

**Aus der  
Medizinischen Klinik und Poliklinik II , Campus Großhadern,  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München  
Direktor: Prof. Dr. med. Burkhard Göke**

**GLP-1 vermittelt als Enterogastron die „ileal brake“  
beim Menschen**

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

**vorgelegt von  
Samera Shakir  
aus  
Norwich  
im  
Jahr 2012**

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

Berichterstatter: Prof. Dr. Jörg Schirra

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Max Schnurr

Prof. Dr. Andreas Eigler

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter:

Dr. Mathias Nicolaus

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

Tag der mündlichen Prüfung: 26.07.2012

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Herrn Prof. Dr. med. Jörg Schirra

Herrn Dr. med. Mathias Nicolaus

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines Promotionsberater in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

München, im Februar 2012.

## DANKSAGUNGEN

Herrn Professor Dr. Jörg Schirra danke ich für die Vergabe des Themas, der engagierten Begleitung bei der Planung, Durchführung, Interpretation und für die geduldige Korrektur der Arbeit. Ich danke Dr. Mathias Nicolaus, der die Arbeit zu jederzeit mit Interesse verfolgt und mir stets beratend zur Seite gestanden hat. Auch bei Schwierigkeiten während der Versuchsdurchführung hat er stets durch seine ruhige Art die Arbeit vorangetrieben. Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Burkhard Göke, in dessen Klinikum diese Arbeit möglich wurde.

Mein besonderer Dank gilt Frau Rita Schinkmann, die mir bei der Betreuung der Probanden und in allen unerwarteten Situationen tatkräftig und sachkundig zur Seite stand. Ohne ihre Hilfe wäre diese Arbeit nicht zu Stande gekommen. Zudem gilt mein Dank Frau Silke Herrmann, die stets mit ihrer Hilfsbereitschaft zur Seite stand. Ich danke Frau Dr. Franziska Theissig für die hilfreiche Korrekturarbeit.

Meinen Eltern danke ich für das grenzenlose Vertrauen in meine Vorhaben, die immerwährende moralische Unterstützung und die Ermöglichung meiner Ausbildung. Ganz besonders danke ich meinem Ehemann Paul Schiltz, für sein Verständnis, sein Rückhalt, seine Geduld und Hilfsbereitschaft in jeder Phase der Arbeit.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b><u>1</u></b>	<b><u>EINLEITUNG.....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<b>1.1</b>	<b>Ileal brake .....</b>	<b>15</b>
1.1.1	Klinische Bedeutung .....	15
1.1.2	Mediatoren der ileal brake.....	16
<b>1.2</b>	<b>GLP-1.....</b>	<b>18</b>
1.2.1	Das Inkretinkonzept .....	18
1.2.2	Physiologische Wirkungen von GLP-1 .....	25
1.2.2.1	<i>Ein Inkretinhormon.....</i>	<i>25</i>
1.2.2.2	<i>Ein Enterogastron .....</i>	<i>26</i>
1.2.3	Der GLP-1 Rezeptorantagonist Exendin (9-39) amid.....	27
<b>1.3</b>	<b>Motilität .....</b>	<b>28</b>
1.3.1	Die neuroendokrine Regulation der gastroduodenalen Motilität .....	30
<b><u>2</u></b>	<b><u>ZIELE DER ARBEIT.....</u></b>	<b><u>32</u></b>
<b><u>3</u></b>	<b><u>MATERIAL UND METHODEN.....</u></b>	<b><u>34</u></b>
<b>3.1</b>	<b>Probanden.....</b>	<b>34</b>
3.1.1	Klinische Ein- und Ausschlusskriterien .....	34
<b>3.2</b>	<b>Sonden.....</b>	<b>35</b>
<b>3.3</b>	<b>Antro-duodenale Motilität.....</b>	<b>38</b>
3.3.1	Messung der antro-duodenalen-transmukosalen Potentialdifferenz (TMPD)...	38
<b>3.4</b>	<b>Experimentelles Design .....</b>	<b>39</b>
3.4.1	Versuchsablauf.....	39
<b>3.5</b>	<b>Analyse der Antro-duodenalen Motilität .....</b>	<b>46</b>
<b>3.6</b>	<b>Analysen der Gastropankreatischen Sekretionen .....</b>	<b>46</b>
3.6.1	Doppelmarkerdilutionstechnik .....	46
3.6.2	Magensäure-Endpunkttitration .....	48

3.6.3	Pankreasenzym-Bestimmungen.....	49
3.6.3.1	<i>Amylaseaktivität im Duodenalsaft</i> .....	49
3.6.3.2	<i>Trypsinaktivität im Duodenalsaft</i> .....	50
<b>3.7</b>	<b>Analysen der Plasmahormone.....</b>	<b>50</b>
<b>3.8</b>	<b>Auswertung und Statistik .....</b>	<b>51</b>
<b><u>4</u></b>	<b><u>ERGEBNISSE.....</u></b>	<b><u>53</u></b>
<b>4.1</b>	<b>Gastropankreatische Sekretionen .....</b>	<b>53</b>
4.1.1	Magensäuresekretion .....	53
4.1.2	Exokrine Pankreassekretion: Amylase und Trypsin .....	57
<b>4.2</b>	<b>Blutglukose und Plasmahormonkonzentrationen .....</b>	<b>60</b>
4.2.1	Blutglukose.....	60
4.2.2	Insulin.....	64
4.2.3	Glukagon .....	64
4.2.4	GLP-1 und PYY.....	67
4.2.5	Pankreatisches Polypeptid (PP), Gastrin und CCK-8.....	70
<b>4.3</b>	<b>Antro-duodenale Motilität.....</b>	<b>74</b>
4.3.1	Phase III des MMC .....	74
4.3.2	Antrale Motilität .....	74
4.3.3	Duodenale Motilität .....	81
<b><u>5</u></b>	<b><u>DISKUSSION .....</u></b>	<b><u>85</u></b>
<b>5.1</b>	<b>GLP-1-Sekretion.....</b>	<b>88</b>
<b>5.2</b>	<b>Wirkung von GLP-1 auf die gastropankreatische Sekretionen .....</b>	<b>91</b>
<b>5.3</b>	<b>Wirkung von GLP-1 auf die Glykämie und die endokrine Pankreassekretion.....</b>	<b>94</b>
<b>5.4</b>	<b>GLP-1 als Mediator der ileal brake .....</b>	<b>96</b>
<b>5.5</b>	<b>Wirkung von GLP-1 auf die Motilität .....</b>	<b>105</b>
<b>5.6</b>	<b>Implikationen für einen therapeutischen Einsatz.....</b>	<b>106</b>

<b><u>6</u></b>	<b><u>ZUSAMMENFASSUNG .....</u></b>	<b><u>111</u></b>
<b><u>7</u></b>	<b><u>LITERATURVERZEICHNIS .....</u></b>	<b><u>114</u></b>
<b><u>8</u></b>	<b><u>LEBENS LAUF.....</u></b>	<b><u>139</u></b>

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematische Darstellung der ileal brake.....	14
Abbildung 2: Aufbau der Ileum-Sonde.....	37
Abbildung 3: Experimentelles Design.....	43
Abbildung 4: Zeitlicher Verlauf des gastralen Magensäure-Output (N=10) .....	56
Abbildung 5: Zeitlicher Verlauf des pankreatischen Amylase-Output (N=10). .....	58
Abbildung 6: Zeitlicher Verlauf des pankreatischen Trypsin-Output (N=10) .....	59
Abbildung 7: Zeitlicher Verlauf der Blutglukosekonzentration (N=10). MW±SEM ...	63
Abbildung 8: Zeitlicher Verlauf der Insulin-Plasmakonzentrationen (N=10). MW±SEM.....	65
Abbildung 9: Zeitlicher Verlauf der Glukagon-Plasmakonzentrationen (N=10). MW±SEM.....	66
Abbildung 10: Zeitlicher Verlauf der GLP-1-Plasmakonzentrationen (N=10). MW±SEM.....	68
Abbildung 11: Zeitlicher Verlauf der PYY-Plasmakonzentrationen (N=10). MW±SEM .....	69
Abbildung 12: Zeitlicher Verlauf der Pankreatischen Polypeptid (PP) - Plasmakonzentrationen (N=10) .....	71
Abbildung 13: Zeitlicher Verlauf der Gastrin-Plasmakonzentrationen (N=10).....	72
Abbildung 14: Zeitlicher Verlauf der CCK-8-Plasmakonzentrationen (N=10).....	73
Abbildung 15: Zeitlicher Verlauf des <b>Motilitätsindex</b> im Antrum.....	78
Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der <b>Kontraktionsfrequenz</b> im Antrum .....	79
Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der <b>Kontraktionsamplituden</b> im Antrum .....	80
Abbildung 18: Zeitlicher Verlauf des <b>Motilitätsindex</b> im Duodenum .....	82
Abbildung 19: Zeitlicher Verlauf der <b>Kontraktionsfrequenz</b> im Duodenum.....	83
Abbildung 20: Zeitlicher Verlauf der <b>Kontraktionsamplitude</b> im Duodenum.....	84



## **TABELLENVERZEICHNIS**

Tabelle 1: Gewicht, Größe und BMI der Probanden. ....	35
Tabelle 2: Placeboversuch mit den Durchleuchtungsangaben (kV, mA, Dauer und Dosis).....	40
Tabelle 3: Exendin-9-39 Versuch mit den Durchleuchtungsangaben (kV, mA, Dauer und Dosis).....	41
Tabelle 4: Gastropankreatische Sekretion während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10 .....	55
Tabelle 5: Über basal (0-30min) ansteigende Blutglukosekonzentration und Plasmakonzentration der Pankreashormone während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10.....	61
Tabelle 6: Über basal (0-30min) ansteigende Plasmakonzentration der gastrointestinalen Hormone während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10.....	62
Tabelle 7: Parameter der antralen Motilität während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10.....	76
Tabelle 8: Parameter der duodenalen Motilität während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit	

intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39).

Mittelwert± SEM. N=10.....77

## **ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalysen)
CCK-8	Cholecystokinin-8
DPP IV	Dipeptidyl-peptidase IV
Ex-9	Exendin(9-39)amid
GIP	Glucose-dependent insulintropic polypeptide or gastric inhibitory polypeptide
GLP-1	Glucagon-like-peptide-1
M	Molare
MMC	Migrating Motor Complex
PEG	Polyethylenglykol
PP	Pankreatisches Polypeptid
PYY	Peptid YY
TMPD	transmukosale Potentialdifferenz

# 1 Einleitung

Eine Aufgabe des Gastrointestinaltrakts besteht in der Überführung der aufgenommenen Nahrung in resorbierbare Bestandteile und deren anschließende Aufnahme in den Körper. Mechanische Prozesse wie Zerkleinerung, Durchmischung und Transport unter Beigabe von Verdauungssäften und Enzymen sind dafür wichtige Voraussetzungen. Während des Verdauungsprozesses werden Kohlenhydrate, Fette und Eiweiße hydrolytisch gespalten und in resorbierbare Teile zerlegt. Die Endprodukte der Verdauung können dann ebenso wie Wasser, Elektrolyte, Spurenelemente und Vitamine aus dem Darmlumen über die Darmschleimhaut aufgenommen werden. Genau aufeinander abgestimmte Wechselwirkungen zwischen gastrointestinalem Transit, endokriner und exokriner Pankreassekretion sowie der Achse die zwischen Magen-Darm-Trakt und Gehirn besteht, gehören zu diesem Vorgang. Das Gefühl von Sättigung, Völlegefühl oder Übelkeit wird über diesen Weg vermittelt. Damit die Verdauung der Nahrung und die Absorption der Nährstoffe in optimaler Weise ablaufen können, sind Mechanismen notwendig, die den intestinalen Nährstofftransit kontrollieren.

Einer dieser Bremsmechanismen wurde 1984 erstmals von Spiller et al. (Spiller et al. 1988, Spiller et al. 1984) als „ileal brake“ identifiziert. Durch die Perfusion einer fett-haltigen Lösung ins Ileum erzielten sie eine Reduktion der jejunalen Motilität und eine Verlangsamung des intestinalen Transits unter der die Testmahlzeit verzögert aus dem Magen entleert wird. Ihre Versuche zeigten die Existenz eines inhibitorischen, intestinalen Kontrollmechanismus beim Menschen, den sie ileal brake taufte. Unabhängig von Spillers Arbeitsgruppe zeigten auch Read et al. die Existenz dieses ilealen Bremsmechanismus. Sowohl unverdaute Fette wie auch Proteine im Ileum führten in ihren Versuchen zu einer Hemmung des Transits (Read et al. 1984).

Dieser primäre inhibitorische Feedbackmechanismus der zur Kontrolle des gastrointestinalen Durchganges dient, optimiert die Verdauung und Absorption der Nährstoffe. Die ileal brake führt durch Tonuszunahme des Pylorus, Relaxation des Magenfundus und Hemmung der antro-duodenalen Motilität zu einer Verzögerung der Magenentleerung. Somit verbleibt die Nahrung länger im Magen, was der Zersetzung und Regulierung der Aufnahme von Nährstoffen dient. Des Weiteren wird die Sekretion von Pan-

kreasenzymen und Magensäure reduziert. Der vollständige Ablauf der ileal brake konnte durch spätere Studien im Einzelnen verdeutlicht werden (Layer et al. 1995, Layer et al. 1990).

Durch einen intestino-intestinalen und intestino-gastralen Rückkopplungsmechanismus werden Signale ausgesendet, die sowohl die Magenentleerung als auch den Transit von Nährstoffen hemmen. Diese Signale manifestieren sich neuromuskulär durch ein Wechsel von propulsive in nicht-propulsive Motilität und gehen vom Ileum sowohl zum Magen, als auch zu Duodenum und Jejunum (Siegle et al. 1990). Es handelt sich bei der ileal brake um einen Reflex der neuronal und endokrin vermittelt wird und im Magen-Darm-Trakt durch bestimmte Reize wie Nährstoffe zu einer raschen und gleichartigen Hemmung von Magenentleerung und intestinalem Transit führt (Spiller et al. 1984). Welche Signale die ileal brake vermitteln, ist bislang aber weitgehend unbekannt (Abbildung 1).



Abbildung 1: Schematische Darstellung der ileal brake

Aus "The Ileal brake: A fifteen-year Progress" Report von Gregg W. van Citters, Henry C. Lin. Intestino-intestinale und intestino-gastrale Rückkopplungs-mechanismen bremsen die antro-duodenale Motilität und die Magenentleerung.

## ***1.1 Ileal brake***

Spiller et al. und Read et al. zeigten 1984 unabhängig voneinander, dass Nährstoffe die zentrale Rolle bei der Kontrolle der Verdauung und Absorption spielen (Read et al. 1984, Spiller et al. 1988, Spiller et al. 1984). Insgesamt verdeutlichen mehrere Studien, dass Fett der potenteste Auslöser der ileal brake beim Menschen ist (Lin et al. 1996b, Read et al. 1984, Spiller et al. 1988, Spiller et al. 1984). Der Mechanismus wird auch durch Proteine und Kohlenhydrate getriggert. Proteine sind jedoch schwächere Auslöser als Kohlenhydrate oder Fette (Layer et al. 1990, Spiller et al. 1988).

Unter physiologischen Bedingungen gelangen immer kleine Mengen an Nährstoffen (40-60 kcal) vom Chymus aus dem Magen in das Ileum (Chymus = schleimiger Brei, der unter der Einwirkung von Speichel und Verdauungsssekreten aus den aufgenommenen Speisen im Magen entsteht). Hier spricht man von der physiologischen Malabsorption. Die meisten Stärken, die aus Kohlenhydratenketten bestehen, werden nicht vollständig absorbiert. Bis zu 20% bleiben unverdaut und gelangen in den distalen Dünndarm (Anderson et al. 1981, Levitt et al. 1987, Stephen et al. 1983). Unter einer westlichen Ernährung werden nur 95% einer fetthaltigen Mahlzeit absorbiert, das heisst, dass 6-8 g Lipide pro Tag unverdaut ins Colon gelangen (Minich et al. 1997, Vonk et al. 1997).

In den Versuchen von Spiller et al. und Read et al. wurden jeweils unverdaute Nährstoffe ins Ileum perfundiert um die physiologische Malabsorption zu imitieren um damit den Bremsmechanismus auszulösen. Durch direkten Kontakt der Lipide, Kohlenhydrate und Proteine mit den Mukosazellen des Darms werden Signale ausgesendet, die zu einer Verlangsamung des Transits führen. Somit kann eine bessere Absorption der Nährstoffe ermöglicht werden.

### ***1.1.1 Klinische Bedeutung***

Die Bedeutung der ileal brake wird erst erkannt wenn ihr inhibitorischer Feedback-Mechanismus ausfällt, zum Beispiel (z.B.) durch Schädigung des Ileums bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen oder nach Resektion des distalen Dünndarms. Es kann zu einer beschleunigten Passage der Nährstoffe mit Malabsorption, Meteoris-

mus und Diarrhö kommen (Malabsorption = Störung der Aufnahme von zuvor schon gespaltenen Nährstoffen, Meteorismus = Blähungen, Diarrhö = Durchfall). Die teilweise unverdauten Nährstoffe im Darmlumen binden osmotisch Wasser und induzieren eine Diarrhö. Die Malabsorption wird sowohl durch osmotische Prozesse wie durch die verkürzte Passagezeit verstärkt.

Auch die Absorption von Arzneistoffen steht in Zusammenhang mit der ileal brake. Die Bioverfügbarkeit eines Medikamentes hängt zu einem grossen Teil davon ab, wie lange es im Dünndarm verweilt, um dort absorbiert zu werden. Die Zersetzung der Arzneimittel ist ebenso abhängig von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Medikamentes, vom pH des Gastrointestinaltraktes, von der Anwesenheit störender Faktoren im Darmlumen und von der absorptiven Fläche (Dressman et al. 1993). Ist die Durchgangszeit durch eine gestörte oder nicht vorhandene Bremse im Dünndarm und Magen verkürzt, kann die Arzneimittelabsorption beeinträchtigt und die Wirkung vermindert werden.

Neben der ileal brake wurden auch eine duodenale (Shahidullah et al. 1973, Shahidullah et al. 1975), jejunale (Lin et al. 1996a) und colonale brake (Wen et al. 1998), beschrieben. Diese Bremsvorgänge sind weniger stark ausgeprägt als die ileal brake (Lin et al. 1997, Lin et al. 1996b), können sie jedoch teilweise kompensieren wenn diese ausfällt (Thompson et al. 1998).

### ***1.1.2 Mediatoren der ileal brake***

Als die ileal brake 1984 das erste Mal beschrieben wurde, vermuteten Spiller et al., dass Neurotensin und Enteroglukagon eine Rolle bei der Vermittlung dieses Mechanismus spielen. Da beide Hormone reichlich in der ilealen Darmukosa vorkommen (Holgate et al. 1985, Johansson 1975), erschien es ihnen nahe liegend, dass diese Botenstoffe an der ileal brake beteiligt sind (Spiller et al. 1984). Obwohl die Ergebnisse einen Anstieg von Neurotensin und Enteroglukagon während der nährstoffgetriggerten ileal brake erkennen liessen, konnte dies in weiteren Studien nicht reproduziert werden (Pironi et al. 1993, Read et al. 1984).

Pironi et al. beschrieben 1993 den Zusammenhang zwischen der ileal brake und dem Peptid YY (PYY) beim Menschen (Pironi et al. 1993). PYY wird aus L-Zellen, die im



Ileum und Colon lokalisiert sind, sezerniert (Adrian et al. 1985). Es soll eine Rolle bei der Verlangsamung des Verdauungsvorganges spielen. Sobald Lipide im Ileum die Peptid-YY-Sekretion stimulieren, wird die ileal brake ausgelöst. Dies geschieht bereits bei sehr geringen Mengen an Fetten, was das Phänomen der ileal brake als physiologisch bestätigt (Pironi et al. 1993). Ebenso erhöht eine Perfusion von Kohlenhydraten ins Ileum die Plasma-PYY Konzentration. Es wurde eine Korrelation zwischen Magenentleerungshemmung und PYY beim Menschen gezeigt (Jain et al. 1989). PYY hemmt in Hunden nicht nur die Darmmotilität und die Magenentleerung, sondern auch die Magensäuresekretion sowie die exokrine pankreatische Funktion (Guo et al. 1987, Pappas et al. 1986a, Pappas et al. 1985, Pappas et al. 1986b). Damit besitzt es alle Eigenschaften eines Mediators der ileal brake. Vor einigen Jahren wurde die Rolle von PYY als Vermittler der ileal brake durch eine Studie mit polyklonalen PYY-Antikörpern bei Hunden bestätigt (Lin et al. 1996b).

Das Darmhormon Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), das aus dem distalen Dünndarm in die Blutbahn freigesetzt wird, weist während ilealer Nährstoffstimulation Plasmakonzentrationen auf, die parallel zu den inhibitorischen Effekten der ileal brake verlaufen (Layer et al. 1995, Layer et al. 1990). Deswegen vermutete man schon länger, dass auch GLP-1 ein Mediator der ileal brake sei. Bislang existierte aber keine Studie, die endogenes GLP-1 als eindeutigen Mediator dieses wichtigen intestino-intestinalen Reflexes bestätigt hat.

Weitere Auslöser der ileal brake scheinen neuronale Faktoren zu sein, denn Naloxon (Opiatrezeptor Antagonist) und Adrenozeptor-Antagonisten sind in der Lage die inhibitorischen Effekte der ileal brake sowohl in Ratten wie auch Hunde und Schweine aufzuheben (Brown et al. 1992, Cucho et al. 2000, Lin et al. 2003, Ohtani et al. 2001, Van Citters et al. 1999, Zhao et al. 2000).

## **1.2 GLP-1**

GLP-1(7-36)amid wurde erstmals in der cDNA eines Anglerfisches, als eine dem Glukagon ähnliche Sequenz beschrieben (Lund et al. 1982).

Es handelt sich um ein Peptidhormon, das beim Menschen in den endokrinen L-Zellen der unteren Dünndarmmukosa und des Colons, den A-Zellen des endokrinen Pankreas und in einzelnen Neuronen des Hirnstammes exprimiert wird. Über verschiedene Mechanismen führt GLP-1 als Hormon zu einer Reduktion des Blutglukosespiegels. Glukoseabhängig wirkt es als potentes insulinotropes Hormon und führt zudem zu einer Hemmung der Glukagonfreisetzung. GLP-1 hat einen inhibitorischen Einfluss auf die Magen-Darm-Motilität und kontrolliert somit den Transit von Nährstoffen sowie die Verdauung und Absorption. Zentral vermittelt dieser Botenstoff Sättigungsgefühl. Das Hormon hat in den letzten Jahren grosses wissenschaftliches Interesse geweckt, da seine antidiabetogene Eigenschaft es zu einem vielversprechenden Wirkstoff für die Therapie des Diabetes mellitus macht. Des Weiteren soll es protektiv auf das Gehirn wirken und bei Lernprozessen sowie dem Gedächtnis eine Rolle spielen.

### **1.2.1 Das Inkretinkonzept**

Die Vermutung, dass Hormone des Darmes die Glukoseverwertung im Blut beeinflussen können, wurde erstmals von Bayliss und Starling im Jahre 1902 geäußert (Bayliss et al. 1902). Sie waren auch die Entdecker des Hormons Sekretin. Ihrer Meinung nach kommt es nach Nahrungsaufnahme im Darm zur Freisetzung von Hormonen in die Blutbahn. Diese Signalstoffe wirken auf das endokrine Pankreas und beeinflussen die Glukoseverarbeitung.

Es dauerte jedoch noch 50 Jahre bis es zu einem Durchbruch des Konzeptes des „Inkretineffekts“ kam, dessen Name erstmals durch LaBarre geprägt wurde. In der Zwischenzeit beschäftigten sich verschiedene Arbeitsgruppen mit dem Effekt von Sekretin an Hunden (LaBarre et al. 1930) und Duodenin an Rind und Kaninchen, die erhöhte Blutzuckerspiegel zu senken vermögen (Heller 1935).

Schliesslich wurden Radioimmunoassays (RIA) entwickelt, mit denen man Insulinpiegel im Blut messen konnte (Yalow et al. 1960). Diese bedeutende Entdeckung

zeigte, dass bei gleichem Blutglukosespiegel die intravenöse Gabe von Glukose zu einer deutlich geringeren Insulinantwort führt als eine orale Glukoseaufnahme (Elrick et al. 1964, Perley et al. 1967). Somit ist das „Inkretineffekt“-Phänomen belegt: die orale Zufuhr von Kohlenhydraten führt zu einem stärkeren Insulinanstieg als die isoglykämische i.v.-Zufuhr.

Unger und Eisentraut beschrieben 1969 erstmals die „entero-insuläre Achse“. Diese stellt eine Beziehung zwischen Darm und Pankreasinseln dar, die zum Inkretinkonzept beiträgt. Sie vermuteten, dass etwa die Hälfte der Insulinfreisetzung nach oraler Glukoseaufnahme über diese Achse getriggert wird (Unger et al. 1969).

Zehn Jahre später wurde diese Achse von Werner Creutzfeldt als ein Weg für neuronale und hormonelle Signale aus dem Darm, die an Pankreasinseln die Sekretion von Insulin, Glukagon, Somatostatin und Pankreatischem Polypeptid beeinflussen, dargestellt (Creutzfeldt 1979). In diesem Zusammenhang stellte er eine Definition für das Inkretin als hormoneller Bestandteil der „entero-insulären Achse“ auf (Creutzfeldt 1979, Creutzfeldt et al. 1970):

1. Es muss nach Nahrungsaufnahme, vor allem nach Glukosezufuhr, im Gastrointestinaltrakt produziert werden.
2. Es muss den Blutglukosespiegel in physiologischen Plasmakonzentrationen über eine Insulinfreisetzung senken.
3. Es existiert eine glukoseabhängige Senkung des Blutglukosespiegels, das heißt (d.h.) nüchtern erfolgt keine Reduktion des Blutzuckers.

Das erste Hormon, das eindeutig diese Kriterien erfüllt ist GIP (Gastric Inhibitory Polypeptide oder Glucose-dependent Insulin releasing Polypeptide). Ursprünglich wird GIP als „Enterogastron“ isoliert. Die Enterogastronausschüttung aus dem Dünndarm kann durch Fett oder Fettabbauprodukte stimuliert werden und bewirkt eine Hemmung der Magensäuresekretion (Kosaka et al. 1930). Erst Ende der sechziger Jahre, bei der Aufreinigung von Cholecystokinin (CCK) aus Darmpräparaten, gelang es Brown et al. GIP zu isolieren (Brown et al. 1970a, Brown et al. 1970b, Brown et al. 1969). Da dieses Hormon eine stark hemmende Wirkung auf die Magensäure ausübt, nannten sie es „gastric inhibitory polypeptide“ (Brown 1971, Brown et al. 1971). Weiter wissen wir,

dass GIP in supraphysiologischen Konzentrationen die Magensäuresekretion hemmt. Mehrere Forschungsgruppen untersuchten in den Folgejahren die Eigenschaften von GIP. GIP besitzt jedoch eine viel bedeutendere Eigenschaft nämlich eine glukoseabhängige Insulinsekretion (Dupre et al. 1973). Dies konnte sowohl in vitro als auch in vivo nachgewiesen werden (Brown 1971, Brown et al. 1971, Brown et al. 1970a, Brown et al. 1969, Dupre et al. 1973, Elahi et al. 1979). Aufgrund dieser Eigenschaft schlug Brown 1977 den Namen „glucose-dependant insulin releasing polypeptide“ vor (Brown et al. 1977).

