bei älteren Menschen, da sonst zu viele Niereninsuffiziente nicht erkannt werden. Erhöhter Blutdruck wird zuverlässig erkannt, die Zielwerte nicht immer erreicht. Die Ergebnisse der gesamten Studie sind abzuwarten.

P 285

Assoziation zwischen der genomweiten Genexpression im humanen Vollblut und Nüchtern- sowie 2-Stunden-Glukose: KORA F4 Studie

Carstensen M.¹, Herder C.¹, Landwehr S.², Rathmann W.², Thorand B.³, Meisinger C.³, Heim K.⁴, Meitinger T.⁴, Wichmann H.-E.⁵, Martin S.⁶, Koenig W.⁷, Strassburger K.², Finner H.², Illig T.⁸, Roden M.^{1,9}, Prokisch H.⁴

¹Deutsches Diabetes-Zentrum, Leibniz-Zentrum für Diabetesforschung an der Heinrich-Heine-Universität, Institut für Klinische Diabetologie, Düsseldorf, Germany, ²Deutsches Diabetes-Zentrum, Leibniz-Zentrum für Diabetesforschung an der Heinrich-Heine-Universität, Institut für Biometrie und Epidemiologie, Düsseldorf, Germany, ³Helmholtz Zentrum München, Institut für Epidemiologie II, Neuherberg, Germany, ⁴Helmholtz Zentrum München, Institut für Humangenetik, Neuherberg, Germany, ⁵Helmholtz Zentrum München, Institut für Epidemiologie I, Neuherberg, Germany, ⁶Verbund Katholischer Kliniken Düsseldorf, Düsseldorf, Germany, ⁷Universitätsklinikum Ulm, Klinik für Innere Medizin II - Kardiologie, Ulm, Germany, ⁸Helmholtz Zentrum München, Institut für Molekulare Epidemiologie, Neuherberg, Germany, ⁹Universitätsklinikum Düsseldorf, Klinik für Stoffwechselerkrankungen, Düsseldorf, Germany



Fragestellung: Genexpressionsprofile sind nicht nur erbliche Eigenschaften, sondern werden auch wesentlich durch Umwelt- und Lebensstilfaktoren geprägt. Bislang ist allerdings nicht bekannt, wie Genexpressionsmuster mit Störungen des Glukosestoffwechsels zusammenhängen. Daher bestimmten wir die genomweite Genexpression im peripheren Blut und untersuchten deren Assoziation mit Nüchtern- sowie 2-Stunden-Glukosewerten in der populationsbasierten KORA F4 Studie. Ziel dieser Analyse ist es, die mit dem gestörten Glukosestoffwechsel assoziierten pathophysiologischen Prozesse besser zu charakterisieren, die zur Manifestation des Typ 2 Diabetes beitragen.

Methodik: Nüchternen Teilnehmern der KORA F4 Studie (Augsburg) wurde zwischen 8 und 11 Uhr Vollblut in PAXgene-Röhrchen entnommen. Nach der RNA-Isolation wurde die genomweite Genexpression mit Hilfe des Illumina HumanHT-12 v3 Expression-Chips bestimmt. Für diese Analyse wurden 32.067 Refseq-annotierte Transkripte genutzt, die die große Mehrzahl der proteinkodierenden Gene reflektieren. Die Assoziation zwischen normalisierten Genexpressionsspiegeln und Plasmaglukose-Konzentrationen (Nüchtern- und 2-Stunden-Werte) wurde mittels linearer Regressionsmodelle analysiert. Die Korrektur für multiples Testen basierte auf Storeys kritischen Werten, so dass das multiple Signifikanzniveau (false discovery rate, FDR) von 0,05 nicht überschritten wird.

Ergebnisse: Die Studie basierte auf Genexpressionsdaten von 815 Personen (48,2% Männer) im Alter von 62 bis 81 Jahren, bei denen zuvor kein Diabetes diagnostiziert wurde (63,2% normale Glukosetoleranz, 5,9% erhöhte Nüchternglukose, 23,7% gestörte Glukosetoleranz, 7,2% neu diagnostizierter Typ 2 Diabetes) mit einem Body Mass Index (BMI) von $28,5 \pm 4,3 \text{ kg/m}^2$. In der alters- und geschlechtsadjustierten Analyse waren 343 und 1595 Transkripte mit Nüchtern- bzw. 2-Stunden-Glukosewerten assoziiert (FDR < 0,05). Eine zusätzliche Adjustierung für BMI reduzierte die Anzahl der Transkripte auf 5 (Nüchternglukose) bzw. 688 (2-Stunden-Glukose). Bei der Analyse der Nüchternglukose waren 3 (60,0%) und bei der 2-Stunden-Glukose 444 (64,5%) Transkripte positiv mit den Glukosespiegeln assoziiert. Die Transkripte, die die stärkste Assoziation mit der 2-Stunden-Glukose zeigten, sind in Stoffwechselwege involviert, die eine große Rolle bei der Insulinresistenz, der oxidativen Phosphorylierung und der Zellproliferation spielen.

