

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der
Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Die Interaktion von Magenentleerung und Glukosestoffwechsel
bei Gesunden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1**

Rolle des β -Zell-Hormons Amylin

Dissertation

**zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München.**

vorgelegt von

Maximilian Albrecht

aus

Dachau

Jahr

2009

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der
Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Prof. Dr. Burkhard Göke

**Die Interaktion von Magenentleerung und Glukosestoffwechsel
bei Gesunden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1
Rolle des β -Zell-Hormons Amylin**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München.**

**vorgelegt von
Maximilian Albrecht**

aus

Dachau

Jahr

2009

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig- Maximilians- Universität München**

1. Berichterstatter: Prof. Dr. J. Schirra

2. Berichterstatter: Prof. Dr. O. Schnell

Mitberichterstatter: Prof. Dr. J. Seißler

Prof. Dr. M. Sperandio

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Priv. Doz. Dr. J. Wörle

Dekan:

Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 17.12.2009

Danksagungen

Herrn Prof. Dr. Jörg Schirra danke ich für die engagierte Begleitung bei der Planung, Durchführung, Interpretation und für die geduldige Korrektur der Arbeit. Mein Dank gilt Priv. Doz. Dr. Jürgen Wörle, der meine Arbeit von Beginn an intensiv begleitet hat. Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Burkhard Göke, in dessen Clinical Research Unit der Medizinischen Klinik und Poliklinik II diese Arbeit möglich wurde. Mein besonderer Dank gilt Frau Rita Schinkmann und Frau Silke Herrmann, die mir bei der Betreuung der Probanden und in allen unerwarteten Situationen tatkräftig und sachkundig zur Seite standen. Ich danke Dr. Mathias Nicolaus, der mir bei Schwierigkeiten während der Versuchsdurchführung jederzeit hilfreich zur Verfügung stand. Meinen Eltern danke ich für ihre moralische und finanzielle Unterstützung. Samera Shakir danke ich dafür, dass sie mich auf diese Arbeit aufmerksam gemacht hat. Ganz besonderer Dank gilt Felicitas Menhard für ihre Geduld und Hilfsbereitschaft in der experimentellen Phase der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| 1. Einleitung | 6 |
| 1.1 Zur Regulation des postprandialen Glukosestoffwechsels | 6 |
| 1.2 Zur physiologischen Regulation der Magenentleerung | 7 |
| 1.2.1 Plasmaglukose | 8 |
| 1.2.2 Intestinale Peptide | 9 |
| 1.2.3 Amylin | 9 |
| 1.3 Zur Pathophysiologie der Magenentleerung bei Diabetes mellitus Typ 1 | 11 |
| 1.4 Hypothesen und Ziele | 11 |
| 2. Material und Methoden | 13 |
| 2.1 Probanden | 13 |
| 2.2 Protokoll | 15 |
| 2.2.1 Übersicht über das experimentelle Design | 15 |
| 2.2.2 Insulinzufuhr bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 | 17 |
| 2.2.3 Infusion von [1-13-C] Glukose | 18 |
| 2.2.4 Blutentnahmen | 18 |
| 2.2.5 Testmahlzeit | 19 |
| 2.2.6 Szintigraphie der Magenentleerung | 19 |
| 2.2.7 Einstellung von Hyperglykämie bei gesunden Probanden | 20 |
| 2.3 Bestimmungen | 21 |
| 2.4 Kalkulationen | 21 |
| 2.5 Statistische Analyse | 24 |
| 3. Ergebnisse | 25 |
| 3.1 Magenentleerung | 25 |
| 3.2 Plasmaglukose | 32 |
| 3.3 Plasmakonzentrationen von Insulin, Glukagon und Amylin | 34 |
| 3.4 Erscheineraten von exogener und endogener Glukose | 42 |
| 3.5 Periphere Glukoseaufnahme bei gesunden Probanden | 49 |
| 4. Diskussion | 51 |
| 4.1 Die Bedeutung der Magenentleerung für die postprandialen Glukoseflüsse bei gesunden Probanden | 51 |
| 4.2 Störung der Hyperglykämie- abhängigen Regulation der Magenentleerung bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 | 57 |
| 5. Zusammenfassung | 66 |
| 6. Literaturverzeichnis | 69 |
| 7. Publikationen | 75 |
| 8. Lebenslauf | 76 |

1. Einleitung

1. 1 Zur Regulation des postprandialen Glukosestoffwechsels

Die Regulation der postprandialen Hyperglykämie hat in den letzten Jahren verstärkte Beachtung gefunden, da eine pathologische Glukosetoleranz häufig einem Diabetes mellitus vorausgeht und als unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor erkannt wurde (1).

Nüchternblutzuckerwerte werden weitgehend determiniert durch die Interaktion zwischen der Funktion des endokrinen Pankreas einerseits und hepatischer wie peripherer Insulinsensitivität andererseits (2,3). Postprandiale Blutzuckerexkursionen jedoch werden nur zu etwa 50% über dieses Zusammenspiel reguliert (4,5). Ein komplexes Zusammenspiel vieler Faktoren reguliert die postprandiale Blutzuckerhomöostase: Insulin steigt postprandial an. Es hemmt zum einen die Glukosebildung in der Leber und fördert zum anderen die Glukoseaufnahme in periphere Gewebe (6). Glukagon wird postprandial durch Insulin supprimiert (6). Im Nüchternzustand stimuliert Glukagon die Glukosebildung in der Leber, vor allem den Abbau der Glykogenspeicher (6). Die Freisetzung endogener Glukose durch die Leber wird postprandial um etwa 50 – 60 % vermindert (4). Neben reduzierter Freisetzung endogener Glukose kann die Leber den postprandialen Blutzuckeranstieg auch dadurch minimieren, dass sie einen Teil der aus der Mahlzeit stammenden Glukose aus dem portalvenösen Blut aufnimmt, so dass dieser Anteil, es sind etwa 30% der Glukose einer Mahlzeit (4), nicht in der peripheren Zirkulation erscheint und somit auch nicht zum postprandialen Blutzuckeranstieg beiträgt. Die Geschwindigkeit der Magenentleerung ist ein weiterer Einflussfaktor für die postprandiale Glykämie. Theoretisch hängt es wesentlich von der Magenentleerung ab, mit welcher Geschwindigkeit die in der Mahlzeit enthaltenen Kohlenhydrate in der Blutzirkulation erscheinen, vor allem dann, wenn die Mahlzeit einfache

Kohlenhydrate wie Glukose enthält, die nach der Entleerung aus dem Magen sofort resorbiert werden. Frühere Untersuchungen haben ergeben, dass frühpostprandiale Blutzuckerexkursionen zu etwa 40 – 50% durch die Geschwindigkeit der Magenentleerung determiniert werden (7), wobei bisher nicht gezeigt wurde, wie sich die Geschwindigkeit der Magenentleerung auf die postprandialen Glukoseflüsse auswirkt. Theoretisch müsste eine Verzögerung der Magenentleerung zu einem reduzierten Einfluss von Glukose aus dem Verdauungstrakt in die periphere Zirkulation führen und auf diesem Wege zu einer Reduktion der postprandialen Blutzuckerexkursionen.

1. 2 Zur physiologischen Regulation der Magenentleerung

Die Magenentleerung wird selbst wiederum durch ein komplexes Zusammenspiel zahlreicher Einflussgrößen moduliert. Eine wesentliche Rolle spielt eine Feedback- Hemmung durch in den Dünndarm entleerte Nährstoffe, v. a. Kohlenhydrate und Fett (8). Der Sinn dieser postprandialen Entleerungshemmung ist zum einen die Gewährleistung einer ausreichenden Zeit für die Zerkleinerung der Mahlzeit. So können nur Partikel ≤ 1 mm den Pylorus passieren (9). Zum anderen erhält der Organismus durch den regulierten Einstrom von Nährstoffen die Zeit, diese zu resorbieren und zu verstoffwechseln. Symptome einer zu schnellen Magenentleerung („Dumping“) wie Blutdruckabfälle und inadäquate Blutzuckeranstiege und nachfolgende Hypoglykämien werden so vermieden. Die postprandiale Magenmotilität wird durch das enterische Nervensystem reguliert, moduliert durch cholinerge exzitatorische und nicht- cholinerge, nicht- adrenerge inhibitorische Signale durch den Nervus vagus (8). Motorische Mechanismen einer Magenentleerungshemmung sind die postprandiale Relaxation des Magenfundus, Hemmung der antralen Motilität und Stimulation der Pylorusaktivität (10). Intestinale Nährstoffe führen zur Freisetzung intestinaler Signalpeptide, die als Neurotransmitter oder Hormone neuromodulatorisch wirken (8,10-16). Aber auch

akute Anstiege der Plasmaglukosekonzentration hemmen die Magenentleerung (17-20), wobei die Mechanismen bislang noch nicht verstanden sind.

1.2.1 Plasmaglukose

Akute Veränderungen der Plasmaglukosekonzentrationen haben bekanntermaßen einen deutlichen, reversiblen Einfluss auf die motorische Funktion des Gastrointestinaltrakts (21). Verglichen mit Euglykämie (4 - 6 mmol / L) wird die Motilität des Gastrointestinaltrakts durch akute Änderungen der Plasmaglukosekonzentrationen in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen unterschiedlich moduliert, von ausgeprägter Hyperglykämie (> 12 mmol / L), über physiologische postprandiale Exkursionen zwischen 8 – 10 mmol / L, bis hin zu Hypoglykämie (< 2,5 mmol / L), und die Effekte zeigen sich sehr rasch innerhalb von Minuten (17). Die Mechanismen, welche die Effekte der akuten Änderungen der Plasmaglukosekonzentrationen vermitteln, sind bislang unbekannt und die Unterschiede in den Auswirkungen von chronischen im Vergleich zu akuten Änderungen der Plasmaglukosekonzentrationen wurden bisher wenig beachtet. Ausgeprägte Hyperglykämie (16 – 20 mmol / L) verlangsamt sowohl die Entleerung von Flüssigkeiten als auch Festspeisen bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1, verglichen mit Euglykämie im Bereich von 5 – 8 mmol / L (19). Auch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 gibt es Belege für eine inverse Korrelation zwischen dem Blutzuckerspiegel und der Magenentleerungsrate (22). Eine Anhebung der Plasmaglukosekonzentrationen auf physiologische postprandiale Werte von 8 mmol / L führt bei gesunden Probanden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 ebenfalls zu einer Verzögerung der Magenentleerung, verglichen mit euglykämischen Plasmaglukosekonzentrationen von 4 mmol / L (20). Umgekehrt führt eine Insulin- induzierte Hypoglykämie von 2,6 mmol / L zu einer Beschleunigung der Magenentleerung bei gesunden Probanden (23) und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (24).

1.2.2 Intestinale Peptide

Aus der Interaktion von Nahrungsbestandteilen mit der Dünndarmmukosa sind über die Freisetzung intestinaler Peptide Rückwirkungen auf die Magenentleerung bekannt (21). Glucagon-like peptide-1(7-36)amide (GLP-1), sezerniert von den L-Zellen der Darmmukosa, dessen Freisetzung durch den Kontakt der Nahrungsbestandteile, v. a. Kohlenhydrate und Fette, mit dem Dünndarm stimuliert wird (10), hat hierbei eine hemmende Wirkung auf die Magenentleerung (25). Es wird vermutet, dass GLP-1 seine Wirkung auf die Magenentleerung über eine Suppression der Aktivität des Nervus vagus entfaltet. Es besteht hierbei möglicherweise eine Interaktion mit vagalen afferenten Nerven des Magens oder mit spezifischen Bindungsstellen in der Area postrema, welche GLP-1 über die systemische Zirkulation erreicht (12). Glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP) hat keine Effekte auf die Magenentleerung (26), die Effekte von Peptide YY (PYY) auf die Motilität des Magens sind unklar (27). Von Cholecystokinin (CCK) konnte eine hemmende Wirkung auf die Magenentleerung gezeigt werden (28,29).

1.2.3 Amylin

Das Hormon Amylin, ein aus 37 Aminosäuren gebildetes saures Peptid (30), wird von der pankreatischen β - Zelle gemeinsam mit Insulin in einem festen molaren Verhältnis co-sezerniert (31). Als Reaktion auf einen Anstieg des Blutzuckers erfolgt also ein simultaner Anstieg der Hormone Insulin und Amylin. Es sind hochpotente inhibitorische Effekte von synthetischem Amylin auf die Magenentleerung bekannt (32). Immunoassays von Amylin bei Gesunden zeigen Nüchternkonzentrationen im Plasma von 4 bis 8 pmol / l, postprandial steigen die Plasmakonzentrationen von Amylin auf das Zwei- bis Dreifache an (33). Bei

Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 liegen die Plasmaamylinkonzentrationen am Rande der Nachweisgrenze oder sind nicht nachweisbar, passend zu einer autoimmunologischen Zerstörung der β - Zellen. Nach Nahrungsaufnahme kommt es nicht zu einem Anstieg der zirkulierenden Plasmaamylinkonzentrationen (33). Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 hingegen verlaufen Änderungen der Plasmaamylinkonzentrationen parallel zu Änderungen der Plasmainsulinkonzentrationen, was das Konzept der Ko- Sekretion beider Hormone unterstützt (34). Pramlintide ist ein stabiles, nicht- aggregierendes, biokatives Analogon des Hormons Amylin. Die Sequenz des natürlichen Hormons Amylin lautet KCNTATCATQRLANFLVHSSNCFGAILSSTNVGSNTY mit einer Disulfidbrücke zwischen den Zysteinseitenketten in den Positionen 2 und 7. Die Sequenz des Analogons unterscheidet sich von Amylin durch drei Aminosäuren: ²⁵ALA \rightarrow Pro, ²⁸Ser \rightarrow Pro und ²⁹Ser \rightarrow Pro (35). Bei gesunden Probanden konnte gezeigt werden, dass Pramlintide die Magenentleerung ohne gleichzeitige Beeinflussung des Transits in Dünndarm und Kolon verzögert (34). Es wurden keine Rezeptoren für Amylin bzw. Pramlintide im Magen gefunden, so dass ein direkter Effekt von Amylin auf den Magen unwahrscheinlich ist (34). In Studien am Gehirn von Ratten konnten Amylinrezeptoren in der Area postrema nachgewiesen werden, eine der Regionen, welche die efferente Aktivität des Nervus vagus regulieren (36,37). Subdiaphragmatische Vagotomie bei Ratten löschte den Effekt von Amylin auf die Magenentleerung (34). Beim Menschen kam es nach Gabe von Pramlintide zu einer signifikanten Reduktion der postprandialen Plasmakonzentrationen des pankreatischen Polypeptides (34), einem Marker der vagal- cholinerger Aktivität (25,38). Es bestand eine inverse Beziehung zwischen den Plasmakonzentrationen des pankreatischen Polypeptides und den Raten der Magenentleerung, was eine durch Pramlintide induzierte efferente vagale Inhibition nahe legt (34).

1. 3 Zur Pathophysiologie der Magenentleerung bei Diabetes mellitus Typ 1

Veränderungen der Magenentleerung wurden bei Patienten mit Diabetes mellitus bisher kaum als relevante Einflussgröße der postprandialen Blutzuckerregulation angesehen, es sei denn, im Rahmen einer diabetischen Gastroparese als Spätkomplikation eines Diabetes mellitus (39,40). Die Gastroparese ist eine relativ seltene Komplikation des Diabetes mellitus und ist auf eine irreversible Schädigung autonomer Nerven zurückzuführen (41). Sie muss unterschieden werden von den physiologischen hemmenden Effekten akuter Hyperglykämie auf die Motilität des Magens (18,19). Der hemmende Effekt akuter Hyperglykämie auf die Magenentleerung wurde als physiologischer Schutzmechanismus diskutiert, in dem Sinne, dass ein weiterer Anstieg des Blutzuckers über eine Reduktion des Zuflusses von Glukose aus dem Verdauungstrakt in die Zirkulation verhindert wird (42). Es wurde berichtet, dass unter den Bedingungen eines kontinuierlichen hyperglykämischen Clamps bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus die Fähigkeit, die Magenentleerung als Reaktion auf Hyperglykämie zu verzögern, eingeschränkt ist (20). Bei Patienten mit Diabetes mellitus besteht neben der bekannten Insulin- Defizienz auch eine Defizienz des Hormons Amylin (43). Da Amylin bekanntermaßen die Magenentleerung verzögert (43), könnte die beeinträchtigte Reagibilität des Magens auf akute Hyperglykämie bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus durch das Fehlen des Hormons Amylin (mit)bedingt sein.

1. 4 Hypothesen und Ziele

In Beobachtungsstudien konnte anhand von Korrelationsanalysen gezeigt werden, dass postprandiale Blutzuckerexkursionen zu etwa 40 – 50% über die Geschwindigkeit der Magenentleerung erklärt werden können. Hingegen fehlen bislang interventionelle Studien, welche die Bedeutung der Magenentleerung für die postprandialen Glukoseflüsse

untersuchen. Theoretisch müsste eine Verzögerung der Magenentleerung zu einem reduzierten Einfluss von Glukose aus dem Verdauungstrakt in die periphere Zirkulation führen und auf diesem Wege zu einer Reduktion der postprandialen Blutzuckerexkursionen.

Um dies zu bestätigen, wurde gesunden Probanden eine physiologische Mahlzeit verabreicht und die Magenentleerung wurde mittels des Amylin- Analogons Pramlintide verzögert. Untersucht wurden die Konsequenzen dieser Intervention auf die Magenentleerung, die postprandialen Blutzuckerkonzentrationen, die endogene (hepatische) Glukoseproduktion, die Erscheinerate exogener, d.h. aus der Mahlzeit stammender, Glukose im Plasma, die hepatische Glukosesequestration und die Glukoseaufnahme in der Peripherie.

In einem zweiten Ansatz wurden Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus untersucht, denen das β - Zell- Hormon Amylin fehlt. Hypothese war, dass diese Patienten im Gegensatz zu Gesunden auf eine Hyperglykämie nicht mit einer entsprechenden Magenentleerungsverzögerung reagieren. Unter Anwendung von akuter Hyperglykämie wurde bei gesunden Probanden und Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus überprüft, ob und in wie weit bei den Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus eine Beeinträchtigung der Hyperglykämie- induzierten Magenentleerungsverzögerung vorliegt. Im Unterschied zu früheren Untersuchungen wurden physiologische postprandiale Exkursionen der Plasmaglukosekonzentrationen zugelassen. Zudem wurde die Hypothese geprüft, dass unverminderter Zufluss exogener Glukose aus dem Verdauungstrakt in die periphere Zirkulation zu einer Aggravation der postprandialen Hyperglykämie beiträgt.

Die Gabe von Pramlintide bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus diente der Überprüfung der Hypothese, dass durch Wiederherstellung einer der akuten Hyperglykämie angemessenen Verzögerung der Magenentleerung über reduzierten Zufluss exogener Glukose aus dem Verdauungstrakt in die Blutzirkulation eine Reduktion der postprandialen Blutzuckerexkursionen erreicht werden kann.