Es zeigte sich allerdings bald, dass das mittlerweile allseits anerkannte Inkretinhormon GIP, das postprandial aus K-Zellen der Duodenalschleimhaut freigesetzt wird, nicht allein für den Inkretineffekt verantwortlich sein konnte. Eine in-vivo-Immunneutralisation von GIP nach einer oralen Glukosezufuhr führte lediglich zu einer 20-50%igen Reduktion des Inkretineffektes (Ebert et al. 1982, Ebert et al. 1983, Lauritsen et al. 1980).

Werner Creutzfeldt der sich jahrelang sehr intensiv mit dem Inkretinkonzept beschäftigte, meinte, es müsse noch ein anderes Hormon geben, das potenter ist als das GIP (Creutzfeldt 1979). Über 15 Jahre lang forschte man weiter an GIP. 1985 identifizierte man das insulinotrope GLP-1(1-36), ein intestinales Peptid, das nach posttranslationalem Processing vom Präproglukagon spezifisch in intestinalen L-Zellen entsteht (Schmidt et al. 1985). In etlichen Studien konnte belegt werden, dass GLP-1 zu einem großen Teil zum Inkretineffekt beiträgt (Fehmann et al. 1992, Goke et al. 1991, Goke et al. 1988, Kreymann et al. 1987, Mojsov et al. 1987, Orskov 1992, Schmidt et al. 1985). Die insulinotropen Effekte von GLP-1 und GIP ergänzen sich im gesunden Menschen (Elahi et al. 1994, Nauck et al. 1993, Schirra et al. 1997b). Durch diese beiden Peptide lässt sich der gesamte Inkretineffekt erklären (Nauck et al. 1993).

### *GLP-1 Sekretion*

In den L-Zellen des Darms wird GLP-1 in zwei Schritten prozessiert. Die Sequenz von GLP-1 ist im Proglukagon-Gen kodiert. Das Proglukagon-Gen steht für einen Precursor, aus 180 Aminosäuren bestehend, woraus Glicentin (Proglukagon 1-69) und 2 Glukagon-ähnliche Polypeptide, glucagon-like peptide-1 und glucagon-like peptide-2, die

hintereinander angeordnet sind, gespalten werden (Bell et al. 1983). GLP-1 wird zunächst als ein Peptid aus 37 Aminosäuren gebildet, welches kaum eine biologische Aktivität hat. In einem weiteren Schritt werden sechs N-terminale Aminosäuren abgespalten, wobei das biologisch aktive GLP-1(7-37) entsteht. Zum Teil wird dann der C-terminale Rest amidiert, es entsteht das GLP-1(7-36)amid. Beide Peptide haben die gleiche biologische Aktivität und Halbwertszeit (Bell et al. 1983, Orskov et al. 1993). Nur das biologisch aktive GLP-1(7-36)amid stimuliert die Insulinsekretion (Drucker et al. 1987, Holst et al. 1987, Kreymann et al. 1987, Mojsov et al. 1987). Die häufigste zirkulierende Form des GLP-1, ist die amidierte Form, das GLP-1(7-36)amid (Orskov et al. 1994).

GLP-1 wird in den L-Zellen des unteren Darmtrakts gebildet. L-Zellen findet man überall im Darmmukosa, vor allem im terminalen Ileum und Colon. Die L-Zelle ist eine enteroendokrine Zelle mit einer pyramidenartigen Form. Ihre luminale Spitze ist mit Mikrovilli besetzt (Eissele et al. 1992, Larsson et al. 1975) und die Basis enthält zahlreiche Granula. Die Mikrovilli, die in das Lumen des Darmes hineinragen, scheinen die Anwesenheit der Nährstoffe erahnen zu können (Larsen et al. 2005). Dieses Signal führt zur Freisetzung von GLP-1 durch Exozytose in die Blutbahn.

#### *Neuroendokrine Stimulation von GLP-1*

Da die GLP-1 Sekretion sehr schnell nach einer Mahlzeit ansteigt, die L-Zellen sich jedoch vorwiegend im unteren Intestinum befinden, geht man davon aus, dass ein proximal-distaler Kreislauf besteht der stimulierende Signale über einen neuronalen oder endokrinen Weg zu den L-Zellen weiterleitet (Roberge et al. 1993). Sechs Jahre nach Roberges Hypothese zeigten Rocca et al. 1999 in Tierexperimenten, dass die GLP-1 Sekretion durch einen neuroendokrinen Reflexbogen reguliert wird. Sie ist abhängig von intakten afferenten und efferenten vagalen Fasern und von GIP (Rocca et al. 1999).

In mehreren in vitro- und Tierexperimenten zeigte sich eine neuronale Beteiligung durch vagale cholinerge und muskarinerge Reize an der Regulation der GLP-1 Sekretion (Dumoulin et al. 1995, Herrmann-Rinke et al. 1995). Dieser Effekt wird durch Atropin gehemmt (Balks et al. 1997, Herrmann-Rinke et al. 1995). Es wird jedoch

ausser Acht gelassen, dass Atropin auch einen Effekt auf die Magenentleerung hat und somit Glukosetransport und Glukoseaufnahme beeinflusst. Schirra et al. demonstrieren, dass Atropin beim Menschen keinen signifikanten Einfluss auf die durch duodenale Nährstoffperfusion stimulierte GLP-1 Freisetzung hat (Schirra et al. 2009).

Auch eine parakrine Stimulation seitens anderer Darmhormone auf die GLP-1 Sekretion wird vermutet. Somatostatin-haltige D-Zellen befinden sich in unmittelbarer Nähe zu den L- und K-Zellen und sollen bei der Sekretion von GLP-1 und GIP eine Rolle spielen (Damholt et al. 1999). Somatostatin-28 übt eine hemmende Wirkung auf die L-Zelle und somit auf die GLP-1 Freisetzung aus (Hansen et al. 2000). Hansen et al. vermuteten außerdem eine Feedback-Kontrolle der GLP-1 Konzentration seitens Somatostatin-28 (Hansen et al. 2000). Erst kürzlich konnte gezeigt werden, dass CCK ein Mediator der GLP-1 Sekretion ist. Bei intraduodenaler langkettiger Fettsäurezufuhr kommt es zu einer Fettaufspaltung im proximalen Dünndarm, die anschliessend die CCK Sekretion stimuliert. CCK wirkt an CCK-1 Rezeptoren und dadurch unter anderem an der GLP-1 Sekretion (Beglinger et al. 2010).

Zusätzlich weiss man, dass weder eine endogene noch exogene Hyperinsulinämie eine hemmende Wirkung auf die GLP-1 Freisetzung hat (Byrne et al. 1998b).

#### *Nährstoffgetriggerte Stimulation*

Die bedeutendste Rolle bei der Sekretion von GLP-1 beim Menschen hat wohl der direkte Kontakt von Nährstoffen mit den L-Zellen. Nicht absorbierte Elemente im Darmlumen sind ein starker Reiz für die Freisetzung von GLP-1 (Herrmann-Rinke et al. 1995, Herrmann et al. 1995, Layer et al. 1995, Layer et al. 1990). Diese korreliert wiederum mit der Magenentleerung und der Geschwindigkeit mit der die Nährstoffe in den Dünndarm gelangen (Schirra et al. 1996).

In unserer Studie bezogen wir uns auf diesen direkten Kontakt der Nährstoffe mit den L-Zellen, der bedeutender scheint als die neuroendokrine Regulation der Sekretion. Die orale Aufnahme von Fett, Glukose oder Aminosäuren, wie auch die Einnahme einer gemischten Mahlzeit führt beim Menschen zu einer unvermittelten Freisetzung von GLP-1 (Elliott et al. 1993, Layer et al. 1995, Schirra et al. 1997a). Ein weiterer Unterschied ist, dass flüssige Nahrung mehr GLP-1 freisetzt als feste Nahrung (Brynes et

al. 1998). Nach einer Mahlzeit steigt das Plasma GLP-1 in Menschen biphasisch an. Ein erster Anstieg findet nach 15-20 Minuten statt, nach 1-2 Stunden folgt dann ein zweiter, der ein Sekretionsplateau erreicht (Elliott et al. 1993, Herrmann et al. 1995, Rask et al. 2001, Roberge et al. 1991). Der erste Anstieg ist dosisunabhängig wohingegen der zweite von der Menge der zugeführten Glukose abhängt (Schirra et al. 1996). Im Jahre 1996 zeigten Schirra et al. weiterhin, dass die GLP-1-Freisetzung von der exponentiellen Entleerung des Magens abhängig ist. Unterhalb einer Magenentleerungsgeschwindigkeit für Glukose von 1,4 kcal/min wurde keine messbare GLP-1 Freisetzung mehr beobachtet. Es existiert demnach ein Schwellenwert für den duodenalen Einstrom von Glukose, der die Freisetzung von GLP-1 determiniert (Schirra et al. 1996).

#### *Wie wird GLP-1 abgebaut?*

Die Halbwertszeiten von GLP-1 und GIP sind sehr kurz, da sie sehr schnell von Dipeptidyl-Peptidase IV (DPP-IV), einem Serine-Protease-Enzym gespalten werden. DPP-IV spaltet proteolytisch die Peptide an der letzten Alanin-Aminosäure. Somit schafft es N-terminal gespaltene Peptide, die nun keine Insulinsekretion mehr stimulieren können (Kieffer et al. 1995, Mentlein et al. 1993). DPP-IV ist ein ubiquitäres Enzym. Es wird in den Mikrovilli der Enterozyten, wie auch in den Endothelzellen exprimiert, die sich entlang den Kapillaren der Lamina Propria befinden (Hansen et al. 1999). Nach Exozytose diffundiert GLP-1 durch die Basalmembran in die Lamina Propria. Hier kann GLP-1 in die Kapillaren, also in die Blutbahn und somit ins venöse Portalsystem transportiert werden. Man weiss jedoch aus früheren Studien, dass nur ein sehr kleiner Teil von GLP-1, etwa 10-20% das Intestinum verlassen (Deacon et al. 1995, Hansen et al. 1999). Der Rest wird gleich nach Exozytose im Darm oder in der Leber inaktiviert. Die Plasmahalbwertszeit von bioaktivem GLP-1 beträgt sowohl bei Tieren (Kieffer et al. 1995), als auch bei gesunden Menschen und bei Testpersonen mit Diabetes mellitus weniger als zwei Minuten (Deacon et al. 1995). Da die Halbwertszeit von GLP-1 extrem kurz ist, kam man zur Annahme, dass GLP-1 auch lokal in der Lamina Propria wirken müsste (Holst 2003). Ferner soll GLP-1 über intakte, afferente Nervenfasern, die vom Ganglion nodosum kommen, Impulse zum Nucleus tractus solitarii und Hypothalamus senden. 2004 hatte eine Gruppe aus Japan gezeigt, dass

GLP-1 Rezeptoren auch im Ganglion Nodosum exprimiert werden (Nakagawa et al. 2004).

### *GLP-1 Rezeptor*

GLP-1 übt seine Wirkung über den GLP-1 Rezeptor aus. Der GLP-1 Rezeptor wurde ursprünglich von Thorens et al. 1992 aus den Pankreasinseln der Ratte aus der cDNA-Bibliothek isoliert und kloniert (Thorens 1992). Nach Hybridisierungsexperimenten stand fest, dass der GLP-1 Rezeptor beim Menschen auf dem Chromosom 6p21 lokalisiert ist (Stoffel et al. 1993).

Auch der humane GLP-1 Rezeptor konnte anschliessend kloniert und seine pharmakologischen Eigenschaften untersucht werden. Der Rezeptor besteht aus 463 Aminosäuren und enthält sieben hydrophobe Regionen, die jeweils eine transmembranäre Domäne bilden. Der GLP-1 Rezeptor ist an G-Proteine gekoppelt. Nach Bindung von GLP-1 an seinen Rezeptor wird es in die  $\beta$ -Zelle aufgenommen (Goke et al. 1989). GLP-1 aktiviert nun das GTP-bindende Protein, welches die membrangebundene Adenylatzyklase stimuliert. Es kommt zu einem Anstieg von intrazellulärem cAMP und einer Aktivierung von Proteinkinase A (PKA) und Proteinkinase C (PKC) (Drucker et al. 1987, Thorens 1992, Wheeler et al. 1993). Die Bindung von GLP-1 führt zu einer Depolarisation der Zellmembran und zu einem Konzentrationsanstieg des freien cytosolischen  $\text{Ca}^{2+}$  durch Stimulation spannungsabhängiger  $\text{Ca}^{2+}$  Kanäle in Insel- und Nicht-Inselzellen (Holz et al. 1995, Lu et al. 1993). Der zytosolische  $\text{Ca}^{2+}$  Anstieg, der erhöhte Glukosespiegel voraussetzt, führt aus intrazellulären Vesikeln zur Insulinfreisetzung (Cullinan et al. 1994).

Außer der insulinotropen Wirkung auf die Inselzellen übt GLP-1 weitere Effekte auf die  $\beta$ -Zellen aus wie z.B. die Übertragung der Glukosesensitivität auf glukoseresistente  $\beta$ -Zellen.  $\beta$ -Zellen reagieren somit empfindlicher auf den Blutglukosespiegel und antworten adäquater durch Insulinsekretion und biosynthetisch durch Hemmung der Apoptose (Holz et al. 1993).

Da der GLP-1 Rezeptor von Mensch und Ratte eine Aminosäuresequenzhomologie von etwa 90% aufweist, hatte Wheeler mittels Northern-Blot Analysen von Ratten-RNA gezeigt, dass GLP-1 Rezeptoren sowohl in Pankreasinseln als auch in der Lunge



stark exprimiert werden (Wheeler et al. 1993). Der GLP-1 Rezeptor konnte immunhistochemisch an der  $\beta$ - und  $\delta$ -Zelle innerhalb der Pankreasinsel der Ratte gezeigt werden (Heller et al. 1995, Heller et al. 1997). Sogar die Glukagon-produzierenden A-Zellen besitzen eine Subpopulation die den GLP-1 Rezeptor exprimieren (Heller et al. 1997). Durch Rezeptorautoradiographien hat man eine hohe Dichte an GLP-1 Rezeptoren im Zentralnervensystem, insbesondere im subfornischen Organ, dem Hypothalamus, Thalamus, der inferioren Olive, der Area postrema und dem Nuclues tractus solitarii entdeckt (Goke et al. 1995a, b, Uttenthal et al. 1992). Umstritten ist die Existenz von GLP-1 Rezeptoren in Leber, Skelettmuskulatur und Fettgewebe, Organe die für den Kohlenhydratstoffwechsel bedeutend sind (Bullock et al. 1996, Wheeler et al. 1993). Mit sensitiveren Methoden wie RNase protection assay und reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) wurde die Rezeptor-mRNA in Pankreasinseln, Lunge, Gehirn, Magen, Herz und Niere gefunden, nicht jedoch in Leber, Fettgewebe und Skelettmuskulatur (Bullock et al. 1996, Dunphy et al. 1998, Wei et al. 1995). Es gibt jedoch Hinweise, dass GLP-1 auch in diesen Geweben eine Wirkung auslöst. Vermutlich existiert ein zweiter, sehr ähnlicher GLP-1 Rezeptor, der bis jetzt noch nicht identifiziert werden konnte (Kieffer et al. 1999, Yang et al. 1998).

## ***1.2.2 Physiologische Wirkungen von GLP-1***

### *1.2.2.1 Ein Inkretinhormon*

GLP-1, als Inkretinhormon, hat als wichtiges Zielorgan den endokrinen Pankreas. Es übt dort seine glukoseabhängige insulinotrope Wirkung aus und hemmt die Glukagonausschüttung (Fehmann et al. 1995).

Eine duodenale Glukosezufuhr kann dosisabhängig sowohl den Blutglukosespiegel wie auch die Plasmainsulinkonzentration erhöhen und das Plasmaglukagon senken (Fone et al. 1989, Heddle et al. 1988, Houghton et al. 1988). Beim Menschen steht die pankreatische A-Zelle unter einem tonisch inhibitorischen Einfluss durch GLP-1. Dies gilt auch für den Fastenzustand. Während physiologischer Hyperglykämie stimulieren schon basale zirkulierende Konzentrationen von GLP-1 die Insulinausschüttung (Schirra et al. 1998b). Die Glukagonsekretion der A-Zelle wird teilweise parakrin

durch Somatostatin gehemmt. Somatostatinsekretierende D-Zellen besitzen auch GLP-1 Rezeptoren (Fehmann et al. 1991, Gros et al. 1993).

GLP-1 reduziert postprandiale Glukoseexkursionen sowohl bei gesunden Probanden wie beim Typ II Diabetiker. Dies geschieht durch das Zusammenspiel von verzögerter Magenentleerung, Stimulierung der Insulinausschüttung und Reduzierung der Glukagonfreisetzung (Schirra et al. 1997a, Schirra et al. 1998a). Ferner stellt GLP-1 die Fähigkeit der pankreatischen  $\beta$ -Zelle, schon geringe Änderungen der Blutglukosekonzentrationen wahrzunehmen und darauf adäquat zu reagieren, beim Diabetiker wieder her (Byrne et al. 1998a). Auch die Glukosesensitivität der  $\beta$ -Zellen wird durch GLP-1 gesteigert (Holz et al. 1993).

Darüber hinaus trägt GLP-1 zur Sättigung bei. Durch die Gabe von GLP-1 und GLP-1 Agonist Exendin-4, hat man in gesunden Menschen und adipösen Patienten mit Typ II Diabetes festgestellt, dass das Peptid die Nahrungsaufnahme senkt und den Appetit herunterreguliert (Edwards et al. 2001, Flint et al. 1998, Gutzwiller et al. 1999a, Gutzwiller et al. 1999b, Toft-Nielsen et al. 1999). Das Zusammenspiel aller dieser Effekte verbessert die Glukosetoleranz und bestärkt die Vermutung, dass GLP-1 ein therapeutisches Potential für die Behandlung des Diabetes Mellitus und der Glukoseintoleranz besitzt. Es ist die Rationale für die Einführung von GLP-1R-Agonisten und DPP-IV Inhibitoren in die medizinische Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 (Holst 1999, Schirra et al. 1998a).

#### *1.2.2.2 Ein Enterogastron*

Studien mit synthetischem GLP-1 haben schon bewiesen, dass es die gastroduodenale Motilität hemmt und somit zu einer Verzögerung der Magenentleerung führt. GLP-1 kann dosisabhängig die Magenentleerung sowohl in gesunden Probanden wie auch in diabetischen Patienten hemmen (Nauck et al. 1997, Schirra et al. 1997a, Schirra et al. 1998a, Wettergren et al. 1993).

Einer der Hauptmechanismen der Magenentleerung ist ein pulsatiler, transpylorischer Fluss, der durch gastrale und fortgeleitete antro-pylorische Kontraktionen ausgelöst wird (Anvari et al. 1995, Malbert et al. 1994). Diese fortgeleiteten Kontraktionen kon-

trollieren die Magenentleerungsrate von Flüssigkeiten (Camilleri et al. 1985, Houghton et al. 1988, Schirra et al. 1996) und fester Nahrung (Fraser et al. 1993b).

Durch einen Bremsmechanismus des Pylorus, der hierzu seine phasische und tonische Aktivität steigert, wird die Nahrungsabgabe in das Duodenum vermindert (Anvari et al. 1995, Heddle et al. 1988, Heddle et al. 1993, Tougas et al. 1992). Durch die Hemmung antraler Kontraktionen, die Reduktion transpylorisch fortgeleiteter Antrumwellen, die Stimulation phasischer und tonischer Pyloruskontraktionen und die Relaxation des Magenfundus beeinflusst synthetisches GLP-1 den gastroduodenalen Transit und führt zu einer Hemmung der Magenentleerung (Schirra et al. 2000).

Neuere Studien in denen man sich den GLP-1 Rezeptor Antagonisten, Exendin(9-39)amid, zu Hilfe nahm, zeigten entsprechende Wirkungen für das endogene GLP-1 (Schirra et al. 2005). Auch endogenes GLP-1 hat eine hemmende Wirkung auf die Magenentleerung und die antroduodenale Motilität sowohl im Fastenzustand wie auch in der postprandialen Phase. Damit qualifiziert sich GLP-1 als ein Enterogastron.

Zu den Eigenschaften eines Enterogastrons gehören aber auch hemmende Einflüsse auf die Magensäure- und Pankreasenzymsekretion (Layer et al. 1995, Layer et al. 1990). Eine Korrelation zwischen endogenem GLP-1 und einer Reduktion der Magensäure (Layer et al. 1995, O'Halloran et al. 1990, Schjoldager et al. 1989) sowie exokriner Pankreassekretion konnten jeweils gezeigt werden (Groger et al. 1997, Keller et al. 2006). Zusätzlich weiss man, dass synthetisches GLP-1 sowohl Magensäure- wie auch die Pankreasenzymsekretion reduziert (Schirra et al. 1997a, Wettergren et al. 1994, Wettergren et al. 1993). Allerdings gibt es bis heute keine Arbeit die den hemmenden Effekt von endogenem GLP-1 auf die Magensäure- und exokrine Pankreassekretion durch seinen spezifischen Rezeptor Antagonisten bestätigt hat.

### ***1.2.3 Der GLP-1 Rezeptorantagonist Exendin (9-39) amid***

Exendin(9-39)amid ist seit einigen Jahren als spezifischer und kompetitiver Rezeptorantagonist von GLP-1 bekannt (Goke et al. 1993, Rai et al. 1993, Raufman et al. 1992, Thorens et al. 1993). Es handelt sich um ein Derivat des non-Mammalier Peptid Exendin-4. Exendin-4 ist in dem Gift der Echse *Heloderma Suspectum* enthalten. Dieses Peptid weist eine 53% Sequenzhomologie zu GLP-1(7-36)amid auf (Raufman et al.

1992) und wirkt als ein Agonist des GLP-1R (Eng et al. 1992). Die trunkierte Form von Exendin-4, Exendin(9-39)amid, hat sich dagegen als Antagonist herausgestellt.

In in vivo und in vitro Tierversuchen wurde Exendin(9-39)amid als spezifischer und kompetitiver GLP-1 Rezeptorantagonist etabliert (D'Alessio et al. 1996, Goke et al. 1993, Kolligs et al. 1995, Raufman et al. 1992, Wang et al. 1995). Wenig später wagte man sich an Versuche mit Menschen. Auch hier stellte man fest, dass Exendin(9-39)amid ein Antagonist ohne jegliche agonistische Eigenschaften ist (Edwards et al. 1999, Schirra et al. 1998b). Schirra et al. haben darüber hinaus gezeigt, dass Exendin(9-39)amid dosisabhängig die Wirkung von GLP-1 hemmt. Erst ab einer Dosis von  $300 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  kann Exendin(9-39)amid die insulinotrope Wirkung von einer physiologischen Menge an GLP-1 zu etwa 85% blockieren (Schirra et al. 1998b).

Tierexperimente, in denen intrazerebroventrikuläre Injektionen von Exendin(9-39)amid verabreicht werden, offenbaren, dass endogenes GLP-1 als zentraler Regulator sowohl in der Sättigung wie auch in der Wasser- und Salzhomöostase agiert (Tang-Christensen et al. 1996, Turton et al. 1996). Durch intravenöse Applikationen von Exendin(9-39)amid in Ratten wurde belegt, dass GLP-1 ein wichtiger Verstärker der postprandialen Insulinsekretion ist. Damit fungiert GLP-1 als echtes Inkretinhormon in dieser Spezies (Kolligs et al. 1995, Wang et al. 1995).

Auch beim Pavian beeinträchtigt Exendin(9-39)amid durch eine Antagonisierung von GLP-1 die Verwertung von intragastraler Glukose. Diese Ergebnisse ließen sich auch durch Immunneutralisation von GLP-1 wiederholen. D'Alessio erklärte die Beeinträchtigung des Blutglukosespiegels Folge einer teilweise reduzierten Insulinausschüttung während der frühen postprandialen Phase (D'Alessio et al. 1996). Beim Menschen hemmt Exendin(9-39)amid den Inkretineffekt zu etwa 50% und stimuliert die Glukagonfreisetzung (Edwards et al. 1999, Schirra et al. 1998b).

### ***1.3 Motilität***

Die gastroduodenale Motilität ermöglicht eine beschwerdefreie Nahrungsaufnahme- und Verdauung. Dafür ist ein Zusammenspiel verschiedener Regionen im Magen-Darmtrakt notwendig wie die postprandiale Akkomodation des proximalen Magens,

die Entleerung aus dem Magen in den Dünndarm und der dortige Weitertransport. Nachdem die Nahrung zerkleinert und mit Verdauungssäften vermischt wird, kann sie absorbiert werden.

Durch regelmässige Zyklen gesteigerter motorischer Aktivität sorgt die Magendarmmotilität dafür, dass auch unverdauliche Nahrungsreste transportiert und entleert werden. Diese Aktivität, die zwischen den Mahlzeiten stattfindet, reduziert auch eine bakterielle Besiedlung des Magen-Darm-Traktes (Vantrappen et al. 1977).

Prinzipiell unterscheidet man eine interdigestive Motoraktivität, d.h. eine Aktivität zwischen den Mahlzeiten namens Migrating Motor Complex (MMC) von der postprandialen Motoraktivität. An der Gestaltung dieser zwei Aktivitätsmuster sind zwei unterschiedliche Motorregionen des oberen Gastrointestinaltraktes beteiligt: der proximale Magen und die antro-pyloro-duodenale Motorregion im distalen Magen.

Der Migrating-Motor-Complex, besteht aus drei zyklisch wiederkehrenden Phasen, die im gesamten Gastrointestinaltrakt vom unteren Ösophagussphinkter bis zum terminalen Ileum angetroffen werden können (Kellow et al. 1986). Es wechseln sich dabei Phasen relativer Ruhe mit Phasen kontraktiver Aktivität ab. Die Ruhephase wird als Phase I bezeichnet, in der fast keine Kontraktionen stattfinden und die mindestens 5 aber auch bis zu 60 Minuten andauern kann. Dieser Ruhephase schließt sich eine Phase zunehmender Motoraktivität an, sie wird als Phase II bezeichnet. Sie teilt sich in eine Phase IIa mit sporadischen Kontraktionen im Antrum (<5 Kontraktionen/10 min) und im Duodenum (<5 K/min) und eine Phase IIb, die durch regelmäßige Kontraktionen über mindestens 2 Minuten mit einer Frequenz von > 5 K/min im Antrum und meist 6-9 K/min im Duodenum charakterisiert ist. Der Phase II folgt eine Periode mit maximaler kontraktiver Frequenz (~3/min im Antrum und ~11/min im Duodenum), die als Phase III bezeichnet wird (Quigley 1996). In der Phase III des MMC wird jede Kontraktion nach distal fortgeleitet, so daß die Phase III als Aktivitätsfront mit maximaler Kontraktionsfrequenz vom proximalen Magen bis zum distalen Ileum fortgeleitet wird. Der Phase III folgt immer eine Phase I, womit der Zyklus erneut beginnt.