Schlussfolgerungen: Genexpressionsspiegel im Vollblut sind insbesondere mit 2-Stunden-Glukosewerten assoziiert und korrelieren mit pathophysiologisch relevanten Stoffwechselwegen. Diese Ergebnisse ermöglichen weitere Analysen biologischer Prozesse, um neue, den Typ 2 Diabetes assoziierte Mechanismen zu identifizieren.

P 286

Accuracy evaluation of five blood glucose monitoring systems obtained from the pharmacy: A European multi-centre study with 453 subjects

Tack C.¹, Pohlmeier H.², Behnke T.³, Grenningloh M.⁴, Forst T.⁵, Pfützner A.⁵

¹Radboud University Nijmegen Medical Centre, Department of Medicine, Nijmegen, Netherlands, ²Zentrum für Diabetes und Gefäßerkrankungen, Münster, Germany, ³Diabeteszentrum, Neuwied, Germany, ⁴IKFE-CRO, Mainz, Germany, ⁵IKFE - Institut für klinische Forschung und Entwicklung, Mainz, Germany

Background and aims: This multi-centre study was conducted to evaluate the performance of five of the most recently introduced blood glucose monitoring systems (BGMS; Accu-Chek® Aviva, CONTOUR®, FreeStyle Freedom Lite®, FreeStyle Lite®, and OneTouch® UltraEasy®) under daily routine conditions. All devices and strips were obtained independently from the manufacturers directly from a German pharmacy.

Method: Subjects with Type 1 (49%) and Type 2 diabetes aged 18 to 75 years, and attending a diabetes outpatient clinic, were enrolled in the study. Subjects were randomised



to receive three of the five BGMS. They were asked to study the instruction manuals and to perform a blood glucose test (in duplicate) with each system. A YSI 2300 Stat Plus Glucose Analyser served as the comparative reference method in the study. The YSI whole blood glucose results were converted to plasma equivalent results and these results were used as comparator to the test strip results. The primary study endpoint was mean absolute relative difference (MARD).

Results: FreeStyle Lite (n = 240 subjects) showed similar results to FreeStyle Freedom Lite (n = 244) and significantly better accuracy performance than Accu-Chek Aviva (n = 252), Contour (n = 252) and OneTouch UltraEasy (n = 246) in terms of MARD and other parameters (MARD: 4.9% vs. 5.5 %, 6.8%, 9.0% and 9.7%: n.s., p< 0.001, p< 0.0001 and p< 0.0001, respectively; %CV: 2,5% vs. 3,1%, 2,9%, 5,1%, and 4,5%; % within +/- 15mg: 98% vs. 95%, 94%, 86%, and 83%). Four adverse events occurred during this study, all for mild hypoglycaemia not related to the study device.

Discussion and conclusion: MARD is a measure of system accuracy and precision, it correlates well with Clarke Error Grid Zone A performance and % within ±15mg/dL / ±20%. MARD is a continuous measure that uses the magnitude of the relative difference for each observation. In contrast; Clarke Error Grid Zone A performance and % within ±15mg/dL / ±20% use only whether the results are within or beyond a limit, but otherwise ignoring the magnitude of the results. The results from this study show that of the five BGMS evaluated, the FreeStyle Lite showed significantly better accuracy performance than Accu-Chek Aviva, Contour and OneTouch UltraEasy systems in a routine setting.

P 287

Wirksamkeit und Sicherheit von Vildagliptin in Kombination mit Metformin im Vergleich mit anderen oral verabreichten Antidiabetika bei Typ 2 Diabetikern - eine prospektive nicht-interventionelle Studie

Blüher M.¹, Lenhardt P.², Müller A.², Pirkl F.³, Dworak M.²

¹Universität Leipzig, Leipzig, Germany, ²Novartis Pharma GmbH, Clinical & Regulatory Affairs, Nürnberg, Germany, ³Kantar Health GmbH, München, Germany

Fragestellung: In dieser prospektiven nicht-interventionellen Studie wurde die Wirksamkeit und Sicherheit von Vildagliptin + Metformin (GALVUS®/ EUCREAS®) und anderen oralen Antidiabetika im Praxisalltag bei Typ 2 Diabetikern untersucht.

Methodik: Eine prospektive, nicht-interventionelle Studie an 3648 Patienten mit Typ-2 Diabetes mellitus (T2DM), die bisher eine orale Monotherapie erhielten, und bei denen sich der behandelnde Arzt für eine Therapie mit Vildagliptin (GALVUS®) in Kombination mit Metformin, einer Vildagliptin + Metformin Fixkombination (EUCREAS®) oder eine andere Zweifach-Kombinationstherapie mit oralen Antidiabetika entschieden hat. Es wurden Laborparameter, Begleiterkrankungen und Diabeteseinstellung, Vor- und Begleittherapie, orale antidiabetische Dual-Therapie, Vitalzeichen und unerwünschten Ereignisse über ca. 6 Monate erhoben.