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

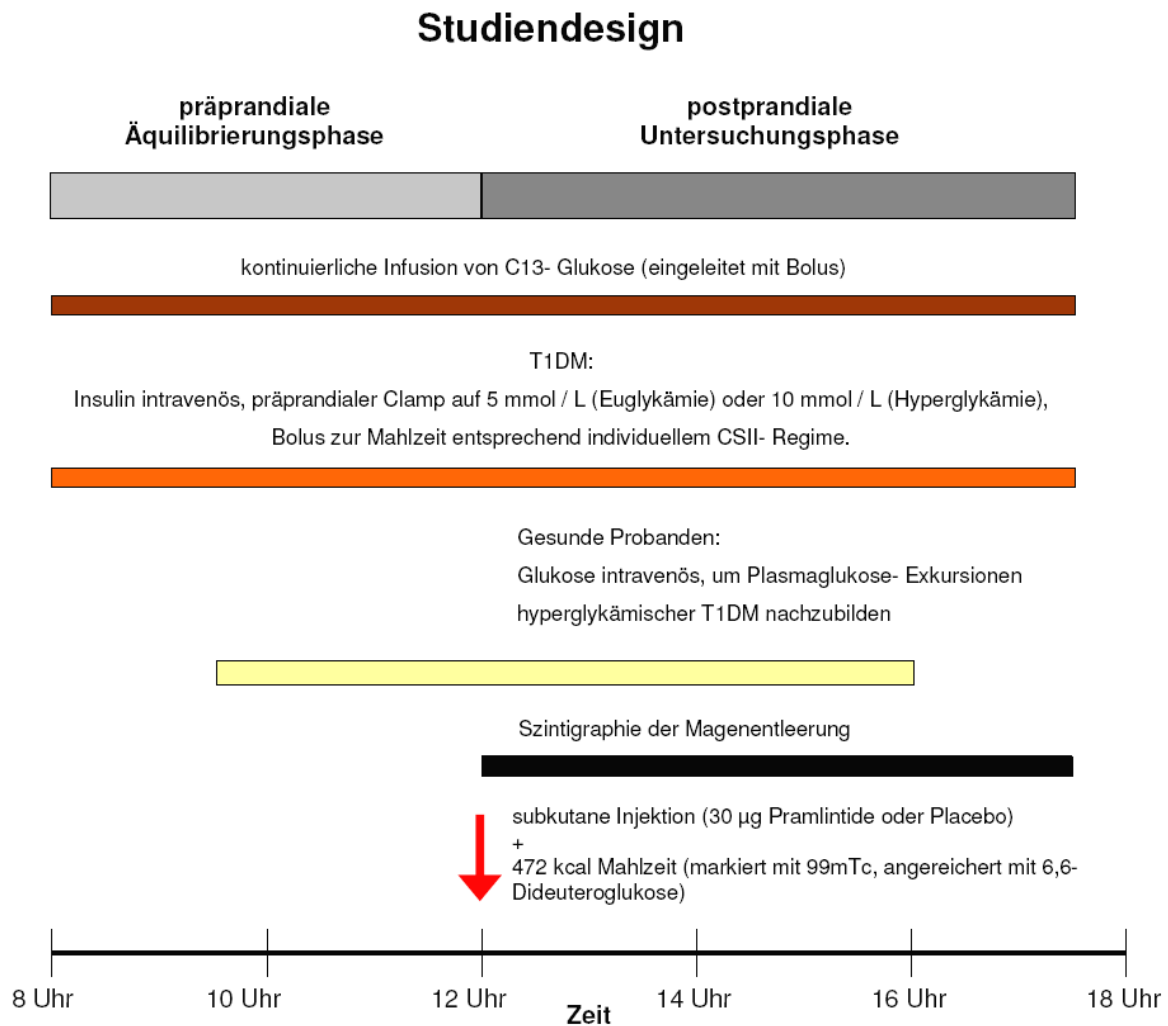
14 gesunde Probanden sowie 15 Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus gaben ihre schriftliche Einwilligung, nachdem die Studie von der Ethikkommission der Ludwig- Maximilians-Universität München, von der Bundesoberbehörde und vom Bundesamt für Strahlenschutz genehmigt worden war. Die gesunden Probanden (8 Männer, 6 Frauen, Alter 40 ± 3 Jahre, Körpergewicht 78 ± 4 kg, Body Mass Index $27,8\pm 1,1$ kg/m^2) hatten unauffällige Befunde in der körperlichen Untersuchung, unauffällige Werte der Routinelaborparameter und gaben keine gastrointestinalen Symptome an. Die Probanden hatten normale Werte im oralen Glukosetoleranztest (44): Die Nüchternwerte von Glukose im Plasma lagen bei allen Probanden unter 100 mg / dl. 120 Minuten nach Einnahme einer Lösung von 75 g Glukose in 200 ml Wasser lagen die Plasmaglukosekonzentrationen bei allen Probanden unter 140 mg / dl. Bei keinem der gesunden Probanden bestand eine positive Familienanamnese für Diabetes mellitus. Die Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus (8 Männer, 7 Frauen, Diabeteslaufzeit 19 ± 3 Jahre, Alter 37 ± 2 Jahre, Körpergewicht 76 ± 3 kg, Body Mass Index $24,8\pm 0,8$ kg/m^2 . Altersstruktur, Körpergewicht und BMI nicht signifikant unterschiedlich von den gesunden Probanden, alle $p > 0,3$) waren ansonsten gesund mit ebenfalls unauffälligen Befunden in der körperlichen Untersuchung und unauffälligen Werten der Routinelaborparameter. Bei keinem der Patienten bestanden Symptome einer gastrointestinalen Neuropathie (Völlegefühl, Übelkeit, Erbrechen, Diarrhöe oder wiederholte postprandiale Hypoglykämie). Zum Ausschluss einer diabetischen autonomen Neuropathie wurden zudem kardiovaskuläre Funktionstests nach Ewing und Clarke durchgeführt (45). Zunächst wurde die Pulsfrequenzvarianz während sechs tiefer Atemzyklen untersucht, wobei eine Differenz

zwischen maximaler und minimaler Pulsfrequenz im Verlauf eines Atemzyklus von im Mittel ≤ 10 / min als pathologisch gewertet wurde. Die jeweilige Pulsfrequenz wurde anhand der RR- Intervalle im EKG als $60 / \text{RR- Intervall (sec)}$ berechnet. Im Anschluss wurde die Änderung der Herzfrequenz unmittelbar nach dem Aufstehen bewertet, wobei eine Relation von $\leq 1,0$ zwischen dem RR- Intervall im EKG beim 15. Herzschlag nach dem Aufstehen und dem 30. Herzschlag nach dem Aufstehen als pathologisch angesehen wurde. Zudem wurde ein systolischer Blutdruckabfall von ≥ 30 mmHg nach dem Aufstehen als Anzeichen einer autonomen Neuropathie gewertet. Eine diabetische Nephropathie konnte bei allen Probanden mittels Bestimmung von Mikroalbumin im Urin ausgeschlossen werden. Bei drei Patienten zeigten sich fundoskopisch Zeichen einer milden diabetischen Retinopathie. Alle Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus wurden über mindestens drei Monate vor Studienbeginn mit einer kontinuierlichen subkutanen Insulin- Pumpentherapie (CSII) behandelt mit guter Blutzuckereinstellung, was mittels Bestimmung des HbA1c ($7,3 \pm 0,2\%$) und durch die Patienten selbst gemessene 7- Punkt- Blutzuckertagesprofile ohne schwere hypoglykämische Episoden (< 40 mg / dl und neuroglukopenische Symptome wie Somnolenz, Koma oder Konvulsionen) belegt wurde.

Drei Tage vor Studienteilnahme wurde von allen Probanden eine gewichtserhaltende Diät eingehalten, welche mindestens 200g Kohlenhydrate pro Tag beinhaltete, sowie Verzicht auf Alkohol, Zigarettenrauchen und Sport.

2.2 Protokoll

2.2.1 Übersicht über das experimentelle Design



Bei dieser prospektiven, Placebo- kontrollierten, randomisierten, einfach- blinden cross- over- Studie nahm jeder Proband und jeder Patient an insgesamt je drei Versuchstagen teil. Die Versuche fanden im Abstand von mindestens 48 Stunden statt. Nach einer vierstündigen Nüchternphase in Eu- oder Hyperglykämie (5 mM bzw. 10 mM) wurde jeweils eine Testmahlzeit (450 kcal) eingenommen, deren Magenentleerung über 330 Minuten

szintigraphisch gemessen wurde. Zunächst wurde an zwei Tagen bei normoglykämischen Gesunden durch subkutane Injektion von 30 µg des synthetischen Amylin- Analogon Pramlintide (Amylin Pharmaceuticals, San Diego, USA) oder von Placebo untersucht, welche Auswirkungen eine Magenentleerungshemmung auf die postprandialen Glukoseflüsse hat. Pramlintide wurde zu einer Testmahlzeit in das subkutane Fettgewebe des Abdomens injiziert.

In einem zweiten Ansatz wurden bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 Magenentleerung und postprandiale Glukoseflüsse unter Normoglykämie (5 mM) und Hyperglykämie (10 mM) nach Injektion von Placebo untersucht und mit dem Effekt der Hyperglykämie (10 mM) bei Gesunden verglichen. Hierzu wurden bei den Gesunden an deren drittem Tag (nicht randomisiert) durch eine Glukose- Clamp- Technik (46), modifiziert nach (47), identische Plasmaglukosekonzentrationen erzeugt wie bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 unter Hyperglykämie.

Im dritten Teil der Studie wurden bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 unter Hyperglykämie Magenentleerung und Glukoseflüsse nach Injektion von 30 µg Pramlintide untersucht und mit dem Effekt alleiniger Hyperglykämie verglichen.

Die Glukoseflüsse (Erscheinerrate von Glukose im Plasma, Erscheinerrate von exogener Mahlzeitglukose im Plasma, endogene (hepatische) Glukoseproduktion, periphere Glukoseelimination) wurden unter Einsatz nicht-radioaktiver Tracer (stabile Glukoseisotope) zur Markierung der oralen Glukose ([6,6-²H₂] Glukose) und des systemischen Glukosepools ([1-¹³C] Glukose) kalkuliert (48-51). Diese bislang ausschließlich in Zentren der USA eingesetzte Technik wurde erstmals in Europa angewendet.

Die Kohlenhydrate dieser Testmahlzeit bestanden zur Messung der Glukoseflüsse ausschließlich aus molekularer Glukose (50g), die in Form von semisolider Götterspeise verabreicht wurde (darüber hinaus Rührei). Diese Glukose war angereichert mit 3g [6,6-²H₂]

Glukose. Jeder Diabetiker erhielt die Insulindosis, die zuvor zur Verstoffwechslung von 50g Glukose individuell ermittelt worden war. Diese Insulindosis wurde dann in allen Versuchen identisch verabreicht.

Rührei und Götterspeise der Testmahlzeit waren radioaktiv markiert mit ^{99m}Tc -Zinnkolloid (75 MBq). Deren Entleerung wurde über 330 Minuten kontinuierlich mit hochauflösender Szintigraphie (20 Bilder pro Minute) szintigraphisch verfolgt (52,53).

Zur Messung der Hormone und Glukose wurde arterialisiertes venöses Blut entnommen (heated hand- Methode unter Erwärmung der jeweiligen Hand auf 40°C mit einer thermoregulierten Rotlichtlampe (10,12,25)). Die Messung der stabilen Glukoseisotope im Plasma erfolgte massenspektrometrisch (54,55), die Messung von Insulin, Glukagon und Amylin im Plasma mit kommerziell erhältlichen Ria bzw. ELISA. Plasmaglukose wurde mit einem Glukoseanalyser nach der Glukoseoxidasmethode (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, OH, USA) bestimmt.

2.2.2 Insulinzufuhr bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1

Die Teilnehmer blieben mindestens 10 Stunden vor Versuchsbeginn nüchtern und trafen am Tag des Versuches zwischen 07.00 Uhr und 07.30 Uhr in unserem Clinical Research Unit ein. In den Nächten vor Studienteilnahme wurden die Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus angewiesen, um 10.00 Uhr und 02.00 Uhr Blutzuckermessungen durchzuführen und die basale Infusionsrate ihrer Insulinpumpe entsprechend des Studiendesigns auf einen Blutzucker- Zielwert von 5 mM für euglykämische Experimente bzw. 10 mM für hyperglykämische Experimente anzupassen (56). Nach dem Eintreffen in unserem Clinical Research Unit wurde das CSII- Regime unterbrochen und eine kontinuierliche intravenöse Infusion von Insulin begonnen, um die präprandialen Plasmaglukosekonzentrationen bei 5 mM bzw. 10 mM zu halten. Die postprandialen Infusionsraten für Insulin wurden individuell

abgeleitet aus den Bolusgaben, welche die Patienten für eine 50g Kohlenhydrate enthaltende Mahlzeit zuführen würden, und wurden bei allen Experimenten identisch wiederholt. Die postprandialen Insulininfusionraten betragen bei eu- and hyperglykämischen Experimenten $6,4\pm 0,9$, $6,8\pm 0,8$, $3,5\pm 0,8$, $1,4\pm 0,3$, $0,9\pm 0,1$ IE / h in den Zeitintervallen 0 – 30, 35 – 60, 65 – 120, 125 – 240 und 240 – 330 min. Bei gesunden Probanden wurde kein Insulin infundiert.

2.2.3 Infusion von [1-13-C] Glukose

Um 08.00 Uhr wurde eine kontinuierliche ($0.25 \mu\text{mol/kg/min}$) Infusion von [1-13-C] Glukose über eine Unterarmvene begonnen, eingeleitet mit einem Bolus von $25 \mu\text{mol/kg}$, zur Bestimmung des Glukoseumsatzes im Plasma. Die Infusion startete drei Stunden vor Einnahme der Mahlzeit (Equilibrierung) und wurde bis zum Ende des Versuchs fortgesetzt. Diese Prozedur wurde in allen außer in den hyperglykämischen Experimenten der gesunden Probanden durchgeführt. Im Steady State konnte eine Anreicherung des Isotops zwischen 2 und 3 % erreicht werden. Die Änderungen der Anreicherung des Isotops im Zeitverlauf ausgehend vom Steady State ermöglichten die Kalkulation der Dynamik der Gesamtglukoseerscheinerate im Plasma.

2.2.4 Blutentnahmen

Kontralateral zur Infusion von [1-13-C] Glukose und Insulin (im Falle der Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus) wurde ein venöser Verweilkatheter retrograd am Handrücken angelegt und die Hauttemperatur am Handrücken mittels einer thermoregulierten Lampe bei 40°C konstant gehalten, um arterialisierte venöse Blutproben entnehmen zu können (10,12,25). Vor Mahlzeiteinnahme wurden drei Blutentnahmen durchgeführt zur Messung von Plasmaglukose, Insulin, Glukagon, Amylin, und Anreicherung der [1-13-C] Glukose im

Plasma. Über die ersten 90 Minuten der postprandialen Phase wurden in 15-minütigen Abständen Blutproben entnommen zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen von Glukose, Insulin, Glukagon, Amylin, und der Anreicherungen von [1-13-C] Glukose sowie [6,6-²H₂] Glukose im Plasma, danach in 30-minütigen Abständen bis zum Versuchsende (Zeitpunkt 330 min). Die hyperglykämischen Versuche der gesunden Probanden wurden bei 240 min beendet.

2.2.5 Testmahlzeit

Um 12.00 Uhr (Zeitpunkt t = 0 min) nahmen die Probanden eine standardisierte Mahlzeit innerhalb von fünf Minuten zu sich. Die Mahlzeit (450 kcal, ~45% Kohlehydrate, ~30% Fett and ~25% Protein) bestand aus 3 Rühreiern und einer Götterspeise, welche 50g Glukose enthielt, angereichert mit 3g [6,6-²H₂] Glukose zur Bestimmung der Erscheinerate exogener (aus der Mahlzeit stammender) Glukose im Plasma. Einziges Kohlenhydrat der Mahlzeit war Glukose, um den Glukoseumsatz mittels der Tracer- Methode quantifizieren zu können. Zur Mahlzeit tranken die Probanden 200 ml Mineralwasser.

2.2.6 Szintigraphie der Magenentleerung

Zur Messung der Magenentleerung mittels hochauflösender Szintigraphie (20 Aufnahmen / Minute, Orbiter, Siemens, Germany, Erlangen) wurden Rühreier und Götterspeise zusätzlich mit 99m Tc- Zinnkolloid (75 MBq) markiert. Die szintigraphische Messung der Magenentleerung begann unmittelbar nach Mahlzeiteinnahme – die Einnahme der Mahlzeit nahm circa fünf Minuten in Anspruch – und erfolgte über 330 Minuten (52,53). Über die

Dauer der Experimente blieben die Probanden in einer halb liegenden Position mit 45° erhobenem Oberkörper.

2.2.7 Einstellung von Hyperglykämie bei gesunden Probanden

Nachdem die hyperglykämischen Experimente bei unseren Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus abgeschlossen waren, führten wir bei 10 unserer gesunden Probanden hyperglykämische Experimente durch, wobei wir die prä- und postprandialen Plasmaglukosekonzentrationen im zeitlichen Verlauf isoglykämisch zu den hyperglykämischen Placebo- Experimenten der Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus einstellten. Hierbei bedienten wir uns eines vorbeschriebenen Algorithmus (46), modifiziert nach (47): Die präprandialen Plasmaglukosekonzentrationen wurden bei 11.03 ± 0.1 mM eingestellt, nicht signifikant unterschiedlich von den präprandialen Plasmaglukosekonzentrationen der Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus in den hyperglykämischen Experimenten. Die intravenöse Infusion von Glukose wurde 2,5 Stunden vor Mahlzeiteinnahme begonnen. Zur Einstellung der gewünschten Plasmaglukosekonzentrationen wurde kein Insulin infundiert. Nach einer Bolusgabe von 16.2 ± 2.2 g Glukose lagen die Infusionsraten von Glukose präprandial im Mittel bei 49.1 ± 8.4 $\mu\text{mol} / \text{kg} / \text{min}$. Die postprandialen Infusionsraten von Glukose (im Mittel 96.5 ± 9.8 $\mu\text{mol} / \text{kg} / \text{min}$) wurden so gewählt, dass postprandiale Plasmaglukoseexkursionen erzeugt werden konnten, die sich nicht signifikant von denen der Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus in den hyperglykämischen Placebo- Experimenten unterschieden. Die hyperglykämischen Experimente der gesunden Probanden wurden vier Stunden nach Mahlzeiteinnahme beendet.

2.3 Bestimmungen

Für die Bestimmung der Plasmaglukosekonzentrationen, sowie der Anreicherungen von [1-13-C] Glukose und [6,6-²H₂] Glukose im Plasma wurden Blutproben in Probenröhrchen mit Fluorid- Oxalat gesammelt, für die Bestimmung von Insulin, Glukagon und Amylin in Probenröhrchen mit EDTA und einem Proteaseinhibitor (250 µl Trasylol®, Bayer). Die Blutproben wurden unmittelbar auf Eis gelagert und innerhalb von 30 Minuten bei 4° C zentrifugiert. Plasmaglukosekonzentrationen wurden mittels Glukoseoxidationsmethode bestimmt (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, OH, USA). Die Anreicherungen von [1-13-C] Glukose und [6,6-²H₂] Glukose im Plasma wurden mittels Gaschromatographie – Massenspektroskopie bestimmt (54,55), analysiert durch Dr. J. Gerich, University of Rochester, General Clinical Research Center, NY, USA. Plasmainsulin- und Plasmaglukagonkonzentrationen wurden mittels RIA bestimmt (Human Insulin-Specific RIA Kit und Human Glucagon-Specific RIA Kit (Linco Research, über Biotrend)). Die Variationskoeffizienten der Insulin- und Glukagon- Assays betragen respektive 2,2 und 4,0%. Plasmaamylinkonzentrationen wurden mittels ELISA (Total Human Amylin ELISA Kit (Linco, über Biotrend)) bestimmt.