Wegen seiner Fähigkeit Magen und Dünndarm komplett zu entleeren, wurde der MMC auch „interdigestive housekeeper“ des Gastrointestinaltraktes genannt (Szurszewski

1969, Code et al. 1973). Die propulsiv fortgeleiteten interdigestiven Kontraktionen verschließen fast vollständig das Lumen des Magens. Da der Pylorus im Gegensatz zum postprandialen Zustand offen bleibt, werden im Magen verbliebene unverdauliche Nahrungsbestandteile, Zellreste und Bakterien aus dem Magen entfernt (Kelly 1981). Vantrappen konnte zeigen, dass das Fehlen einer Phase-III-Aktivität bei einigen Patienten mit einer übermäßigen bakteriellen Besiedlung assoziiert sein kann (Vantrappen et al. 1977). Dies weist auf die physiologische Bedeutung dieses Komplexes hin.

Im distalen Magen gibt es langsame Fluktuationen von elektrischer Aktivität, die auch als langsame Wellen oder Schrittmacherpotentiale bezeichnet werden. Diese Schrittmacherpotentiale gehen von der Schrittmacherregion des Magens aus, die sich in den glatten Muskelzellen an der großen Krümmung befinden, und legen die maximale Frequenz der Kontraktionen im distalen Magen (Phase III, max. 3/min) fest. Kontraktionen können sich nur auf der Grundlage einer dieser langsamen Wellen entwickeln. Nicht jede langsame Welle löst eine mechanische Kontraktion aus; lediglich in der Phase III wird die maximale Kontraktionsfrequenz erreicht (Minami et al. 1984). Zur Auslösung einer Kontraktion ist ein Aktionspotential nötig, welches der eigentliche Initiator der Kontraktion ist.

Während der Nüchternperiode funktionieren Antrum, Duodenum und Pylorus überwiegend als eine Einheit. Ihre Motilität besteht meist aus koordinierten und zum größten Teil auch weitergeleiteten Kontraktionen. Phase I dominiert im Antrum mit einem Gesamtanteil von 55±23% aller MMC. Im Duodenum überwiegt die Phase II (Houghton et al. 1988).

### ***1.3.1 Die neuroendokrine Regulation der gastroduodenalen Motilität***

Im Wesentlichen besteht die gastroduodenale Motilität aus einer Abfolge von Kontraktionen und Erschlaffungen der glatten Muskulatur des Magendarmtrakts. Verantwortlich für die Kontraktionen scheint hauptsächlich der exzitatorische Neurotransmitter Acetylcholin zu sein. Für die Erschlaffung dagegen spielen sowohl inhibitorische Neurotransmitter wie auch postprandial freigesetzte gastrointestinale Hormone eine Rolle.

Hormone wie das Cholecystokinin, das postprandial aus endokrinen Zellen des Duodenums freigesetzt wird, modulieren die gastroduodenale Motilität. Anhand eines spe-

zifischen CCK-Antagonisten kann man zeigen, dass postprandial freigesetztes endogenes CCK den Magenfundus relaxiert (Feinle et al. 1996), die Antrummotilität hemmt und den Pylorus stimuliert (Katschinski et al. 1996). Weitere inhibitorische Peptidhormone wie Gastrin, Glukagon, Sekretin und GIP weisen nur in supraphysiologischen Dosen eine hemmende Wirkung auf die Motilität auf.

Bedeutender für die Motilität ist das Darmhormon Glucagon-like Peptide-1. Schirra et al. konnten 2000 zeigen, dass GLP-1 – exogen verabreicht – sowohl interdigestiv als auch postprandial die antroduodenale Kontraktilität hemmt und die tonische und phasische Motilität des Pylorus stimuliert. Exogenes GLP-1 bewirkt ausserdem eine Relaxation des Magenfundus und hemmt die phasischen Volumenkontraktionen des Fundus (Schirra et al. 2000, Schirra et al. 2002). Interessant ist, dass sich keine GLP-1 Rezeptoren an der gastroduodenalen Muskulatur zu befinden scheinen. Der genaue Wirkmechanismus von GLP-1 auf die Motilität ist also noch nicht geklärt. Da synthetisches GLP-1 dosisabhängig die Freisetzung von pankreatischem Polypeptid (PP), einem hormonalen Marker des cholinergen Input, hemmt, vermutete man, dass GLP-1 über eine Hemmung des exzitatorischen cholinergen Inputs seine Wirkungen auf die Motilität vermittelt. Die Hemmung vom pankreatischem Polypeptid konnte sowohl mit intravenös verabreichtem als auch subcutan zugeführtem exogenem GLP-1 erzielt werden (Dupre et al. 1995, Schirra et al. 1997a, Schirra et al. 1998a). Dies würde die Annahme, dass GLP-1 über einen cholinergen Input auf die gastroduodenale Motilität wirkt, bekräftigen.

Unter Einsatz des GLP-1-R-Antagonisten, Ex-9, kann beim Menschen gezeigt werden, dass GLP-1 ein Mediator der postprandialen Hemmung der antralen Motilität und der Stimulation der Pylorusmotilität ist. GLP-1 vermittelt die postprandiale Aktivität des Magenfundus (Schirra et al. 2006, Schirra et al. 2009). Untersuchungen mit dem muskarinergen Antagonist Atropin und dem NO-Synthase-Hemmer L-NMMA legen nahe, dass GLP-1 über eine Hemmung des modulierenden cholinergen Inputs wie durch eine Stimulation des inhibierenden nitrergen Inputs an der Fundusrelaxation beteiligt ist (Schirra et al. 2009). GLP-1 scheint die Motilität im Wesentlichen über eine NO-dilatation der vagalen Aktivität zu beeinflussen.

## 2 Ziele der Arbeit

Es wird seit langem vermutet, dass GLP-1 als Enterogastron den postprandialen Bremsmechanismus im Magen-Darm-Trakt, bekannt als die „ileal brake“, auslöst. Layer et al. hatten 1990 erstmals gezeigt, dass durch Ileumperfusion in der Größenordnung der physiologischen Malabsorption exokrine Pankreassekretion, Magensaftsekretion und intestinale Motilität gehemmt werden. Zusätzlich demonstrierten sie eine Korrelation zwischen diesen Effekten und der endogenen Plasmakonzentration von GLP-1 (Layer et al. 1995, Layer et al. 1990). Schnell stand jedoch fest, dass man die genaue Rolle von endogenem GLP-1 nur anhand eines spezifischen GLP-1 Rezeptorantagonisten belegen kann. Ein Antagonist stand aber bis dahin nicht zur Verfügung.

Versuche mit synthetischem GLP-1 hatten gezeigt, dass das Darmhormon dosisabhängig den proximalen Magen relaxiert, antrale Kontraktionen inhibiert und vor allem die antro-pyloro-duodenal fortgeleiteten Wellen hemmt. Die phasische und tonische Motilität des Pylorus wird stimuliert, wodurch die Magenentleerung gehemmt wird (Schirra et al. 2000, Schirra et al. 2002). Dieses Motilitätsmuster zeigt sich postprandial bei physiologischen Mengen an GLP-1 und stimmt mit dem Muster überein das sich nach ilealer Nährstoffperfusion ergeben hat. Synthetisches GLP-1 reduziert zusätzlich die Magensäure- und exokrine Pankreassekretion in Menschen (Schirra et al. 1997a, Wettergren et al. 1993, Wettergren et al. 1997).

Um die physiologische Rolle dieses Peptids besser beurteilen zu können, ist es von besonderem Interesse, die Wirkungen des vom Körper freigesetzten endogenen GLP-1 zu verstehen. Es ist ein klassisches und grundlegendes Vorgehen in der Forschung durch Gabe eines spezifischen Rezeptorantagonisten die Wirkung eines endogenen Hormons nachzuweisen. Die physiologische Relevanz ist somit besser zu beurteilen als durch externe Applikation des synthetischen Hormons. Nachdem Exendin(9-39)amid sich als spezifischen Rezeptorantagonisten sowohl in Menschen- wie auch in Tierversuchen etabliert hat (Edwards et al. 1999, Schirra et al. 1998b) und ausserdem keinerlei agonistische Eigenschaften aufweist, verwendeten wir in vorliegen-



der Arbeit Exendin(9-39)amid zur Beantwortung der Frage : Ist endogenes GLP-1 ein Mediator der ileal brake?

In dieser Placebo-kontrollierten Studie, wurde Exendin(9-39)amid verabreicht, um die Auswirkungen von Nährstoffen im Ileum, im Rahmen der physiologischen Malabsorption, auf die gastropankreatische Sekretion und Motilität zu messen.

Unter Verwendung des GLP-1 Rezeptor Antagonisten Exendin(9-39)amid untersuchten wir die Effekte von endogenem GLP-1 auf:

1. Die endogen stimulierte Pankreasenzymsekretion durch Sammlung von Duodenalsekret und anschließender Messung der Pankreasenzyme Amylase und Trypsin
2. Die endogen stimulierte Magensäuresekretion
3. Die antro-duodenale Motilität
4. Die Plasmahormone GLP-1, Insulin, Glukagon, Pankreatisches Polypeptid, Gastrin, Cholecystokinin-8 und PYY

Mit dieser Arbeit wollten wir zeigen, dass endogenes GLP-1 eine Rolle als Enterogastron spielt und ein Mediator der ileal brake ist.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Probanden

Zwölf gesunde Probanden, zwischen 23 und 43 Jahren, mit einem durchschnittlichen Body Mass Index von  $22,52 \text{ kg/m}^2$  hatten an der Studie teilgenommen (siehe Tabelle 1). Keiner der Probanden nahm zum Zeitpunkt der Studie Medikamente ein und litt weder an gastrointestinalen Symptomen noch an systemischen Erkrankungen. Die Versuche wurden von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität am 15.07.2003 (Projektnummer 087102), der Bundesoberbehörde am 01.08.2003 (Unterlagen Nr. 4020704) wie auch vom Bundesamt für Strahlenschutz am 10.09.2002 (Unterlagen Nr. SH2.3-22112-02/144) genehmigt. Bei allen weiblichen Probanden wurden Schwangerschaftstest durchgeführt um eine Schwangerschaft vor Teilnahme auszuschliessen. Nachdem die Probanden alle eine schriftliche Einwilligung erteilt hatten, konnten die Experimente beginnen. Bei vorliegender Studie handelte es sich um eine prospektive, randomisierte, Placebo-kontrollierte, zweiarmige Cross-over Studie.

#### 3.1.1 Klinische Ein- und Ausschlusskriterien

##### Einschlusskriterien:

- Gesunder Proband ohne wesentliche Vorerkrankungen, keine chronischen Erkrankungen
- Alter: ab 18 Jahre , vorzugsweise 20-40 Jahre
- Keine Medikation
- Einverständnis zur Studienteilnahme

##### Ausschlusskriterien

- Akute Erkrankungen jedweder Art
- Metabolische Systemerkrankungen (Adipositas, Arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus und andere endokrine Erkrankungen)
- jedwede chronische Organfunktionserkrankung
- Regelmässige Einnahme von Medikamenten
- Schwangerschaft/Stillzeit
- Gastrointestinale Operationen (ausser Appendektomie)

- Dyspeptische Symptome (Völlegefühl, Blähungen, abdominale Schmerzeignisse, Übelkeit, Erbrechen, Sodbrennen)
- Teilnahme an einer klinischen Studie in den vergangenen 6 Monaten

<b>Pr.Nr.</b>	<b>Gewicht</b>	<b>Größe</b>	<b>BMI</b>
	<b>kg</b>	<b>cm</b>	<b>kg/m<sup>2</sup></b>
<b>1</b>	60	167	21.5
<b>2</b>	90	187	25.7
<b>3</b>	80	190	22.2
<b>4</b>	73	171	25.0
<b>5</b>	70	185	20.5
<b>6</b>	52	164	19.3
<b>7</b>	70	171	23.9
<b>8</b>	70	184	20.7
<b>9</b>	51	170	17.6
<b>10</b>	90	160	35.2
<b>11</b>	54	169	18.9
<b>12</b>	60	174	19.8

Tabelle 1: Gewicht, Größe und BMI der Probanden.

### **3.2 Sonden**

Die gastropankreatische Sekretion und die antroduodenale Motilität wurden in Sondentechnik gemessen. Am Morgen jeden Versuchstags schluckten die Probanden zwei Sonden: Die neun-lumige, zwei Meter lange intestinale Sonde (siehe Abbildung 2) (Mui Scientific, Division of H&C Enterprise Inc., Ontario Canada), enthält fünf Seitlöcher für die antroduodenale Perfusions-Manometrie, ein Seitloch für die duodenale Perfusion von Aminosäuren und einem duodenalen, nichtabsorbierbaren Volumenflußmarker (Polyethylenglykol, PEG). Vier Aspirationskanäle, die im Duodenum proximal des Treitz'schen Bandes positioniert werden, dienen der Sammlung von duodenalem Inhalt und Messung der Pankreassekretion. Des Weiteren befindet sich an der Spitze der Sonde, die sich im Ileum befindet, 150 cm distal des Pylorus positioniert,

ein Seitloch für die Perfusion der Testlösung ins Ileum. Ein kleiner Ballon am distalen Ende der Ileumsonde dient dazu, die Motilität bei Legung dieser langen Sonde anzuregen.

Eine zweilumige Magensonde enthält ein Seitloch zur Markerperfusion (Phenolrot) und weiter distal einen Aspirationskanal zur Sammlung des Mageninhalts und Messung der Magensäuresekretion.

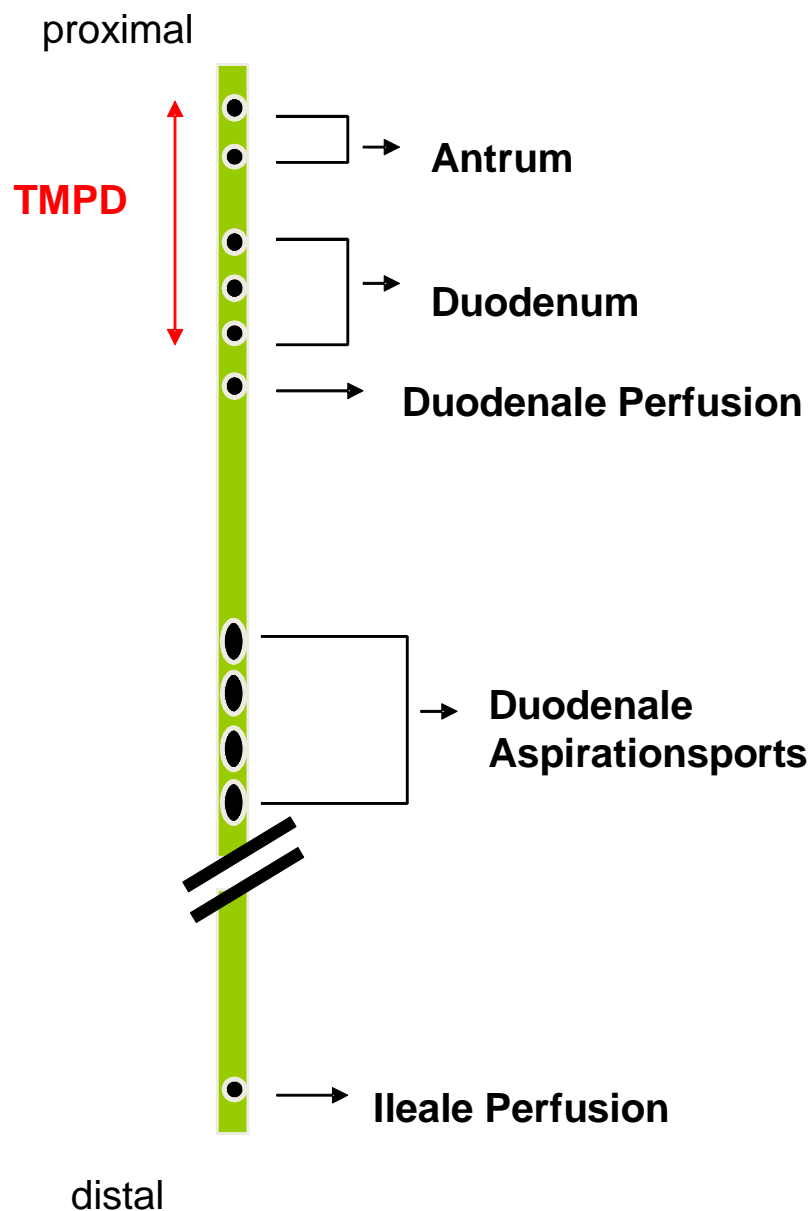


Abbildung 2: Aufbau der Ileum-Sonde.

Die Sonde hat zwei antrale und drei duodenale Seitlöcher zur kontinuierlichen Messung der Motilität. Der zweite antrale Messkanal so wie der erste duodenale Messkanal bestimmen die TMPD während des Versuchs. Das letzte duodenale Seitloch auf Höhe der Vater'schen Papille dient zur Perfusion der Aminosäurelösung. Vier duodenale Aspirationskanäle proximal des Treitz'schen Bandes dienen der Sammlung von Duodenalsekrete. Durch das distalste Seitloch der Sonde, ~150 cm distal des Pylorus, wird die Testmahlzeit perfundiert.

### **3.3 Antro-duodenale Motilität**

Die interdigestive und postprandiale Motilität des antro-duodenalen Segments wird mit Hilfe der Ileumsonde (siehe Abbildung 2) perfusionsmanometrisch gemessen. Die neunlumige intestinale Sonde enthält sechs Perfusionskanäle. Es münden zwei Messkanäle ins Antrum und drei Messkanäle ins Duodenum. Diese dienen den Manometrieaufzeichnungen. Das sechste Perfusionsseitloch nehmen wir für die duodenale Perfusion mit den Aminosäuren her.

Die Manometriekanäle wurden mit einer Flussrate von 0,3 ml/min perfundiert, wofür wir eine pneumohydraulische Pumpe (Dentsleeve International Ltd., Canada) verwendeten. Die Drücke wurden von externen Drucksensoren gemessen. Die Daten der Manometriekanäle wurden während des Versuches auf dem Bildschirm eines Multichannel Chart Systems (MMS, Medical Measurements Systems, Enschede, Netherlands) aufgezeichnet und auf dem PC gespeichert.

#### **3.3.1 Messung der antro-duodenalen-transmukosalen Potentialdifferenz (TMPD)**

Die korrekte Position der intestinalen Sonde wurde kontinuierlich durch Messung der transmukosalen Potentialdifferenz (TMPD) zwischen Antrum und Duodenum kontrolliert. Die TMPD wurde zwischen dem distalsten antralen Kanal und dem proximalsten duodenalen Kanal gemessen. Diese beiden Kanäle wurden mit elektrisch leitender NaCl-Lösung perfundiert. Eine elektrische Brücke aus 1M KCL mit Agar Agar wurde im Nebenschluss mit einem Drei-Wege-Hahn an den mit NaCl 0,9% perfundierten Manometriekanal angeschlossen. Das andere Ende der Brücke war mit einer Kalomel-Elektrode verbunden, dadurch konnte die Potentialdifferenz gemessen werden ohne dass es zu Druckverlusten kam. Als gemeinsame Referenzelektrode wurde eine Hautelektrode auf den Bauch angebracht. Eine TMPD von -15 mV zeigte die korrekte Lage der Sonde an.

### ***3.4 Experimentelles Design***

#### ***3.4.1 Versuchsablauf***

Alle Versuche wurden nach einer nächtlichen Nüchternperiode von mindestens 12 Stunden durchgeführt. Die Experimente wurden alle randomisiert und die Probanden bezüglich der zu infundierenden Substanzen verblindet.

Am Morgen des jeweiligen Versuchstages begann um 7 Uhr früh das Legen der Ileumsonde. Ab Erreichen des Treitz'schen Bandes wurde der Ballon am distalen Ende der Ileumsonde in 15-20 minütigen Abständen mit zwei bis drei Milliliter Luft leicht aufgeblasen, um die Motilität anzuregen und die Sonde weiterzubefördern. Nach einigen Minuten Stimulation der Motilität wurde die Luft wieder aus dem Ballon rausgelassen. Nach Sondenanlage, die im Schnitt vier Stunden dauerte und durch Durchleuchtung kontrolliert wurde, wurde die zweite Sonde, eine zweilumige intragastrale Sonde, vom Probanden geschluckt, dies erfolgte entweder oral oder nasal. Auch die Lage der gastralen Sonde wurde mittels Durchleuchtung kontrolliert. Zum Strahlenschutz des Probanden wurden Bleigummiabdeckungen verwendet. Eine Durchleuchtungszeit von 0.5 Minuten pro Tag wurde bei keinem Probanden überschritten (siehe Tabelle 2, Tabelle 3).

---

<b>Versuch Nr. 1 (Placebo)</b>				
<b>Proband</b>	<b>kV</b>	<b>mA</b>	<b>Dauer (min)</b>	<b>Dosis (cGy)</b>
<b>1</b>	73	1.8	0.4	73
<b>2</b>	70	1.2	0.1	37
<b>3</b>	79	2.2	0.1	34
<b>4</b>	84	2.5	0.1	22
<b>5</b>	81	2.3	0.5	97
<b>6</b>	79	1.5	0.4	58
<b>7</b>	81	2.3	0.1	26
<b>8</b>	81	2.2	0.3	57
<b>9</b>	71	1.6	0.2	21
<b>10</b>	84	2.7	0.3	89
<b>11</b>	72	1.6	0.1	17
<b>12</b>	76	0.2	0.1	25

Tabelle 2: Placeboversuch mit den Durchleuchtungsangaben (kV, mA, Dauer und Dosis).



<b>Versuch Nr. 2 (Ex-9-39)</b>				
<b>Proband</b>	<b>kV</b>	<b>mA</b>	<b>Dauer (min)</b>	<b>Dosis (cGy)</b>
<b>1</b>	73	0.7	0.2	17
<b>2</b>	85	2.5	0.1	25
<b>3</b>	80	2.2	0.1	77
<b>4</b>	81	2.4	0	13
<b>5</b>	79	1.2	0.2	50
<b>6</b>	73	1.7	0.2	29
<b>7</b>	79	2.1	0.2	39
<b>8</b>	78	2.1	0.1	21
<b>9</b>	/	/	/	/
<b>10</b>	/	/	/	/
<b>11</b>	71	1.6	0.1	12
<b>12</b>	73	1.8	0.1	12

Tabelle 3: Exendin-9-39 Versuch mit den Durchleuchtungsangaben (kV, mA, Dauer und Dosis).

Anschliessend bekam jeder Proband zur intravenösen Infusion eine anterograde Verweilkanüle in eine antecubitale Vene gelegt, die zweite Kanüle wurde retrograd am Handrücken des anderen Armes platziert um hier wiederholte Blutabnahmen zu ermöglichen.

Während den Versuchen befanden sich die Probanden in einer bequemen halbsitzenden Position ( $\sim 35^\circ$ ). Die Perfusionskanäle der Ileumsonde wurden nun an das Manometriergerät angeschlossen und die kontinuierliche Perfusion der nicht-absorbierbaren gastralen und duodenalen Volumenflussmarker begann mit Phenolrot (300 mg/1000 ml NaCl 0,9%) in den Magen und Polyethylenglykol (PEG) (1g/500ml NaCl 0,9%) ins Duodenum, mit einer Perfusionsrate von jeweils 3 ml/min (308 mOsm/l).

Nach einer 30-minütigen Periode, in denen sich die Volumenmarkerlösungen gut mit den gastroduodenalen Sekreten vermischen konnten, fingen wir mit dem Messen an (siehe Abbildung 3).

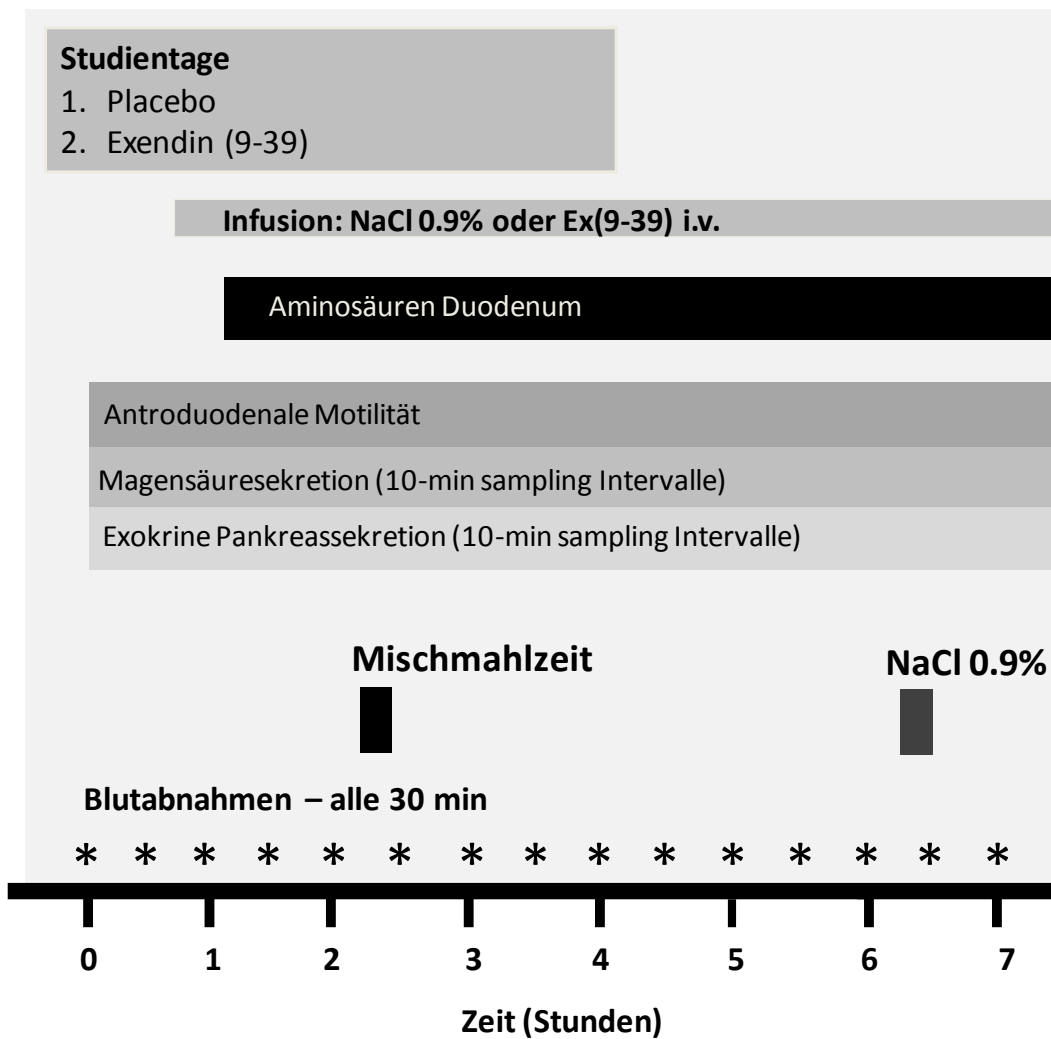


Abbildung 3: Experimentelles Design.