Ergebnisse: Demographie und Baseline-Parameter waren zwischen den drei Patientengruppen vergleichbar. 56,1% der Patienten waren männlich. Das Durchschnittsalter lag bei etwa 63,0 Jahren, der mittlere BMI lag bei 30,6 kg/m² und die Patienten hatten im Schnitt seit etwa 6,2 Jahren einen diagnostizierten T2DM. Nach 6 Monaten zeigten die Patienten unter GALVUS® und EUCREAS® eine stärkere HbA1c-Reduktion (-0,9%) im Vergleich zu den Patienten unter anderen oralen Antidiabetika (-0,6%). Auch der Prozentsatz an Patienten, die im Vergleich zur Eingangsuntersuchung eine Verbesserung im HbA1c-Wert erreichten, war unter GALVUS® (57,7%) und EUCREAS® (61,1%) höher als unter anderen oralen Antidiabetika (45,3%). Analog änderte sich auch die



Nüchtern glukose nach 6 Monaten (GALVUS®: -29,1 mg/dl; EUCREAS®: -30,5 mg/dl; andere orale Antidiabetika: -20,9 mg/dl). Patienten, die mit GALVUS® (-1,4 kg) oder EUCREAS® (-1,7 kg) behandelt wurden, zeigten nach 6 Monaten im Mittel eine stärkere Gewichtsabnahme als Patienten, die mit anderen Antidiabetika behandelt wurden (-0,8 kg). Die häufigsten unerwünschten Ereignisse waren eine Erhöhung des glykosylierten Hämoglobins, Erhöhung der Blutglukose, und Erhöhung des systolischen Blutdrucks. Der Gesamtprozentsatz der Patienten mit UEs unter Behandlung mit GALVUS®/EUCREAS® unterschied sich im Vergleich mit anderen oralen Antidiabetika statistisch nicht signifikant. **Schlussfolgerungen:** Sowohl unter Behandlung mit Vildagliptin (GALVUS®) als auch mit einer Fixkombination aus Vildagliptin und Metforminhydrochlorid (EUCREAS®) war die HbA1c-Reduktion, die Reduktion der Nüchtern glukosewerte und die Gewichtsverringerng ausgeprägter als bei Behandlung mit anderen Antidiabetika. Alle Behandlungen waren gut verträglich. Die vorliegenden deskriptiven Daten aus dem Praxisalltag stimmen mit den Beobachtungen aus den klinischen Studien überein und belegen die Wirksamkeit und Sicherheit von Vildagliptin in der Behandlung von T2DM.

Postersitzung 21 b: Late-Breaking-Abstracts "Grundlagenforschung"
Freitag, 03. Juni 2011, 13.00 – 14.00 Uhr
Messehalle 2

Vorsitz: A. Jörns, Hannover

P 288

Die anti-inflammatorische Wirkung von mehrfach ungesättigte ω -3 Fettsäuren in der murinen Adipositas-induzierten Fettgewebsentzündung könnte auf die gesteigerte Synthese von resolutions-induzierenden Lipidmediatoren zurückzuführen sein

Neuhofer A.¹, Zeyda M.¹, Itariu B.K.¹, Legerer B.¹, Stulnig T.M.¹
¹Medizinische Universität Wien/ Universitätsklinik für Innere Medizin III, Klin. Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel, Wien, Austria

Einleitung und Fragestellung: Die Adipositas-induzierte Fettgewebsentzündung stellt einen wichtigen Link zwischen Körpergewicht und Insulinresistenz dar. Hierbei spielen entzündliche Mediatoren aus dem Fettgewebe eine wesentliche Rolle. Eine Behandlung mit mehrfach ungesättigten langkettigen ω -3 Fettsäuren (EPA, DHA; hier als n-3 PUFA bezeichnet) führte in einigen Studien zu einer Verringerung der Adipositas-assoziierten Fettgewebsentzündung wobei die zugrunde liegenden Mechanismen zum Teil noch unklar sind. n-3 PUFA sind Vorstufen für wirksame anti-inflammatorische Lipidmediatoren von denen einige erst in den letzten Jahren charakterisiert wurden. Vertreter dieser neuen Klasse von Lipidmediatoren - wie Resolvine (Rv) und Protectine fördern die Resolution d.h. die aktive Beendigung von Entzündungen. Ziel unserer Studie war es zu analysieren, ob die Produktion von resolutions-induzierenden Lipidmediatoren im Fettgewebe bei Adipositas gestört ist und die Hemmung der Fettgewebsentzündung durch n-3 PUFA auf eine gesteigerte Produktion dieser Lipidmediatoren zurückzuführen sein könnte.