2.4 Kalkulationen

Duale Tracer- Methode zur Berechnung der Glukoseflüsse

Die systemische Freisetzung und Aufnahme von Glukose wurde in der präprandialen Phase mittels der Steady- State- Gleichung

$$Ra = Rd = I / (E * Bw)$$

berechnet, wobei Ra (Rate of Appearance) der Erscheinerate von Glukose im Plasma in $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, Rd (Rate of Disappearance) der Rate der peripheren Aufnahme von Glukose aus dem Plasma in $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, I der Infusionsrate des Tracers [1-13-C] Glukose in $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, E der Anreicherung des Tracers im Plasma und Bw (Body Weight) dem Körpergewicht in kg entspricht (48). In der postprandialen Phase wurden Non-Steady- State- Gleichungen verwendet (49), wobei eine Pool Fraktion von 0,65 und ein Verteilungsvolumen von 200 ml / kg vorausgesetzt wurden:

$$\text{Ra} = (I - (65 \cdot \text{Bw} - (G_2 + G_1) \cdot (E_2 - E_1) / t)) / ((E_1 + E_2) \cdot 0,5 \cdot \text{Bw}) \text{ und}$$

$$\text{Rd} = \text{Ra} - 130 \cdot (G_2 - G_1) / t.$$

G_1 und G_2 stehen hierbei für die Plasmaglukosekonzentrationen zu den Zeitpunkten 1 und 2 in mmol / L, analog stehen E_1 und E_2 für die Anreicherungen des Tracers [1-13-C] Glukose im Plasma zu den Zeitpunkten 1 und 2, t steht für das Zeitintervall zwischen den Zeitpunkten 1 und 2 in Minuten.

Die Erscheinerate der oral zugeführten Glukose in der systemischen Zirkulation wurde mittels der Anreicherung von [6,6-²H₂] Glukose im Plasma unter Verwendung der Gleichung von Chiasson et al kalkuliert (50,51):

$$((0,25 \cdot (\text{Rd}_1 + \text{Rd}_2) \cdot (G_1 + G_2) + 130 / t \cdot (E_2 \cdot G_2 - E_1 \cdot G_1)) / E_{\text{meal}}.$$

E_{meal} steht hierbei für die Anreicherung des Tracers [6,6-²H₂] Glukose in der gegebenen Götterspeise. Die Erscheinerate endogener Glukose im Plasma wurde kalkuliert als die Differenz von Gesamtglukoseerscheinerate und Erscheinerate exogener Glukose (51,57). Die hepatische Sequestration exogener Glukose wurde kalkuliert als die Differenz zwischen der Menge an oral zugeführter Glukose, die bis zum Versuchsende aus dem Magen entleert wurde, und der Menge an exogener Glukose, die bis zum Versuchsende im Plasma erschien.

Szintigraphie der Magenentleerung

Zur Kalkulation der Magenentleerung mittels der szintigraphisch erhobenen Daten wurde der Umriss des Magens auf dem Bild mit der höchsten Intensität als „Region of Interest“ (ROI) definiert. Die Vollständigkeit der Magenentleerung wurde bei einem Abfall der initialen Aktivität auf weniger als 5% angenommen. Der Verlust von Aktivität wurde um die radioaktive Halbwertszeit von Tc99m korrigiert (53). Nach den Richtlinien der Society of Nuclear Medicine (58) wird eine Framing Rate von 30 – 60 Sekunden empfohlen, um die Parameter „Lag Phase“ und „Halbzeit“ der Magenentleerung exakt festzustellen. Die Lag Phase ist definiert als das Zeitintervall bis zur Reduktion des Mageninhaltes um 10 % vom Ausgangswert. Die Halbzeit ist definiert als das Zeitintervall bis zur Reduktion des Mageninhaltes um 50 % vom Ausgangswert. Auf der Grundlage unserer hoch auflösenden Szintigraphie (20 Bilder / Minute) kalkulierten wir daher den Zeitverlauf der Magenentleerung in Intervallen von jeweils einer Minute. Wie in der „Procedure Guideline for Gastric Emptying and Motility“ (58) empfohlen, akquirierten wir die szintigraphischen Daten in der „Left anterior oblique“- Ansicht mit einer einköpfigen Kamera, um eine (mathematische) Gewebedämpfungskorrektur zu vermeiden. Da alle Probanden sich in einer angenehmen halb liegenden Position befanden, konnten Bewegungsartefakte weitgehend vermieden werden. Das Cine Display wurde verwendet, um den Umriss des Magens zu bestätigen und das Ausmaß der Probandenbewegung zu bestimmen, so dass die ROI entsprechend angepasst werden konnte. Kam es in seltenen Fällen doch zu einer signifikanten Probandenbewegung, so wurde das nuklearmedizinische Software- Paket (Hermes, Nuclear Diagnostics, Sweden) zur Bewegungskorrektur verwendet.

2.5 Statistische Analyse

Soweit nicht anders angegeben, werden die Daten als Mittelwerte \pm SEM (Standard Error of the Mean) gegeben. Es wurde Statistica statistical Software (1998 edition, Statsoft Inc, Tulsa, Okla) verwendet. Die Normalverteilung der Daten wurde mit dem Kolmogorov- Smirnov-Test nachgewiesen. Mittels ANOVA wurden signifikante Wechselwirkungen zwischen den Versuchsbedingungen ausgeschlossen. Anschließend wurden t- Tests durchgeführt: Die Prüfung auf signifikante Unterschiede eines Parameters unter verschiedenen Versuchsbedingungen innerhalb einer Gruppe, d.h. innerhalb der Gruppe der 14 gesunden Probanden oder innerhalb der Gruppe der 15 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (beispielsweise mittlere Plasmaglukosekonzentrationen bei gesunden Probanden unter Placebo versus Pramlintide), erfolgten mittels zweiseitiger gepaarter t- Tests. Die Prüfung auf signifikante Unterschiede eines Parameters zwischen den zwei Gruppen erfolgte mittels zweiseitiger ungepaarter t- Tests. Ein p- Wert von $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant gewertet. Korrelationen zwischen Variablen erfolgten mittels Spearmans Regressionsanalyse.

3. Ergebnisse

3.1 Magenentleerung

Retention des Mageninhaltes, Lag Period, Zeitpunkt der 50%igen Magenentleerung (T50), Retention nach 60 Minuten, Steigungen der Retentionskurven

(vgl. Tabelle 1 und Abbildungen 1, 2)

Magenentleerung bei Gesunden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1

In den euglykämischen Placebo- Experimenten war die Retention des Mageninhaltes zwischen 90 und 120 Minuten bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 signifikant niedriger im Vergleich zu gesunden Probanden (p jeweils $< 0,03$, Abb. 2, die Magenentleerung bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 somit schneller). Die Parameter Lag Period (definiert als das Zeitintervall zwischen Einnahme der Mahlzeit und einer 10%igen Reduktion des Gesamtinhaltes im Magen), T50 und Retention nach 60 Minuten waren jedoch nicht unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen (p jeweils $> 0,3$).

Hyperglykämie führte bei gesunden Probanden zu einer starken Reduktion der Magenentleerung mit signifikant erhöhter Lag Period, T50 und Retention nach 60 Minuten (p jeweils $< 0,001$), wobei der Effekt der Hyperglykämie während der initialen 60 Minuten am deutlichsten ausgeprägt war. Dem gegenüber zeigte die akute Hyperglykämie keine Effekte auf diese Parameter bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1.

Effekt von Pramlintide

Bei hyperglykämischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 kam es unter Pramlintide zu einer ausgeprägten Verzögerung der Magenentleerung im Vergleich zu Placebo (Lag Period, T50 und Retention nach 60 Minuten erhöht mit p jeweils $< 0,001$), wobei die stärksten Effekte innerhalb der ersten 60 Minuten zu sehen waren. Die Werte für Lag Period, T50 und Retention nach 60 Minuten waren unter Pramlintide vergleichbar mit denen einer Hyperglykämie-induzierten Verzögerung der Magenentleerung bei Gesunden ($p = 0,29, 0,06$ und $0,29$).

Die Gabe von Pramlintide bei gesunden Probanden führte zu einer signifikanten Verzögerung der Magenentleerung, gemessen an den Parametern Lag Period, T50 und Retention nach 60 Minuten mit p jeweils $< 0,001$. Die Analyse der Steigung der Retentionskurve in den Zeitabschnitten 0 – 60, 60 – 240 und 240 – 330 Minuten ergab eine signifikante Reduktion der Steigung zwischen 0 und 60 Minuten ($a = -0,38 \pm 0,03$ vs. $-0,13 \pm 0,02$, $p < 0,001$), eine vergleichbare Steigung zwischen 60 und 240 Minuten ($a = -0,31 \pm 0,02$ vs. $-0,27 \pm 0,02$, $p = 0,08$) und eine stärkere Steigung der Retentionskurve unter Pramlintide zwischen 240 und 330 Minuten ($a = -0,17 \pm 0,03$ vs. $-0,33 \pm 0,04$, $p = 0,004$). Der Effekt von Pramlintide auf T50, sowie die höhere Retention am Ende des Experimentes (14 ± 4 vs. 6 ± 2 %, $p = 0,009$) war somit durch die initiale Magenentleerungsverzögerung während der ersten 60 Minuten bedingt.

Regressionsanalysen unter Verwendung von Parametern der Magenentleerung als unabhängige Variablen und Parametern der postprandialen Blutzuckerexkursionen und exogenen Glukoseproduktion als abhängige Variablen

(vgl. Abbildungen 2, 3)

Die postprandialen Anstiege der Plasmaglukosekonzentrationen bei $t = 60$ min korrelierten invers mit der Retention des Mageninhaltes nach 45 Minuten ($r = 0,52$, $p = 0,001$). Für diese Korrelation wurden die Daten aller Placebo- Experimente von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und gesunden Probanden verwendet (vgl. Abbildung 2).

Bei gesunden Probanden wurde eine inverse Korrelation zwischen der Retention des Mageninhaltes nach 45 Minuten und den Spitzenwerten der Plasmaglukosekonzentrationen (bei $t = 60$ min unter Placebo bzw. $t = 120$ min unter Pramlintide) gefunden mit $r = 0,702$ und $p = 0,001$ (vgl. Abbildung 3a). Zudem korrelierten die Differenzen in der Retention zwischen den Placebo- und Pramlintide- Experimenten mit den Differenzen in den Plasmaglukoseanstiegen zwischen den Placebo- und Pramlintide- Experimenten ($r = 0,474$, $p = 0,001$).

Die Differenzen in den Erscheineraten exogener Glukose zwischen den Placebo- und Pramlintide- Experimenten der Gesunden Probanden (gemessen als mittlere Rate von $t = 0$ bis zum Zeitpunkt der Spitzenraten: $0 - 60$ min unter Placebo, $0 - 120$ min unter Pramlintide) korrelierten mit den Differenzen in den mittleren Magenentleerungsraten zwischen den Placebo- und Pramlintide- Experimenten (gemessen über die o. g. Zeiträume) mit $r = 0,580$ und $p = 0,001$ (vgl. Abbildung 3b).

Tabelle 1: *Lag Period, T50 und Retention nach 60 Minuten*

| | Lag Period (min) | T50 (min) | Retention 60 min | |
|---|---------------------------------|----------------------|-----------------------------|--|
| <u>Gesunde Probanden</u> | | | | |
| Euglykämie Placebo | 25±8 | 177±9 | 77±2% | |
| Euglykämie Pramlintide | 74±11 | 227±14 | 92±1% | p jeweils < 0,001 vs. Placebo |
| Hyperglykämie Placebo | 52±14 | 222±18 | 86±2% | p jeweils < 0,001 vs. Euglykämie Placebo |
| <u>Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus</u> | | | | |
| Euglykämie Placebo | 22±3 | 152±10 | 76±2% | jeweils n.s. vs. Euglykämie Placebo Gesunde |
| Hyperglykämie Placebo | 22±4 | 148±9 | 76±2% | jeweils n.s. vs. Euglykämie |
| Hyperglykämie Pramlintide | 73±12 | 243±9 | 91±2% | p jeweils < 0,001 vs. Hyperglykämie Placebo, jeweils n.s. vs. Hyperglykämie Gesunde |

Abbildung 1: Retention des Mageninhaltes, Lag Period, T 50, Retention nach 60 min, Neigungen der Retentionskurven bei gesunden Probanden unter euglykämischen Bedingungen nach Gabe von Placebo oder Pramlintide zur Mahlzeit.

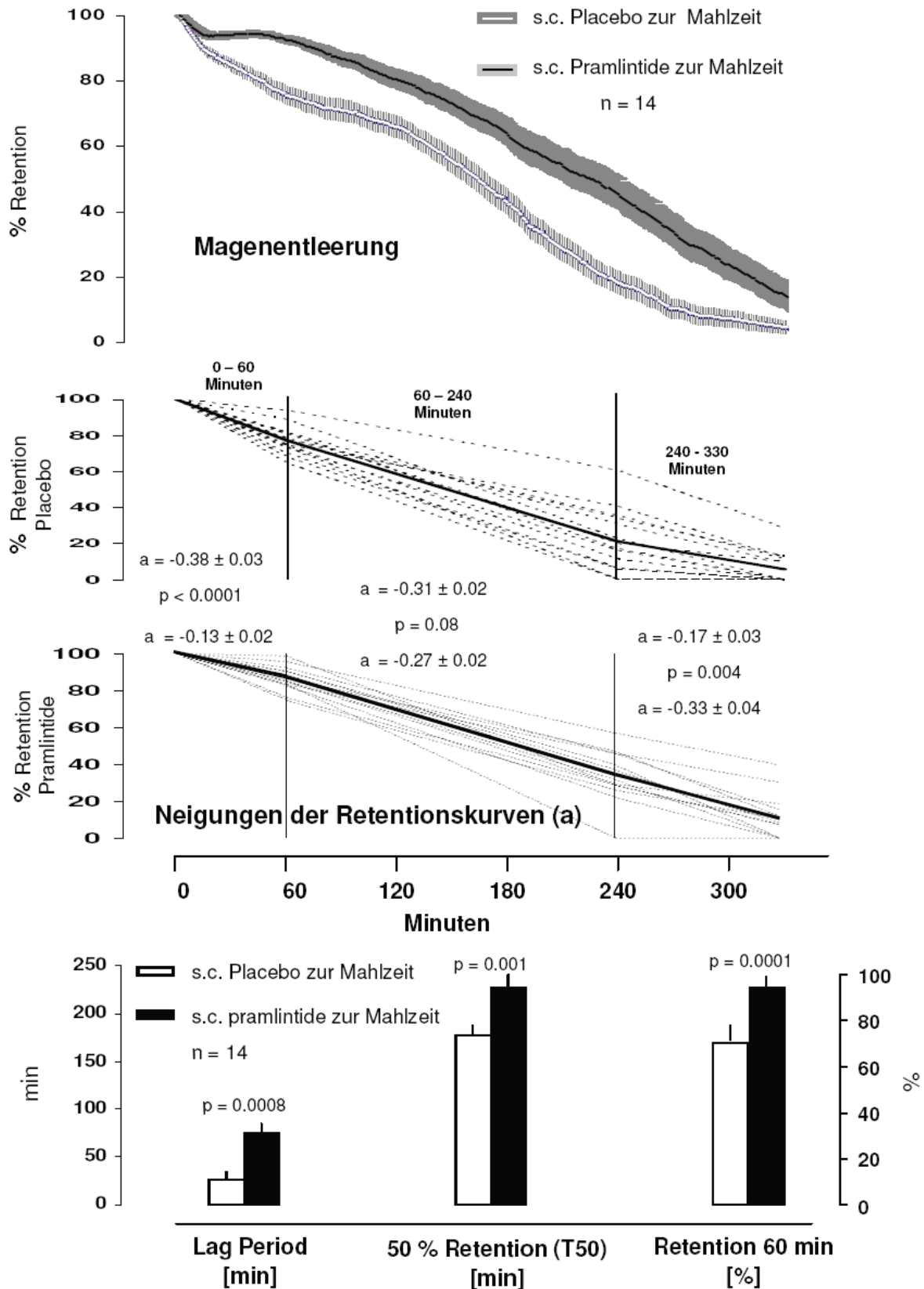
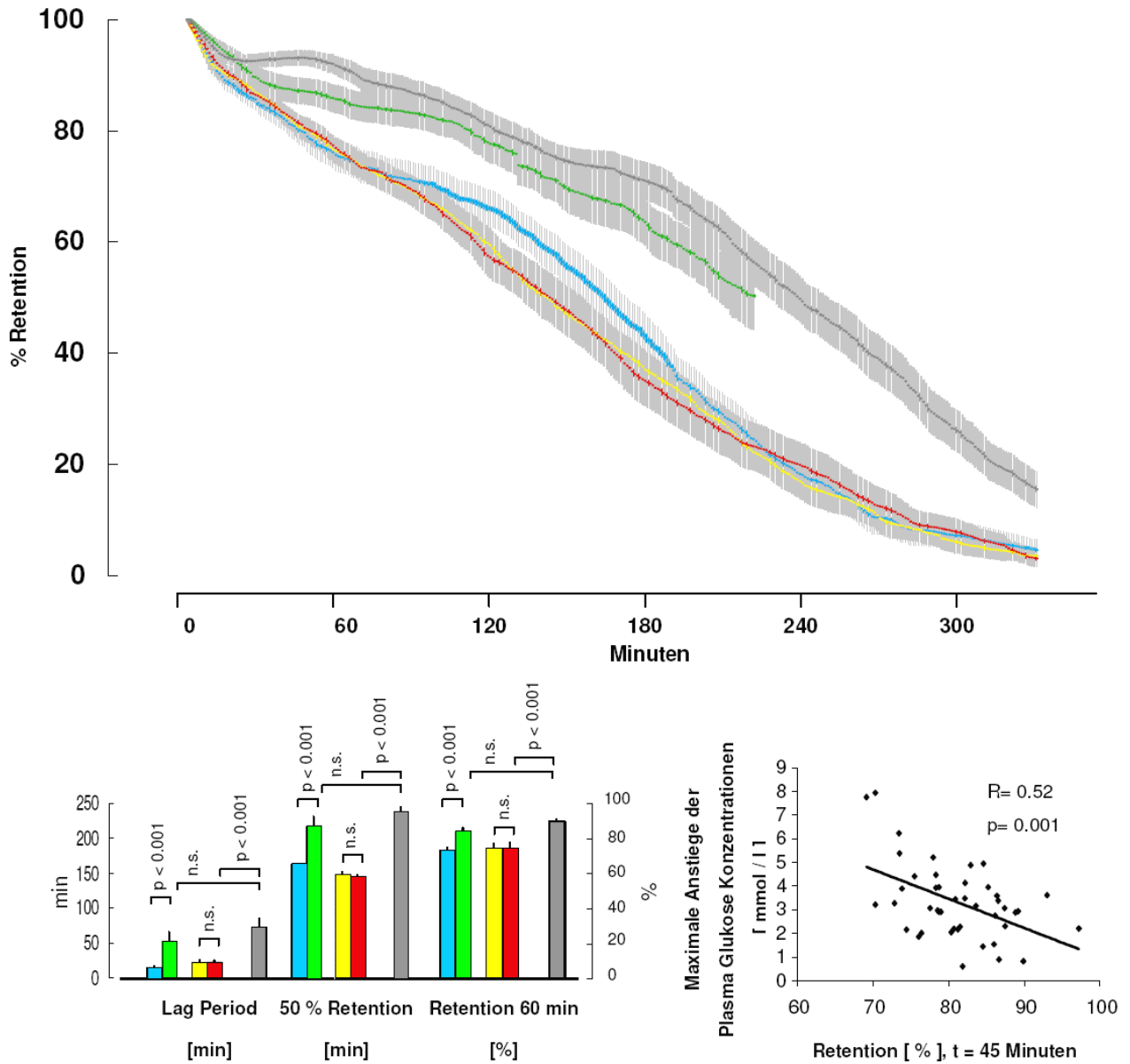
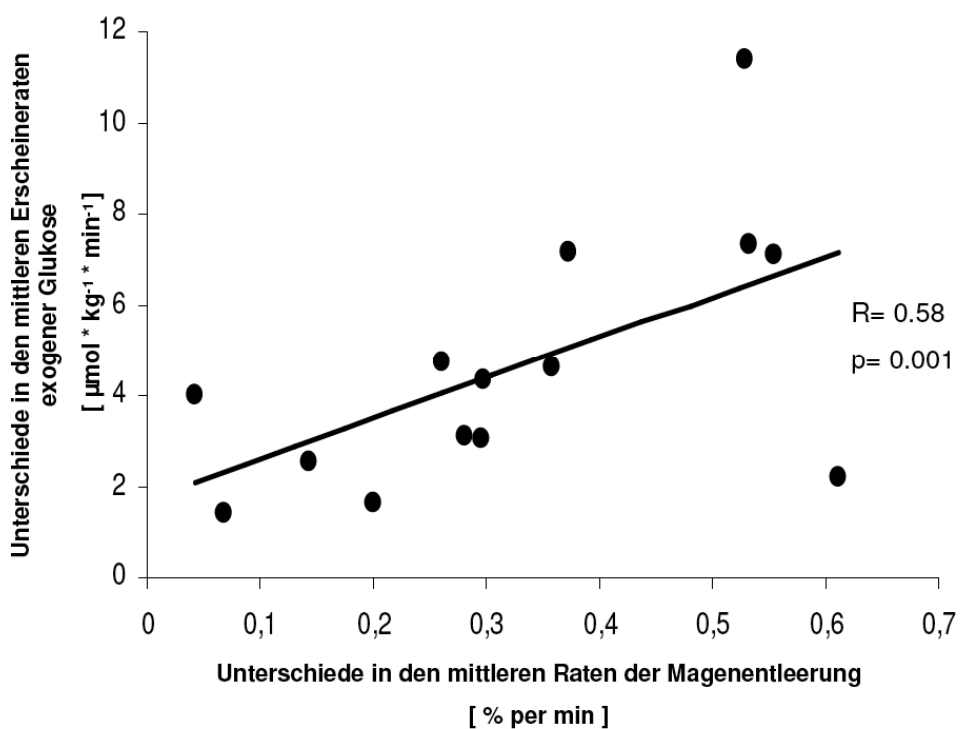
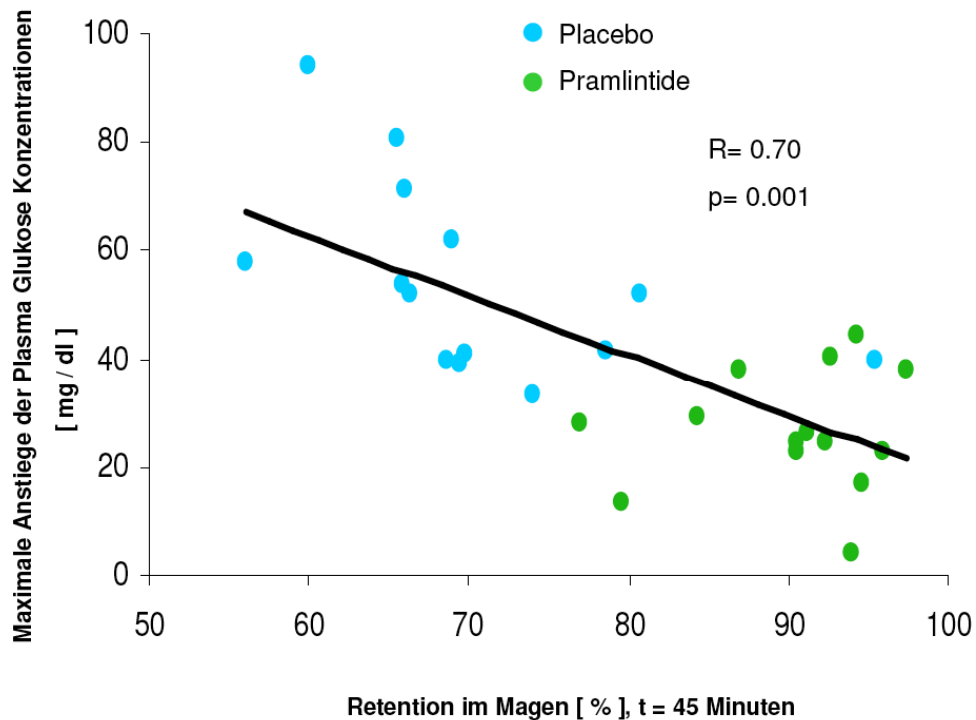