Während des gesamten Versuches wurde die antroduodenale Motilität gemessen. Magensäure- und exokrine Pankreassekretionen wurden in zehn Minuten Intervallen gesammelt. Um die gastropankreatischen Sekretionen zu stimulieren wurde eine Aminosäurelösung ins Duodenum perfundiert (0.62 kcal/min). Die ileal brake wurde anhand einer Mischmahlzeit (44 kcal) ausgelöst. Blutabnahmen erfolgten alle 30 Minuten.

An die basale Periode (0-40min) schloss sich eine Phase für die Aufsättigung der intravenösen Prüfsubstanzen an, die nach 30 Minuten abgeschlossen war (40-70min). Anschliessend wurde eine kontinuierliche Perfusion von Aminosäuren mit 3ml/min und 0.62 kcal/min ins Duodenum gestartet: Die Perfusion erfolgte über ein duodenales Seitloch der intestinalen Sonde. Das Perfusat bestand aus 1 g PEG, 250 ml Aminosäure 10%, 50 ml NaCl 0,9% und 200 ml Aqua dest. (469 mosmol/l, 0.21 kcal/ml). PEG (Polyethylenglykol) ist ein nicht-absorbierbarer Marker und dient der quantitativen Messung der Pankreassekretion (siehe 3.6.1). Durch Layers Versuche ist bekannt, dass eine niederkalorische duodenale Perfusion mit essentiellen Aminosäuren zu einer moderaten Stimulation sowohl der exokrinen Pankreas- als auch der Magensäuresekretion führt. Kohlenhydrate oder Fette hemmen hingegen die Magensäuresekretion (Layer et al. 1985, Layer et al. 1990). Die duodenale Aminosäureperfusion erfolgte zunächst nüchtern während 60 min (70-130min), um Pankreas- und Magensäuresekretion zu stimulieren. Unter fortlaufender duodenaler Aminosäureperfusion erfolgte dann eine kurze Ileumperfusion mit Nährstoffen, um die ileal brake auszulösen (siehe unten).

Durch die zweilumige intragastrale Sonde wurde der wasserlösliche, nicht-absorbierbare Volumenflussmarker, Phenolrot im Bereich der Cardia infundiert: 300 mg Phenolrot/1000 ml NaCl 0,9% bestehend mit einer Rate von 3 ml/min. Somit konnte sich die Markerlösung mit der Magensäure gut vermischen ehe sie am zweiten Lumen der Sonde, einem Aspirationskanal im Antrum, aspiriert wurde.

Während des ganzen Experiments wurde in zehn Minuten Intervallen Magen- und Duodenalsaft über Aspirationskanäle in Kolben auf Eis abgesaugt. Magensaft und Duodenalsaft wurden anschliessend gleich zentrifugiert, die Volumina gemessen und dokumentiert und in 5 ml-Röhrchen abgefüllt und eingefroren.

Nach der 60-minütigen interdigestiven Messung wurde eine Mischmahlzeit, bestehend aus 8 g Stärke, 4 g Maltose, 10 ml Lipofundin 20%, 460 mg Ölsäure und 140 ml Aqua dest., 15 min lang mit 6 ml/min (2,91 kcal/min, 43,59 kcal/15min), über den ilealen Sondenkanal perfundiert. Das Gesamtvolumen der infundierten Mahlzeit betrug 90 ml und hatte eine Kilokaloriezahl von ca. 44. Hiermit wurde die physiologische Malabsorption imitiert, in der vor allem unverdaute Kohlenhydrate, aber auch andere Nährstoffe wie Fette, Ölsäure und Maltose unabsorbiert ins Ileum gelangen (Anderson

et al. 1981, Levitt et al. 1987, Stephen et al. 1983, Vonk et al. 1997). Der Ölsäureanteil der Mahlzeit betrug genau 10 mmol/l (Layer et al. 1990).

Es wurde weitere 249 min gemessen. Anschliessend wurde über das gleiche ileale Seitenloch NaCl 0,154 M mit 6 ml/min über 15 min perfundiert, die zur Volumenkontrolle diente.

An jedem Versuchstag wurden 15 Blutproben à 9 ml abgenommen, wobei zur Arterialisierung des venösen Blutes die jeweilige Hand und Unterarm unter Verwendung eines Biothermostaten auf exakt 40°C erwärmt wurden. Mit einer Infrarotlampe, die durch einen Temperatursensor gesteuert wurde, wurde das venöse Blut arterialisiert, d.h. („heated hand“) dem arteriellen Blut angeglichen. Die Entnahmen erfolgten auf Eis unter Vorlage von EDTA und 1000 KIE Aprotinin (Trasylol). Anschliessend wurde das Blut über 15 min bei 5000 U/min zentrifugiert, das Plasma portioniert und gleich eingefroren.

Die Blutentnahmen erfolgten alle 30 Minuten. Zum einem dienten die Entnahmen der sofortigen Bestimmung der Blutglukosekonzentration, zum anderen dem Nachweis der Immunreaktivitäten der Peptidhormone GLP-1, Insulin, Glukagon, PYY, Gastrin, Cholecystokinin und Pankreatischem Polypeptid im Plasma.

Das synthetische Exendin(9-39)NH<sub>2</sub>, das wir den Probanden infundierten, wurde aus dem Polypeptide Laboratories (Wolfenbüttel, Deutschland) erworben. Der Peptidgehalt betrug 90,6% mit einer Peptidreinheit von >98%. Das Peptid wurde in 1% Humanserumalbumin aufgelöst, durch einen 0,2 µm Nitrocellulose Filter gegeben und anschliessend bei -70°C eingefroren. Die Proben wurden auf Pyrogene und bakterielles Wachstum getestet, es wurde weder eine Bakterienkontamination noch Endotoxine gefunden. Eine HPLC nach Sterilfiltration bestätigte die Integrität des Peptids.

Es wurden insgesamt zwei Versuchstage pro Proband durchgeführt. Als Hintergrundinfusion wurde an einem Versuchstag Exendin(9-39)amid gelöst in 1% Humanalbumin, mit 300 pmol·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> intravenös über die Venenverweilkanüle infundiert. Ein zweiter Versuchstag diente als Kontrolle, hier wurde 0,154 M NaCl (Placebo) intravenös verabreicht.

Während des Versuches wurden Blutdruck, Puls, Sauerstoffsättigung und Wohlbefinden des Probanden kontinuierlich gemessen.

### ***3.5 Analyse der Antro-duodenalen Motilität***

Die Parameter der antroduodenalen Motilität wurden computergestützt (Medical Measurement Systems, MMS, Enschede, NL) ausgewertet. Dafür wurden für die Auswertung die manometrischen Motilitätsdaten in je 10 Minuten dauernde Intervalle unterteilt. Die manometrischen Aufzeichnungen der Motilitätsdaten wurden von drei unabhängigen Personen visuell bewertet. Alle Daten wurden computergestützt ausgewertet. Um eine Verfälschung durch tonische Druckschwankungen zu verhindern, wurde für jede Minute die Basislinie neu bestimmt. Als Kontraktionen wurden alle Druckerhöhungen von mindestens 10 mmHg über der Basislinie ausgewertet (Katschinski et al. 1992).

Aus den Rohdaten wurden Kontraktionsfrequenz, Motilitätsindex und Kontraktionsamplitude berechnet. Während die Kontraktionsfrequenz der Anzahl der Kontraktionen pro 10 Minuten entspricht, wird der Motilitätsindex als Integral der phasischen Kontraktionsaktivität (Fläche unter den Kontraktionen) mit  $MI = LN (\text{Kontraktionszahl} * \text{Amplitudensumme}) + 1$  definiert. Diese Parameter wurden als Mittelwert der zwei antralen bzw. drei duodenalen Kanäle berechnet.

### ***3.6 Analysen der Gastropankreatischen Sekretionen***

#### ***3.6.1 Doppelmarkerdilutionstechnik***

Die Sekretionen von Magensäure und Pankreasenzymen wurden unter Verwendung der Doppelmarkerverdünnungsmethode gemessen (Go et al. 1970, Layer et al. 1988, Layer et al. 1986, Layer et al. 1990, Stephen et al. 1983, Wingate et al. 1972).

Anhand der Konzentrationsverdünnung der nichtabsorbierbaren Marker Phenolrot (Magen) und PEG (Duodenum) und anhand der Konzentrationen von Magensäure und Pankreasenzymen wurde der Output/Zeit von Magensäure respektiv Pankreasenzymen berechnet.

*Phenolrot als Marker im Magensaft*

Die Messung von Phenolrot im Magensaft erfolgte photometrisch bei einem Extinktionsmaximum von 556 nm, nach einer modifizierten Methode nach Hobsley und Silen (Hobsley et al. 1969).

1 ml H<sub>2</sub>O und 0,25 ml Probe wurden in ein Reagenzglas pipettiert und 10 Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert. Für jede Probe wurden Doppelbestimmungen vorgenommen. Jeweils 0,25 ml Überstand einer Probe wurden mit 1,0 ml NaOH 0,1 n und 1,0 ml H<sub>2</sub>O (Gesamtvolumen 2,25 ml) vermischt und die Extinktion in einem Photometer bei 556 nm gegen Wasser gemessen. Die lineare Extinktion lag bei diesen Messungen zwischen 0-17 µg/ml, die maximale Extinktion wurde bei 2,5 gesetzt. Der hier vorgegebene Ansatz beinhaltete eine Gesamtverdünnung von 1:45. Danach konnten Konzentrationen bis 0,765 mg/ml ohne weitere Verdünnung zur Bestimmung eingesetzt werden. In diesem Extinktionsbereich konnte das korrigierte Volumen/Zeit (V/t) berechnet werden:

$$V/t = \text{FlowInput} \times \text{ExtInput} \times f1 / \text{ExtOutput} \times f2; \quad (f1, f2 = \text{Verdünnungsfaktor})$$

$$\text{Recovery} = V/t \text{ gesammelt} / V/t \text{ korrigiert}$$

#### *Polyethylenglykol (PEG) als Marker im Duodenalsaft*

Die Messung von PEG im Duodenalsaft erfolgte photometrisch bei 405 nm als Doppelbestimmung. Die Proben wurden wie folgend aufbereitet: 0,25 ml Probe, 3,25 ml H<sub>2</sub>O dest., 0,5 ml BaCl<sub>2</sub> 10%, 1,0 ml Ba(OH)<sub>2</sub> 0.3% und 1,0 ml ZnSO<sub>4</sub> 5% (Gesamtvolmen 6,0 ml) wurden in ein Reagenzglas pipettiert und anschliessend durch Faltenfilter filtriert (Faltenfilter, Qualität 15, ø 11 cm). Die Messung ist nur in relativ klaren Lösungen möglich, deshalb wurde der Ansatz filtriert. Anschliessend kamen die gefilterten Lösungen für 5 Minuten bei 5000 Upm in die Zentrifuge. Danach konnte 1,0 ml vom Überstand zu 1,0 ml TCA pipettiert werden. Der Probenleerwert bestand aus 1,0 ml H<sub>2</sub>O und 1,0 ml TCA. Diese Mischung wurde 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Anschliessend konnten die Proben bei 405 nm bei Zimmertemperatur gegen den Probenleerwert im Photometer gemessen werden.

Für die Verdünnung der Proben wurden die Lösungen wie folgend aufbereitet:

Die 10% BaCl<sub>2</sub> Lösung bestand aus 10 g BaCl<sub>2</sub> / 100 ml H<sub>2</sub>O dest.

Die 0,3 % n Ba(OH)<sub>2</sub> Lösung war aus 9,46 g Ba(OH)<sub>2</sub> / 200 ml H<sub>2</sub>O dest. zusammengesetzt.

Die 5 % ZnSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O Lösung bestand aus 10 g ZnSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O / 200 ml H<sub>2</sub>O dest. und die 30% TCA 5% BaCl<sub>2</sub> Lösung aus 300 g Trichloressigsäure + 50 g BaCl<sub>2</sub> / 1000 ml H<sub>2</sub>O dest.

Lag die Probenextinktion über einem Wert von 0,8, wurde sie weiter verdünnt. Anstatt 0,25 ml Probe wurde dann 0,125 ml Probe und anstatt 3,25 ml H<sub>2</sub>O dest. nun 3,375 ml H<sub>2</sub>O dest. hergenommen. Bei Einsatz von Standards à 1 ml und einer linearen Extinktion von 0 - 0,7 mg/ml (maximale Extinktionen von 1,3) konnte das korrigierte Volumen/Zeit (V/t) berechnet werden.

$V/t = \text{FlowInput} \times \text{ExtInput} \times f1 / \text{ExtOutput} \times f2$ ; (f1, f2 = Verdünnungsfaktor)

Recovery = V/t gesammelt / V/t korrigiert

### ***3.6.2 Magensäure-Endpunkttitration***

Mit dem Titrator TIM855 Titration Manager von Titralab® Radiometer Analytical wurden die Magensaftproben analysiert. Dazu wurden jeweils 500 µl Probe mit 50 ml H<sub>2</sub>O in ein Messbecher gegeben. Zwei Pufferlösungen wurden zur Titration benötigt, Puffer 1 mit einem pH von 4,005 bestand aus 0,025 mol Natriumhydrogencarbonat. Puffer 2 hatte einen pH von 10,012 und bestand aus 0,050 M Kaliumhydrogenphthalate. Anhand der Standardpufferlösungen konnten die Proben nach Eichung des Titrators auf einen pH Endpunkt von 7,0 titriert werden.

Aus den Angaben:

$R_1$  = Verbrauch in ml bis zum Endpunkt

x 0,1 = Konzentration des Titranten 0,1 mol NaOH

x 1000 = Umrechnungsfaktor

÷ 0,5 = Vorlage z.B. 0,5 ml Magensäure

ergibt sich quantitativ die Menge an Magensäure in der Probe. Multipliziert mit der anhand der Phenolrot-Verdünnung gemessenen Magensaftverdünnung, ergibt sich die Gesamtmenge pro Zeiteinheit.



### 3.6.3 Pankreasenzym-Bestimmungen

Der Gesamt-Enzym-Output pro Zeit wurde durch Multiplikation der Enzymaktivität mit der anhand der PEG-Verdünnung bestimmten duodenalen Volumen bestimmt.

#### 3.6.3.1 Amylaseaktivität im Duodenalsaft

Das Pankreaseenzym, Amylase wurde unter Verwendung des Testkits, Phadebas Amylase Test, Pharmacia & Upjohn Diagnostics AB Upsala, Schweden (neuer Name: Schweden Diagnostics), analysiert. Das Prinzip der Bestimmung bestand darin, dass das Substrat ein wasserunlösliches Stärkopolymer mit blauem Farbstoff war und durch alpha-Amylase in nun wasserlösliche blaue Fragmente gespalten wurde. Die Extinktion der blauen Lösung war eine Funktion der alpha-Amylaseaktivität der Probe.

Zur Durchführung waren ein Puffer (0,9% NaCl, 0,2% BSA, 20 mM CaCl<sub>2</sub>), eine 0,5 M NaOH Lösung, Aqua dest., eine Eppendorfpipette und eine Multipipette erforderlich. Eine Probenverdünnung von 1:100 mit 10 µl Probe und 990 µl Puffer wurde angestrebt. Erreichte die Extinktion Werte von > 2,0, dann waren weitere Verdünnungen erforderlich. Die Proben wurden gegen einen Leerwert gemessen. Der Leerwert bestand aus 200 µl H<sub>2</sub>O + 4 ml Aqua dest., die Proben dagegen aus 200 µl Probe und 4 ml Aqua dest. Sowohl Leerwert wie auch Proben wurden doppelt bestimmt. Zum Zeitpunkt 0 wurden die Proben 5 Minuten bei 37°C in einem Wasserbad vorinkubiert. Die Reaktion wurde gestartet indem eine Stärketablette zu den Proben gegeben wurde. Die Proben wurden alle 10 Sekunden lang gevortext, wieder ins Wasserbad gesetzt und diesmal 15 Minuten im Bad belassen. Zum Zeitpunkt 20 wurde die Reaktion durch Zufügen von 0,1 ml 0,5 M NaOH gestoppt. Nachdem die Proben gevortext wurden, kamen sie für 5 Minuten in die Zentrifuge (1500 U/min). Anschliessend konnten die Extinktionen vom Überstand der Proben bei 620 nm im Photometer gegen einen Leerwert (Aqua dest.) abgelesen werden.

Um die Aktivität der Probe zu berechnen, lautete die Rechnung: dE (Probe) – dE (Leerwert), Aktivitätsablesung im Normogramm oder nach Formel.

### 3.6.3.2 Trypsinaktivität im Duodenalsaft

Die Trypsinaktivität wird nach der Methode nach Hummel evaluiert (Hummel 1959). Das Prinzip der Messung beinhaltet die Spaltung von N<sup>a</sup>-tosyl-L-argininmethylesterhydrochlorid (TAME) durch Trypsin (Hummel 1959, Layer et al. 1990). Zur Durchführung sind Tris-Puffer, Substratlösung, Aqua dest., NaCl 0,9%, Eppendorfpipetten, eine Multipipette und eine 1 cm-Quarzküvette erforderlich. Das Tris-Puffer (46 mM, pH 8,1) besteht aus 5,56 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan ad 800 ml Aqua dest. und 25,6 ml CaCl<sub>2</sub> 5% (=5g/100ml H<sub>2</sub>O), das man mit 1 N HCl auf einen pH von 8,1 einstellt (ad 1000 ml). Die Substratlösung beinhaltet 37,9 mg TAME ad 10 ml Aqua dest. TAME steht für N p-Toluolsulfonyl-1-argininmethylester 10 mM = N<sup>a</sup>-tosyl-L-argininmethylesterhydrochlorid. Eine Probenverdünnung von 1:10, d.h., 100 µl Probe + 900 µl NaCl 0,9% werden angestrebt. Auch für die Trypsinmessungen werden sowohl Leewert wie auch Proben doppelt bestimmt. Der Leewert besteht aus 2,6 ml Tris-Puffer und 300 µl Substratlösung. Auch die Proben bestehen am Anfang der Messung nur aus Tris-Puffer und Substratlösung. Die beschriebenen Mischungen werden in Reagenzgläser pipettiert und gevortext. Zum Zeitpunkt 0 werden die Reagenzgläser ca. 5 Minuten im 25°C warmen Wasserbad vorinkubiert. Anschliessend werden 100 µl H<sub>2</sub>O resp. 100 µl Probe in die Reagenzgläser beigefügt und gevortext. Die Lösungen werden in vortemperierte Küvetten umgefüllt und 1 Minute lang ins Photometer gestellt, der schon auf 25°C vorgeheizt wurde. Darufhin können die Proben über 3 Minuten bei 247 nm gegen Luft gemessen werden (Photometer-Kinetik). Es werden Parallelmessungen im Photometer vorgenommen. Die Messungen werden als  $\Delta E / \text{min}$  dokumentiert.

## 3.7 Analysen der Plasmahormone

### *Insulin*

Plasmainsulin wurde mittels Radioimmunassay (RIA) bestimmt (Human insulin-Specific RIA KIT (Linco Research, über Biotrend)).

### *GLP-1 und PYY*

Die GLP-1 Immunreaktivität wurde durch ein Sandwich-Immuno-Lumineszenz-Assay (ILMA) unter Verwendung eines Capture-Antikörpers, der spezifisch den amidierten C-Terminus bindet und eines Detection-Antikörpers gemessen. Die Messung der Lumineszenz erfolgte nach Bindung von horseradish-Peroxidase-konjugiertem Neutravidin an den biotinylierten Detection-Antikörpers mittels eines Lumineszenzsubstrates. Anhand des kommerziell erhältlichen Antikörpers von Linco Research Inc, konnten diese Messungen nach der Methode von Herrn G. Spöttl aus der Medizinischen Klinik II, Klinikum Großhadern ausgeführt werden.

#### *PYY und PP*

Die PYY-Immunreaktivität wurde durch einen kommerziell erhältlichen Antikörper (Eurodiagnostica) ebenfalls durch Immuno-Lumineszenz-Assay gemessen.

#### *CCK-8 und Gastrin*

CCK-8 und Gastrin wurden am Universitätsspital Basel, Departement of Gastroenterology and Clinical Research Centre, von Professor C. Beglinger's Gruppe gemessen.

### **3.8 Auswertung und Statistik**

Die Daten wurden in 10-min-Perioden analysiert und getrennt während drei Phasen der Messperiode ausgewertet:

1. die basale Periode mit duodener Perfusion von 0.154 M NaCl von 40-70 Minuten
2. die Stimulation von Nüchternsekretion und -motilität durch Perfusion von Aminosäuren ins Duodenum, 110-130 Minuten, also die letzten 20 min der 60minütigen Stimulationsperiode
3. die ileal brake-Phase - beginnend 5 min nach Ende der 15-minütigen Nährstoffperfusion ins Ileum- von 150-230 min, da während dieser Phase die stärkste Hemmung der gastropankreatischen Sekretion gesehen wurde.

Alle Werte werden als Mittelwert  $\pm$  SEM (Standardfehler des Mittelwertes) berechnet.

Während der drei Auswerteperioden wurden die Outputs von Magensäure, Amylase und Trypsin als Mittelwerte der stetigen 10-min-Perioden angegeben, ebenso die Daten der Motilitätsparameter. Die Werte für die Konzentrationen von Blutglukose und der Plasmahormone wurden als über basal (Mittelwert 0 und -30min) ansteigende Werte angegeben: gegen Ende der basalen Periode nach erfolgter Ausättigung der intravenösen Infusion (70min), zum Ende der duodenalen Aminosäurenstimulation (130min) und als Mittelwert nach erfolgter Ileumperfusion (130-230min). Über basal ansteigende Werte der Statistik zugrunde zu legen korrigiert für die Tag-zu-Tag-Variabilität gerade der gastrointestinalen Hormone. In den Graphiken zeigen sind hingegen die Zeitverläufe der absoluten Werte dargestellt.

Nach Testung der Normalverteilung (Kolmogoroff-Smirnov-Test) wurden die Effekte der intravenösen Infusion (0.154 M NaCl oder Exendin(9-39)) und der intestinalen Perfusion (NaCl oder duodenale Aminosäuren oder ileale Nährstoffperfusion) mit einer zweifaktoriellen ANOVA für wiederholte Messungen (balanced design) verglichen. Bei statistisch fehlender Interaktion ( $P > 0.05$ ) hängen Effekte der beiden Faktoren Infusion und Perfusion nicht voneinander ab. Bei statistisch signifikanter Interaktion ( $P < 0.05$ ) sind Effekte von Exendin(9-39) nicht gleichermaßen während der gesamten Messperiode ausgeprägt, sondern hängen von der jeweiligen intestinalen Perfusion ab. In diesem Fall wurde ein Student-Newman Keuls-multicomparison-Test als posthoc-Test zur paarweisen Analyse eingesetzt. Als Statistiksoftware wurde Sigma Stat für Windows Version 2.03 verwendet. Unterschiede waren signifikant bei  $P < 0.05$ .

## 4 Ergebnisse

Von den 12 randomisierten Probanden brachen zwei die Studie nach dem ersten Versuch aufgrund von Unverträglichkeit der gastrointestinalen Sonden ab. Bei beiden Versuchen handelte es sich um Placebo-Versuche mit Infusion von 0.154 M NaCl. 10 Probanden beendeten die Studie per Protokoll. Exendin(9-39) wurde in allen Versuchen problemlos und nebenwirkungsfrei vertragen.

### 4.1 *Gastropankreatische Sekretionen*

Die summarischen Daten mit Statistik sind in Tabelle 4 wiedergegeben.

#### 4.1.1 *Magensäuresekretion*

Siehe Tabelle 4 und Abbildung 4

Unter Infusion von 0.154 M NaCl kommt es zu einem signifikanten Anstieg der Magensäuresekretion sobald Aminosäuren ins Duodenum perfundiert werden ( $P < 0.001$ ). Nach Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum kommt es zu einem signifikanten und vollständigem Abfall der Magensäure ( $P < 0.001$ ) auf das Niveau der basalen Sekretion (ileal brake). Diese Hemmung ist von 150 bis 280 Minuten über etwa 130 min erhalten (Abbildung 4).

Zwischen den Effekten von Exendin-9 und denen der intestinalen Perfusion gibt es eine signifikante Interaktion ( $P = 0.03$ ), d.h. der Effekt von Exendin-9 ist nicht grundsätzlich während der gesamten Messperiode ausgeprägt, sondern hängt von der Art der intestinalen Perfusion ab: Exendin-9 hat weder einen Einfluss auf die basale Nüchternsekretion noch auf die Aminosäure-stimulierte Säuresekretion. Auch unter Exendin-9 kommt es zu einer signifikanten Stimulation der Sekretion durch Aminosäuren ( $P < 0.001$ ), die wiederum signifikant abfällt sobald die Mischmahlzeit ins Ileum fließt ( $P < 0.001$ ). Im Gegensatz zu intravenösem NaCl ist die Hemmung der Säuresekretion nach Ileumperfusion unter Exendin-9 nicht komplett, sondern sie bleibt im Vergleich zur basalen Sekretion signifikant erhöht ( $P < 0.05$ ). Ebenso ist nach Ileumperfusion die Sekretion unter Exendin-9 im Vergleich zu intravenösem NaCl signifikant erhöht, es kommt zu einem signifikant geringeren Abfall der Magensäuresekretion nach der ilea-

len Mahlzeit ( $1.75 \pm 0.28$  vs.  $0.94 \pm 0.21$ ,  $P < 0.001$ ). Exendin-9 reduziert somit die ileal brake signifikant um etwa 50%, aber es verbleibt eine signifikante hemmende Wirkung der Ileumperfusion auch unter dem GLP-1-Antagonist.