Methoden: Adipöse Mäuse (db/db) und schlanke Kontrollen (db/+) erhielten entweder eine normale Kontrolldiät oder verschiedene fettreiche Diäten mit unterschiedlichem Anteil an n-3 PUFA. Anschließend wurden Lipidmediatoren mittels Festphasenextraktion aus gonadalem Fettgewebe isoliert und mit Tandem-Massenspektrometrie analysiert. Parallel wurde die Genexpression von inflammatorischen Markern (wie Mcp-1 und F4/80) mittels quantitativer



real-time PCR gemessen und die Makrophageninfiltration mit Immunhistochemie analysiert. Die Insulinsensitivität wurde mittels Insulin-Toleranz-Test bestimmt.

Ergebnisse: Im Fettgewebe adipöser Tiere kam es zu einem signifikanten Anstieg der Entzündung im Vergleich zu schlanken Kontrollen und gleichzeitig war die Fettgewebkonzentration zahlreicher anti-inflammatorischer Lipidmediatoren (z.B. 12-HETE, 15-HETE, 17-HDHA und Protectin D₁; $p \leq 0.04$) signifikant verringert. Die diätetische Behandlung mit n-3 PUFA zeigte in adipösen Tieren eine verringerte Expression von inflammatorischen Genen ($p \leq 0.002$), eine erniedrigte Makrophageninfiltration ($p = 0.07$) und eine Verbesserung der Insulinsensitivität ($p = 0.03$). Parallel dazu führte die Behandlung mit n-3 PUFA zu einem signifikanten Anstieg der Fettgewebkonzentration von anti-entzündlichen und resolutions-induzierenden Lipidmediatoren (z.B. 17-HDHA, Protectin D₁ und Resolvin E₁; $p \leq 0.001$).

Schlussfolgerung: Die Reduktion der Adipositas-induzierten Fettgewebsentzündung sowie die Verbesserung der Insulinsensitivität nach einer n-3 PUFA reichen Diät könnte auf die gesteigerte Synthese von anti-inflammatorischen und resolutions-induzierenden Lipidmediatoren zurückzuführen sein.

Finanzierung: Unterstützt von der Europäischen Kommission (FP7/2007-2013; Grant-Nr.201608; an T.M.S.)

P 289

A potential role for EphB:Ephrin B expression in the regulation of beta cell and islet endothelial cell communication

Mucha N.¹, Clarkin C.², Rackham C.², King A.², Wheeler-Jones C.³, Jones P.²

¹Division of Diabetes and Nutritional Sciences, Diabetes Research Group, London, United Kingdom, ²Division of Diabetes and Nutritional Sciences, London, United Kingdom, ³Cardiovascular and Inflammation Biology, London, United Kingdom

Eph receptor tyrosine kinases and their associated ligands Ephrins are localised on cell membranes and require direct cell-cell contact for their activation. EphA-EphrinA mediates bi-directional communication between beta cells within islets to regulate insulin secretion [1], while EphB4 and EphrinB2 play vital signalling roles in endothelial cells during the regulation of angiogenesis. Islet endocrine and endothelial cells maintain direct contact in situ, but the role(s) of Ephrin signalling in islet endocrine-endothelial communication currently remains uninvestigated. Our aim was therefore to investigate whether the EphB signalling pathways are expressed in islets to mediate beta cell- endothelial communication. RT-PCR analysis revealed the expression of EphB4 and EphrinB2/B1 mRNA expression in islets. We have previously shown a rapid loss of endothelial cell (EC) populations during mouse and human islet culture in vitro (< 72 hrs), and this was associated with down regulation of EphrinB2/B1 mRNA expression. In contrast, EphB4 mRNA expression was increased ($p < 0.05$) after a 48 hr culture period and expression levels were maintained (>72hrs) independently of EC-specific CD31 which was reduced to $16 \pm 8\%$ ($n=3$, $p < 0.001$) after 48 hrs and $5 \pm 1.8\%$ ($p < 0.001$) after 72 hrs of culture. These observations are consistent with differential expression of EphB4 receptor and the EphrinB1/2 ligands by islet endocrine cells and ECs, respectively. In accordance with this, insulin producing MIN6 cells express EphB4 mRNA. Heterotypic contact co-culture of MIN6 cells with the mouse EC line CCEC-2 resulted in up regulation of EphB4 mRNA expression (6.8-fold), which was associated with increased insulin secretion (MIN6 monoculture $161 \pm 53 \text{ ng}/50,000 \text{ cells}/24 \text{ h}$; co-culture, 385 ± 86 , $p < 0.05$).