Abbildung 2: Retention des Mageninhaltes, Lag Period, Zeitpunkt der 50%igen Magenentleerung (T50) und Retention nach 60 Minuten bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus und gesunden Probanden unter eu- und hyperglykämischen Bedingungen, Effekt von Pramlintide bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus. Korrelation der postprandialen Anstiege der Plasmaglukosekonzentrationen bei t = 60 min vs. Retention des Mageninhaltes nach 45 Minuten bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus und gesunden Probanden nach Gabe von Placebo zur Mahlzeit.



- Gesunde Probanden, Euglykämie, Placebo, n = 14
- Gesunde Probanden, Hyperglykämie, Placebo (isoglykämisch zu Hyperglykämie, Placebo bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, n = 10
- Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, Euglykämie, Placebo, n = 15
- Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, Hyperglykämie, Placebo, n = 15
- Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, Hyperglykämie, Pramlintide (30 µg), n = 15

Abbildungung 3: Retention im Magen zum Zeitpunkt 45 Minuten vs. maximale Anstiege der Plasmaglukosekonzentrationen bei gesunden Probanden unter euglykämischen Bedingungen nach Gabe von Placebo oder Pramlintide zur Mahlzeit (oben), Unterschiede in den Erscheineraten exogener Glukose vs. Unterschiede in den mittleren Magenentleerungsraten bei gesunden Probanden unter euglykämischen Bedingungen nach Gabe von Placebo oder Pramlintide zur Mahlzeit (unten).



3.2 Plasmaglukose

(vgl. Tabelle 2 und Abbildungen 4, 5)

In den euglykämischen Experimenten lagen die präprandialen Plasmaglukosekonzentrationen bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus etwas höher als bei gesunden Probanden ($5,6 \pm 0,2$ vs. $4,5 \pm 0,1$ mmol/L, $p < 0,001$). Die postprandialen Exkursionen der Plasmaglukosekonzentrationen waren jedoch zwischen den beiden Gruppen vergleichbar (AUC über basal 0 – 60 min: 162 ± 20 vs. 131 ± 15 mmol / l * min, $p = 0,45$). In den hyperglykämischen Experimenten unterschieden sich weder die prä- noch die postprandialen Plasmaglukosekonzentrationen zwischen den Gruppen ($p = 0,08$ und $0,69$, respektive).

Die Gabe von Pramlintide bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus verhinderte jeglichen Anstieg der Plasmaglukosekonzentrationen über das basale Niveau und führte zu einer Reduktion der postprandialen Plasmaglukosekonzentrationen um 3 mmol / l ($p < 0,001$).

Bei gesunden Probanden führte Pramlintide zu einer Reduktion der postprandialen Blutzuckerspitzen ($6,0 \pm 0,2$ mmol/l bei 120 min vs. $7,5 \pm 0,3$ mmol/l bei 60 min, $p = 0,0002$), sowie einer Reduktion der mittleren postprandialen Plasmaglukosekonzentrationen über den Gesamtzeitraum von 330 min ($p = 0,004$).

Tabelle 2: mittlere postprandiale Plasmakonzentrationen von Glukose

| | 0 – 240 min (mmol / l) | 0 – 330 min (mmol / l) | |
|---|------------------------------|------------------------------|---|
| <u>Gesunde Probanden</u> | | | |
| Euglykämie Placebo | | 5,6±0,1 | |
| Euglykämie Pramlintide | | 5,2±0,1 | p = 0,004 vs. Placebo |
| Hyperglykämie Placebo | 12,3±0,2 | | |
| <u>Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus</u> | | | |
| Euglykämie Placebo | | 7,0±0,2 | |
| Hyperglykämie Placebo | 12,1±0,3 | 11,3±0,4 | 0 - 240 min n.s. vs. Hyperglykämie Gesunde |
| Hyperglykämie Pramlintide | | 9,1±0,3 | p < 0,001 vs. Hyperglykämie Placebo |

3.3 Plasmakonzentrationen von Insulin, Glukagon und Amylin

(vgl. Tabelle 3a-c, Abbildungen 4, 6)

Insulin

Bei gesunden Probanden war der zeitliche Verlauf der Plasmainsulinkonzentrationen parallel zum zeitlichen Verlauf der Plasmaglukosekonzentrationen. Unter hyperglykämischen Bedingungen waren bei gesunden Probanden die Plasmainsulinkonzentrationen im Mittel ~11-fach höher als unter euglykämischen Bedingungen ($p < 0,001$). Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 waren die Plasmainsulinkonzentrationen in allen Experimenten ähnlich (alle $p > 0,70$), und im Mittel etwa doppelt so hoch wie bei gesunden Probanden ($p < 0,001$).

In den Pramlintide- Experimenten der gesunden Probanden zeigten sich reduzierte Spitzenwerte der Plasmainsulinkonzentrationen (346 ± 37 pmol / ml bei 45 min vs. 211 ± 42 pmol / ml bei 90 min, $p = 0,001$), sowie reduzierte Plasmainsulinkonzentrationen im Mittel über den gesamten Untersuchungszeitraum ($p = 0,001$).

Glukagon

Die Plasmaglukagonkonzentrationen fielen bei gesunden Probanden nach Mahlzeiteinnahme ab (AUC -60 – 0 min vs. AUC 0 – 60 min: 3574 ± 279 vs. 3283 ± 294 pg / ml * min, $p = 0,01$), nicht so jedoch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (AUC -60 – 0 min vs. AUC 0 – 60 min: 2433 ± 196 vs. 2597 ± 203 pg / ml * min, $p = 0,16$). Unter Pramlintide fielen die postprandialen Plasmaglukagonkonzentrationen bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1, erreichten einen Minimalwert bei $t = 60$ min und waren über die ersten 90 Minuten signifikant

reduziert gegenüber Placebo (AUC 0 – 90 min: 3829 ± 280 vs. 3085 ± 289 pg / ml * min, $p = 0,01$).

Bei gesunden Probanden fielen die postprandialen Plasmaglukagonkonzentrationen unter Pramlintide ähnlich wie unter Placebo mit einem vergleichbaren Minimalwert zum Zeitpunkt $t = 90$ min ($48,1 \pm 5,8$ vs. $50,0 \pm 3,7$ pg / ml bei 90 min, $p = 0,70$) und waren im Mittel über den gesamten Untersuchungszeitraum nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Placebo- und Pramlintide- Experimenten ($p = 0,074$). Aus den beschriebenen Befunden ergab sich, dass nach Gabe von Placebo das molare Verhältnis von Insulin zu Glukagon im Mittel über die ersten 90 Minuten der postprandialen Phase signifikant höher ($18,7 \pm 1,5$ vs. $9,0 \pm 1,9$, $p = 0,001$), von 150 bis 330 min signifikant niedriger war verglichen mit dem Pramlintide- Experiment ($5,0 \pm 0,6$ vs. $8,7 \pm 1,1$, $p = 0,001$).

Amylin

In den euglykämischen Experimenten der gesunden Probanden stiegen die Plasmaamylinkonzentrationen von $2,1 \pm 0,6$ pmol / l auf postprandiale Maximalwerte von $12,4 \pm 1,3$ pmol / l zum Zeitpunkt 90 Minuten. Unter hyperglykämischen Bedingungen waren die Plasmaamylinkonzentrationen präprandial signifikant höher mit $18,9 \pm 4,2$ pmol / l ($p < 0,001$), postprandial lagen die Plasmaamylinkonzentrationen im Mittel bei $42,8 \pm 7,3$ pmol/l ($p < 0,0001$). Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 waren weder unter eu- noch unter hyperglykämischen Bedingungen messbare Plasmaamylinkonzentrationen vorhanden.

Tabelle 3a: *mittlere postprandiale Plasmakonzentrationen von Insulin*

| | Insulin | | |
|---|--------------------|--------------------|---|
| | (pmol / ml) | | |
| | 0 – 240 min | 0 – 330 min | |
| <u>Gesunde Probanden</u> | | | |
| Euglykämie Placebo | 210,2±16,1 | 176,7±13,4 | |
| Euglykämie Pramlintide | | 134,6±13,4 | p = 0,001 vs. Placebo |
| Hyperglykämie Placebo | 2532±611 | | p < 0,001 vs. Euglykämie Placebo |
| <u>Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus</u> | | | |
| Euglykämie Placebo | | 345,9±28,3 | p < 0,001 vs. Euglykämie Placebo Gesunde |
| Hyperglykämie Placebo | | 344,1±30,8 | n.s. vs. Euglykämie |
| Hyperglykämie Pramlintide | | 347,8±22,8 | jeweils n.s. vs. Hyperglykämie Placebo und Euglykämie Placebo |

Tabelle 3b: *mittlere postprandiale Plasmakonzentrationen von Glukagon*

| | | Glukagon (pg / ml) 0 – 330 min | |
|---|----------|---|---------------------------|
| <u>Gesunde Probanden</u> | | | |
| Euglykämie Placebo | 60,8±5,5 | | |
| Euglykämie Pramlintide | 58,1±5,8 | n.s. | vs. Placebo |
| <u>Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus</u> | | | |
| Euglykämie Placebo | 45,2±2,9 | | |
| Hyperglykämie Placebo | 43,4±2,7 | n.s. | vs. Euglykämie |
| Hyperglykämie Pramlintide | 39,0±2,9 | p = 0,12 | vs. Hyperglykämie Placebo |

Tabelle 3c: *mittlere postprandiale Plasmakonzentrationen von Amylin*

| Amylin | | |
|---|----------|-----------------------|
| (pmol/l) | | |
| 0 – 240 min | | |
| <hr/> | | |
| <u>Gesunde Probanden</u> | | |
| Euglykämie Placebo | 8,8±0,9 | |
| Hyperglykämie Placebo | 42,8±7,3 | p < 0,001 vs. Placebo |
| <u>Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus</u> | | |
| Euglykämie Placebo | 0±0 | |
| Hyperglykämie Placebo | 0±0 | |

Abbildung 4: Konzentrationen von Glukose, Insulin, Glukagon im Plasma und molares Verhältnis von Insulin zu Glukagon bei gesunden Probanden unter euglykämischen Bedingungen nach Gabe von Placebo oder Pramlintide zur Mahlzeit.

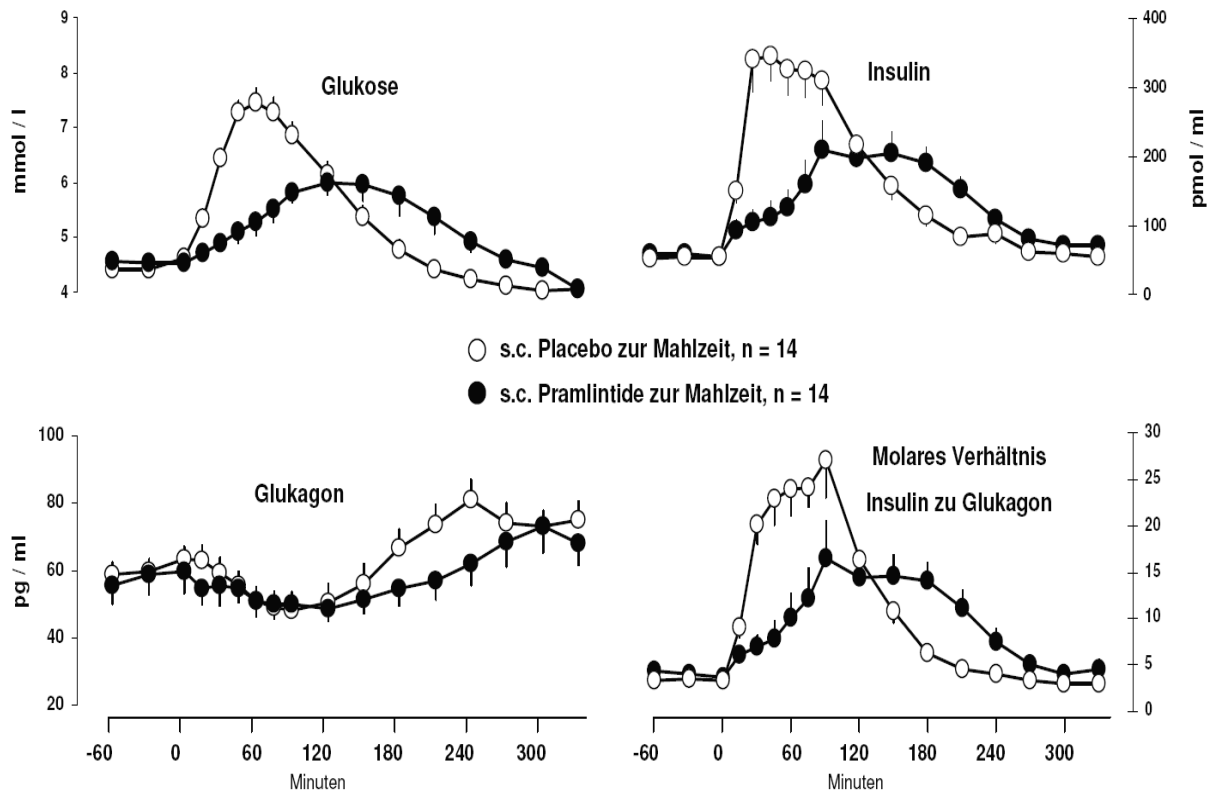
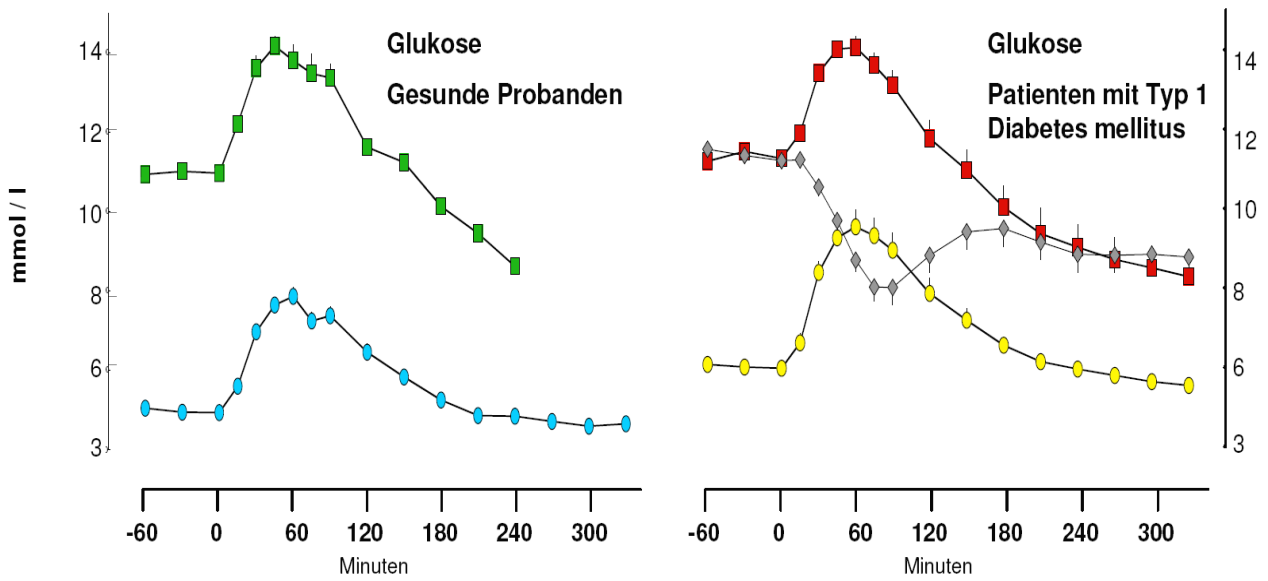
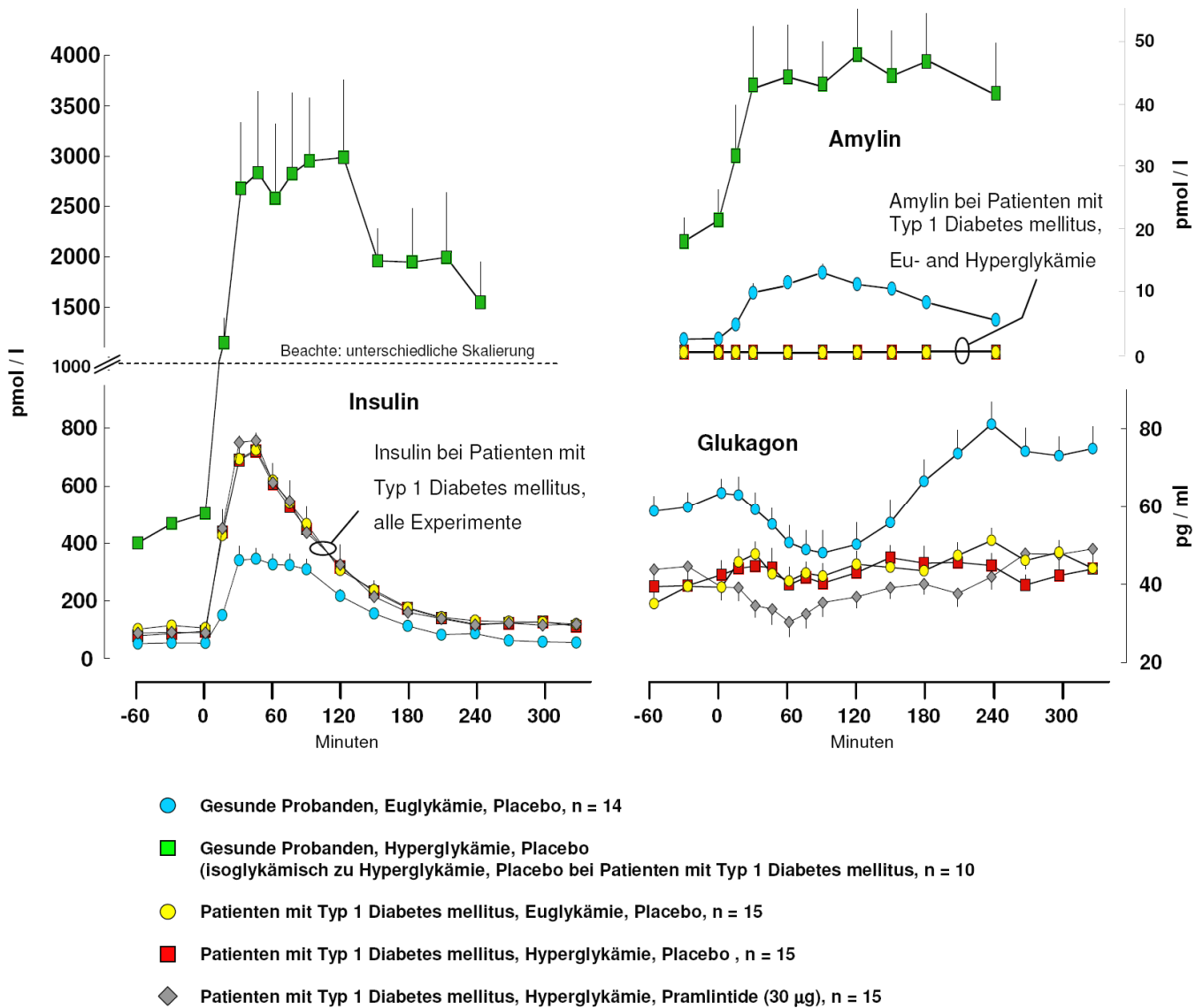