## Gastro-Pankreatische Sekretion

	0.154 M NaCl i.v.			Exendin(9-39) i.v.			ANOVA		
	NaCl duodenal 40-70min	AS duodenal 110-130min	+ Ileal meal 150-230min	NaCl duodenal 40-70min	AS duodenal 110-130min	+ Ileal meal 150-230min	P(infusion)	P(Perfusion)	P(interaction)
<b>Magensäure</b> (mmol/10min)	1.14±0.17	2.30±0.31 ***	0.94±0.21 ###	1.27±0.18	2.65±0.44 ***	1.75±0.28 *### §§§	0.009	<0.001	0.003
<b>Amylase</b> (kU/10min)	2.2±0.5	5.5±0.7 ***	3.3±0.6 ##	3.0±0.5	5.7±0.5 ***	5.5±0.5 ***§§§	0.016	<0.001	0.024
<b>Trypsin</b> (kU/10min)	0.33±0.10	1.23±0.19 ***	0.37±0.06 ###	0.37±0.07	1.20±0.14 ***	0.76±0.09 *###§§	0.178	<0.001	0.030

Tabelle 4: Gastropankreatische Sekretion während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10

P(infusion) <0.05: signifikanter Effekt von Exendin(9-39) verglichen mit 0.154 M NaCl

P(perfusion) <0.05: signifikanter Effekt von duodenalen AS und/oder ilealer Perfusion

P(interaction) <0.05: signifikante Interaktion zwischen den Effekten der intravenösen Infusion und intestinaler Perfusion. All pairwise multicomparison:

\*:P<0.05, \*\*:P<0.01, \*\*\*:P<0.001 vs duodenales NaCl, gleiche intravenöse Infusion

#:P<0.05, ##:P<0.01, ###:P<0.001 vs duodenale AS, gleiche intravenöse Infusion

§:P<0.05, §§:P<0.01, §§§:P<0.001 für Exendin(9-39) vs intravenöses NaCl, gleiche duodenale Perfusion

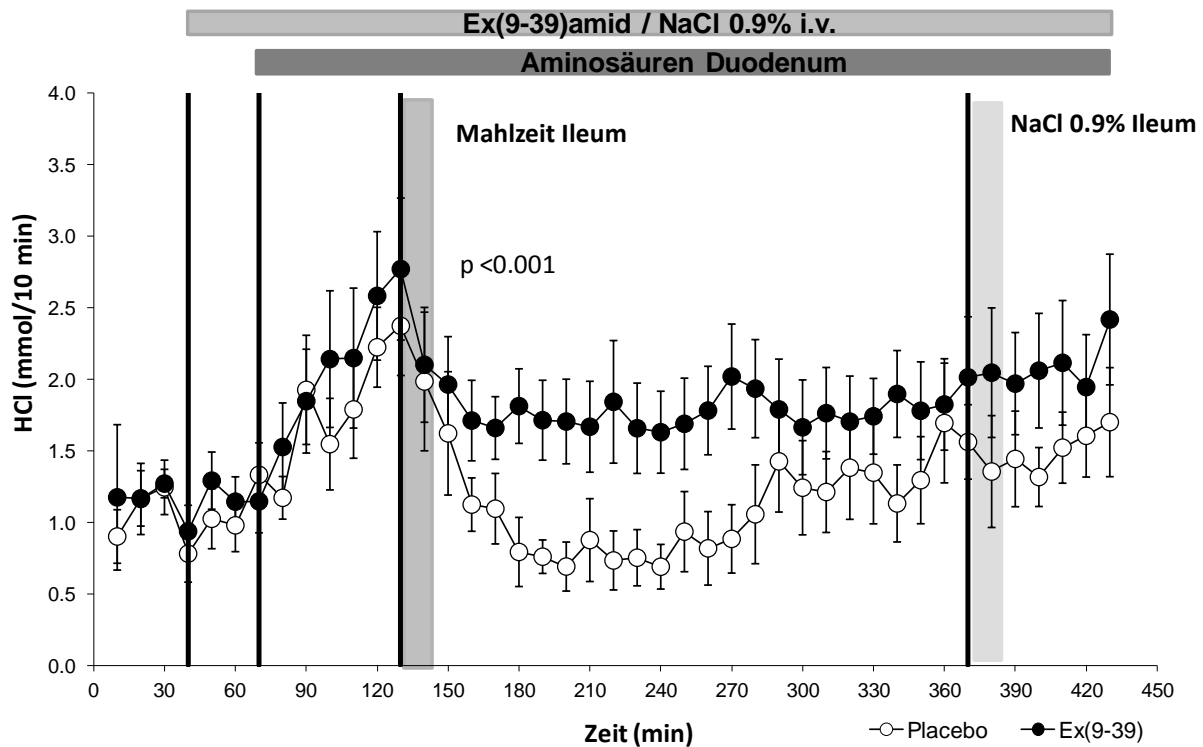


Abbildung 4: Zeitlicher Verlauf des gastralen Magensäure-Output (N=10)

Gezeigt ist die Magensaftsekretion während des randomisierten Versuches mit 0.154 M NaCl und Exendin(9-39)amid. Der horizontale Balken demonstriert die duodenale Aminosäureperfusion, die die Sekretionen anregen. Die Mischmahlzeit wie auch die NaCl-Volumenkontrolle die beide jeweils 15 Minuten ins Ileum gegeben werden, sind durch vertikale Balken markiert. Der NaCl Versuch ist in weiss dargestellt. Das Exendin Experiment ist in schwarz dargestellt. Die duodenale Perfusion von Aminosäuren mit einer Flussrate von 3 ml/min regen die Sekretion an. Unter der Mischmahlzeit im Ileum kommt es zu einer Hemmung der Sekretion. Diese Hemmung im Rahmen der ileal brake wird durch den GLP-1 Antagonisten zu etwa 50% aufgehoben ( $P < 0.001$  für Ex-9 vs Saline iv). MW  $\pm$ SW



#### ***4.1.2 Exokrine Pankreassekretion: Amylase und Trypsin***

Siehe Tabelle 4, Abbildung 5 und Abbildung 6.

Unter NaCl-Infusion kommt es zu einem signifikanten Anstieg der Amylase- und Trypsinsekretion sobald Aminosäuren ins Duodenum perfundiert werden ( $P < 0.001$ ). Nach Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum kommt es zu einem signifikanten Abfall der Enzymsekretion. Die Hemmung der Amylasesekretion dauert etwa 70 min an ( $P < 0.01$ ), die der Trypsinsekretion etwa 140min ( $P < 0.001$ ).

Exendin-9 hat keinen Einfluss auf die basale oder durch duodenale Aminosäuren stimulierte Enzymsekretion, unterdrückt aber komplett die Hemmung der Amylasesekretion durch die Ileummahlzeit ( $P < 0.001$ ) und hemmt signifikant zu etwa 50% die Reduktion der Trypsinsekretion ( $P < 0.01$ ). Im Gegensatz zum Kontrollexperiment mit intravenösem NaCl bleibt unter Exendin-9 trotz der Ileummahlzeit eine Aminosäuren-stimulierte Enzymsekretion im Vergleich zur basalen Nüchternphase bestehen ( $P < 0.001$  für Amylase,  $P < 0.05$  für Trypsin).

Zusammengefasst induziert die Nährstoffperfusion des Ileum im Gegensatz zur Perfusion mit 0.154 M NaCl eine anhaltende und komplette Hemmung („ileal brake“) der durch Aminosäuren stimulierten gastropankreatischen Sekretion. Exendin-9 unterdrückt diese Hemmung signifikant partiell um etwa die Hälfte.

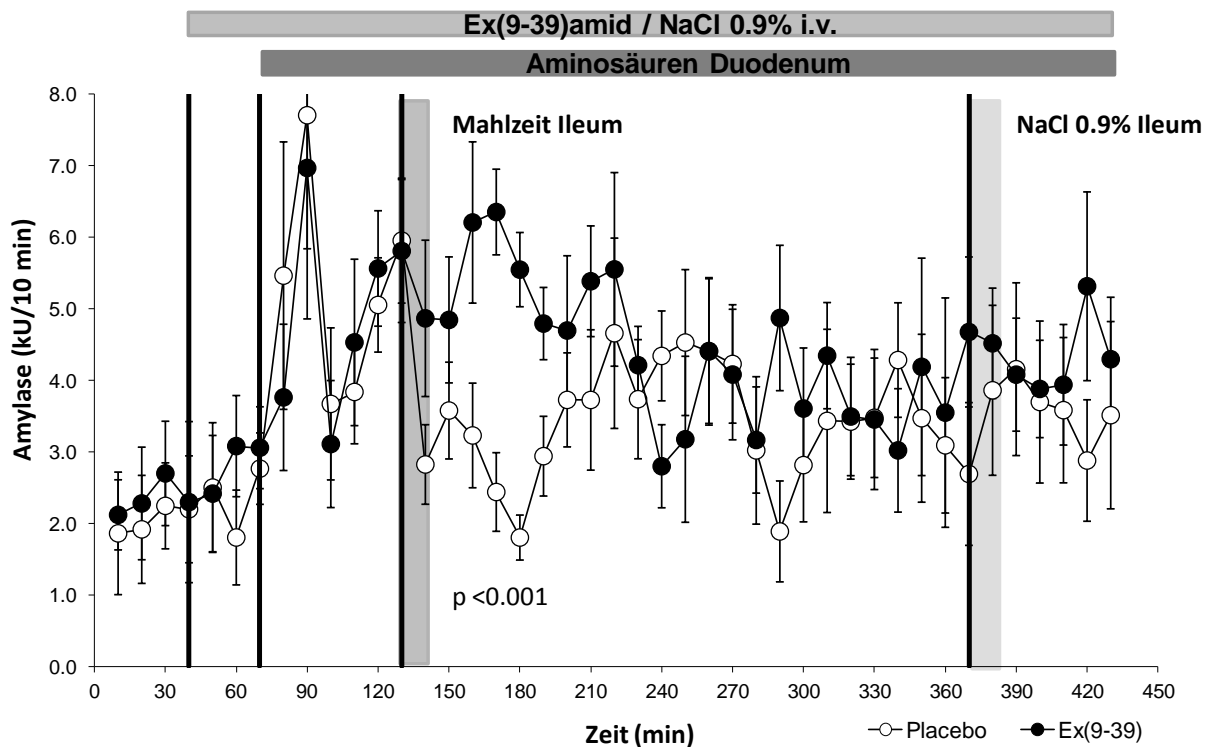


Abbildung 5: Zeitlicher Verlauf des pankreatischen Amylase-Output (N=10).

An beiden Versuchstagen steigt die Amylasesekretion unter der duodenalen Aminosäureperfusion an. Sobald unabsorbierte Nährstoffe der Mischmahlzeit im Ileum ankommen, wird die Sekretion gehemmt. Diese Hemmung wird durch den GLP-1 Antagonisten, Exendin(9-39)amid zu 50% aufgehoben ( $P < 0.001$  für Ex-9 vs Saline iv). MW  $\pm$ SW

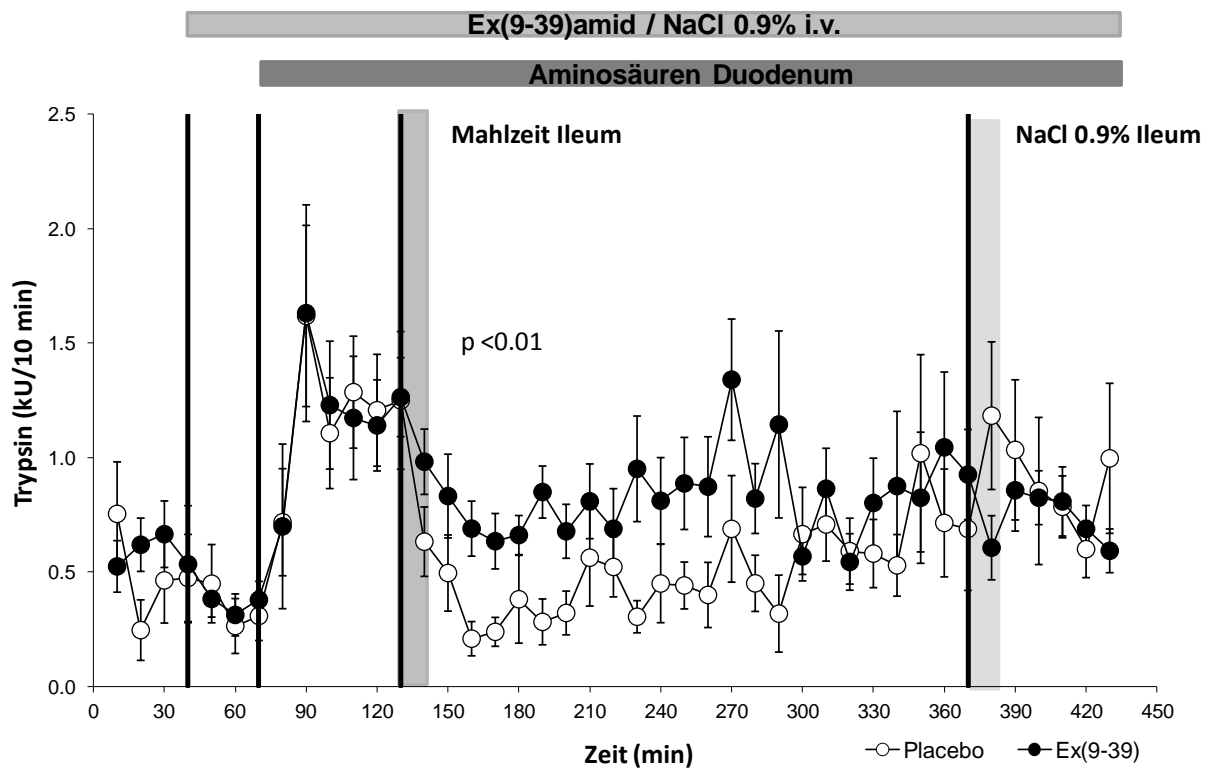


Abbildung 6: Zeitlicher Verlauf des pankreatischen Trypsin-Output (N=10)

In weiss wird die Trypsinkonzentration unter dem 0.154 M NaCl Versuch demonstriert. In schwarz dagegen wird die Sekretion unter der Hintergrundinfusion von Ex-9 i.v. gegenübergestellt. Ex-9 wirkt als Antagonist von GLP-1 und blockiert die Hemmung der Sekretion unter der Mischmahlzeit .MW  $\pm$  SW

## **4.2 Blutglukose und Plasmahormonkonzentrationen**

Die summarischen Daten mit Statistik sind in Tabelle 5 und Tabelle 6 wiedergegeben.

### **4.2.1 Blutglukose**

Siehe Tabelle 5 und Abbildung 7.

Die duodenale Aminosäurenperfusion hat keinen signifikanten Einfluss auf die Blutglukosekonzentrationen. Nach Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum kommt es zu einem geringfügigen, aber signifikanten Anstieg der Blutglukose um etwa 7.5 mg/dl verglichen mit der Basalperiode ( $P < 0.001$ ).

Die intravenöse Infusion von Exendin-9 bewirkt verglichen mit intravenösem NaCl einen signifikanten Anstieg der Blutglukosekonzentration unabhängig von der duodenalen Perfusion, d.h. nüchtern, während duodenaler Aminosäuren und nach zusätzlicher Perfusion der Ileummahlzeit. Es besteht keine signifikante Interaktion mit der Art der Perfusion ( $P = 0.140$ ), so dass dieser Effekt statistisch unabhängig von der Perfusion nachweisbar ist. Der Anstieg der Blutglukosekonzentration unter Exendin(9-39) ist quantitativ moderat ausgeprägt und beträgt etwa 5-10 mg/dl. ( $P < 0.015$ ).

## Blutglukose und Plasmahormone des endokrinen Pankreas

	0.154 M NaCl i.v.			Exendin(9-39) i.v.			ANOVA		
	NaCl duodenal 70min	AS duodenal 100-130min	+ Ileal meal 150-240min	NaCl duodenal 70min	AS duodenal 100-130min	+ Ileal meal 150-240min	P(infusion)	P(Perfusion)	P(interaction)
<b>Blutglukose</b> (mg/dl)	-5.4±2.3	-2.2±2.1	2.3±1.8 ***###	4.3±2.1 §	3.1±1.6 §	7.3±2.0 ***###§	0.015	<0.001	0.140
<b>Insulin</b> (µU/ml)	0.5±0.4	4.1±1.4 **	6.4±1.2 ***	-0.1±0.7	4.9±1.5 **	3.8±1.4 ***	0.184	<0.001	0.129
<b>Glukagon</b> (pg/ml)	1.6±2.5	15.5±3.5	35.1±7.2 **#	9.0±3.2§	24.2±3.7 §	44.1±5.9 **#§	0.013	0.002	0.811

Tabelle 5: Über basal (0-30min) ansteigende Blutglukosekonzentration und Plasmakonzentration der Pankreashormone während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal bra-ke) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10

P(infusion) <0.05: signifikanter Effekt von Exendin(9-39) verglichen mit 0.154 M NaCl

P(perfusion) <0.05: signifikanter Effekt von duodenalen AS und/oder ilealer Perfusion

P(interaction) <0.05: signifikante Interaktion zwischen den Effekten der intravenösen Infusion und intestinaler Perfusion. All pairwise multicomparison:

\*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001 vs duodenales NaCl, gleiche intravenöse Infusion

### : P<0.001 vs duodenale AS, gleiche intravenöse Infusion

§§ : P<0.01 für Exendin(9-39) vs intravenöses NaCl, gleiche duodenale Perfusion

## Gastrointestinale Hormone

	0.154 M NaCl i.v.			Exendin(9-39) i.v.			ANOVA		
	NaCl duodenal 70min	AS duodenal 100-130min	+ Ileal meal 150-240min	NaCl duodenal 70min	AS duodenal 100-130min	+ Ileal meal 150-240min	P(infusion)	P(Perfusion)	P(interaction)
<b>PYY</b> (pg/ml)	1.8±1.9	12.9±5.4	71.7±13.7 ***###	-1.9±2.0	5.7±4.6	102.2±16.9 ***###§§§	0.188	<0.001	<0.001
<b>PP</b> (pM)	2.0±1.2	6.3±1.8 **	1.3±0.9 #	-0.7±0.6	9.9±5.0 **	9.5±4.1 ***§	0.210	0.006	0.048
<b>GLP-1</b> (pM)	0.7±0.4	7.3±1.8 *	12.3±2.6 ***##	0.7±0.5	5.4±2.7 *	15.2±2.7 ***##	0.747	<0.001	0.403
<b>CCK-8</b> (pM)	0.0±0.0	0.30±0.21	0.25±0.11 *	0.03±0.07	0.25±0.11	0.77±0.29 *§	0.133	0.019	0.314
<b>Gastrin</b> (pg/ml)	0.8±2.0	3.0±2.5	3.6±2.2 *	-1.8±1.6	0.8±1.7	3.1±2.2 *	0.441	0.027	0.392

Tabelle 6: Über basal (0-30min) ansteigende Plasmakonzentration der gastrointestinalen Hormone während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodенaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10

P(infusion) <0.05: signifikanter Effekt von Exendin(9-39) verglichen mit 0.154 M NaCl

P(perfusion) <0.05: signifikanter Effekt von duodenalen AS und/oder ilealer Perfusion

P(interaction) <0.05: signifikante Interaktion zwischen den Effekten der intravenösen Infusion und intestinaler Perfusion. All pairwise multicomparison:

\*:P<0.05, \*\*\*:P<0.001 vs duodenales NaCl, gleiche intravenöse Infusion, ##:P<0.01, ###:P<0.001 vs duodenale AS, gleiche intravenöse Infusion

§:P<0.05, §§§:P<0.01 für Exendin(9-39) vs intravenöses NaCl, gleiche duodenale Perfusion

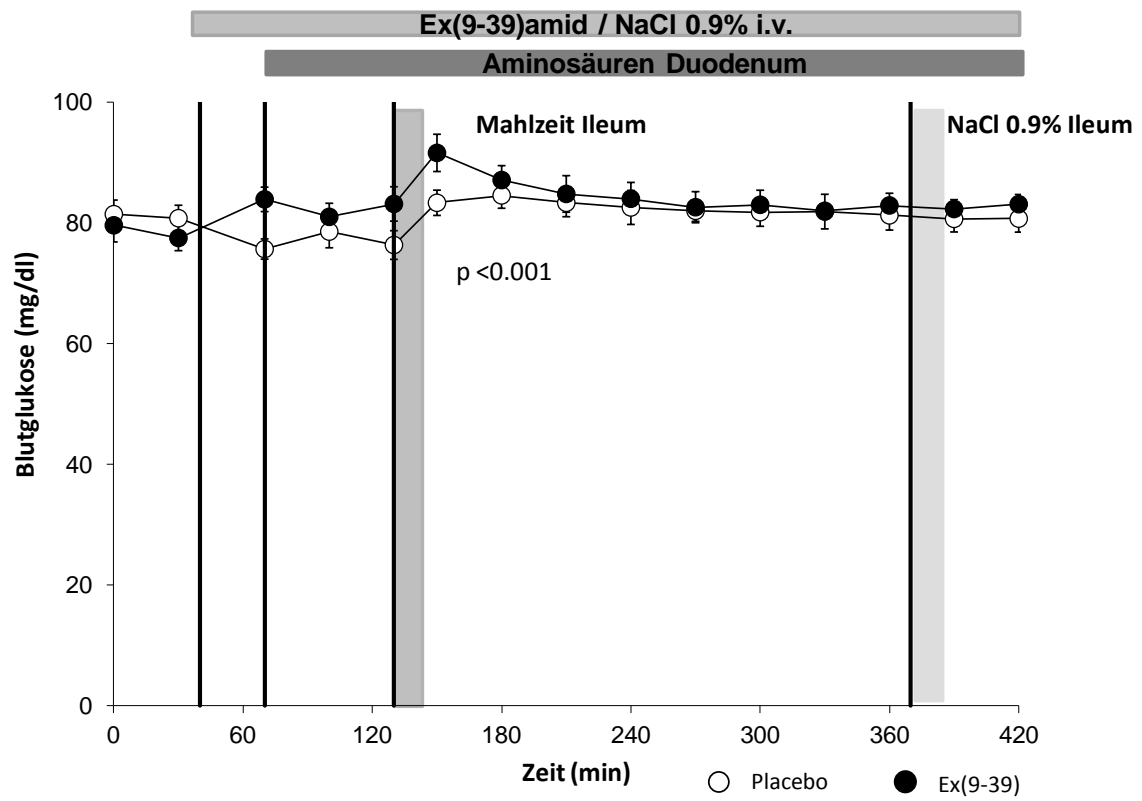


Abbildung 7: Zeitlicher Verlauf der Blutglukosekonzentration (N=10). MW $\pm$ SEM

### 4.2.2 *Insulin*

Siehe Tabelle 5 und Abbildung 8.

Sowohl unter NaCl-Infusion als unter Exendin-9 kommt es zu einem geringfügigen, aber signifikanten Anstieg der Insulinsekretion, sobald Aminosäuren ins Duodenum perfundiert werden ( $P < 0.001$ ). Auch nach zusätzlicher Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum bleiben die Insulinplasmakonzentrationen verglichen mit der basalen Periode erhöht, jedoch führt die Ileumperfusion nicht zu einer im Vergleich zur Aminosäureperfusion verstärkten Insulinsekretion. Die Insulinsteigerung ist somit am ehesten durch die Aminosäuren bedingt.

Obwohl die Insulinkonzentrationen unter Exendin-9 etwas geringer sind, ist dieser Effekt nicht signifikant ( $P = 0.184$ ).

### 4.2.3 *Glukagon*

Siehe Tabelle 5 und Abbildung 9.

Sowohl unter NaCl-Infusion als auch unter Exendin-9 kommt es zu einem signifikanten Anstieg der Glukagonsekretion nach Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum ( $P=0.002$ ). Bereits unter der duodenalen Aminosäureperfusion steigen die Glukagonplasmaspiegel, der Anstieg wird aber erst in der Phase nach der Ileumperfusion signifikant. Dennoch scheint es, dass nicht die Ileumperfusion, sondern die kontinuierliche duodenale Aminosäureperfusion diesen Anstieg bewirkt.

Unter Exendin-9 sind die Plasmaglukagonkonzentrationen verglichen mit intravenösem NaCl signifikant erhöht ( $P=0.013$ ). Diese Steigerung ist unabhängig von der Art der intestinalen Perfusion, besteht also nüchtern, während duodенaler Aminosäuren und nach zusätzlicher Perfusion der Ileummahlzeit.

Diese Glukagonstimulation unter Exendin-9 ist die wahrscheinliche Ursache der parallel erhöhten Blutglukosekonzentrationen (siehe 4.2.1).



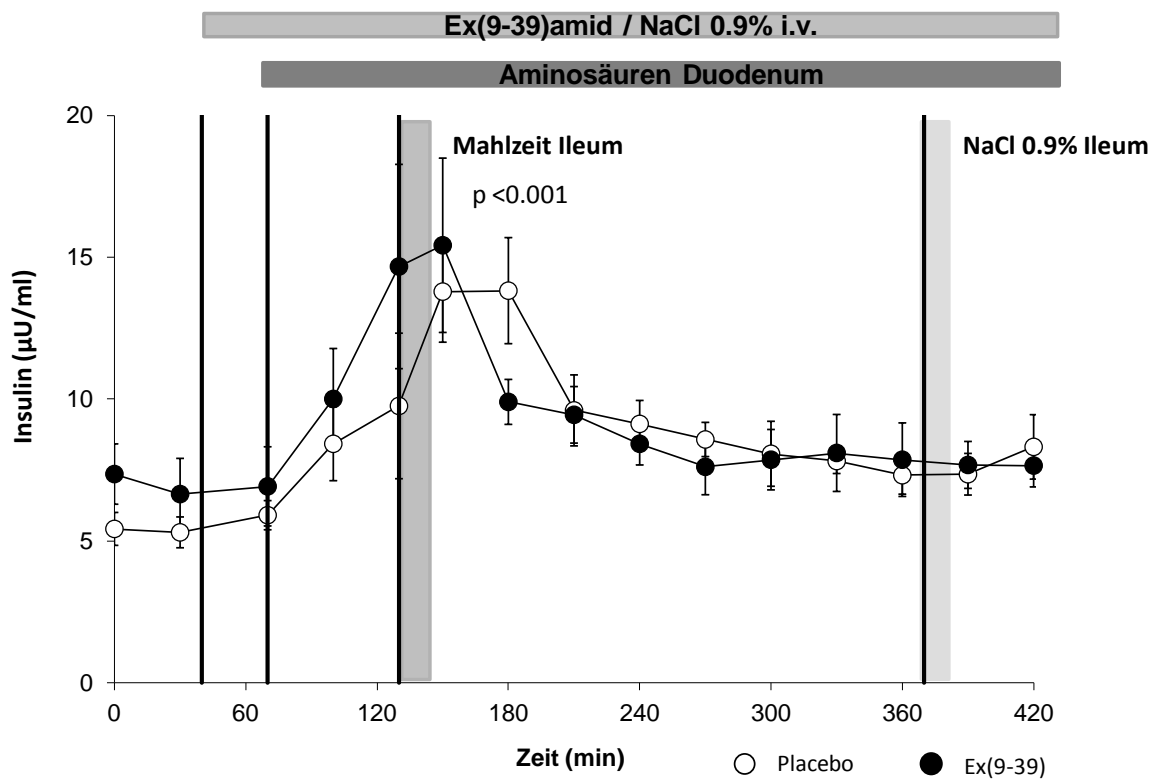


Abbildung 8: Zeitlicher Verlauf der Insulin-Plasmakonzentrationen (N=10).  
MW±SEM

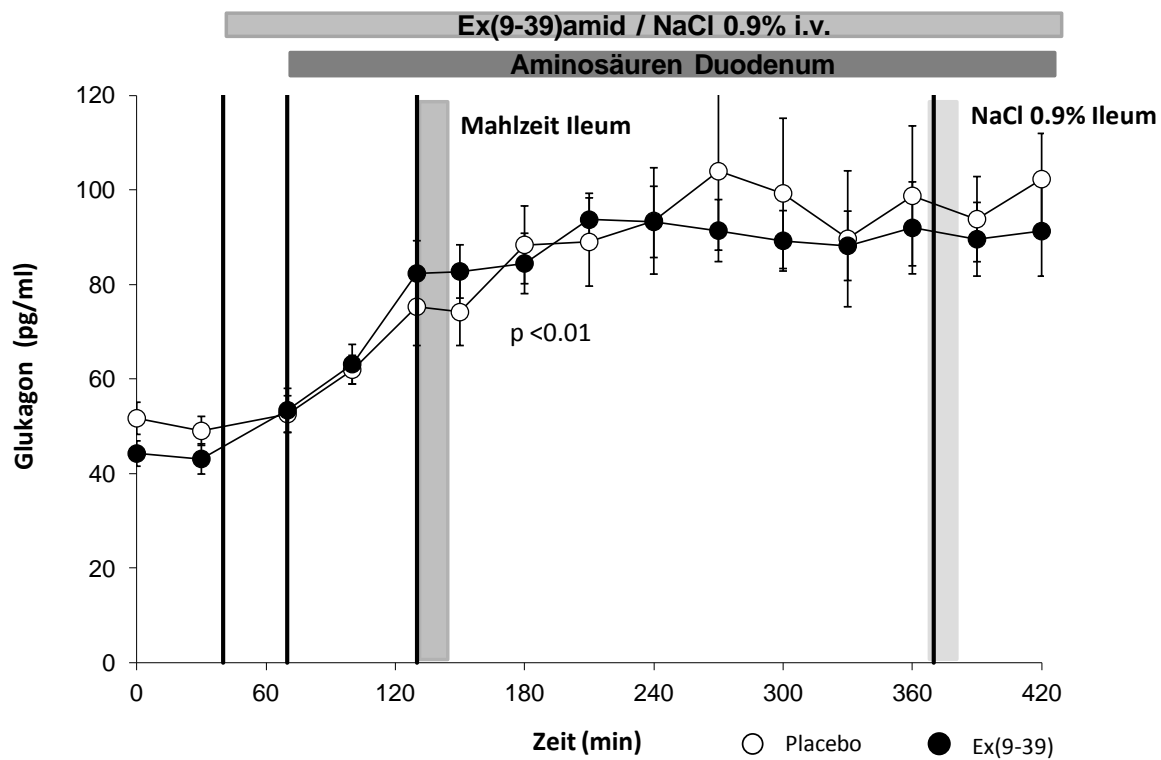


Abbildung 9: Zeitlicher Verlauf der Glukagon-Plasmakonzentrationen (N=10).  
MW±SEM

#### **4.2.4 GLP-1 und PYY**

Siehe Tabelle 6 und Abbildung 10, Abbildung 11.