Our results suggest that modulation of endocrine cell-endothelial cell communication via EphB:EphrinB signalling could provide a novel target to manipulate beta cell function. [1] "EphA-Ephrin-A-Mediated β Cell Communication Regulates Insulin Secretion from Pancreatic Islets" Konstantinova et al. , Cell 129, 359-370, April 20, 2007 Funded by Diabetes UK, Diabetes Foundation (UK) and the EU programme "Leonardo da Vinci"

P 290

Mechanisms associated with insulin resistance in adenosine A1 receptor deficient mice

Faulhaber-Walter R.^{1,2}, Mizel D.², Li L.², Kim S.², Zhang J.², Chen M.², Huang Y.², Chen L.M.^{2,3}, Briggs J.⁴, Gavrilova O.², Schnermann J.²

¹Dialyse Rinteln, Rinteln, Germany, ²National Institutes of Health, National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Disease, Bethesda, United States, ³Peking Union Medical College Hospital, Beijing, China, ⁴National Institutes of Health, National Center for Complementary and Alternative Medicine, Bethesda, United States

Fragestellung: In previous studies using glucose tolerance tests, euglycemic-hyperinsulinemic clamp studies, insulin-releasing tests and body composition analyses we have demonstrated that adenosine-A1-receptor-deficient mice (A1AR^{-/-}) are glucose-intolerant and insulin-resistant (Faulhaber-Walter et al., DDG 2008). The present experiments were performed to investigate possible underlying mechanisms.

Methodik: Wild type (Wt) and A1AR^{-/-} mice of C57Bl/6 and Swiss background were investigated. Food/water intake and body weight changes were measured for 10 days during individual cage housing. Spontaneous locomotor activity was registered by implanted radiotransmitters. Phosphorylation of protein kinase B/Akt were measured to investigate downstream insulin signaling capacity by immunoblotting of homogenized muscle tissue and radiography. Expression of muscle GLUT-4 was determined by Western-Blot and density absorption. Free fatty acids, triglycerides, leptin and adiponectin concentrations were measured by commercial plasma assays.

Ergebnisse: 24h spontaneous activity of A1AR^{-/-} tended to be lower than in Wt without reaching significance. Food intake averaged 3.85±0.1 g/day in Wt (n=10, 4 male and 6 female) and 4.12±0.06 g/d in A1AR^{-/-} (n=12, 6 male and 6 female) in C57Bl/6 mice, and 4.29 ± 0.17 g/d in Wt (n=14, 8 male and 6 female) and 4.26 ± 0.12 in A1AR^{-/-} (n=14, 8male and 8 female) in Swiss mice. Whereas food intake was not significantly different, there was a significantly higher intake of water in A1AR^{-/-} mice in both C57Bl/6 and Swiss mice (7.75±0.01 and 9.57±0.45 ml/d) compared to respective Wt mice (6.9±0.17 and 7.6±0.2 ml/d; p< 0.01). Insulin-induced phosphorylation of Akt was significantly reduced in A1AR^{-/-} compared to Wt mice. Total Akt protein appeared to be higher in the mutant mice for reasons currently unknown. Abundance of phospho-ERK1/2 following insulin was not different between Wt and A1AR^{-/-} mice. FFA serum concentrations were not significantly different between A1AR^{-/-} and Wt mice on standard diets (280±40 mM vs. 211±22 mM). Similarly, no difference in serum TG concentrations was found between A1AR^{-/-} and Wt genotypes (49.9±3.8 vs. 54.3±6.5 mg/dl). TG serum concentrations were significantly higher in mice on the high fat diet compared to mice on standard diet. Leptin and adiponectin concentrations were not significantly different between Wt and A1AR^{-/-} mice. Quantitative GLUT-4 expression was also not different between A1AR^{-/-} and Wt.



Schlussfolgerung: Deficient A1AR signaling induces insulin resistance. We demonstrate a defective insulin downstream signaling involving diminished Akt phosphorylation. Peripheral hormones of the fat metabolism do not seem to play a major role although a strain-specific tendency towards higher food intake was evident. Future studies will focus on orexin expression to investigate possible hypothalamic regulatory effects.

P 291

COMP-Angiopoietin-1 suppresses the neuropathic alterations in sciatic nerve of leptin-deficient ob/ob mice

Kosacka J.¹, Nowicki M.², Klötting N.³, Kern M.¹, Stumvoll M.¹, Bechmann I.², Serke H.², Blüher M.¹

¹Universität Leipzig, Medical Department für Innere Medizin, Dermatologie und Neurologie, Klinik für Endokrinologie und Nephrologie, Leipzig, Germany, ²Universität Leipzig, Institut für Anatomie, Leipzig, Germany, ³IFB AdiposityDiseases, Junior Research Group 2 'Animal models of obesity', Leipzig, Germany

Aims: The leptin-deficient ob/ob mice are a generally accepted animal model of type-2 diabetes dependent peripheral neuropathy. The ob/ob mice exhibit over 50% body fat, insulin resistance, hyperglycemia, alterations of peripheral nerve fibres and endoneural microvessels. Since cartilage oligomeric matrixprotein (COMP)-Ang-1, a soluble and stabile form of Ang-1 promotes angiogenesis and nerve growth, we hypothesize that it could induce the regeneration of nerve fibres and endoneural microvessels of peripheral nerve in diabetic mice.

Methods: In this study, COMP-Ang-1 (100 ng/ml) or NaCl (5 µl/g body weigh) were intraperitoneally injected into 3-month old, leptin-deficient ob/ob or ob/+ mice for 7 and 21 days. The number of endoneural microvessels, expression of structural and proinflammatory proteins as well as crucial signaling pathways were evaluated in sciatic nerves.