Abbildung 5: Plasmaglukosekonzentrationen bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus und gesunden Probanden unter eu- und hyperglykämischen Bedingungen, Effekt von Pramlintide bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus.



- Gesunde Probanden, Euglykämie, Placebo, n = 14
- Gesunde Probanden, Hyperglykämie, Placebo
(isoglykämisch zu Hyperglykämie, Placebo bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, n = 10)
- Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, Euglykämie, Placebo, n = 15
- Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, Hyperglykämie, Placebo, n = 15
- ◆ Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus, Hyperglykämie, Pramlintide (30 µg), n = 15

Abbildung 6: Plasmakonzentrationen von Insulin, Glukagon und Amylin bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus und gesunden Probanden unter eu- und hyperglykämischen Bedingungen, Effekt von Pramlintide bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus.



3.4 Erscheineraten von exogener und endogener Glukose

(vgl. Tabelle 4a und b, Abbildungen 7, 8)

Endogene Glukoseproduktion bei Gesunden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1

Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 erschien nüchtern mehr endogene Glukose im Plasma als bei gesunden Probanden, sowohl unter eu- als auch unter hyperglykämischen Bedingungen (AUC -60 – 0 min: 545 ± 21 bei Gesunden vs. 788 ± 41 , 963 ± 38 und 911 ± 65 $\mu\text{mol} / \text{kg}$ in den Experimenten der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1, p jeweils $< 0,001$). Bei gesunden Probanden kam es postprandial zu einer Suppression der endogenen Glukoseproduktion um $60,6 \pm 1,5$ %. Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 war die endogene Glukoseproduktion unter eu- und hyperglykämischen Bedingungen zwar in vergleichbarem Ausmaß supprimiert ($45,4 \pm 2,5$ und $45,1 \pm 1,6$ %, $p > 0,50$), in beiden Fällen war die postprandiale Suppression der endogenen Glukoseproduktion jedoch geringer als bei Gesunden (p jeweils $< 0,001$).

Effekte von Pramlintide auf die endogene Glukoseproduktion

Bei gesunden Probanden erfolgte die Suppression der endogenen Glukoseproduktion prompter nach Gabe von Placebo, es wurde zum Zeitpunkt 45 Minuten ein Minimalwert von $1,4 \pm 1,0$ $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ erreicht, verglichen mit einem Minimalwert von $3,1 \pm 0,7$ $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ zum Zeitpunkt 90 Minuten ($p < 0,001$) in den Pramlintide- Experimenten. Dies entsprach einer Suppression der endogenen Glukoseproduktion von $60,6 \pm 1,5$ vs. $55,0 \pm 1,0$ % in der postprandialen Phase ($p = 0,008$).

Die endogene Glukoseproduktion unterschied sich bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 nicht zwischen den Placebo- und Pramlintide- Experimenten ($p > 0,21$).

Erscheineraten exogener Glukose im Plasma bei Gesunden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1

Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 erschien im Zeitraum von 30 bis 90 Minuten nach Mahlzeiteinnahme signifikant mehr exogene (aus der Mahlzeit stammende) Glukose im Plasma als bei Gesunden (AUC 30 – 90 min: 743 ± 47 vs. 1012 ± 67 $\mu\text{mol} / \text{kg}$, $p < 0,005$), wobei die Erscheineraten der exogenen Glukose bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus nicht durch die Höhe der Glykämie beeinflusst waren (AUC 30 – 90 min unter Hyperglykämie Placebo: 1054 ± 50 $\mu\text{mol} / \text{kg}$, $p > 0,80$ im Vergleich zu Euglykämie Placebo).

Effekte von Pramlintide auf die Erscheineraten exogener Glukose im Plasma

Pramlintide reduzierte sowohl die Spitzenwerte der exogenen Glukoseerscheinerate (bei Gesunden: $15,4 \pm 1,1$ vs. $8,9 \pm 0,7$ $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $p < 0,001$, bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1: $20,9 \pm 1,6$ vs. $13,5 \pm 1,6$ $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $p = 0,02$) als auch die mittleren Erscheineraten der exogenen Glukose über die gesamte postprandiale Phase ($p < 0,001$ sowohl bei Gesunden als auch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1). In den Placebo-Experimenten waren die Erscheineraten exogener Glukose im Mittel für $70,7 \pm 1,0$ % (bei Gesunden) bzw. $58,9 \pm 2,1$ % (bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1) der Gesamterscheineraten von Glukose verantwortlich, in den Pramlintide- Experimenten war der Anteil signifikant reduziert mit $58,6 \pm 1,6$ % (bei Gesunden, $p < 0,001$) bzw. $44,8 \pm 0,9$ % (bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1, $p < 0,001$).

Die Differenzen in den Gesamterscheinerraten von Glukose zwischen den Placebo- und Pramlintide- Experimenten (im Mittel $1,3 \pm 0,4 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ bei Gesunden bzw. $4,6 \pm 0,7 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1) waren ausschließlich den Differenzen in den Erscheinerraten exogener Glukose zuzuschreiben (im Mittel $2,2 \pm 0,3 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ bei Gesunden bzw. $3,9 \pm 0,5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1), da die Erscheinerraten endogener Glukose bei Gesunden gegenläufig nach Gabe von Pramlintide signifikant höher waren (im Mittel $0,9 \pm 0,2 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $p = 0,001$) bzw. sich bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 nicht signifikant von Placebo unterschieden (im Mittel $0,7 \pm 2,2 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $p = 0,2$).

Die hepatische Sequestration von exogener Glukose war nach Gabe von Pramlintide höher: $26,5 \pm 1,6$ vs. $32,5 \pm 2,1$ % ($p = 0,014$) bei Gesunden und $14,0 \pm 2,9$ vs. $26,0 \pm 5,8$ % bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 ($p = 0,05$) der oral zugeführten und aus dem Magen entleerten Glukose, welche nicht in der systemischen Zirkulation erschien.

Nach Gabe von Pramlintide bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 waren die Erscheinerraten der exogenen Glukose im Mittel über die gesamte postprandiale Phase nicht signifikant unterschiedlich von denen gesunder Probanden unter Euglykämie und Placebo ($p = 0,145$), so dass durch die Anwendung von Pramlintide bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 die Erscheinerraten exogener Glukose im Plasma auf ein für Gesunde normales Maß reduziert wurden.

Tabelle 4a: mittlere postprandiale Erscheineraten endogener Glukose

Erscheinerate endogener Glukose

($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)

0 – 330 min

Gesunde Probanden

Euglykämie
Placebo 3,5±0,2

Euglykämie
Pramlintide 4,4±0,2 p < 0,001 vs. Placebo

Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus

Euglykämie
Placebo 7,3±0,5 p < 0,001
vs. Euglykämie Placebo Gesunde

Hyperglykämie
Placebo 9,1±0,5

Hyperglykämie
Pramlintide 8,4±0,6 n.s. vs. Hyperglykämie Placebo

Tabelle 4b: *mittlere postprandiale Erscheineraten exogener Glukose*

Erscheinerate exogener Glukose

($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)

0 – 330 min

Gesunde Probanden

Euglykämie
Placebo 8,5±0,4

Euglykämie
Pramlintide 6,3±0,4 p < 0,001 vs. Placebo

Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus

Euglykämie
Placebo 10,5±0,7 p < 0,001
vs. Euglykämie Placebo Gesunde

Hyperglykämie
Placebo 10,7±0,5 n.s. vs. Euglykämie Placebo

Hyperglykämie
Pramlintide 6,8±0,7 p < 0,001
vs. Hyperglykämie Placebo,
n.s.
vs. Euglykämie Placebo Gesunde

Abbildung 7: Gesamterscheinerraten und Erscheinerraten von exogener und endogener Glukose im Plasma bei gesunden Probanden unter euglykämischen Bedingungen nach Gabe von Placebo oder Pramlintide zur Mahlzeit.

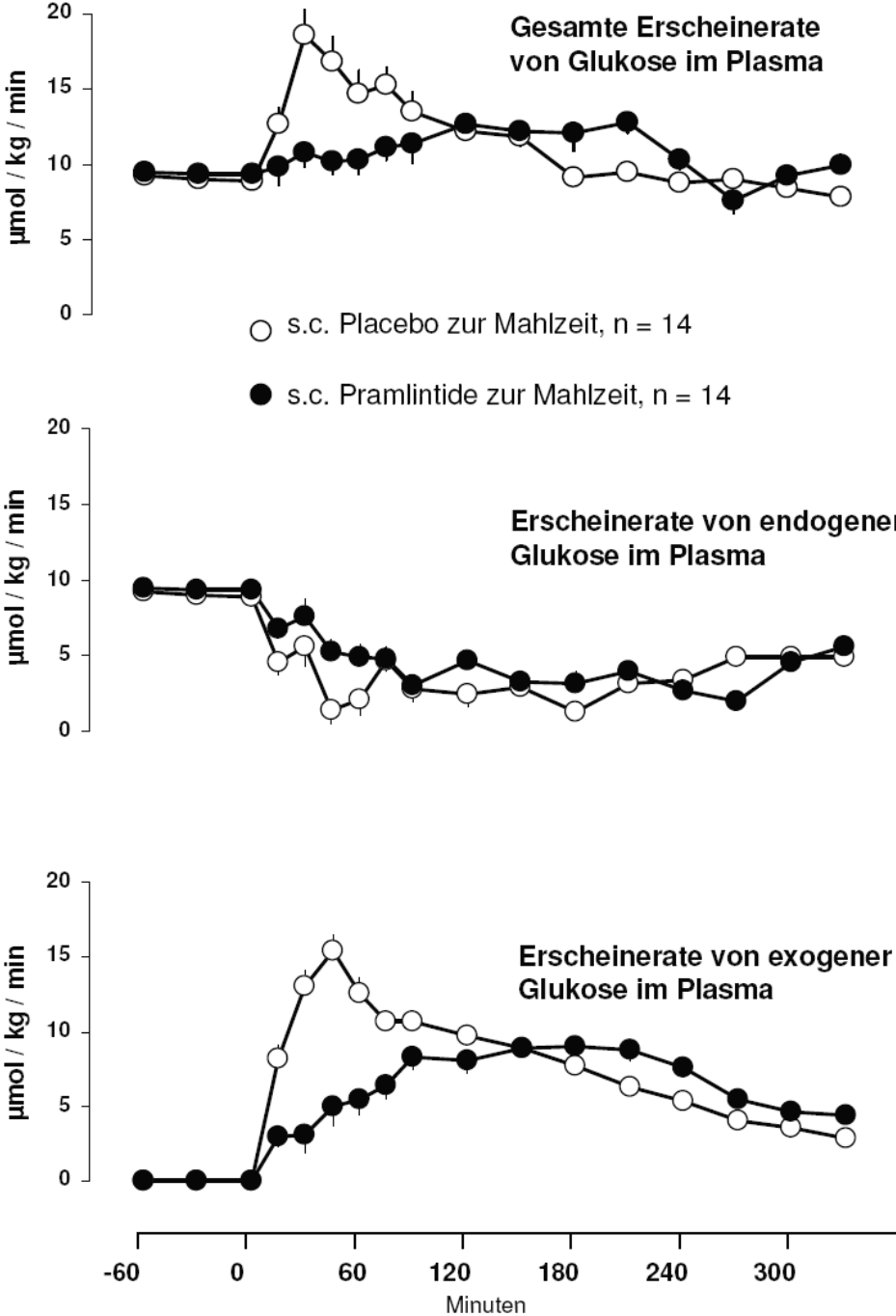
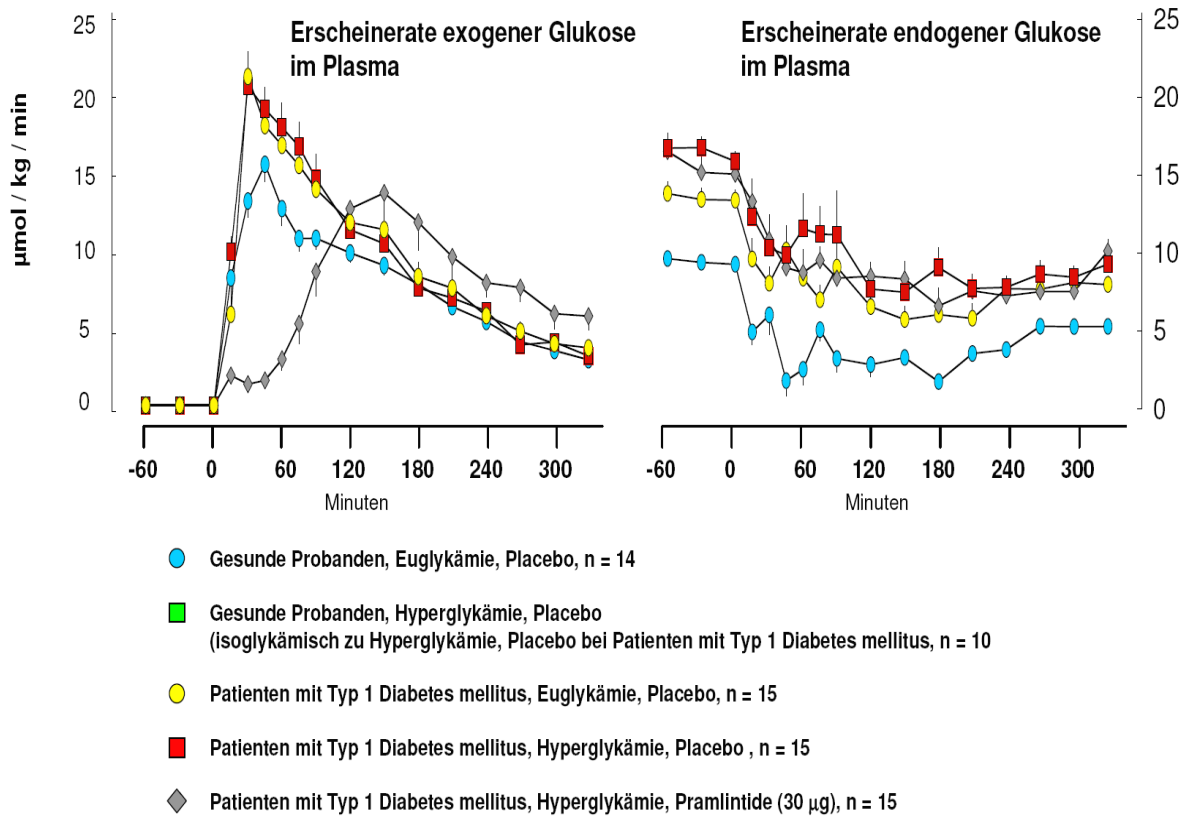


Abbildung 8: Erscheineraten von endogener und exogener Glukose im Plasma bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus und gesunden Probanden unter eu- und hyperglykämischen Bedingungen, Effekt von Pramlintide bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus.