Die duodenale Perfusion von Aminosäuren verursacht einen moderaten, aber signifikanten Anstieg der GLP-1-Plasmakonzentrationen ( $P < 0.05$  vs NaCl-Perfusion). Dieser Anstieg wird noch einmal signifikant verstärkt durch die zeitlich umschriebene Nährstoffperfusion ins Ileum ( $P < 0.01$  vs Aminosäuren-Perfusion).

Exendin-9 hat in vorliegender Arbeit keinen Einfluss auf die Plasmakonzentrationen von GLP-1.

Die Nährstoffperfusion ins Ileum, nicht aber die duodenale Aminosäureperfusion führt zu einem deutlichen und anhaltenden Anstieg der Plasmakonzentrationen von PYY sowohl unter intravenösem NaCl ( $P < 0.001$ ) als auch unter Exendin-9 ( $P < 0.001$ ). Verglichen mit intravenösem NaCl erhöht Exendin-9 signifikant die PYY-Plasmakonzentrationen während der Ileumperfusion ( $P < 0.001$ ), nicht aber nüchtern oder während der duodenalen Aminosäurenperfusion.

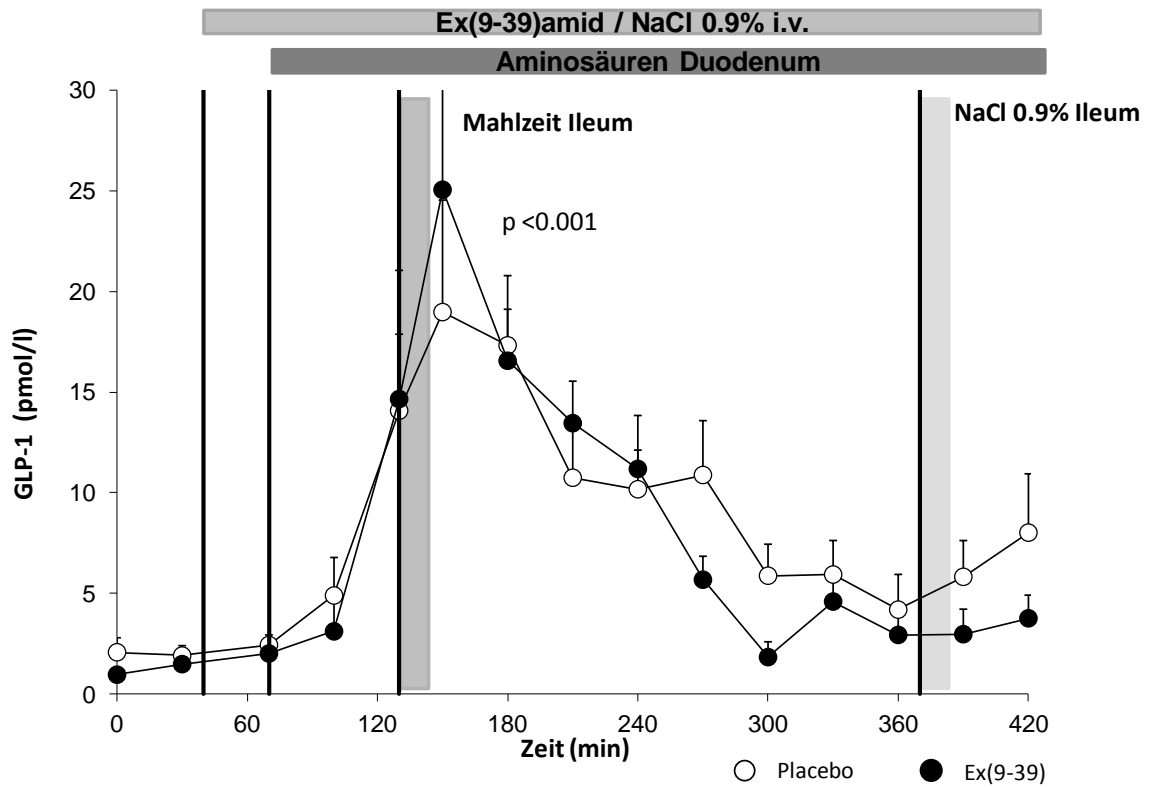


Abbildung 10: Zeitlicher Verlauf der GLP-1-Plasmakonzentrationen (N=10).

MW±SEM

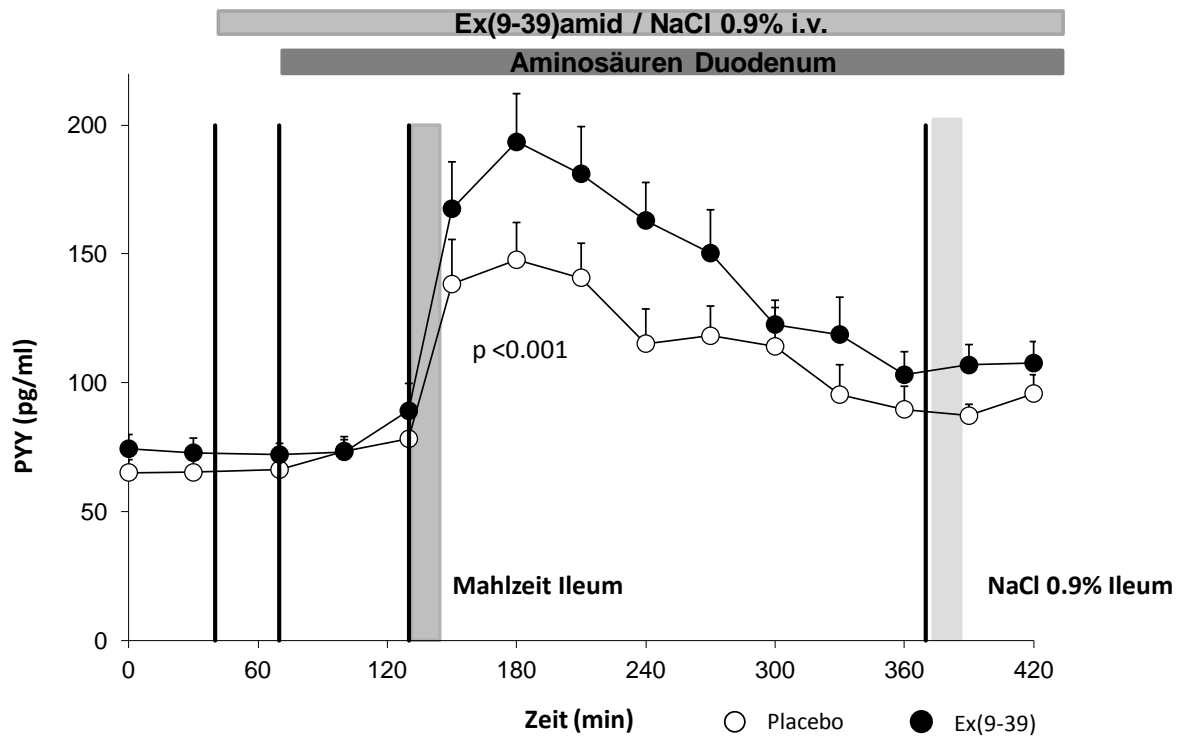


Abbildung 11: Zeitlicher Verlauf der PYY-Plasmakonzentrationen (N=10). MW±SEM

#### 4.2.5 Pankreatisches Polypeptid (PP), Gastrin und CCK-8

Siehe Tabelle 6 und Abbildung 12, Abbildung 13 und Abbildung 14.

Unter NaCl-Infusion kommt es zu einem signifikanten Anstieg der pankreatischen Polypeptid-Sekretion sobald Aminosäuren ins Duodenum perfundiert werden ( $P < 0.01$ ). Nach Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum kommt es zu einem drastischen Abfall der PP-Konzentration gegenüber der duodenalen Aminosäurenstimulation ( $1.3 \pm 0.9$  vs  $6.3 \pm 1.8$ ,  $P < 0.05$ ). Dieser Abfall hält über etwa 120 min an.

Unter Exendin-9 kommt es ebenfalls zu einem signifikanten Anstieg der pankreatischen Polypeptid-Sekretion sobald Aminosäuren ins Duodenum perfundiert werden ( $P < 0.01$ ). Nach Gabe der ilealen Mischmahlzeit kommt es unter Exendin-9 zu keinem signifikanten Unterschied der PP-Sekretion verglichen mit den Werten davor, die PP-Plasmakonzentrationen bleiben gegenüber den basalen Werten erhöht ( $P < 0.001$ ).

Unter Salineinfusion kommt es also während der ileal brake zu einem Abfall von PP, der unter Exendin-9 aufgehoben wird ( $1.3 \pm 0.9$  vs  $9.5 \pm 4.1$ ,  $P < 0.05$ ).

Die Perfusion von Aminosäuren führt sowohl unter intravenösem NaCl als auch unter Exendin-9 zu einem geringen Anstieg der Gastrin-Plasmakonzentration, dieser ist jedoch nicht signifikant ( $P = 0.078$  vs NaCl-Perfusion). Nach Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum steigt dann die Plasmakonzentration von Gastrin gegenüber den basalen Werten weiter an und wird signifikant ( $P = 0.023$  vs NaCl-Perfusion). Exendin-9 hat keinen Einfluss auf die Plasmaspiegel von Gastrin ( $P = 0.441$ ).

Ähnlich wie die Plasmakonzentrationen von Gastrin werden auch die Plasmaspiegel von CCK-8 durch die duodenalen Aminosäuren unabhängig von der intravenösen Infusion erhöht, aber nicht signifikant ( $P = 0.118$  vs NaCl-Perfusion). Die ileale Mahlzeitperfusion senkt die CCK-Konzentrationen – allerdings nicht signifikant - verglichen mit den Werten unter alleiniger duodенaler Aminosäureperfusion während eines Zeitraums von 120 min (Abbildung 14). Exendin-9 steigert die CCK-8-Konzentrationen signifikant nach der Ileumperfusion und verhindert dabei deren Abfall.

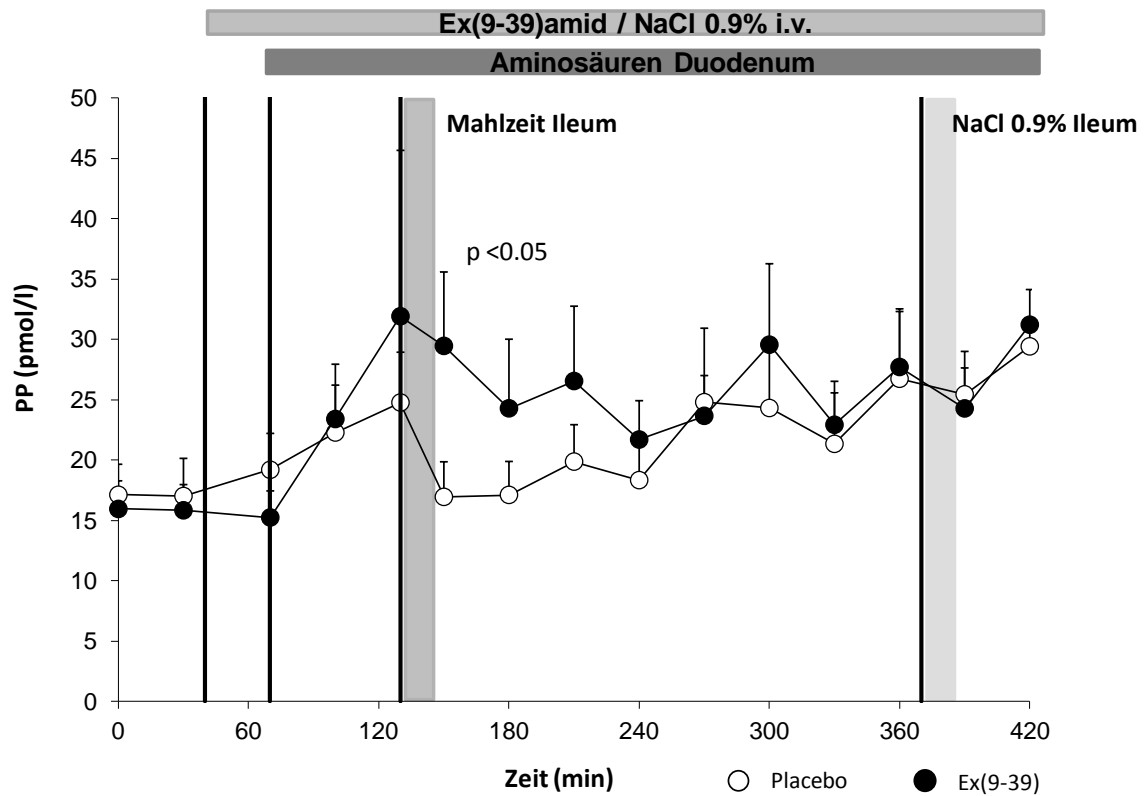


Abbildung 12: Zeitlicher Verlauf der Pankreatischen Polypeptid (PP) - Plasmakonzentrationen (N=10)

Duodenale Aminosäuren stimulieren signifikant die PP-Plasmakonzentrationen. PP wird durch die Ileummahlzeit für einen Zeitraum von etwa 120 min reduziert. Diese Hemmung unterbleibt unter intravenösem Exendin-9.

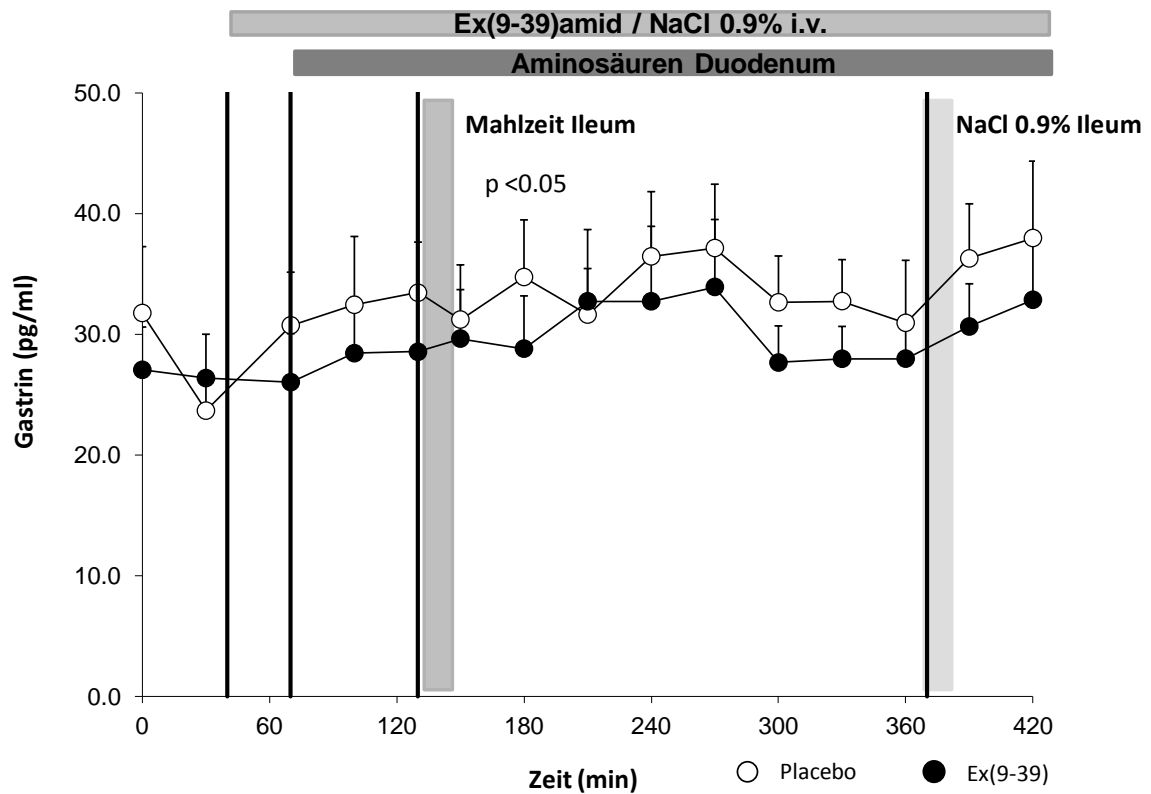


Abbildung 13: Zeitlicher Verlauf der Gastrin-Plasmakonzentrationen (N=10)

Sowohl duodenale Aminosäuren als auch die Ileummahlzeit führen zu einem Anstieg von Gastrin, der nach der Ileummahlzeit signifikant ist. Exendin-9 hat keinen Einfluss auf die Gastrinplasmakonzentrationen.



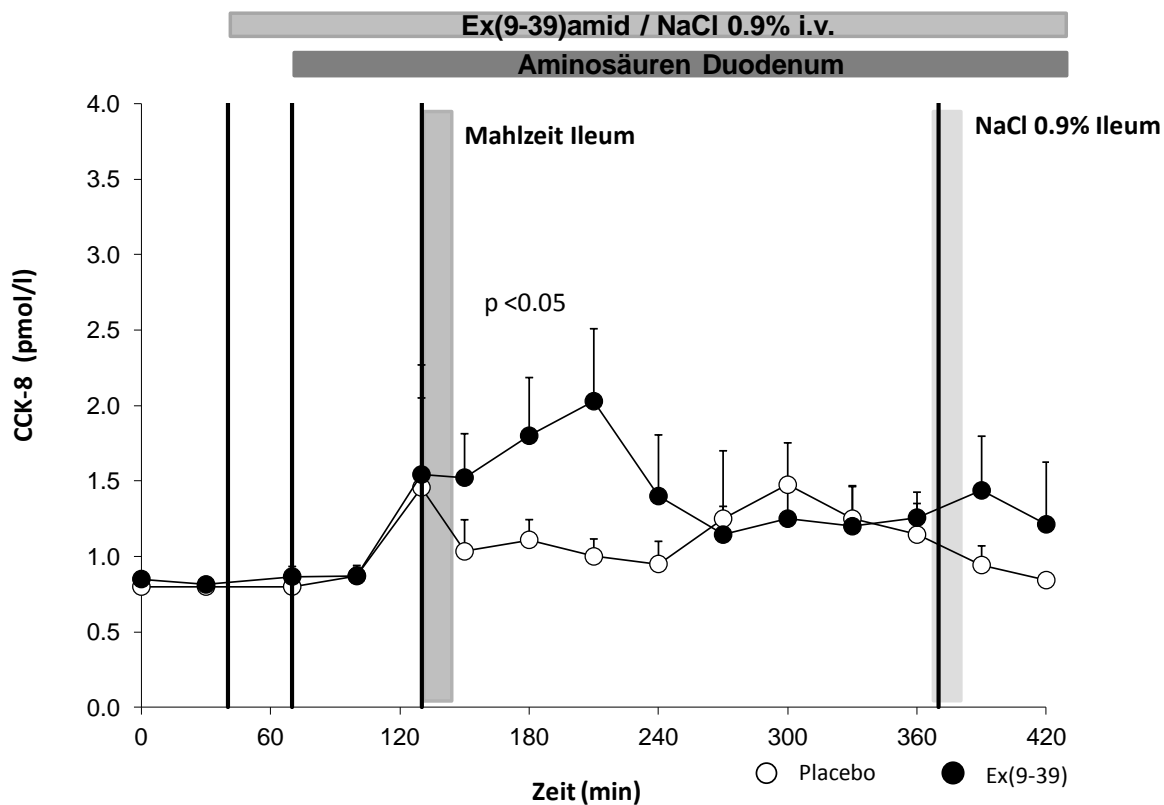


Abbildung 14: Zeitlicher Verlauf der CCK-8-Plasmakonzentrationen (N=10)

Duodenale Aminosäuren steigern CCK-8 Plasmakonzentrationen. Die Ileale Perfusion von Nährstoffen senkt CCK-8 für etwa 120 min. Exendin-9 verhindert diese Hemmung.

### **4.3 Antro-duodenale Motilität**

Die summarischen Daten mit Statistik sind in Tabelle 7 und Tabelle 8 wiedergegeben.

#### **4.3.1 Phase III des MMC**

Unter NaCl-Infusion beobachteten wir (visuell ausgewertet auf dem Monitor) bei 3 von 10 Probanden eine Phase III. Dagegen kam in der Exendin-Aufsättigungsphase bei 7 von 10 Probanden eine Phase III vor. Nimmt man die AS-Perfusion-Phase hinzu, dann hatten 8 von 10 Probanden unter Exendin-9 und 5 von 10 Probanden unter NaCl eine Phase III, gefolgt von einer Phase I. Somit wurden mehr Phase III unter Exendin-9-39 gezählt mit anschließendem Uebergang in eine Phase I als unter NaCl-Infusion.

#### **4.3.2 Antrale Motilität**

Siehe Tabelle 7 und Abbildung 15, Abbildung 16 und Abbildung 17.

#### **Motilitätsindex**

Unter NaCl-Infusion gibt es keinen Unterschied des Motilitätsindex wenn Aminosäuren ins Duodenum perfundiert werden. Nach Gabe der ilealen Mahlzeit kommt es jedoch zu einer signifikanten Abnahme des Motilitätsindex sowohl gegenüber den basalen Werten ( $2.8 \pm 0.4$  vs  $6.4 \pm 0.6$ ,  $P < 0.01$ ) wie auch den Werten der duodenalen Aminosäurenperfusion ( $2.8 \pm 0.4$  vs  $5.0 \pm 0.6$ ,  $P < 0.05$ ). Diese ileal brake dauert etwa 120 min an.

Unter Exendin-9 kommt es auch erst nach Gabe der Mischmahlzeit zu einem Abfall des Motilitätsindex (gegenüber den basalen Werten,  $3.6 \pm 0.5$  vs  $5.4 \pm 0.8$ ,  $P < 0.01$ ; gegenüber der duodenalen Aminosäurenstimulation,  $3.6 \pm 0.5$  vs  $5.1 \pm 0.8$ ,  $P < 0.05$ , respektive).

Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Antrummotilitätsindex unter Infusion mit Exendin-9 oder NaCl nach Auslösung der ileal brake ( $P = 0.915$ ). Die ileale Mahlzeit hat aber einen signifikanten Effekt auf den Motilitätsindex, indem sie drastisch abnimmt ( $P = 0.017$ ).

### ***Kontraktionsfrequenz***

Unter Infusion mit NaCl und Exendin-9 nimmt die Kontraktionsfrequenz nach Gabe der ilealen Mahlzeit tendentiell ab, signifikant sind diese Unterschiede jedoch nicht.

Die Exendin-9 Infusion hat keinen signifikanten Effekt auf die Kontraktionsfrequenz im Antrum ( $P = 0.063$ ). Weder duodenale Aminosäuren noch ileale Nährstoffe haben einen signifikanten Effekt auf die Kontraktionsfrequenz ( $P = 0.295$ ).

### ***Kontraktionsamplitude***

Unter NaCl-Infusion kommt es zu einer drastischen Reduktion der Amplitude sobald die Mischmahlzeit ins Ileum perfundiert wird (gegenüber den basalen Werten,  $21.3 \pm 2.6$  vs  $48.4 \pm 8.0$ , gegenüber der duodenalen Aminosäurenstimulation,  $21.3 \pm 2.6$  vs  $41.0 \pm 10.3$ , jeweils  $P < 0.01$ ).

Unter Exendin-9-Infusion kommt es ebenfalls zu einem signifikanten Abfall der Kontraktionsamplitude nach ilealer Mahlzeit (gegenüber den basalen Werten,  $33.4 \pm 7.8$  vs  $61.6 \pm 8.5$ , gegenüber der duodenalen Aminosäurenstimulation,  $33.4 \pm 7.8$  vs  $58.4 \pm 11.3$ , jeweils  $P < 0.01$ ).

Es wird ein signifikanter Unterschied deutlich zwischen der Exendin-9-Infusion und der NaCl-Infusion auf die Amplitude ( $P = 0.041$ ). Zu jeder Phase gibt es höhere Kontraktionsamplituden unter der Exendin-9-Infusion.

Auch die Perfusion der ilealen Mischmahlzeit hat einen signifikanten Effekt auf die Amplitude im Antrum ( $P = 0.004$ ).