Results: Time course observations revealed that COMP-Ang-1 reduced fasting blood glucose level and plasma cholesterol in ob/ob mice compared with NaCl treatment. COMP-Ang-1 **1**) up-regulated expression of structural protein neurofilament (Nf) 68 and growth associated protein (GAP) 43; **2**) recovered synthesis of endo-and perineural gap junction proteins such as connexin (Cx) 32 and Cx26 and **3**) suppressed the expression of inflammatory factors: tumor necrosis factor alpha (TNFα) or Cx43 in sciatic nerve of ob/ob mice evaluated by Western Blot analysis. Moreover, COMP-Ang-1 treated ob/ob mice showed regeneration of small-diameter endoneural microvessels (visualized by FITC injection) compared with NaCl treatment for 21 days. In the sciatic nerve the effect of COMP-Ang-1 corresponded to increased phosphorylation of Akt and p38MAPK upon Tie-2 receptor.

Conclusion: These findings strongly point that COMP-Ang-1, an angio-and neurotrophic factor, can promote the healing of degenerating peripheral nerve through enhanced neuritogenesis, microangiogenesis and suppressed inflammation in diabetic subjects.

P 292

Signalwege des humanen MT2-Rezeptors in der pankreatischen β -Zelle

Albrecht E.¹, Mühlbauer E.², Wolgast S.², Hofmann K.¹, Peschke E.¹

¹Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Halle (Saale), Germany, ²Sächsische Akademie der Wissenschaften zu Leipzig, Leipzig, Germany

Einleitung: In jüngerer Zeit wurde die Bedeutung von Melatonin für die Diabetesentstehung intensiv diskutiert. Zahlreiche Untersuchungen belegten Zusammenhänge zwischen bestimmten genetischen Varianten des humanen MT2-Rezeptors (hMT2) und erhöhten Nüchternblutglukosespiegeln sowie einem erhöhten Risiko an Typ 2-Diabetes zu erkranken. Mehrere Studien zeigten, dass der MT1- und der MT2-Rezeptor in pankreatischen Inseln des Menschen und der Ratte sowie in der Ratten-Insulinoma- β -Zelllinie INS1 exprimiert sind. Außerdem wurde nachgewiesen, dass Melatonin die Insulinsekretion beeinflusst. Dabei zeigten die meisten Studien einen hemmenden Effekt, einige jedoch wiesen auf eine stimulatorische Wirkung hin. Im vorliegenden Versuch sollte durch die Transfektion des humanen MT2-Rezeptors in der INS1-Zelle gezeigt werden, über welche Signaltransduktionskaskade der hMT2-Rezeptor die Insulinfreisetzung beeinflusst.

Methodik: Das Plasmidkonstrukt pTRexDest30 mit der cDNA des hMT2-Rezeptors wurde mithilfe des Transfektionsreagens Fugene[®] in die INS1-Zellen eingeschleust. Die Selektion der Klone, die stabil den hMT2-Rezeptor exprimieren, erfolgte mit dem Antibiotikum G418. Die Expression des hMT2-Rezeptors wurde mit PCR überprüft. Darüber hinaus wurden Inkubationsexperimente durchgeführt. Anschließend wurde die Insulinkonzentration im Zellkulturüberstand mittels Radioimmunoassay gemessen. Ebenso wurden im Zelllysat die cAMP- und cGMP-Konzentrationen mittels Enzymimmunoassay bestimmt. Veränderungen der intrazellulären Calciumkonzentration wurden durch *Calcium-Imaging* nachgewiesen.

Ergebnisse: Durch molekularbiologische Untersuchungen konnte belegt werden, dass die transfizierten Zellen (hMT2-INS1) den humanen MT2-Rezeptor exprimieren. Ebenso konnte gezeigt werden, dass Melatonin die durch den unspezifischen Phosphodiesterasehemmer IBMX-stimulierte Insulinsekretion der hMT2-INS1-Zellen stärker senkt als die der INS1-Zellen. Des Weiteren wiesen die hMT2-Rezeptor exprimierenden Zellen nach Melatonininkubation eine stärkere Senkung der intrazellulären *second messenger* cAMP und cGMP auf. Beim *Calcium-Imaging* wurden die Zellen kurzzeitig mit Melatonin stimuliert, dabei reagierte die gleiche Anzahl an Zellen beider Zelllinien mit einem Anstieg des intrazellulären Calciums.

Diskussion: Im Rahmen dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Insulinsekretion der β -Zelle über den heterolog exprimierten hMT2-Rezeptor gesenkt werden kann. Dies wurde vor allem durch Senkung des cAMPs, aber auch des cGMPs vermittelt. Die direkte Kopplung von cAMP-Gehalt und Insulinfreisetzung ist seit längerem bekannt. Ein stimulatorischer Einfluss des hMT2-Rezeptors auf die β -Zelle, der erwartungsgemäß von einem Anstieg des intrazellulären Calciums begleitet wird, konnte durch die durchgeführten Untersuchungen hingegen nicht belegt werden. Weitere Untersuchungen sollen zeigen, ob über den MT2-Rezeptor ein synchronisierender Effekt auf circadiane Prozesse der β -Zelle ausgeübt werden kann.