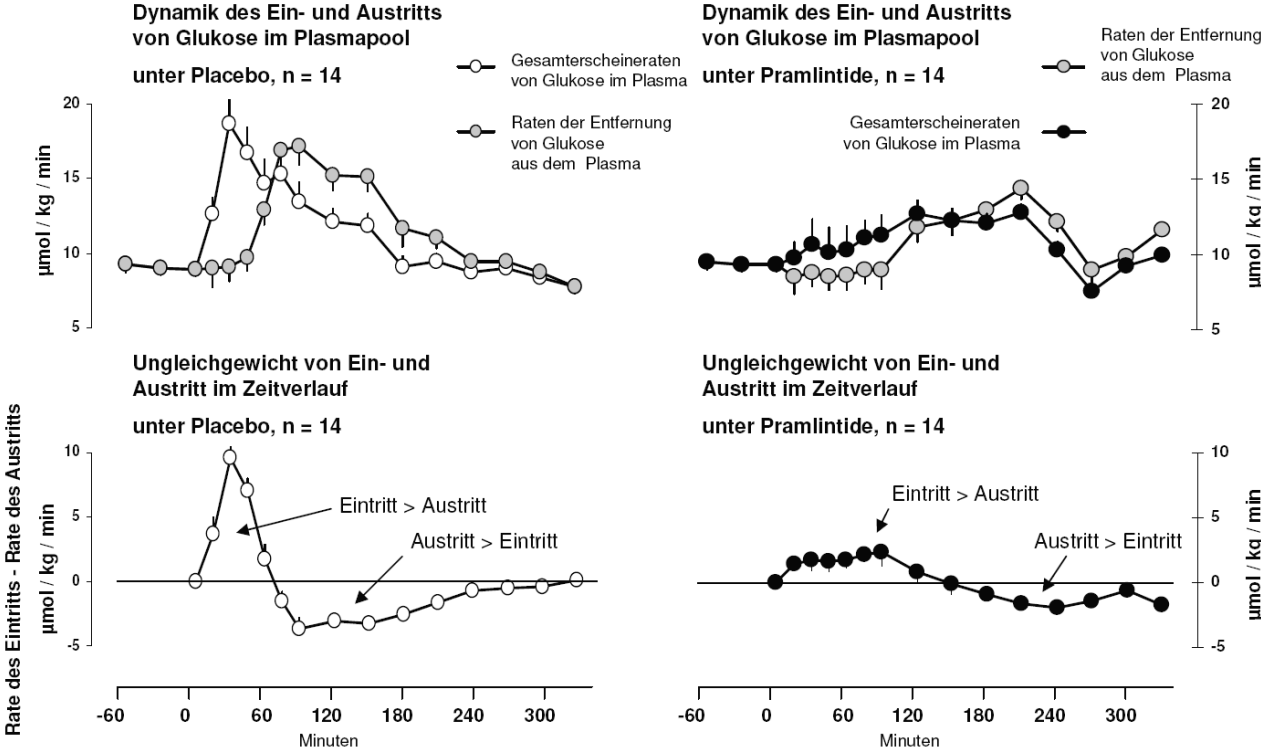
3.5 Periphere Glukoseaufnahme bei gesunden Probanden

(vgl. Abbildung 9)

In den Placebo- Experimenten waren die Raten der Glukoseentfernung aus dem Plasma über die ersten 45 Minuten nach Mahlzeitaufnahme nicht signifikant unterschiedlich von den basalen präprandialen Werten mit $9,2\pm 0,8$ vs. $9,4\pm 0,5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, $p = 0,8$. Maximalwerte wurden zum Zeitpunkt 90 Minuten mit $17,1\pm 1,5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ erreicht. Nach Gabe von Pramlintide blieben die Raten der Glukoseentfernung aus dem Plasma über die initialen 90 Minuten auf dem basalen Niveau mit im Mittel $8,8\pm 0,5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ($p = 0,17$ verglichen mit dem präprandialen Mittelwert). Maximalwerte wurden zum Zeitpunkt 120 Minuten erreicht mit $14,5\pm 0,9 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, diese waren signifikant niedriger als die Maximalwerte nach Gabe von Placebo ($p = 0,001$).

In den Placebo- Experimenten überstieg die Erscheinerate von Glukose die Entfernungsrates von Glukose um $5,6\pm 0,6 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, entsprechend einem Exzess von $332\pm 35 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$. In den Pramlintide- Experimenten überstieg die Erscheinerate von Glukose die Entfernungsrates von Glukose um nur $1,7\pm 0,2 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, es entstand ein Exzess von nur $201\pm 20 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, beide Werte signifikant niedriger als die entsprechenden Werte nach Gabe von Placebo ($p = 0,001$ und $0,0001$). Diese Differenzen erklären die Unterschiede in den postprandialen Blutzuckeranstiegen zwischen den Placebo- Experimenten und Pramlintide- Experimenten.

Abbildung 9: Dynamik und Ungleichgewichte des Ein- und Austritts von Glukose im Plasmapool bei gesunden Probanden unter euglykämischen Bedingungen nach Gabe von Placebo oder Pramlintide zur Mahlzeit.



4. Diskussion

4.1 Die Bedeutung der Magenentleerung für die postprandialen Glukoseflüsse bei gesunden Probanden

Die Bedeutung der postprandialen Hyperglykämie für die Glykämiekontrolle bei Patienten mit Diabetes mellitus hat in den letzten Jahren verstärkte Beachtung gefunden. Der Wert des HbA1c reflektiert die Blutzuckereinstellung über einen Zeitraum von zwei bis drei Monaten und wird sowohl durch die Nüchternglukosekonzentrationen als auch durch die postprandialen Blutglukoseexkursionen determiniert. Wörle et al zeigten, dass mit sinkenden HbA1c- Werten die postprandiale Glykämie relativ an Bedeutung gewinnt und dass die Kontrolle der postprandialen Glykämie somit essentiell ist, um HbA1c- Zielwerte von < 7 oder 6,5 % zu erreichen (59). Frühere Beobachtungsstudien haben nahe gelegt, dass postprandiale Blutzuckerexkursionen zu etwa 40 – 50 % durch die Geschwindigkeit der Magenentleerung determiniert werden (7), wobei bisher nicht gezeigt wurde, wie sich die Geschwindigkeit der Magenentleerung auf die postprandialen Glukoseflüsse auswirkt. Theoretisch müsste eine Verzögerung der Magenentleerung zu einem reduzierten Einfluss von Glukose aus dem Verdauungstrakt in die periphere Zirkulation führen und auf diesem Wege zu einer Reduktion der postprandialen Blutzuckerexkursionen. Entsprechend wurde an gesunden Probanden die Hypothese geprüft, dass eine Verlangsamung der Magenentleerung die Erscheinerate exogener, aus der Mahlzeit stammender Glukose senkt und dadurch die postprandiale Glykämie minimieren kann.

Das Hormon Amylin wird simultan mit Insulin als Reaktion auf einen postprandialen Anstieg des Blutzuckers aus der pankreatischen β - Zelle freigesetzt (31). Sowohl für das Hormon Amylin als auch für dessen synthetisches Analogon Pramlintide konnte eine potente

Inhibition der Magenentleerung gezeigt werden (43). Entsprechend wurde Pramlintide verwendet, um bei gesunden Probanden die Magenentleerung zu verzögern.

Dynamik der Magenentleerung unter Placebo und Pramlintide

Die Gabe von Pramlintide bei gesunden Probanden war mit einer signifikanten Verzögerung der Magenentleerung assoziiert. Die Verzögerung der Magenentleerung bestand hauptsächlich in einer ~20 %igen Reduktion der Magenentleerung innerhalb der ersten 60 Minuten nach Mahlzeiteinnahme. Danach war die Magenentleerung bis zum Zeitpunkt 240 Minuten vergleichbar zwischen den euglykämischen Placebo- und Pramlintide- Experimenten, anschließend wurde unter Pramlintide bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes mehr Mageninhalt entleert.

Die Hemmung der Magenentleerung durch Amylin bzw. dessen Analogon Pramlintide wird möglicherweise zentral vermittelt (32,34,60). Es bedarf eines intakten Nervus vagus sowie einer intakten Area postrema, damit Amylin wirken kann: Wurde bei Ratten eine totale subdiaphragmatische Vagotomie oder eine Ablation der Area postrema vorgenommen, so zeigte Amylin keinen hemmenden Effekt mehr auf die Magenentleerung (32). Der inhibitorische Effekt von Amylin und Amylin- Agonisten auf die Magenentleerung wurde durch Insulin- induzierte Hypoglykämie im Sinne eines Schutzmechanismus durchbrochen (61). Es ist anzunehmen, dass die amylinerge Kontrolle der Magenentleerung durch Neurone der Area postrema vermittelt wird, welche durch Amylin aktiviert und durch niedrige Plasmaglukosekonzentrationen inhibiert werden (62).

Die Modulation der Magenentleerung in Form einer initialen Verzögerung der Magenentleerung in der frühen postprandialen Phase ging einher mit einer signifikanten Reduktion der postprandialen Plasmaglukosespitzen, sowie der mittleren Glykämie über den gesamten Untersuchungszeitraum. Es ist mittlerweile eine anerkannte Tatsache, dass

postprandiale Blutzuckerspitzen zu mindestens 35 % durch die Geschwindigkeit der Magenentleerung determiniert werden (7,63,64). Samsom et al untersuchten den Effekt von Pramlintide auf Magenentleerung und postprandiale Plasmaglukoseexkursionen bei gesunden Probanden und fanden im Gegensatz zu den vorliegenden Befunden keine signifikanten Unterschiede in den postprandialen Plasmaglukosekonzentrationen zwischen Pramlintide und Placebo, jedoch vergleichbare Effekte auf die Dynamik der Magenentleerung mit 30 oder 60 µg Pramlintide (34). Diese Diskrepanz könnte durch die Unterschiede in der Zusammensetzung der Testmahlzeiten erklärt werden. Samsom et al verabreichten zwei Rühreier, eine Scheibe Vollkornbrot und ein Glas Vollmilch. Im Gegensatz dazu verabreichten wir zu den Rühreiern eine Götterspeise, die 50g reine Glukose enthielt. Glukose wird als einfaches Kohlenhydrat unmittelbar nach der Entleerung aus dem Magen im Dünndarm resorbiert, sodass sich Unterschiede in der Geschwindigkeit der initialen Magenentleerung sofort in der Erscheinerate der exogenen Glukose im Plasma bemerkbar machen, während komplexere Kohlenhydrate länger im Dünndarm verbleiben und somit die Geschwindigkeit der Magenentleerung in ihrer Bedeutung für die Erscheineraten der exogenen Glukose relativiert wird.

Vorliegende Arbeit zeigt erstmals, dass die Reduktion der postprandialen Plasmaglukoseexkursionen bei durch Pramlintide-induzierter Verzögerung der Magenentleerung zum einen durch eine Reduktion der Erscheinerate von Glukose im Plasma, zum anderen durch eine proportional höhere Aufnahme von Glukose in periphere Gewebe erklärt werden kann.

Erscheineraten exogener Glukose und hepatische Glukosesequestration

Die Verzögerung der Magenentleerung war assoziiert mit einer deutlichen Reduktion der Erscheinerate exogener Glukose im Plasma, insbesondere während der initialen 60 Minuten nach Mahlzeiteinnahme.

Neben der Verzögerung der Magenentleerung per se kann auch eine Steigerung der hepatischen Glukosesequestration zu einer Reduktion der Erscheinerate exogener Glukose im Plasma führen (4). Frühere Studien fanden, dass 25 – 30 % der oral zugeführten Glukose bei der Leberpassage aufgenommen werden und die systemische Zirkulation nicht erreichen (51). In den euglykämischen Placebo- Experimenten der gesunden Probanden wurden $26,7 \pm 1,6$ % der oralen Glukose hepatisch sequestriert, in den Pramlintide- Experimenten war die hepatische Glukosesequestration signifikant höher mit $32,5 \pm 2,1$ % ($p < 0,05$). Diese Kalkulationen sind allerdings mit Vorsicht zu betrachten, da neben den gemessenen Unterschieden in der Magenentleerung, welche für die Kalkulation der hepatischen Glukosesequestration zugrunde gelegt wurden, nicht erfasste Unterschiede in der Absorption von Glukose im Dünndarm möglich sind. Jedoch selbst unter der Annahme identischer hepatischer Sequestrationsraten in beiden Experimenten muss berücksichtigt werden, dass in den Pramlintide- Experimenten das molare Verhältnis von Insulin zu Glukagon zugunsten des Glukagon verschoben war, was eher eine geringere hepatische Glukosesequestration erwarten ließe, so dass davon auszugehen ist, dass die in den vorliegenden Versuchen durchgeführte Modulation der Magenentleerung, insbesondere eine Verzögerung der initialen Magenentleerung, eine verbesserte hepatische Sequestration der oralen Glukose bewirkte.

Postprandiale Sekretion von Insulin und Glukagon und Erscheinerraten endogener

Glukose

Frühere Studien belegen, dass Amylin und dessen synthetisches Analogon Pramlintide die postprandiale Sekretion von Glukagon supprimieren (65,66). Im Tierexperiment geht die inhibitorische Wirkung von Amylin auf die Magenentleerung einher mit einer postprandialen Senkung der Plasmakonzentrationen von Glukagon (67).

In den Pramlintide- Experimenten der gesunden Probanden wurde jedoch im Vergleich zu Placebo keine signifikante Suppression von Glukagon gefunden. Ein potentieller Effekt von Pramlintide auf die Sekretion von Glukagon kann allerdings durch Änderungen der postprandialen Insulinkonzentrationen unter Pramlintide maskiert sein. Passend zu der Verschiebung des molaren Verhältnisses von Insulin zu Glukagon zugunsten des Glukagon aufgrund reduzierter Plasmainsulinkonzentrationen und vergleichbarer Plasmaglukagonkonzentrationen nach Gabe von Pramlintide wurde eine signifikant höhere endogene Glukosebildung in den Pramlintide- Experimenten der gesunden Probanden gefunden. Zusammengefasst erklären begleitende Effekte auf Insulin und Glukagon nicht die Effekte auf postprandiale Glukoseexkursionen, Erscheinerraten von exogener Glukose oder hepatische Glukosesesequestration unter Pramlintide.

Periphere Glukoseaufnahme

Die Plasmaglukosekonzentrationen steigen postprandial an, bis die Rate der peripheren Glukoseaufnahme den gleichen Wert annimmt wie die Erscheinerrate von Glukose im Plasma (6). In der postprandialen Phase ist die Erscheinerrate von Glukose im Plasma im Wesentlichen durch das rasche Erscheinen exogener Glukose bestimmt und führt zu einem Ungleichgewicht zwischen Erscheinerrate und Eliminationsrate von Glukose (4). Die

Verzögerung der Magenentleerung nach Gabe von Pramlintide war mit einer Reduktion der Erscheinerate exogener Glukose im Plasma assoziiert. Dies wiederum reduzierte das Ungleichgewicht zwischen Ein- und Austritt von Glukose aus der Zirkulation und reduzierte auf diese Weise auch die postprandialen Spitzen der Plasmaglukosekonzentrationen. Je mehr Glukose innerhalb eines kurzen Zeitraumes in den Plasmapool eintritt, desto länger dauert es, bis sich erneut ein Gleichgewicht zwischen Ein- und Austritt von Glukose aus dem Plasmapool auf einem euglykämischen Level eingestellt hat (68). Entsprechend werden die Gesamtexkursionen der postprandialen Plasmaglukosekonzentrationen wesentlich durch den initialen Einstrom von Glukose in die Zirkulation bestimmt. Es ist bemerkenswert, dass es in den euglykämischen Placebo- Experimenten der gesunden Probanden trotz signifikant höherer Plasmainsulinkonzentrationen bei vergleichbaren Plasmaglukagonkonzentrationen aufgrund des raschen Einstroms von Glukose in den Plasmapool zu höheren Spitzen und Gesamtexkursionen der Plasmaglukosekonzentrationen kam. Die Insulin- induzierte Steigerung der peripheren Glukoseaufnahme setzt mit zeitlicher Verzögerung ein (siehe Abbildung 9), das System zur Stabilisierung der Plasmaglukosekonzentrationen ist zu träge, als dass ein sehr rascher Einstrom von Glukose in die Zirkulation sofort durch entsprechende Steigerung der peripheren Glukoseaufnahme abgefangen werden könnte. Die Modifikation des Glukosezuflusses über den Darm durch eine Verlangsamung der initialen Magenentleerung führte zu einer suffizienteren Elimination der oralen Glukose trotz niedrigerer Plasmainsulinkonzentrationen.

Fazit

Die Anwendung von Pramlintide bei gesunden Probanden erhellt die Bedeutung der Magenentleerung für die postprandialen Glukosefluktuationen. Die durch Pramlintide induzierte Verzögerung der initialen Magenentleerung ging einher mit einer Reduktion der

Erscheinerate exogener Glukose im Plasma. Da die endogene Glukoseproduktion nach Gabe von Pramlintide höher war als unter Placebo, ist die Reduktion der Gesamterscheinerate von Glukose unter Pramlintide ausschließlich der Reduktion in der Erscheinerate exogener Glukose zuzuschreiben. Zudem wurde ein größerer Anteil der oral zugeführten Glukose hepatisch sequestriert. Da der initiale Einstrom von Glukose in die Zirkulation eine wesentliche Determinante der postprandialen Plasmaglukoseexkursionen darstellt, wurden diese durch eine Verzögerung der initialen Magenentleerung signifikant reduziert.

4.2 Störung der Hyperglykämie- abhängigen Regulation der Magenentleerung bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1

Unter akuter Hyperglykämie kann beim Gesunden der weitere Zufluss von exogener Glukose in die Zirkulation gedrosselt werden. Dies geschieht über den physiologischen hemmenden Effekt akuter Hyperglykämie auf die Motilität des Magens (18-20). Dieser hemmende Effekt akuter Hyperglykämie auf die Magenentleerung stellt somit einen physiologischen Schutzmechanismus dar (42). Es wurde jedoch berichtet, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 die Fähigkeit, die Magenentleerung als Reaktion auf akute Hyperglykämie zu verzögern vorhanden, aber eingeschränkt ist (20). Die vorliegenden Untersuchungen an Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 bestätigen, dass akute Hyperglykämie bei dieser Patientengruppe keine entsprechende Verlangsamung der Magenentleerung bewirkt. Die Beeinträchtigung dieses Rückkopplungsmechanismus führt zu unvermindertem Einstrom von Glukose aus dem Verdauungstrakt und aggraviert damit die postprandiale Hyperglykämie. Bei gesunden Probanden kam es unter hyperglykämischen Bedingungen zu einem ausgeprägten Anstieg der Plasmaamylinkonzentrationen, einhergehend mit einer starken Verzögerung der Magenentleerung. Eine pharmakologische Modulation der Magenentleerung bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 durch das Amylin- Analogon Pramlintide analog zu

der durch Hyperglykämie induzierten Verzögerung der Magenentleerung bei Gesunden führte zu einer Reduktion der initialen Erscheinerate exogener Glukose und zu einer deutlichen Verbesserung der postprandialen Glykämie.

Diese Befunde stehen nicht im Widerspruch zu früheren Publikationen, die über eine verzögerte Magenentleerung auch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 unter akuter Hyperglykämie berichteten (19,20). Wie auch in den vorliegenden Studien wurde in den Untersuchungen von Schvarcz et al keine pathologisch langsame Magenentleerung bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus unter euglykämischen Bedingungen gefunden, jedoch wurde eine deutlich beeinträchtigte Ansprechbarkeit auf Hyperglykämie mit einer mehr als 50 %igen Reduktion in der Verzögerung der Magenentleerung als Reaktion auf Hyperglykämie im Vergleich zu Gesunden beschrieben. Der vollständige Ausfall der Ansprechbarkeit auf Hyperglykämie in den vorliegenden Untersuchungen könnte mit Unterschieden im Studiendesign zusammenhängen. Es wurden im vorliegenden Fall typische postprandiale Plasmaglukosefluktuationen zugelassen mit einem Minimum an exogener Insulinsubstitution, während Schvarcz et al eine Clamp- Technik mit gleich bleibenden hohen Dosen exogenen Insulins und variablen Dosen exogener Glukose verwendeten, um die Plasmaglukosekonzentrationen auf einem hyperglykämischen Niveau zu stabilisieren. Fraser et al untersuchten ihre Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 unter kontinuierlicher Hyperglykämie mit extrem hohen Plasmaglukosekonzentrationen von 16 – 20 mmol / L (19), im Unterschied zu den physiologischen postprandialen Plasmaglukosefluktuationen in den vorliegenden Experimenten. In jedem Fall belegen die vorhandenen Befunde eine Beeinträchtigung des physiologischen Schutzmechanismus einer verzögerten Magenentleerung während akuter Hyperglykämie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1.