## Antrale Motilität

	0.154 M NaCl i.v.			Exendin(9-39) i.v.			ANOVA		
	NaCl duodenal 40-70min	AS duodenal 110-130min	+ Ileal meal 150-230min	NaCl duodenal 40-70min	AS duodenal 110-130min	+ Ileal meal 150-230min	P (infusion)	P (Perfusion)	P (interaction)
<b>Motilitätsindex</b> (mmHg)	6.4±0.6	5.0±0.6	2.8±0.4 **#	5.4±0.8	5.1±0.8	3.6±0.5 **#	0.915	0.017	0.157
<b>Kontraktionsfrequenz</b> (/10min)	8.3±1.4	7.7±1.3	4.7±1.7	5.2±1.4	4.6±1.0	3.8±0.9	0.063	0.295	0.411
<b>Kontraktionsamplitude</b> (mmHg)	48.4±8.0	41.0±10.3	21.3±2.6 ***##	61.6±8.5§	58.4±11.3 §	33.4±7.8 ***##§	0.041	0.004	0.941

Tabelle 7: Parameter der antralen Motilität während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10

P(infusion) <0.05: signifikanter Effekt von Exendin(9-39) verglichen mit 0.154 M NaCl

P(perfusion) <0.05: signifikanter Effekt von duodenalen AS und/oder ilealer Perfusion

P(interaction) <0.05: signifikante Interaktion zwischen den Effekten der intravenösen Infusion und intestinaler Perfusion. All pairwise multicomparison:

\*\* : P<0.01 vs duodenales NaCl, gleiche intravenöse Infusion

# : P<0.05, ## : P<0.01 vs duodenale AS, gleiche intravenöse Infusion

§ : P<0.05 für Exendin(9-39) vs intravenöses NaCl, gleiche duodenale Perfusion

**Duodenale Motilität**

	0.154 M NaCl i.v.			Exendin(9-39) i.v.			ANOVA		
	NaCl duodenal 40-70min	AS duodenal 110-130min	+ Ileal meal 150-230min	NaCl duodenal 40-70min	AS duodenal 110-130min	+ Ileal meal 150-230min	P (infusion)	P (Perfusion)	P (interaction)
<b>Motilitätsindex</b> (mmHg)	7.8±0.7	7.3±0.7	4.7±0.6 ***###	7.9±0.7	7.8±0.5	7.3±0.3 §§	0.254	0.001	0.016
<b>Kontraktionsfrequenz</b> (/10min)	16.0±2.8	14.5±3.1	9.2±2.2	19.9±4.9	15.7±2.5	14.8±1.7	0.395	0.067	0.654
<b>Kontraktionsamplitude</b> (mmHg)	28.7±2.7	29.5±3.9	20.4±0.7 *##	29.4±2.3	27.7±1.2	25.5±2.3	0.559	0.042	0.158

Tabelle 8: Parameter der duodenalen Motilität während der basalen Phase (NaCl duodenal), unter duodenaler Aminosäuren (AS)Perfusion und nach zusätzlicher Ileumperfusion (15min, 44kcal, ileal brake) mit intravenöser Infusion von 0.154 M NaCl oder Exendin(9-39). Mittelwert± SEM. N=10

P(infusion) <0.05: signifikanter Effekt von Exendin(9-39) verglichen mit 0.154 M NaCl

P(perfusion) <0.05: signifikanter Effekt von duodenalen AS und/oder ilealer Perfusion

P(interaction) <0.05: signifikante Interaktion zwischen den Effekten der intravenösen Infusion und intestinaler Perfusion. All pairwise multicomparison:

\*:P<0.05, \*\*\*:P<0.001 vs duodenales NaCl, gleiche intravenöse Infusion

##:P<0.01, ###:P<0.001, vs duodenale AS, gleiche intravenöse Infusion

§§:P<0.01 für Exendin(9-39) vs intravenöses NaCl, gleiche duodenale Perfusion

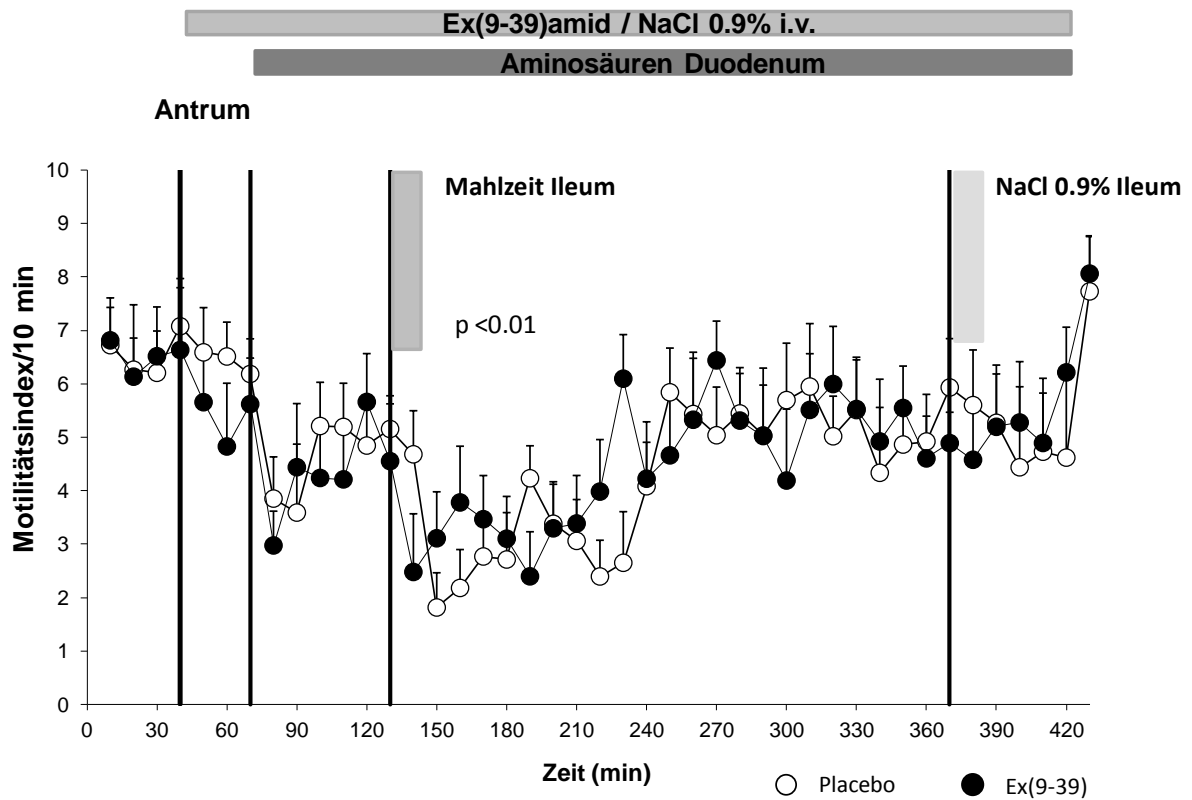


Abbildung 15: Zeitlicher Verlauf des **Motilitätsindex** im Antrum

Unter 0.154 M NaCl kommt es nach Gabe der ilealen Mahlzeit zu einer signifikanten Abnahme des Motilitätsindex für die Dauer von etwa 120 min. Dies wird durch Exen-  
din-9 nicht beeinflusst.

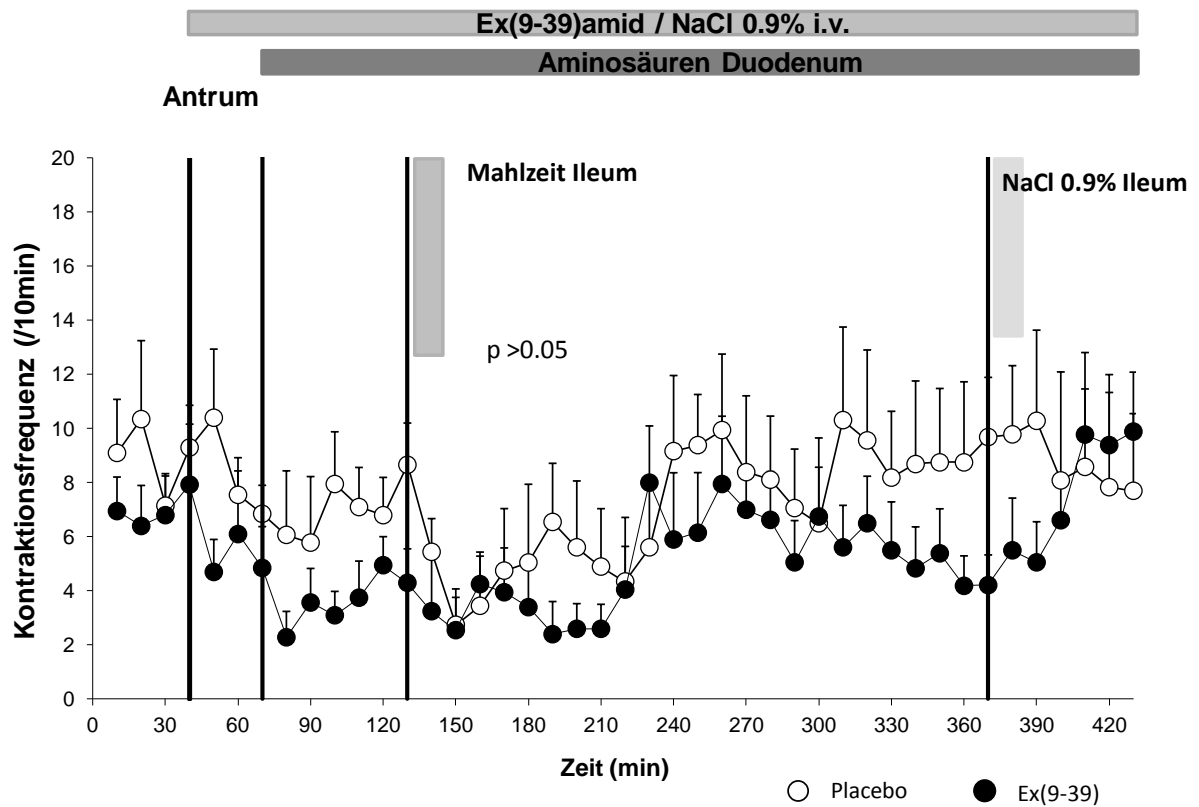


Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der **Kontraktionsfrequenz** im Antrum

Unter 0.154 M NaCl kommt es nach Gabe der ilealen Mahlzeit zu einer nicht-signifikanten Abnahme der Kontraktionsfrequenz für die Dauer von etwa 120 min. Dies wird durch Exendin-9-39 nicht beeinflusst.

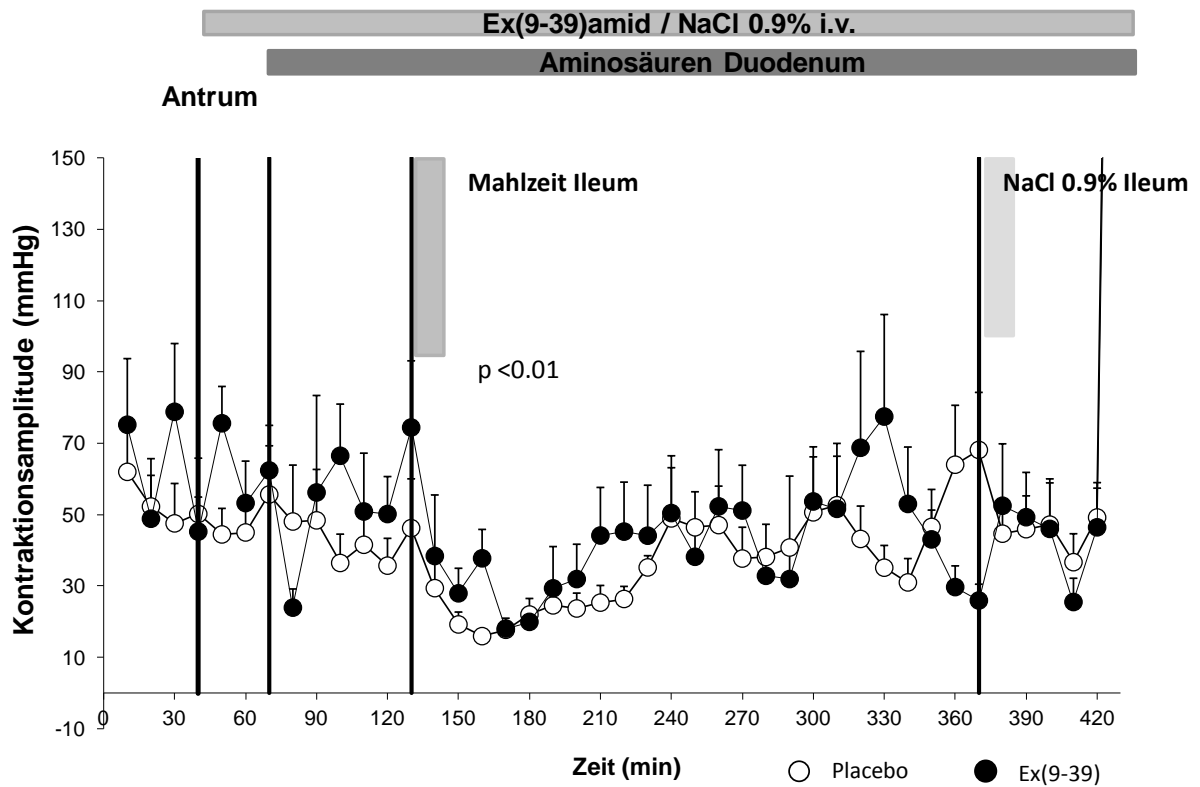


Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der **Kontraktionsamplituden** im Antrum

Es kommt zu einem deutlichen Abfall der Amplitude im Antrum, sobald die ileal brake durch die Ileumperfusion ausgelöst wird, sowohl unter 0.154 M NaCl als auch unter Exendin-9. Unter der Exendin-9-Infusionen sind zu jeder Phase signifikant höhere Kontraktionsamplituden sichtbar.



### **4.3.3 Duodenale Motilität**

Siehe Tabelle 8, Abbildung 18, Abbildung 19 und Abbildung 20.

#### ***Motilitätsindex***

Unter NaCl-Infusion kommt es nach Perfusion der ilealen Nährstoffe zu einem signifikanten Abfall des Motilitätsindex im Duodenum für die Dauer von etwa 120 min (gegenüber den basalen Werten,  $4.7 \pm 0.6$  vs  $7.8 \pm 0.7$ , gegenüber der duodenalen Aminosäurenstimulation,  $4.7 \pm 0.6$  vs  $7.3 \pm 0.7$ , jeweils  $P < 0.001$ ).

Unter Exendin-9 kommt es weder nach duodенaler Aminosäuren noch nach ilealer Mahlzeitperfusion zu einem Unterschied des Motilitätsindex. Exendin-9 unterdrückt die ileal brake partiell und signifikant ( $7.3 \pm 0.3$  vs  $4.7 \pm 0.6$ ,  $P < 0.01$ ).

#### ***Kontraktionsfrequenz***

Die Ileumperfusion mit Nährstoffen führt zu einer nicht-signifikanten Abnahme der duodenalen Kontraktionsfrequenz während etwa 60min. Unter Exndin-9 ist diese Reduktion weniger stark ausgeprägt, aber ebenfalls nicht signifikant.

#### ***Kontraktionsamplitude***

Unter NaCl-Infusion kommt es nach Gabe der ilealen Mahlzeit zu einem Abfall der Kontraktionsamplitude (gegenüber den basalen Werten für die Dauer von etwa 60 min ( $20.4 \pm 0.7$  vs  $28.7 \pm 2.7$ ,  $P < 0.05$ ; gegenüber der duodenalen Aminosäurenstimulation,  $20.4 \pm 0.7$  vs  $29.5 \pm 3.9$ ,  $P < 0.01$ , respektive). Unter Exendin-9-Infusion unterbleibt diese Hemmung ( $P = 0.559$ ).

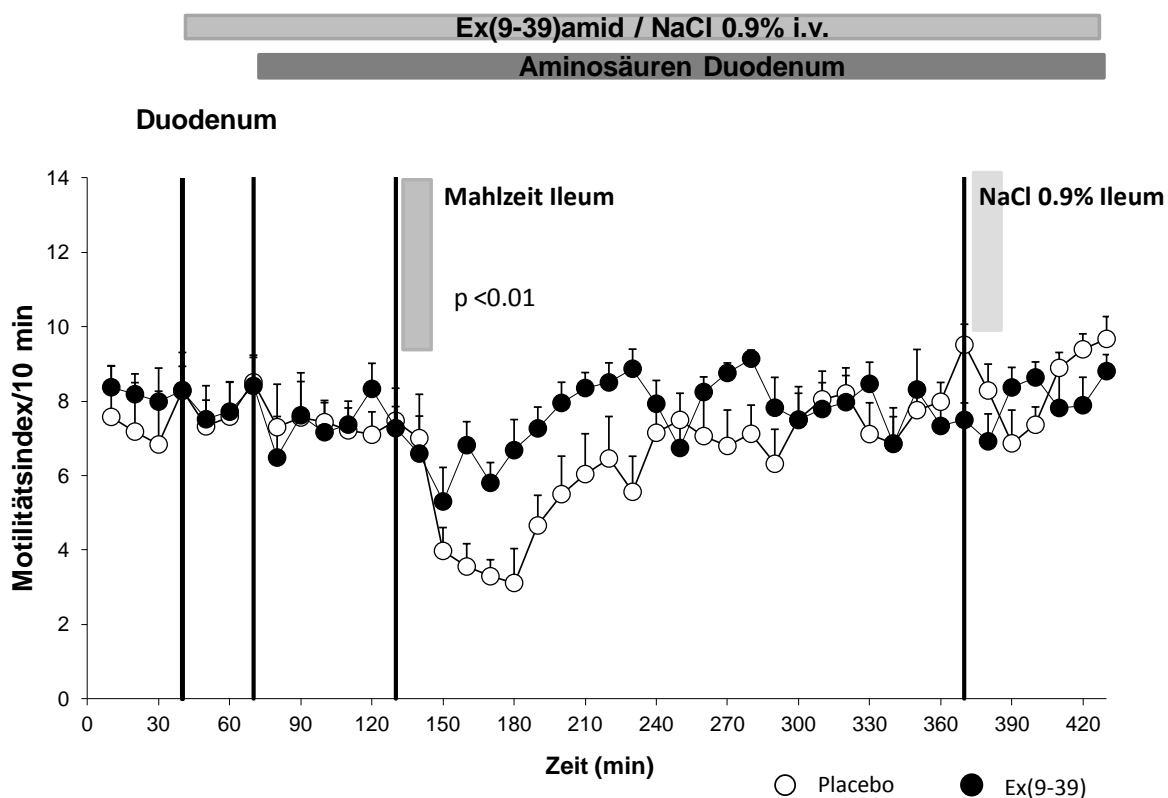


Abbildung 18: Zeitlicher Verlauf des **Motilitätsindex** im Duodenum

Unter NaCl-Infusion kommt es nach Perfusion der ilealen Nährstoffe zu einem signifikanten Abfall des Motilitätsindex im Duodenum für die Dauer von etwa 120 min. Dies wird signifikant gehemmt durch Exendin-9.

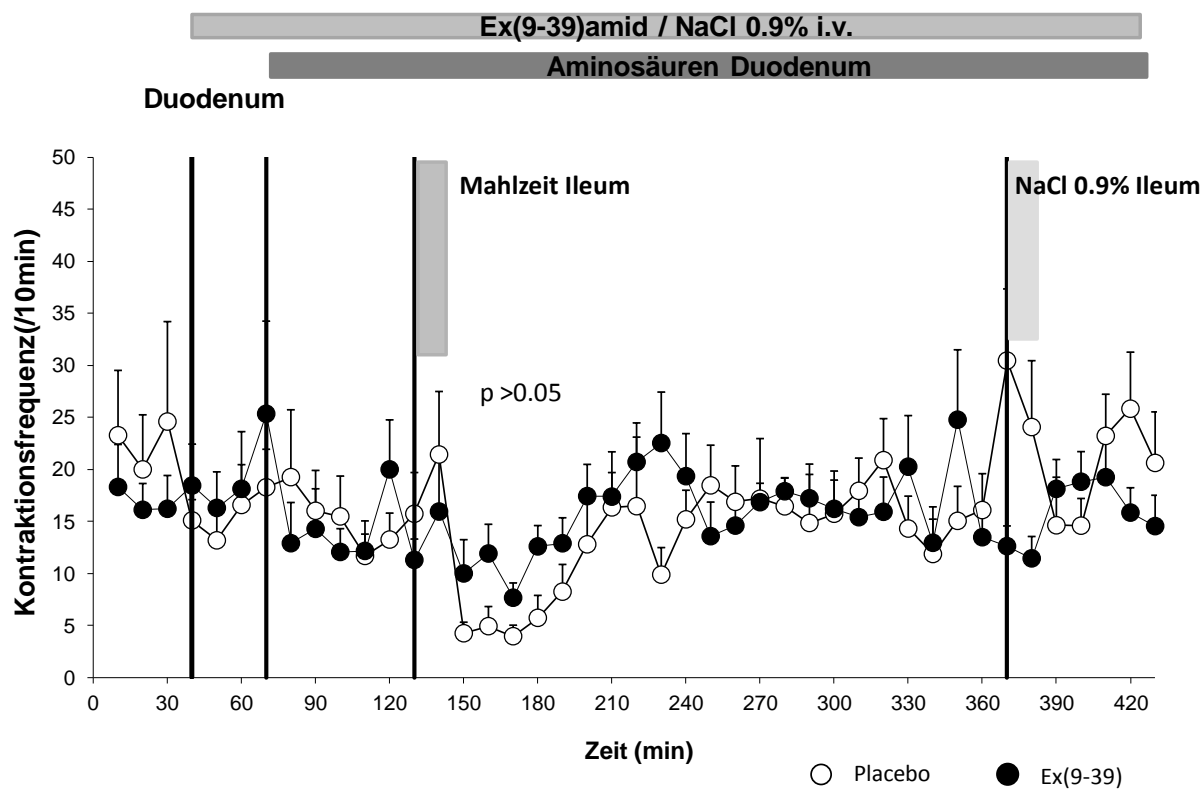


Abbildung 19: Zeitlicher Verlauf der **Kontraktionsfrequenz** im Duodenum

Nach ilealer Nährstoffperfusion nimmt die Kontraktionsfrequenz tendentiell ab für die Dauer von etwa 60min. Exendin-9 hebt diesen Effekt partiell auf. Die Unterschiede sind aber nicht signifikant.

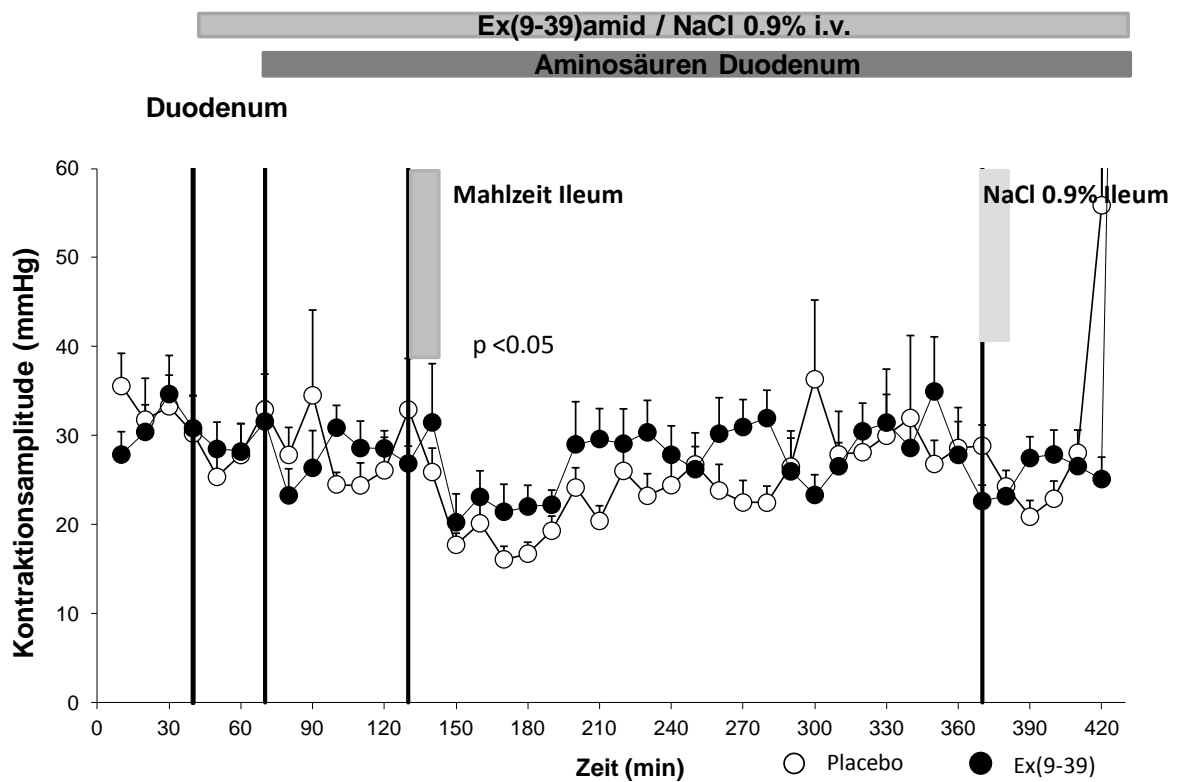


Abbildung 20: Zeitlicher Verlauf der **Kontraktionsamplitude** im Duodenum

Unter NaCl-Infusion kommt es nach Gabe der ilealen Mahlzeit zu einem signifikanten Abfall der Kontraktionsamplitude, partiell, aber nicht signifikant hemmbar durch Exen-  
din-9

## 5 Diskussion

Verdauung und Absorption von Nährstoffen beinhalten zeitintensive mechanische Prozesse wie Zerkleinerung der Mahlzeit, Durchmischung mit Verdauungssäften und Transport der Nährstoffe. Nährstoffe werden hydrolytisch gespalten und anschliessend über die Darmschleimhaut ins Blut aufgenommen. Zu diesem Vorgang gehört ein fein aufeinander abgestimmtes Zusammenspiel von gastrointestinalem Transport, endokriner und exokriner Pankreassekretion sowie der Magen-Darm- Gehirn Achse („gut brain axis“). Diese Achse vermittelt Sättigung aber auch das Gefühl von Völlegefühl, Meteorismus und Übelkeit. Damit Verdauung und Absorption in optimaler Weise ablaufen können, gibt es nährstoffgetriggerte Bremsmechanismen die den gastrointestinalen Durchgang kontrollieren.

Im Rahmen der physiologischen Malabsorption gelangt bei jeder Mahlzeit eine gewisse Menge an unverdauten Nährstoffen vom Magen ins Ileum (Anderson et al. 1981, Levitt et al. 1987, Stephen et al. 1983). Durch den direkten Kontakt von unverdauten Fetten, Kohlenhydraten und Proteine lösen die Nährstoffe an Zellen der Dünndarmmukosa einen Bremsmechanismus aus (Brown et al. 1990, Hammer et al. 1998, Spiller et al. 1984). Während diesem Prozeß kommt es zu einer Hemmung sowohl der Magenentleerung wie auch des Transports von Nährstoffen im Dünndarm. Nährstoffe verbleiben länger im Magen, können gespalten und anschliessend absorbiert werden. Die ileal brake ist der ausgeprägteste und wichtigste unter den Bremsmechanismen (Lin et al. 1996a, 1997). Diese Bremse arbeitet rückkopplungsartig als ein intestino-gastraler und intestino-intestinaler Reflex (Spiller et al. 1988, Spiller et al. 1984).