P 293

Uhrengene und Uhrengen-beeinflusste Gene in der Leber von spontan Typ 1-diabetischen Ratten

Hofmann K.¹, Schönerstedt U.¹, Wedekind D.², Mühlbauer E.³, Peschke E.¹

¹Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Halle (Saale), Germany, ²Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Versuchstierkunde, Hannover, Germany, ³Sächsische Akademie der Wissenschaften zu Leipzig, Leipzig, Germany

Hintergrund und Ziele: Störungen des photoneuroendokrinen Systems einschließlich der circadianen Rhythmik können zur Entstehung von Typ 2-Diabetes, Übergewicht und Bluthochdruck beitragen. In Untersuchungen an Typ 2-diabetischen Goto-Kakizaki-Ratten konnte gezeigt werden, dass die Expression von Uhrengenen und Uhrengen-beeinflussten Genen in Leber und Fettgewebe erhöht war, die circadiane Rhythmik jedoch erhalten blieb. Des Weiteren wiesen Melatoninrezeptor-*knockout*-Mäuse Phasenverschiebungen in der Genexpression hepatischer und pankreatischer Uhrengene auf. Ziel dieser Untersuchung war es, die rhythmische Expression von wichtigen Uhrengenen und Uhrengen-beeinflussten Genen in der Leber von LEW.1AR1-*iddm*-Ratten, einem Tiermodell des humanen Typ 1-Diabetes, zu charakterisieren.

Material und Methoden: In die Untersuchungen wurden normoglykämische LEW.1AR1-Ratten, Typ 1-diabetische LEW.1AR1-*iddm*-Ratten sowie Insulin-substituierte diabetische Ratten einbezogen. Die Tiere wurden unter einem Lichtregime von L : D = 12 : 12 gehalten. Zur Erstellung von Tagesprofilen wurden fünf Tiere alle 3 Stunden im Tagesgang getötet. Bestimmt wurden die Merkmale: periphere Blutglukosekonzentration, Insulinplasmakonzentration und die Genexpression der hepatischen Uhrengene *Per1*, *Per2* und *Bmal1* sowie des Uhrengen-beeinflussten Gens *Dbp*.

Ergebnisse: Im Alter von 60 Tagen zeigten Typ 1-diabetische Ratten signifikant erhöhte Blutglukosekonzentrationen, während die Insulinkonzentrationen im Plasma signifikant erniedrigt waren. Insulinsubstitution normalisierte diese untersuchten Merkmale. Die relativen mRNA-Konzentrationen der untersuchten hepatischen Uhrengene *Per1*, *Per2* und *Bmal1* waren bei diabetischen Ratten im Vergleich zu ihren Kontrollen stark erhöht, die des Uhrengen-beeinflussten Gens *Dbp* blieb unverändert. Die Insulinsubstitution normalisierte den beobachteten Anstieg der Genexpression auf das Niveau der Kontrollen. Diurnale Rhythmitäten blieben sowohl unter der diabetischen Stoffwechsellage als auch nach Insulinsubstitution intakt. Jedoch führte der Typ 1-Diabetes zu einer stärkeren Ausprägung von Minima und Maxima der relativen Genexpression, was einer Erhöhung der Akrophasen entsprach.

Diskussion: Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Typ 1-diabetische Ratten eine stark erhöhte relative Expression der Uhrengene *Per1*, *Per2* und *Bmal1* in der Leber aufweisen. Die untersuchten diurnalen Rhythmen sind trotz der schweren metabolischen Entgleisung in ihrer Expression nicht gestört. Die Substituierung diabetischer Tiere mit Insulin führt zu einer Normalisierung der erhöhten Genexpressionsniveaus. Unsere Beobachtungen deuten darauf hin, dass eine Störung der Insulinsekretion innerhalb der Pathophysiologie eines Typ 1-Diabetes im Zusammenhang mit einer Störung der „Inneren Uhr“ steht.



P 294

SGBS cell differentiation - a model for adipogenesis - studied by quantitative proteomics and metabolomics

Küntzel C.¹, Friebe D.², Landgraf K.^{2,3}, Kalkhof S.¹, Baumann S.⁴, Kiess W.², von Bergen M.^{1,4}, Körner A.^{2,3}

¹Helmholtz-Centre for Environmental Research – UFZ, Department of Proteomics, Leipzig, Germany, ²University of Leipzig, University Hospital for Children & Adolescents, Leipzig, Germany, ³Leipzig University Medical Center, IFB Adiposity Diseases, Leipzig, Germany, ⁴Helmholtz-Centre for Environmental Research – UFZ, Department of Metabolomics, Leipzig, Germany

Introduction: The Simpson-Golabi-Behmel Syndrom (SGBS) cells are a reliable model to study human adipogenesis. However, the molecular mechanisms that occur during adipocyte differentiation and which are potentially involved in the development of obesity and related sequelae are not fully understood. Therefore the aim of this study was to investigate comprehensively the adipogenesis of SGBS preadipocytes to adipocytes on a molecular level using a global proteomics and a targeted metabolomic approach.