Potentielle Mediatoren der durch Hyperglykämie induzierten Verzögerung der Magenentleerung

Amylin

Unter euglykämischen Bedingungen verliefen bei gesunden Probanden die Plasmaamylinkonzentrationen parallel zu den Plasmainsulinkonzentrationen. Unter Exposition mit akuter Hyperglykämie stiegen die postprandialen Plasmaamylinkonzentrationen von ~ 9 pmol / l auf ~ 43 pmol / l, übereinstimmend mit früheren Messungen der Plasmaamylinkonzentrationen bei Gesunden (33,69). Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 fand keinerlei messbare Sekretion von Amylin statt, weder unter eu- noch unter hyperglykämischen Bedingungen, übereinstimmend mit der bereits bekannten Amylin- Defizienz bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (33).

Die Tatsache, dass bei fehlender endogener Sekretion des motilitätshemmenden Amylin die Effekte der akuten Hyperglykämie auf die Magenentleerung ausblieben, legt nahe, dass die Amylindefizienz bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 zumindest als Teilursache der fehlenden Ansprechbarkeit der Magenentleerung auf akute postprandiale Hyperglykämie in Frage kommt. Um die Amylindefizienz bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 als Ursache der fehlenden Magenentleerungsverzögerung unter Hyperglykämie weiterhin wahrscheinlich zu machen, müsste der Effekt von Amylin bei Gesunden inhibiert werden. Ein Amylin-Antagonist steht jedoch nicht zum Einsatz beim Menschen zur Verfügung. Die Annahme, dass die Defizienz des Hormons Amylin bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 eine entscheidende Rolle für die fehlende Ansprechbarkeit der Magenentleerung auf akute postprandiale Hyperglykämie spielt, wird jedoch weiter unterstützt durch die bekannten hochpotenten inhibitorischen Effekte von Amylin auf die Magenentleerung (32).

Insulin

Studien, die eine Rolle von Insulin als Regulator der Magenentleerung bei gesunden Probanden untersuchten, fanden nur marginale Effekte einer pharmakologischen Hyperinsulinämie auf die Magenentleerung (70). In Studien, welche bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 durchgeführt wurden, wurden keinerlei Effekte von Insulin auf die Magenentleerung gefunden (71). Unter euglykämischen Bedingungen war in den vorliegenden Studien die Magenentleerung bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus rascher als bei gesunden Probanden, obwohl die Plasmainsulinkonzentrationen bei den Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus signifikant höher lagen, was gegen einen wesentlichen Effekt von Insulin auf die Magenentleerung bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus spricht. Insulin ist kein Regulator der Magenentleerung beim Menschen.

Intestinale Peptide

Aus der Interaktion von Nahrungsbestandteilen mit dem Dünndarm sind über die Freisetzung intestinaler Peptide und über eine vagale Interaktion Rückwirkungen auf die Magenentleerung bekannt (21). GLP-1 hat hierbei eine hemmende Wirkung auf die Magenentleerung (25). Dessen Freisetzung wird durch den Kontakt der Nahrungsbestandteile mit dem Dünndarm stimuliert, nicht aber durch einen Anstieg der Plasmaglukosekonzentrationen (10). Die Tatsache, dass die Magenentleerung und damit der Eintritt von Nahrung in den Dünndarm in den hyperglykämischen Experimenten bei Gesunden verzögert war, was die Sekretion von GLP-1 aus intestinalen L- Zellen durch direkten Nahrungskontakt reduzieren sollte, spricht gegen eine Rolle von GLP-1 als Mediator der durch Hyperglykämie induzierten Verzögerung der Magenentleerung.

Blockade vagal- cholinerges Aktivität

Eine Reduktion vagal- cholinerges Aktivität ist ein wahrscheinlicher Mechanismus für die durch Hyperglykämie induzierte Verzögerung der Magenentleerung. Dafür sprechen Studien mit Messung von Pankratischem Polypeptid (PP). PP ist ein Inselzellhormon; seine Plasmakonzentration ist ein selektiver Marker für die vagal- cholinerges Aktivität (72). Akute Hyperglykämie führt bei Gesunden parallel zu einer Verzögerung der Magenentleerung auch zu einer Reduktion von postprandialem PP (20). Diese Hemmung unterbleibt bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (20), was als Hinweis für eine gestörte postprandiale vagal- cholinerges Regulation dient. In der Katze wurden Glukoserezeptoren auf vagalen Nervenfasern beschrieben (73). Es gibt darüber hinaus aber keine überzeugenden Belege für eine direkte Interaktion von Glukose mit dem Nervus vagus. Das Amylin- Analogon Pramlintide reduzierte dosisabhängig postprandiale PP- Plasmakonzentrationen bei Gesunden (34), hinweisend auf eine vagal- cholinerges Hemmung. Interessanterweise sind bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 die postprandialen PP- Plasmaexkursionen nicht durch Hyperglykämie hemmbar; sie sind aber signifikant höher als bei Gesunden (20,74). Diese Befunde sprechen dafür, dass endogenes Amylin als Mediator die vagal- cholinerges Hemmung unter akuter Hyperglykämie vermittelt. Wir vermuten, dass aufgrund des Amylin- Mangels dieser Mechanismus bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 gestört ist. Dies resultiert zum einen in einer gesteigerten vagal- cholinerges Aktivität (20,74), in einer im Vergleich zu Gesunden beschleunigten Magenentleerung und in einer fehlenden Magenentleerungsverzögerung unter akuter Hyperglykämie.

Effekte der Substitution von Amylin bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus

Effekte auf Magenentleerung und postprandiale Glukoseexkursionen

Die Anwendung des Amylin- Analogons Pramlintide bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 verzögerte die Magenentleerung in vergleichbarem Maße wie die akute Hyperglykämie bei gesunden Probanden, was nicht notwendigerweise impliziert, dass die Plasmakonzentrationen des Analogons den endogenen Plasmaamylinkonzentrationen bei Gesunden vergleichbar waren. Eher handelt es sich um vergleichbare pharmakodynamische Effekte auf die Magenentleerung. Diese Modulation der Magenentleerung ging einher mit einer mittleren Reduktion der postprandialen Glykämie um 2 mmol / L. Kong et al demonstrierten bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 mittels einer kontinuierlichen Infusion von Pramlintide (25 µg / h) eine ausgeprägte Verzögerung der Magenentleerung, einhergehend mit einer Reduktion der postprandialen Spitzenkonzentrationen der Plasmaglukose trotz geringerer Insulindosen und höherer periphervenöser Glukosegaben in den Pramlintide- Experimenten verglichen mit Placebo (75). Insulin- und Glukosegaben wurden in diesen Experimenten nicht identisch gehalten zwischen den Pramlintide- und Placebo- Experimenten, da vergleichbare mittlere postprandiale Plasmaglukosekonzentrationen zwischen den Pramlintide- und Placebo- Experimenten angestrebt wurden, um den Effekt von Pramlintide auf den Parameter Magenentleerung möglichst isoliert zu untersuchen. Im Gegensatz dazu erfolgten in den vorliegenden Studien identische postprandiale Insulingaben in den Placebo- und Pramlintide- Experimenten ohne zusätzliche postprandiale Glukosesubstitution, um den maximalen Effekt der Magenentleerungsverzögerung durch Pramlintide auf die postprandialen Plasmaglukoseexkursionen herauszuarbeiten. In einer weiteren Untersuchung von Kong et al führten Einzeldosen von Pramlintide von 60 oder 90 µg bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 zu einer Reduktion der Plasmaglukoseexkursionen im Zeitraum bis 120 Minuten nach

Einnahme der Testmahlzeit, einhergehend mit einer signifikanten Verzögerung der Magenentleerung im Vergleich zu Placebo (76). In diesen Experimenten wurden die Insulindosen zur Testmahlzeit nicht angepasst, jedoch teilweise Glukose in der postprandialen Phase substituiert, sofern die Plasmaglukosekonzentrationen unter 5 mmol / L fielen. Somit konnte auch mit diesem experimentellen Design der Maximaleffekt einer Magenentleerungsverzögerung durch eine Einzeldosis von Pramlintide auf die postprandialen Plasmaglukoseexkursionen nicht gezeigt werden.

Postprandiale Suppression von Glukagon und endogene Glukoseproduktion

In Übereinstimmung mit früheren Studien (65,66) wurde in den vorliegenden Untersuchungen an Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus bei identischen Plasmainsulinkonzentrationen nach Gabe von Placebo und Pramlintide eine Senkung der postprandialen Plasmaglukagonkonzentrationen unter Pramlintide gesehen. Diese kann durch direkte hemmende Effekte von Pramlintide auf die pankreatischen α - Zellen oder indirekt über reduzierten Zufluss von Nährstoffen aus dem Verdauungstrakt in die Zirkulation bedingt sein, denn Aminosäuren wie beispielsweise Arginin stimulieren bekanntermaßen die Sekretion von Glukagon aus pankreatischen α - Zellen (68). Da jedoch die Produktion von endogener Glukose nach Gabe von Placebo und Pramlintide vergleichbar war, scheint die durch Pramlintide induzierte Reduktion der postprandialen Plasmaglukosekonzentrationen hauptsächlich auf die Verzögerung der Magenentleerung zurückzuführen sein.

Hepatische Glukosesequestration und Erscheineraten exogener Glukose

In den Placebo- Experimenten waren die Erscheineraten exogener Glukose bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 in der frühen postprandialen Phase signifikant größer als bei

gesunden Probanden, was einer ~30 %igen Reduktion der hepatischen Glukosesequestration entsprechen würde. Unter der Annahme, dass die hepatisch sequestrierte Glukose vollständig der Glykogenbildung zugeführt wird, ergibt sich eine enge Übereinstimmung mit Befunden der MRT- Spektroskopie, die eine 30 %ige Reduktion des Glykogengehaltes der Leber bei mäßig hyperglykämischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 feststellten (77). Interessanterweise wurde nach Gabe von Pramlintide bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 ein nahezu identischer Anteil hepatisch sequestrierter Glukose gefunden wie bei den gesunden Probanden. Dieser Befund könnte durch folgende Hypothesen erklärt werden: Da Glukagon den Abbau von Substratreserven fördert und entsprechend dem hepatischen Glykogenaufbau entgegen wirkt, könnte die Suppression von Glukagon unter Pramlintide mit einer gesteigerten hepatischen Glukosesequestration einher gehen. Eine weitere mögliche Ursache wäre der initial reduzierte Einstrom von exogener Glukose aus dem Verdauungstrakt in das portalvenöse System mit in der Folge effektiverer Aufnahme von Glukose in die Leberzellen. Möglich wäre auch eine Steigerung der Glykolyse in intestinalen Zellen unter Pramlintide.

Fazit

Teleologisch kann die Verlangsamung der Magenentleerung unter akuter Hyperglykämie als wichtiger Schutzmechanismus betrachtet werden, um eine weitere Aggravation der postprandialen Hyperglykämie zu unterbinden. Die Sekretion von Amylin ist an die Freisetzung von Insulin geknüpft (31). Als Reaktion auf einen Anstieg der Plasmaglukosekonzentrationen steigert die pankreatische β - Zelle mit ihrem Glukosensensor die Sekretion von Insulin und Amylin. Insulin hemmt die hepatische Glukosebildung und steigert die Aufnahme von Glukose in periphere Gewebe (78). Amylin reduziert die Freisetzung der oralen Glukose aus dem Verdauungstrakt und reduziert so den Einstrom von

Glukose in die Blutzirkulation. Damit wird eine weitere Aggravation der postprandialen Hyperglykämie verhindert. Die vorliegenden Untersuchungen an Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 in Zusammenschau mit der Anwendung von Hyperglykämie bei gesunden Probanden zeigen einen Ausfall dieses Schutzmechanismus bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1, welcher zumindest partiell durch das Fehlen des Hormons Amylin bei diesen Patienten erklärt werden könnte. Der unverminderte Einstrom von Glukose aus dem Verdauungstrakt aggraviert bei diesen Patienten die postprandiale Hyperglykämie. Eine pharmakologische Modulation der Magenentleerung analog zu der durch Hyperglykämie induzierten Verzögerung der Magenentleerung bei gesunden Probanden verbessert eindrucksvoll die postprandiale Glykämie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1.

5. Zusammenfassung

Die Regulation der postprandialen Hyperglykämie hat eine große Bedeutung für die Glykämiekontrolle bei Patienten mit Diabetes mellitus. Früheren Untersuchungen entsprechend werden postprandiale Blutzuckerexkursionen wesentlich auch durch die Geschwindigkeit der Magenentleerung determiniert. Umgekehrt hemmt eine akute Hyperglykämie die Magenentleerung. Ziel dieser prospektiven, randomisierten, einfach-blinden cross-over Studie war die Bedeutung der Magenentleerung für die postprandialen Glukoseflüsse und die Wechselwirkung zwischen Magenentleerung und Hyperglykämie bei 14 gesunden Probanden und 15 altersentsprechenden Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM).

In einem ersten Ansatz wurde die Magenentleerung bei normoglykämischen Gesunden selektiv durch den Amylin-Agonisten Pramlintide gehemmt. In einem zweiten Teil wurde der Effekt einer akuten Hyperglykämie auf Magenentleerung und postprandiale Glukoseflüsse bei Amylin-defizienten Patienten mit T1DM untersucht und mit Gesunden verglichen. In einem dritten Teil wurde die Magenentleerung hyperglykämischer Patienten mit T1DM durch das Amylin-Analogon Pramlintide verzögert. Die Magenentleerung wurde mit zeitlich hochauflösender Szintigraphie gemessen, die Glukoseflüsse wurden unter Einsatz nicht-radioaktiver Tracer zur Markierung der oralen Glukose und des systemischen Glukosepools kalkuliert.

Die durch Pramlintide induzierte Verzögerung der initialen Magenentleerung bei Gesunden führte zu einer Reduktion der Erscheinerate von Glukose im Plasma und einer deutlichen Reduktion sowohl der postprandialen Blutzuckerexkursionen als auch der Insulinplasmakonzentrationen. Die Reduktion der Gesamterscheinerate von Glukose war bei gleichzeitiger Steigerung der endogenen (hepatischen) Glukoseproduktion ausschließlich

durch die reduzierte Erscheinerate exogener Mahlzeitglukose bedingt. Zudem wurde ein größerer Teil der oralen Glukose hepatisch sequestriert und auch peripher trotz niedrigerem Plasmainsulin suffizienter eliminiert.

Bei den Patienten mit T1DM war die Magenentleerung unter Euglykämie (5 mM) im Vergleich zu Gesunden gering, aber signifikant beschleunigt. Die Magenentleerung ließ sich im Gegensatz zu Gesunden durch eine akute Hyperglykämie (10 mM) nicht hemmen. Entsprechend war die Erscheinerate der Mahlzeitglukose im Vergleich zu Gesunden höher, und die akute Hyperglykämie beeinflusste bei den Diabetikern weder die Erscheineraten der exogenen noch der endogenen Glukose.

Bei Gesunden ist die Sekretion des in der β -Zelle mit Insulin kolokalisierten Amylin eng an die Freisetzung von Insulin geknüpft. Amylin ist ein humoraler inhibitorischer Regulator der Magenentleerung. Mechanismus ist wahrscheinlich eine reversible vagal-cholinerge Hemmung. Unter Hyperglykämie kam es bei den Gesunden parallel zu der Verzögerung der Magenentleerung zu einem starken Anstieg der Plasmaamylinkonzentration. Bei den Patienten mit T1DM war Amylin auch unter Hyperglykämie nicht nachweisbar. Die pharmakologische Wiederherstellung einer der unter akuter Hyperglykämie Gesunder vergleichbaren Verzögerung der Magenentleerung bei den Patienten mit T1DM durch das Amylin-Analogon Pramlintide führte bei identischer Insulinsubstitution zu einer deutlichen Reduktion der postprandialen Blutglukoseexkursionen und zu einer signifikant niedrigeren Erscheinerate exogener Mahlzeitglukose bei unveränderter postprandialer Suppression der hepatischen Glukoseproduktion.

Eine Magenentleerungsverzögerung führt somit insulinunabhängig zu einer verbesserten Glukosetoleranz durch eine reduzierte Erscheinerate der Mahlzeitglukose, eine Steigerung der hepatischen Glukosesequestration und eine verbesserte periphere Glukoseelimination. Die unter akuter Hyperglykämie zu beobachtende Magenentleerungsverzögerung ist ein

physiologischer Schutzmechanismus zur Wahrung der Glukosehomöostase. Diese Magenentleerungsverzögerung ist zumindest zum Teil durch Amylin vermittelt. Bei Amylin-defizienten Patienten mit T1DM existiert diese feedback- Hemmung auf die Magenentleerung nicht mehr. Wir vermuten, dass eine gestörte Magenentleerungsregulation bei T1DM mitverantwortlich ist für die gestörte postprandiale Blutzuckerregulation bzw. einen relativ hohen Bedarf an exogenem Insulin. Bei Patienten mit T1DM ohne Nachweis einer autonomen Neuropathie ist eine medikamentöse Therapie zur bedarfsgerechten postprandialen Verzögerung der Magenentleerung pathophysiologisch sinnvoll. Inwiefern dies auch für Patienten mit T2DM gilt, bleibt zu untersuchen.