Methods: In this study we used Stable Isotope Labeling in Cell Culture (SILAC) combined with LC-MS/MS for an accurate *in-depth* quantitative proteome analysis of intracellular and secreted proteins. Half of the preadipocytes were grown in culture media which contained heavy amino acids (¹³C₆¹⁵N₄-Arg and ¹³C₆-Lys) for stable isotope labeling of all proteins. The other half was grown in medium supplemented with light amino acids (¹²C₆-Arg and ¹²C₆-Lys) before and during differentiation. After harvesting the cells as well as the cell culture supernatants samples were conditioned by precipitation with TCA. The pellets were dissolved in buffer containing 6M Urea, 0.1M ammonium bicarbonate und 1M DTT and concentrated using a 10kDa cutoff centrifugal filter units. Subsequently adipocyte and preadipocyte protein extracts were mixed equimolar. After further separation by 1D-SDS-PAGE the entire protein gel lanes were cut into gel slices, subjected to in-gel digestion with trypsin and subsequently measured by nano-HPLC/nano-ESI-LTQ-Orbitrap-MS. MS raw data were analyzed and quantified using the MaxQuant software. Differentially expressed proteins were clustered according their protein functions as well as their participation in metabolic pathways using the functional annotation tool DAVID. For the assessment of 163 metabolites MeOH/water extracted cells and the media were applied to Biocrates Absolute IDQ kit.

Results: In a preliminary analysis we were already able to quantify more than 1100 proteins. 54 proteins were found to be more abundant in adipocytes whereas 378 proteins were of significant higher abundance in preadipocytes. Also in agreement with the whole-genome transcriptomics analysis differentially expressed proteins play especially an important role in cell structure, translational elongation and protein degradation as well as in metabolic processes. Among the significantly regulated metabolic pathways “fatty acid metabolism”, “valine, leucine and isoleucine degradation” and “carbohydrate metabolism” were found to be highly enriched, which could be fully confirmed by metabolome data.

Conclusion: Our preliminary analysis revealed numerous differentially expressed proteins and metabolites in preadipocytes compared to adipocytes. The next step will be to combine transcriptome, proteome and metabolome data in order to identify a small but reliable set of new markers or even mediators potentially involved in the pathogenesis of obesity and related disease.

P 295

Analysis of the effect of glucose-dependent insulintropic polypeptide infusion on the gene expression of calcitonin peptides in human adipose tissue

Pivovarova O.^{1,2}, Gögebakan Ö.^{1,2}, Pfeiffer A.F.H.^{1,2}, Rudovich N.^{1,2}

¹German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke, Department of Clinical Nutrition, Nuthetal, Germany, ²Charite University Medicine, Campus Benjamin Franklin, Department Endocrinology, Diabetes and Nutrition, Berlin, Germany

Aims: Increased plasma levels of calcitonin gene-related peptide (CGRP)-I and procalcitonin (Pro-CT) are associated with obesity and inflammation. Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) is recently described to induce *CGRP-I* and *CT* expression in human adipocytes in vitro. However, a physiological relevance of the link between GIP and CT peptides has not been studied yet. The aim of the study was the assessment of the effect of the GIP infusion on the expression of CGRP-I and Pro-CT in human adipose tissue.

Materials and methods: GIP effects were studied in subcutaneous fat biopsies of seventeen healthy male obese volunteers. They received GIP infusions in postprandial concentrations ($2 \text{ pmol/kg}^{-1}/\text{min}^{-1}$) or saline infusions for 240 min either alone, in combination with euglycemic hyperinsulinemic clamps (EC) or in combination with hyperglycemic hyperinsulinemic clamps (HC). Human *CGRP-I* and *CT* mRNA expression in adipose tissue biopsies was assessed by real-time PCR and normalized to the expression of housekeeping gene RPLP0.

Results: We detected the expression of CGRP-I gene in all subcutaneous fat samples studied. However, no significant influence of glucose, insulin or GIP infusion was revealed after 240 min of clamps. We also demonstrated no influence of GIP infusion in the combined analysis of all clamps. Very low CT expression was detected only in 8 from 116 analyzed subcutaneous fat samples and GIP infusion had no effects on its level.

Conclusion: Until now, the GIP influence on the CT peptides expression was studied in vitro in cell culture or in vivo in patients with sepsis and morbid obesity. We firstly demonstrated in clinical study that GIP has no effect on the CT expression in the subcutaneous tissue of moderate obese humans. Further clinical investigation will elucidate whether the link between GIP and CT peptides relate to the metabolic complications of obesity.