6. Literaturverzeichnis

1. Gerich JE: Postprandial hyperglycemia and cardiovascular disease. *Endocr Pract* 12 Suppl 1:47-51, 2006
2. Abdul-Ghani MA, Tripathy D, DeFronzo RA: Contributions of beta-cell dysfunction and insulin resistance to the pathogenesis of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Diabetes Care* 29:1130-1139, 2006
3. Basu A, Basu R, Shah P, Vella A, Johnson CM, Jensen M, Nair KS, Schwenk WF, Rizza RA: Type 2 diabetes impairs splanchnic uptake of glucose but does not alter intestinal glucose absorption during enteral glucose feeding: additional evidence for a defect in hepatic glucokinase activity. *Diabetes* 50:1351-1362, 2001
4. Woerle HJ, Meyer C, Dostou JM, Gosmanov NR, Islam N, Popa E, Wittlin SD, Welle SL, Gerich JE: Pathways for glucose disposal after meal ingestion in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E716-E725, 2003
5. Woerle HJ, Szoke E, Meyer C, Dostou JM, Wittlin SD, Gosmanov NR, Welle SL, Gerich JE: Mechanisms for abnormal postprandial glucose metabolism in type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290:E67-E77, 2006
6. Woerle, H. J. and Gerich, J. Normal glucose physiology. 2003. Encyclopedia Diabetes.
7. Horowitz M, Edelbroek MA, Wishart JM, Straathof JW: Relationship between oral glucose tolerance and gastric emptying in normal healthy subjects. *Diabetologia* 36:857-862, 1993
8. Schirra J, Nicolaus M, Woerle HJ, Struckmeier C, Katschinski M, Goke B: GLP-1 regulates gastroduodenal motility involving cholinergic pathways. *Neurogastroenterol Motil* 2009
9. Meyer JH, Ohashi H, Jehn D, Thomson JB: Size of liver particles emptied from the human stomach. *Gastroenterology* 80:1489-1496, 1981
10. Schirra J, Katschinski M, Weidmann C, Schafer T, Wank U, Arnold R, Goke B: Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest* 97:92-103, 1996
11. Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE, Myhre J, Christiansen J, Holst JJ: Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Dig Dis Sci* 38:665-673, 1993
12. Schirra J, Nicolaus M, Roggel R, Katschinski M, Storr M, Woerle HJ, Goke B: Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans. *Gut* 55:243-251, 2006
13. Schirra J, Goke B: The physiological role of GLP-1 in human: incretin, ileal brake or more? *Regul Pept* 128:109-115, 2005

14. Schirra J, Wank U, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on motility and sensation of the proximal stomach in humans. *Gut* 50:341-348, 2002
15. Schirra J, Houck P, Wank U, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on antro-pyloro-duodenal motility in the interdigestive state and with duodenal lipid perfusion in humans. *Gut* 46:622-631, 2000
16. Schirra J, Kuwert P, Wank U, Leicht P, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Differential effects of subcutaneous GLP-1 on gastric emptying, antroduodenal motility, and pancreatic function in men. *Proc Assoc Am Physicians* 109:84-97, 1997
17. Rayner CK, Samsom M, Jones KL, Horowitz M: Relationships of upper gastrointestinal motor and sensory function with glycemic control. *Diabetes Care* 24:371-381, 2001
18. Camilleri M: Clinical practice. Diabetic gastroparesis. *N Engl J Med* 356:820-829, 2007
19. Fraser RJ, Horowitz M, Maddox AF, Harding PE, Chatterton BE, Dent J: Hyperglycaemia slows gastric emptying in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 33:675-680, 1990
20. Schvarcz E, Palmer M, Aman J, Horowitz M, Stridsberg M, Berne C: Physiological hyperglycemia slows gastric emptying in normal subjects and patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Gastroenterology* 113:60-66, 1997
21. Chaikomin R, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M: Upper gastrointestinal function and glycemic control in diabetes mellitus. *World J Gastroenterol* 12:5611-5621, 2006
22. Horowitz M, Harding PE, Maddox AF, Wishart JM, Akkermans LM, Chatterton BE, Shearman DJ: Gastric and oesophageal emptying in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 32:151-159, 1989
23. Schvarcz E, Palmer M, Aman J, Berne C: Hypoglycemia increases the gastric emptying rate in healthy subjects. *Diabetes Care* 18:674-676, 1995
24. Russo A, Stevens JE, Chen R, Gentilcore D, Burnet R, Horowitz M, Jones KL: Insulin-induced hypoglycemia accelerates gastric emptying of solids and liquids in long-standing type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 90:4489-4495, 2005
25. Schirra J, Leicht P, Hildebrand P, Beglinger C, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Mechanisms of the antidiabetic action of subcutaneous glucagon-like peptide-1(7-36)amide in non-insulin dependent diabetes mellitus
8. *J Endocrinol* 156:177-186, 1998
26. Meier JJ, Goetze O, Anstipp J, Hagemann D, Holst JJ, Schmidt WE, Gallwitz B, Nauck MA: Gastric inhibitory polypeptide does not inhibit gastric emptying in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E621-E625, 2004

27. Savage AP, Adrian TE, Carolan G, Chatterjee VK, Bloom SR: Effects of peptide YY (PYY) on mouth to caecum intestinal transit time and on the rate of gastric emptying in healthy volunteers. *Gut* 28:166-170, 1987
28. Feinle C, D'Amato M, Read NW: Cholecystokinin-A receptors modulate gastric sensory and motor responses to gastric distension and duodenal lipid. *Gastroenterology* 110:1379-1385, 1996
29. Katschinski M, Schirra J, Begliner C, Langbein S, Wank U, D'Amato M, Arnold R: Intestinal phase of human antro-pyloro-duodenal motility: cholinergic and CCK-mediated regulation. *Eur J Clin Invest* 26:574-583, 1996
30. Young A, Pittner R, Gedulin B, Vine W, Rink T: Amylin regulation of carbohydrate metabolism. *Biochem Soc Trans* 23:325-331, 1995
31. Fehmman HC, Weber V, Goke R, Goke B, Arnold R: Cosecretion of amylin and insulin from isolated rat pancreas. *FEBS Lett* 262:279-281, 1990
32. Young A: Inhibition of gastric emptying. *Adv Pharmacol* 52:99-121, 2005
33. Koda JE, Fineman M, Rink TJ, Dailey GE, Muchmore DB, Linarelli LG: Amylin concentrations and glucose control. *Lancet* 339:1179-1180, 1992
34. Samsom M, Szarka LA, Camilleri M, Vella A, Zinsmeister AR, Rizza RA: Pramlintide, an amylin analog, selectively delays gastric emptying: potential role of vagal inhibition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 278:G946-G951, 2000
35. Nonoyama A, Laurence JS, Garriques L, Qi H, Le T, Middaugh CR: A biophysical characterization of the peptide drug pramlintide (AC137) using empirical phase diagrams. *J Pharm Sci* 97:2552-2567, 2008
36. Beaumont K, Kenney MA, Young AA, Rink TJ: High affinity amylin binding sites in rat brain. *Mol Pharmacol* 44:493-497, 1993
37. Sexton PM, Paxinos G, Kenney MA, Wookey PJ, Beaumont K: In vitro autoradiographic localization of amylin binding sites in rat brain. *Neuroscience* 62:553-567, 1994
38. Camilleri M, Balm RK, Low PA: Autonomic dysfunction in patients with chronic intestinal pseudo-obstruction. *Clin Auton Res* 3:95-100, 1993
39. Frank JW, Saslow SB, Camilleri M, Thomforde GM, Dinneen S, Rizza RA: Mechanism of accelerated gastric emptying of liquids and hyperglycemia in patients with type II diabetes mellitus. *Gastroenterology* 109:755-765, 1995
40. Stacher G: Diabetes mellitus and the stomach. *Diabetologia* 44:1080-1093, 2001
41. Horowitz M, O'Donovan D, Jones KL, Feinle C, Rayner CK, Samsom M: Gastric emptying in diabetes: clinical significance and treatment. *Diabet Med* 19:177-194, 2002
42. Woerle HJ, Albrecht M, Linke R, Zschau S, Neumann C, Nicolaus M, Gerich J, Goke B, Schirra J: Importance of changes in gastric emptying for postprandial plasma

- glucose fluxes in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294:E103-E109, 2008
43. Schmitz O, Brock B, Rungby J: Amylin agonists: a novel approach in the treatment of diabetes. *Diabetes* 53 Suppl 3:S233-S238, 2004
 44. World Health Organization Expert Committee: Diabetes mellitus: a second report. Geneva, Switzerland. *Technical Report Series* 646:1-80, 1980
 45. Ewing DJ, Clarke BF: Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 285:916-918, 1982
 46. Schirra J, Sturm K, Leicht P, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in humans. *J Clin Invest* 101:1421-1430, 1998
 47. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R: Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 237:E214-E223, 1979
 48. Wolfe R: *Radioactive and stable isotope tracers in biomedicine: principles and practice of kinetic analysis*. New York, Wiley-Liss, 1992
 49. DeBodo R, Steele R, Dunn A, Bishop J: On the hormonal regulation of carbohydrate metabolism: studies with ¹⁴C glucose. *Rec Prog Horm Res* 19:445-448, 1963
 50. Chiasson J, Liljenquist J, Lacy W, Jennings A, Cherrington A: Gluconeogenesis: methodological approaches in vivo. *Fed Proc* 36:229-235, 1977
 51. Kelley D, Mitrakou A, Marsh H, Schwenk F, Benn J, Sonnenberg G, Archangeli M, Aoki T, Sorensen J, Berger M, Sonksen P, Gerich J: Skeletal muscle glycolysis, oxidation, and storage of an oral glucose load. *J Clin Invest* 81:1563-1571, 1988
 52. Linke R, Meier M, Muenzing W, Folwaczny C, Schnell O, Tatsch K: Prokinetic therapy: what can be measured by gastric scintigraphy? *Nucl Med Commun* 26:527-533, 2005
 53. Linke R, Muenzing W, Hahn K, Tatsch K: Evaluation of Gastric Motility by Fourier Analysis of Condensed Images. *Eur J Nucl Med* 27:1531-1537, 2000
 54. Vella A, Bock G, Giesler PD, Burton DB, Serra DB, Saylan ML, Dunning BE, Foley JE, Rizza RA, Camilleri M: Effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibition on gastrointestinal function, meal appearance, and glucose metabolism in type 2 diabetes. *Diabetes* 56:1475-1480, 2007
 55. Beylot M, Previs SF, David F, Brunengraber H: Determination of the ¹³C-labeling pattern of glucose by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem* 212:526-531, 1993
 56. Mokan M, Gerich J: A simple insulin infusion algorithm for establishing and maintaining overnight near-normoglycemia in type I and type II diabetes. *J Clin Endo & Metab* 74:943-945, 1992

57. Mitrakou A, Kelley D, Mokan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, Gerich J: Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 326:22-29, 1992
58. Donohoe K, Maurer A, Ziessman H, Urbain J, Royal H: Procedure Guideline for Gastric Emptying and Motility. *J Nucl Med* 40:1236-1239, 1999
59. Woerle HJ, Neumann C, Zschau S, Tenner S, Irsigler A, Schirra J, Gerich JE, Goke B: Impact of fasting and postprandial glycemia on overall glycemic control in type 2 diabetes Importance of postprandial glycemia to achieve target HbA1c levels. *Diabetes Res Clin Pract* 77:280-285, 2007
60. Clementi G, Caruso A, Cutuli VM, de BE, Prato A, mico-Roxas M: Amylin given by central or peripheral routes decreases gastric emptying and intestinal transit in the rat. *Experientia* 52:677-679, 1996
61. Gedulin BR, Young AA: Hypoglycemia overrides amylin-mediated regulation of gastric emptying in rats. *Diabetes* 47:93-97, 1998
62. Riediger T, Schmid HA, Young AA, Simon E: Pharmacological characterisation of amylin-related peptides activating subfornical organ neurones. *Brain Res* 837:161-168, 1999
63. Jones KL, Horowitz M, Carney BI, Wishart JM, Guha S, Green L: Gastric emptying in early noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Nucl Med* 37:1643-1648, 1996
64. Corvilain B, Abramowicz M, Fery F, Schoutens A, Verlinden M, Balasse E, Horowitz M: Effect of short-term starvation on gastric emptying in humans: relationship to oral glucose tolerance. *Am J Physiol* 269:G512-G517, 1995
65. Fehmman HC, Weber V, Goke R, Goke B, Eissele R, Arnold R: Islet amyloid polypeptide (IAPP;amylin) influences the endocrine but not the exocrine rat pancreas. *Biochem Biophys Res Commun* 167:1102-1108, 1990
66. Levetan C, Want LL, Weyer C, Strobel SA, Crean J, Wang Y, Maggs DG, Kolterman OG, Chandran M, Mudaliar SR, Henry RR: Impact of pramlintide on glucose fluctuations and postprandial glucose, glucagon, and triglyceride excursions among patients with type 1 diabetes intensively treated with insulin pumps. *Diabetes Care* 26:1-8, 2003
67. Gedulin BR, Rink TJ, Young AA: Dose-response for glucagonostatic effect of amylin in rats. *Metabolism* 46:67-70, 1997
68. Gerich JE: Clinical significance, pathogenesis, and management of postprandial hyperglycemia. *Arch Intern Med* 163:1306-1316, 2003
69. Eller LK, Ainslie PN, Poulin MJ, Reimer RA: Differential responses of circulating amylin to high-fat vs. high-carbohydrate meal in healthy men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 68:890-897, 2008
70. Kong MF, King P, Macdonald IA, Blackshaw PE, Perkins AC, Armstrong E, Buchanan KD, Tattersall RB: Effect of euglycaemic hyperinsulinaemia on gastric

emptying and gastrointestinal hormone responses in normal subjects. *Diabetologia* 41:474-481, 1998

71. Kong MF, King P, Macdonald IA, Blackshaw PE, Horowitz M, Perkins AC, Armstrong E, Buchanan KD, Tattersall RB: Euglycaemic hyperinsulinaemia does not affect gastric emptying in type I and type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 42:365-372, 1999
72. Schwartz TW: Pancreatic polypeptide: a hormone under vagal control. *Gastroenterology* 85:1411-1425, 1983
73. Mei N: Vagal glucoreceptors in the small intestine of the cat. *J Physiol* 282:485-506, 1978
74. Glasbrenner B, Dominguez-Munoz E, Riepl RL, Vetsi A, Malfertheiner P: Cholecystokinin and pancreatic polypeptide release in diabetic patients with and without autonomic neuropathy. *Dig Dis Sci* 40:406-411, 1995
75. Kong MF, King P, Macdonald IA, Stubbs TA, Perkins AC, Blackshaw PE, Moyses C, Tattersall RB: Infusion of pramlintide, a human amylin analogue, delays gastric emptying in men with IDDM. *Diabetologia* 40:82-88, 1997
76. Kong MF, Stubbs TA, King P, Macdonald IA, Lambourne JE, Blackshaw PE, Perkins AC, Tattersall RB: The effect of single doses of pramlintide on gastric emptying of two meals in men with IDDM. *Diabetologia* 41:577-583, 1998
77. Hwang JH, Perseghin G, Rothman DL, Cline GW, Magnusson I, Petersen KF, Shulman GI: Impaired net hepatic glycogen synthesis in insulin-dependent diabetic subjects during mixed meal ingestion. A ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *J Clin Invest* 95:783-787, 1995
78. Woerle HJ, Mariuz PR, Meyer C, Reichman RC, Popa EM, Dostou JM, Welle SL, Gerich JE: Mechanisms for the deterioration in glucose tolerance associated with HIV protease inhibitor regimens. *Diabetes* 52:918-925, 2003

7. Publikationen

Originalartikel:

Woerle HJ, Albrecht M, Linke R, Zschau S, Neumann C, Nicolaus M, Gerich J, Goke B, Schirra J: Importance of changes in gastric emptying for postprandial plasma glucose fluxes in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294:E103-E109, 2008

Woerle HJ, Albrecht M, Linke R, Zschau S, Neumann C, Nicolaus M, Gerich J, Goke B, Schirra J: Impaired Hyperglycemia- Induced Delay in Gastric Emptying in Patients with Type 1 Diabetes Deficient for Islet Amyloid Polypeptide (IAPP). *Diabetes Care* 31: 2325-2331, 2008.

Abstracts:

Hans J. Woerle, Max Albrecht, Silvia Zschau, Christoph Neumann, Rainer Linke, John Gerich, Burkhard Goeke, Joerg Schirra: Effects of Pramlintide on Gastric Emptying and Glucose Fluxes in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus and Healthy Subjects. **American Diabetes Association 67th Scientific Sessions (2007)**, Abstract Number: 0574-P

Hans J. Woerle, Max Albrecht, Mathias Nicolaus, Martin Storr, Joerg Limmer, Silvia Zschau, Christoph Neumann, Burkhard Goeke, Joerg Schirra: Mechanisms by Which Pramlintide Reduces Postprandial Glucose Excursions in Humans: Important Role for Splanchnic Glucose Sequestration. **American Diabetes Association 66th Scientific Sessions (2006)**, Abstract Number: 1470-P

Hans J. Woerle, Max Albrecht, Martin Storr, Mathias Nicolaus, Joerg Limmer, Burkhard Goeke, Joerg Schirra: Gastric Emptying Is a Major Contributor to Postprandial Hyperglycemia in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus. **American Diabetes Association 66th Scientific Sessions (2006)**, Abstract Number: 1471-P

Woerle HJ, Albrecht M, Nicolaus M, Storr M, Zschau S, Neumann C, Göke B, Schirra J: Verlangsamung der Magenentleerungsgeschwindigkeit vermindert den postprandialen Glukose-Anstieg bei gesunden Probanden: Das Amylin Analogon Pramlintide reduzierte postprandiale Glukose- Anstiege vorwiegend durch eine vermehrte hepatische Glukose-sequestrierung. **41. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft 2006**, Abstract Nummer: 224

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Maximilian Ferdinand Georg **Albrecht**
Geburtsdatum 02.03.1981
Geburtsort Dachau

Schulbildung

1987 – 1991 Volksschule München, Rotbuchenstraße 81
1991 – 2000 Pestalozzi- Gymnasium München, Abitur: Note 1,5

Zivildienst

2000 – 2001 Domus – Heilpädagogisches Zentrum e.V.,
Pommernstraße 4, München
(Betreuung geistig- seelisch behinderter Kinder)

Hochschulausbildung

2001 – 2003 Vorklinischer Studienabschnitt an der Ludwig-
Maximilians-Universität München
22.09.2003 Ärztliche Vorprüfung („Physikum“): Note 1,66
Ab 10.2003 Klinischer Studienabschnitt an der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Ablauf meines klinischen Studienabschnittes im Einzelnen:

WiSe 2003 / 2004 1. klinisches Semester nach alter Studienordnung
SoSe 2004 - WiSe 2006/2007 klinische Module 1 bis 6 nach neuer Studienordnung
SoSe 2007 Freisemester zur Arbeit an der Promotion
WiSe 2007 / 2008 – SoSe 2008 Praktisches Jahr
WiSe 2008 / 2009 Fertigstellung der Promotionsarbeit und Vorbereitung
auf den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung nach neuer
ÄAppO
SoSe 2009 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung nach neuer
ÄAppO: Note: „Gut“

Promotion

im Bereich gastrointestinale Neuroendokrinologie und
Motilität bei Prof. Dr. B. Göke und Prof. Dr. J. Schirra in
der Medizinischen Klinik II, Großhadern.

Thema Der Einfluss der Glykämie auf die Magenentleerung bei
Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1: Interaktion mit
dem Amylin- Analogon Pramlintide.

Publikationen H.-J. Woerle, M. Albrecht, R. Linke, S. Zschau,
C. Neumann, M. Nicolaus, J. Gerich, B. Göke and
J. Schirra. Importance of changes in gastric emptying for
postprandial plasma glucose fluxes in healthy humans.
Am J Physiol Endocrinol Metab 294:E103-E109, 2008.
H.-J. Woerle, M. Albrecht, R. Linke, S. Zschau,
C. Neumann, M. Nicolaus, J. Gerich, B. Göke and
J. Schirra. Impaired Hyperglycemia- Induced Delay in
Gastric Emptying in Patients with Type 1 Diabetes
Deficient for Islet Amyloid Polypeptide (IAPP).

Diabetes Care, 31: 2325-2331, 2008.

Famulaturen

| | |
|---------------|---|
| 02 / 03. 2004 | Prof. Dr. Horn, Allgemeine und Viszeralchirurgie, Städtisches Krankenhaus München Harlaching |
| 08 / 09. 2004 | Prof. Dr. Göke, Innere Medizin (Gastroenterologie und Hepatologie), Medizinische Klinik II, Klinikum der Ludwig- Maximilians- Universität München, Großhadern |
| 09 / 10. 2005 | Schwerpunktpraxis Dr. Neumann und Dr. Zschau, Diabetologie, Leopoldstraße 32, München |
| 03 / 04. 2006 | Dr. Sieler, Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Städtisches Krankenhaus München Harlaching |
| 08 / 09. 2006 | Prof. Hutchinson, klinische Neurologie, St. Vincent's University Hospital Dublin, Irland |
| 10 / 2006 | Prof. Dr. Möller, Psychiatrie, Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians- Universität München |

Praktisches Jahr

| | |
|-------------------------|---|
| 20.08.2007 – 09.12.2007 | Prof. Dr. Bogner, Medizinische Poliklinik, Klinikum der Universität München |
| 10.12.2007 – 30.03.2008 | Prof. Dr. Möller, Psychiatrie, Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians- Universität München |
| 31.03.2008 – 20.07.2008 | Prof. Dr. Mutschler, Chirurgische Klinik und Poliklinik – Innenstadt, Klinikum der Universität München |

zusätzliche berufsrelevante Erfahrung und besondere Kenntnisse

| | |
|----------|--|
| Sprachen | großes Latein, Englisch fließend in Wort und Schrift |
| EDV | sehr gute Kenntnisse in Word, Excel, Powerpoint |

München, 21.12.2009

Maximilian Albrecht