Glucagon-like Peptid-1 ist ein Hormon, das aus endokrinen L-Zellen vor allem aus Ileum und Kolon freigesetzt wird. Durch Mechanismen wie Insulinfreisetzung und Hemmung der Glukagonausschüttung senkt es als Inkretinhormon bei Glukosezufuhr dosisabhängig den Blutglukosespiegel. Auch die Magenentleerung trägt zur postprandialen Blutglukosesenkung bei wie Experimente mit synthetischem GLP-1 gezeigt haben. GLP-1 kontrolliert die postprandiale Glukosehomöostase.

Im Nüchternzustand schafft es synthetisches GLP-1 dosisabhängig den proximalen Magen zu relaxieren. Es hemmt die antrale Kontraktilität, vor allem die antro-pyloro-duodenalen propulsiven Wellen und stimuliert sowohl die phasische wie auch tonische Kontraktionen des Pylorus. Mit diesem Mechanismus führt es zu einer Hemmung der Magenentleerung (Schirra et al. 2000, Schirra et al. 2002).

Neben der Hemmung der Magenentleerung tragen weitere gastrointestinale Effekte von synthetischem GLP-1 zur Reduktion der postprandialen Blutglukosekonzentration bei wie eine Hemmung des intestinalen Transits und eine Reduktion von Nahrungsaufnahme. Die Motilitätseffekte der Magenentleerung treten unter physiologischen postprandialen GLP-1 Plasmakonzentrationen auf und korrelieren mit den gastroduodenalen Motilitätseffekten, die durch Nährstoffe im Ileum ausgelöst werden. Während der Hemmung der antro-duodenalen Motilität beeinflusst synthetisches GLP-1 die gastropankreatischen Sekretionen und hemmt sowohl die Sekretion von Magensäure als auch der exokrinen Pankreasenzyme (Schirra et al. 1997a, Wettergren et al. 1994, Wettergren et al. 1993, Wettergren et al. 1997). Auch hier korrelieren die Mechanismen der ileal brake, durch Nahrung im Ileum ausgelöst, mit denen von exogenem GLP-1 bezüglich der hemmenden Wirkung auf die gastropankreatischen Sekretionen (Layer et al. 1995, Layer et al. 1990).

Da GLP-1 vor allem durch den Kontakt von Nährstoffen im Ileum sezerniert wird und die antro-duodenale Motilität wie auch die gastropankreatischen Sekretionen hemmt, kommt GLP-1 als ein möglicher Mediator der ileal brake in Frage. Layer et al. zeigten eine zeitliche Korrelation zwischen der ileal brake und der Freisetzung von endogenem GLP-1 (Layer et al. 1990).

Möglichkeiten, die tatsächlichen Wirkungen eines endogenen Hormons zu untersuchen, umfassen die Elimination des Hormons oder aber die spezifische Blockade der rezeptorvermittelten Wirkungen durch einen Antagonisten. Exendin(9-39) ist ein spezifischer Antagonist des GLP-1 Rezeptors. Erstmals in Menschen eingesetzt um die physiologischen Effekte des endogen freigesetzten Peptidhormons zu eruieren, wurde gezeigt, dass GLP-1 tonisch die Glukagonfreisetzung inhibiert und postprandial an der Glukosehomöostase beteiligt ist (Edwards et al. 1999, Schirra et al. 1998b). Es wurde

auch gezeigt, dass endogenes GLP-1 die gastroduodenale Motilität hemmt (Schirra et al. 2005).

Bis heute gibt es keine Studie, die die Rolle von endogenem GLP-1 als Mediator der ileal brake untersucht hat. Deshalb sind die Ziele vorliegender Arbeit, die Wirkung von endogenem GLP-1 auf die endogen stimulierte Magensäuresekretion, die exokrine Pankreassekretion sowie auf die antro-duodenale Motilität zu ermitteln unter Verwendung des spezifischen GLP-1 Rezeptorantagonisten Exendin(9-39).

**Die wichtigsten Ergebnisse vorliegender Arbeit sind:**

- Die Ileumperfusion von Nährstoffen führt zu einer deutlichen und temporären Hemmung der Magensäuresekretion, der exokrinen Pankreassekretion und der antroduodenalen Motilität für die Dauer von etwa 120 min. Die Freisetzung von endogenem GLP-1 ist an der Vermittlung dieser ileal brake signifikant beteiligt.
- Unter der ileal brake kommt es zu einem signifikanten Abfall der Plasmakonzentrationen von PP und einer deutlichen, aber nicht signifikanten Reduktion von CCK-8, jeweils für die Dauer von etwa 120min. Die Plasmaspiegel von Gastrin werden nicht reduziert. Exendin-9 unterdrückt sowohl die Hemmung von PP als auch von CCK-8. Es ist somit wahrscheinlich, dass endogenes GLP-1 seine hemmenden Effekte auf Sekretion und Motilität durch eine Hemmung des vagalcholinergen Input und von CCK-8 bewirkt.
- Durch Nährstoffe (AS und Mischmahlzeit) im Ileum wird endogenes GLP-1 und PYY freigesetzt. Es existiert wahrscheinlich eine Autofeedbackkontrolle von GLP-1 auf die L-Zelle und somit auf die GLP-1- und PYY-Sekretion.
- Endogenes GLP-1 reduziert die interdigestive und postprandiale Glykämie. Höhere Insulinkonzentrationen unter endogenem GLP-1 sind sichtbar (n.s.). Endogenes GLP-1 hemmt die Glukagonsekretion sowohl basal, unter Aminosäuren wie auch nach der Mischmahlzeit. Die Hemmung von Glukagon ist der wahrscheinliche Mechanismus für die Senkung der Blutzuckerkonzentrationen

## 5.1 *GLP-1-Sekretion*

GLP-1 wird aus endokrinen L-Zellen der Darmmukosa sezerniert. Diese entero-endokrinen Zellen befinden sich vor allem im terminalen Ileum und Colon (Eissele et al. 1992). Eine orale Aufnahme von Fett, Glukose oder Aminosäuren, wie auch die Einnahme einer gemischten Mahlzeit führen beim Menschen zu einer unvermittelten Freisetzung von GLP-1 (Elliott et al. 1993, Layer et al. 1995, Schirra et al. 1997a). Fett und Glukose sind potente Induktoren einer GLP-1 Freisetzung wogegen Proteine die GLP-1 Plasmakonzentration nur leicht anheben (Layer et al. 1995).

Je nach Mahlzeit kann man zwei Phasen bei der Ausschüttung der GLP-1 Freisetzung unterscheiden, einen ersten steilen Anstieg 20 Minuten nach oraler Mahlzeiteinnahme und einen zweiten Anstieg der nach 1-2 Stunden erfolgt und ein Sekretionsplateau erreicht. Anders als der erste Anstieg ist dieser von der Menge der zugeführten Glukose abhängig (Elliott et al. 1993, Herrmann et al. 1995, Rask et al. 2001, Roberge et al. 1991, Schirra et al. 1996).

Weiterhin konnten Schirra et al. zeigen, dass die GLP-1-Freisetzung von der Entleerungsgeschwindigkeit des Magens abhängt. Unterhalb einer Magenentleerungsgeschwindigkeit für Glukose von 1,4 kcal/min wurde keine messbare GLP-1 Freisetzung mehr beobachtet. Es gibt also ein Schwellenwert für den duodenalen Einstrom von Glukose, der die Freisetzung von GLP-1 determiniert (Schirra et al. 1996).

Immer noch nicht geklärt ist, wie es zu dem ersten schnellen Anstieg von GLP-1 kommt, da L-Zellen sich vor allem im terminalen Ileum und Colon befinden. L-Zellen sind auch im Jejunum entdeckt worden, fehlen jedoch im Duodenum (Eissele et al. 1992). Eine neuronale Beteiligung der GLP-1 Freisetzung wird schon länger erforscht. Hier gibt es Unterschiede zwischen den verschiedenen Spezies. In Ratten und Schweinen konnte die Beteiligung von vagalen neuronalen Faser bewiesen werden (Dumoulin et al. 1995, Herrmann-Rinke et al. 1995, Rocca et al. 1999). Als Balks et al. durch den Einsatz von Atropin die cholinerg muskarinerge Regulation der GLP-1 Freisetzung beim Menschen zeigen wollten (Balks et al. 1997), liessen sie ausser Acht, dass Atropin die Magenentleerung hemmt. Nicht Atropin führt zu einer Reduktion der GLP-1 Freisetzung sondern eine Hemmung der Magenentleerung und somit veränderter Glu-



kosetransport und Glukoseaufnahme. Schirra et al. demonstrierten, dass Atropin keinen signifikanten Einfluss auf die durch duodenale Nährstoffperfusion stimulierte GLP-1 Freisetzung hat (Schirra et al. 2009). In wie weit die GLP-1 Sekretion wirklich neuronal gesteuert wird muss also weiter erforscht werden.

Die Verteilung der L-Zellen im Intestinaltrakt widerspricht der Annahme, dass der alleinige direkte Kontakt von Nährstoffen die GLP-1-Sekretion auslöst. L-Zellen sind zwar bereits im proximalen Jejunum nachweisbar, die höchste L-Zell-Dichte findet sich jedoch im distalen Darm, dem Ileum, und dem Colon (Bryant et al. 1983, Eissele et al. 1992, Moody 1980, Sjolund et al. 1983). Der erste, schnelle Anstieg von GLP-1 ist also nicht unbedingt nur durch den Nährstoffkontakt zu erklären. Neuronal oder humorale Signalvermittlungen vom oberen zum unteren Darmtrakt werden diskutiert. Man geht davon aus, dass ein proximal-distaler Kreislauf besteht, der stimulierende Signale über einen neuronalen oder endokrinen Weg zu den L-Zellen weiterleitet (Roberge et al. 1993).

Der direkte Kontakt luminaler Nährstoffe gilt als der wichtigste Reiz für die GLP-1 Sekretion aus L-Zellen. Experimente zeigen, dass sowohl ileal zugeführte Kohlenhydrate (Layer et al. 1995) wie auch duodenale Lipidperfusionen die Sekretion stimulieren (Schirra et al. 2000).

In vorliegender Arbeit fokussierten wir auf den direkten Kontakt von Nährstoffen mit den L-Zellen, der bedeutender scheint als die neuroendokrine Regulation der Sekretion. Unsere Studienergebnisse zeigen eine erste Stimulation der GLP-1 Plasmakonzentration sobald essentielle Aminosäuren ins Duodenum gegeben werden. Die kontinuierliche duodenale Perfusion mit einer niederkalorischen Aminosäurelösung (3 ml/min, 0,62 kcal/min, 469 mOsm/l) erfolgt in Höhe der Vater'schen Papille. Wir vermuten, dass dieser leichte GLP-1 Anstieg durch die Aminosäurestimulation von L-Zellen bedingt ist. L-Zellen sind auch im proximalen Jejunum nachgewiesen worden, fehlen jedoch im Duodenum (Eissele et al. 1992). Aminosäuren sind eher schlechte Induktoren der GLP-1 Freisetzung und erreichen nur leichte Anstiege (Layer et al. 1995). Wir können in dieser Studie nicht ausschliessen, dass während der kontinuierlichen Aminosäureperfusion, ein Teil der Lösung ins Jejunum und Ileum gelangt sein soll und hier die L-Zellen zur Freisetzung angeregt haben soll.

Die ileale Nährstoffperfusion ist in etwa isokalorisch zu der kumulativen Menge physiologischer postprandial nicht absorbierter Nährstoffe (40-60 kcal) und löst die ileal brake aus: endogen vermittelte Hemmung der Magensäure- und Pankreassekretion sowie der antroduodenalen Motilität (Layer et al. 1990). Sobald wir mit der Perfusion der Mischmahlzeit ins Ileum, in einer Entfernung von 150 cm vom Pylorus, beginnen, steigt die GLP-1 Freisetzung signifikant an. Durch diesen ilealen Nährstoffkontakt bieten wir den L-Zellen direkten Kontakt mit unverdauten Nährstoffen und somit den wichtigsten Stimulus für die GLP-1 Freisetzung (Herrmann-Rinke et al. 1995, Layer et al. 1995, Layer et al. 1990). Bei der Zusammensetzung der Mischmahlzeit wird sehr genau darauf geachtet, dass die Menge an Nährstoffen, die zugeführt wird, die physiologische Malabsorption nachahmt (Layer et al. 1990, Levitt et al. 1987, Stephen et al. 1983). Die Mischmahlzeit enthält 8 g Stärke, 4 g Maltose, 10 ml Lipofundin 10%, 460 mg Ölsäure und 140 ml Aqua dest. Der Kohlenhydratanteil macht 29,5% kcal und der Lipidanteil 14,1% aus. Die Perfusionsrate beträgt 2,91 kcal/min und innerhalb von 15 Minuten erreichen wir eine Kilokalorienzahl von 43,59 kcal.

Unsere Ergebnisse zeigen einen Anstieg von endogenem GLP-1, sobald die Lösung ins Ileum perfundiert wird, d.h. sobald Kontakt zwischen den Nährstoffen und dem Ileum resp. den L-Zellen besteht. Ab Einsetzen der ileal brake steigt die GLP-1-Plasmakonzentration an, und über etwa 2 Stunden bleibt die hohe Konzentration erhalten. Auch unter Exendin(9-39)amid kommt es postprandial zu einer signifikanten Steigerung der GLP-1 Plasmaspiegel, die im Vergleich zum Kontrollversuch sogar höher sind, allerdings nicht signifikant. Edwards et al. beobachten unter Exendin-4-Infusion eine deutliche Reduktion von Plasma GLP-1. Bei Exendin-4 handelt es sich um einen GLP-1 Agonisten (Edwards et al. 2001). Diese Studie lässt eine negative Feedback-Kontrolle der GLP-1 Sekretion durch GLP-1 vermuten. Die Autofeedbackkontrolle wird auch vier Jahre später von Schirra et al. unter Einsatz des Rezeptorantagonisten demonstriert (Schirra et al. 2005). Die Applikation von Exendin(9-39)amid führt zu einer Aufhebung des Rückkopplungsmechanismus und zu einer vermehrten GLP-1 Ausschüttung. Dies wurde auch nochmals im Jahre 2009 gezeigt (Schirra et al. 2009). Wir bestätigen in unserer Studie die Aufhebung der Autofeedbackkontrolle von GLP-1 durch seinen Antagonisten in der postprandialen Phase.

Die vorliegende Studie zeigt erstmals nicht nur erhöhte GLP-1- sondern auch signifikant erhöhte PYY-Plasmaspiegel unter der Exendin(9-39)amid-Infusion während der postprandialen Phase. Da GLP-1 und PYY in der L-Zelle kolokalisiert sind, ist dies ein weiterer strenger Hinweis auf eine Autofeedback-Kontrolle der L-Zelle durch endogenes GLP-1. Sowohl die GLP-1 als auch die PYY Sekretion scheint über GLP-1 Plasmaspiegel negativ reguliert zu werden.

## ***5.2 Wirkung von GLP-1 auf die gastropankreatische Sekretionen***

GLP-1 hat als Enterogastron eine regulative Funktion auf die Magensäuresekretion wie auch auf die exokrine Pankreassekretion. Neben der Hemmung der gastroduodenalen Motilität und intestinalen Passage der Nährstoffe, ist es von Bedeutung, dass auch die gastropankreatischen Sekretionen gehemmt werden. Mehrere Studien verdeutlichen eine Korrelation zwischen endogenen GLP-1 Plasmakonzentrationen und der Hemmung von Magensäure (Layer et al. 1995, O'Halloran et al. 1990, Schjoldager et al. 1989) wie auch zwischen Hemmung der exokrinen Pankreasenzymen und GLP-1 (Groger et al. 1997, Keller et al. 2006, Wettergren et al. 1993). Durch den Einsatz von synthetischem GLP-1 kann mehrmals der hemmende Effekt vom Darmhormon auf die Magensäuresekretion und die exokrine Pankreassekretion in Menschen demonstriert werden (Schirra et al. 1997a, Wettergren et al. 1994, Wettergren et al. 1993, Wettergren et al. 1997).

Bis jetzt gibt es keine Studie beim Menschen die unter Verwendung des spezifischen GLP-1 Rezeptorantagonisten die physiologischen Effekte von endogenem GLP-1 auf die gastropankreatische Sekretion untersucht hat.

Die Mechanismen, über die GLP-1 die Magensäuresekretion hemmt, sind weitgehend unklar. Wettergren et al. führen Experimente mit Probanden durch, die eine Scheinfütterung erhalten (kauen und spucken). Die Scheinfütterung ist eine klassische Methode zur Stimulation des zentralen efferenten Nervus vagus. Dies resultiert in einer vagalcholinergen Stimulation der Magensäuresekretion. Nach Verabreichung von exogenem GLP-1 beobachten die Forscher eine Hemmung der Magensäure. Der inhibitorische

Effekt von GLP-1 auf die Magensäure ist unabhängig von Gastrin- und Somatostatin-Plasmakonzentrationen. Somit erfolgt ein Teil der Magensäurehemmung durch GLP-1 über eine vagal-cholinerge Hemmung (Wettergren et al. 1994). Auch Glukagon, das eine Sequenzhomologie zu GLP-1 von 70% aufweist (Orskov et al. 1989), verliert nach einer Vagotomie seine inhibierende Wirkung auf die Magensäuresekretion (Loud et al. 1988).

Durch frühere Studien weiss man, dass der distale Dünndarm durch unverdaute Nährstoffe angeregt die exokrine Pankreassekretion in Menschen hemmt (Layer et al. 1990). In Tierversuchen ermittelt man eine humorale Vermittlung (Harper et al. 1979, Laugier et al. 1977). Pancreatone, ein Polypeptid, das aus Ileum- und Colonmukosa extrahiert wird, hemmt die Pankreasenzymfreisetzung (Harper et al. 1979). Auch das proximale Colon ist im Stande, die Pankreasenzymsekretion zu hemmen, sobald es durch Nährstoffe stimuliert wird (Owyang et al. 1983). Dies wurde als ‚colonic brake‘ bezeichnet (Wen et al. 1998). Wie endogenes GLP-1 die exokrine Pankreasekretion reduziert, ist noch nicht vollständig erforscht. In Studien mit exogen zugeführtem GLP-1 korreliert die Hemmung der Pankreasenzymsekretion zeitlich mit der der Magensäuresekretion und auch mit der Magenentleerung. Man vermutete, dass die Wirkung von GLP-1 auf die Pankreasenzyme sekundär durch die Hemmung der Magensäuresekretion oder durch die Hemmung der Magenentleerung bedingt ist (Wettergren et al. 1993).

Um eine Reduktion der gastropankreatischen Sekretion und Motilität überhaupt messen zu können, stimulierten wir die Sekretion durch eine kontinuierliche ins Duodenum fliessende Lösung, die aus essentiellen Aminosäuren bestand (Layer et al. 1985, Layer et al. 1990). Alle anderen Nährstoffe (Kohlenhydrate, Fett) stimulieren zwar auch die Pankreasenzymsekretion, hemmen aber die Magensäuresekretion. Sobald die kohlenhydrat- und fetthaltige Testmahlzeit ins Ileum perfundiert wurde, fiel die Magensäure- und Pankreasenzymsekretion sofort signifikant ab. Diese Effekte sind ein Ausdruck der ileal brake. Beides, Sekretionshemmung und Hemmung der antroduodenalen Motilität, hielt für mindestens etwa 2 Stunden an und waren dann reversibel.

Durch Exendin(9-39)amid wurde die Reduktion der gastropankreatischen Sekretionen zu etwa 50% aufgehoben. Obwohl die gleiche ileale Mahlzeit ins Ileum gegeben wur-

de und die gastropankreatischen Sekretionen zuvor endogen stimuliert wurden, kam es unter dem Antagonisten nicht zu einer lang anhaltenden Hemmung von Magensäure- und Pankreasenzymsekretion wie im Kontrollversuch. Somit beweisen wir, dass endogenes GLP-1 eine hemmende Wirkung auf die Magensäuresekretion und auf die exokrinen Pankreasenzymsekretion von Amylase und Trypsin hat. Bis jetzt war bekannt, dass der Kontakt von Nährstoffen im Ileum Magensäure und Pankreassekretion reduziert (Layer et al. 1995, Layer et al. 1990). Mit unserer Studie zeigen wir, dass endogenes GLP-1 ein wesentlicher Mediator dieser Effekte der ‚ileal brake‘ ist.

Unter ilealer Nährstoffperfusion hemmte endogenes GLP-1 die gastropankreatische Sekretion zu etwa 50% in unserer Studie. Sowohl an der Regulation der Magensäure- wie auch an der exokrinen Pankreassekretion sind viele weitere Botenstoffe beteiligt. PYY hemmt sowohl die Freisetzung von Pankreasenzymen wie auch die Magensäure (Pappas et al. 1985). In Tierexperimenten konnten PYY und GLP-1 gemeinsam die gesamte Magensäuresekretion blocken (Fung et al. 1998). Die beiden Botenstoffe hemmen die Magensäure auf unterschiedliche Weise. Trotzdem existiert ein additiv inhibierender Effekt von GLP-1 und PYY auf die Magensäuresekretion in Menschen (Wettergren et al. 1997). PYY hemmt die Magensäure über Sekretin (Olsen et al. 1990) und zu einem großen Teil über die vagale Innervation des Magenfundus (Lloyd et al. 1997). Weiterhin ist Sekretin als inhibitorisches Hormon an der Magensäureregulierung beteiligt (Lloyd et al. 1997, You et al. 1987). Da die Plasmakonzentrationen von PYY unter dem GLP-1-Rezeptorantagonist ansteigen, der GLP-1-Rezeptorantagonist aber nicht mit den PYY-Rezeptoren interagiert, ist es möglich, dass PYY für die durch Exendin(9-39) nicht antagonisierbare Wirkung auf die Sekretion verantwortlich ist und somit der Effekt von endogenem GLP-1 sogar noch unterschätzt wird.

### ***5.3 Wirkung von GLP-1 auf die Glykämie und die endokrine Pankreassekretion***

Endogenes GLP-1 hemmt glukoseabhängig die Insulinsekretion und verhindert somit mögliche Hypoglykämien. Zusätzlich hemmt das Hormon tonisch die Glukagonfreisetzung (Schirra et al. 1996). 1998 zeigen Schirra et al., dass endogenes GLP-1 auch im Nüchternzustand den Glukagonspiegel tonisch in Menschen hemmt (Schirra et al. 1998b). Glukagon ist ein Peptidhormon das aus  $\alpha$ -Zellen des Pankreas produziert wird. Seine Hauptaufgabe ist es den Blutzuckerspiegel anzuheben. Es wird sowohl bei Blutzuckerabfall wie auch nach proteinreichen Mahlzeiten sezerniert.

In früheren Studien wie auch in der aktuell vorliegenden Studie fallen die Glukagonplasmakonzentrationen unter Exendin(9-39) höher aus als unter den Kontrollexperimenten (sowohl basal, unter Aminosäuren wie nach der Mischmahlzeit). Das bedeutet, unter der Wirkung des GLP-1-Rezeptorantagonisten fällt die tonische Inhibition von GLP-1 auf Glukagon weg. Wir bestätigen die hemmende Wirkung von endogenem GLP-1 auf Glukagon.

Nach Gabe der Mischmahlzeit ins Ileum steigt der Blutzucker signifikant an, sowohl unter NaCl als auch unter Exendin(9-39). In allen Phasen der Studie waren die Blutzuckerwerte höher unter Exendin(9-39). Dies beweist eine hemmende Wirkung von endogenem GLP-1 auf den Blutzuckerspiegel.

Wir erzielten einen signifikanten Anstieg von Insulin sobald die Aminosäurelösung ins Duodenum perfundiert wurde. Aminosäuren sind aber bekannterweise ein Stimulus für die Insulinsekretion und somit ist ein GLP-1 unabhängiger Insulinanstieg wahrscheinlich, zumal dieser Anstieg nicht hemmbar war durch Exendin(9-39). Unter der ilealen Nährstoffperfusion kommt es an beiden Tagen zu einem signifikanten Anstieg von Insulin. Es wurden jedoch höhere Insulinkonzentrationen unter dem Einfluss von endogenem GLP-1 erzielt ( $6.4 \pm 1.2$  vs.  $3.8 \pm 1.4$ ), dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Wir nehmen an, dass die postprandiale Hyperglykämie ein stärkerer Stimulus für die Insulinsekretion darstellt als der reine Effekt von GLP-1 auf die Insulinsekretion.

Im Einklang zu diesen Ergebnissen stehen die Wirkungen von synthetischem GLP-1, welches die Senkung von Glukose, neben einer Hemmung der Magenentleerung und Senkung von Glukagon, auch durch eine vermehrte Insulinausschüttung vermittelt (Gutniak et al. 1992, Schirra et al. 1997a). Schirra et al. konnten zeigen, dass es unter exogenem GLP-1 nach oraler Mahlzeit zu einer Zunahme der Insulinausschüttung kam (Schirra et al. 1997b). Auch während eines hyperglykämischen Clamps konnten Schirra et al. 1998 zeigen, dass GLP-1 die Insulinsekretion erhöhte (Schirra et al. 1998b).

Edwards et al. beschrieben jedoch eine fehlende Insulinhemmung unter Exendin(9-39) nach oraler Glukosegabe (Edwards et al. 1999). Diese scheinbar paradoxe Reaktion läßt sich durch die unter Exendin(9-39)amid erhöhten Blutzuckerspiegel erklären, da sie die Insulinausschüttung stimulieren und somit eine tatsächlich stattfindende Insulinhemmung maskiert wird. Sowohl die unter Exendin(9-39)amid gesteigerte Glukagonausschüttung als auch eine putative Magenentleerungsbeschleunigung könnten die erhöhten Blutzuckerspiegel erklären. Es ist wahrscheinlich, dass auch in vorliegender Studie die unter Exendin(9-39) Glukagon-bedingt höheren Blutzuckerwerte per se Insulin stimuliert und somit eine GLP-1-abhängige signifikante Insulinreduktion maskiert haben.

Unsere Daten legen nahe, dass der Glukagonanstieg unter Exendin(9-39)amid der wahrscheinlich entscheidende Grund für den prä- und postprandialen Blutzucker- und damit auch Insulinanstieg ist. Eine Veränderung der Magenentleerung, wie von Edwards vermutet, spielt sicher keine Rolle, da die Mahlzeit in unserer Studie gleich ins Ileum perfundiert wird und eine Magenentleerung gar nicht erst stattfinden muss. Daraus folgt, dass endogenes GLP-1 seine interdigestive und postprandiale Hemmung der Blutglukose über eine Hemmung der Glukagonausschüttung vermittelt.

Zusammengefasst konnten wir zeigen, dass endogenes GLP-1 die Glykämie interdigestiv und postprandial reguliert. Als entscheidender Mechanismus der postprandialen antiglykämischen Wirkung von GLP-1 konnte die Glukagonhemmung charakterisiert werden.

#### ***5.4 GLP-1 als Mediator der ileal brake***

Dass Nährstoffe die zentrale Rolle in der Kontrolle von Verdauung und Absorption bilden, wurde unabhängig von Read et al. und Spiller et al. gezeigt, als sie die Existenz eines inhibitorischen Feedbackmechanismus im distalen Dünndarm bestätigten. Infolge einer Mahlzeit wird die Geschwindigkeit der Darmpassage gebremst und ermöglicht eine optimale Verarbeitung der Nährstoffe (Read et al. 1984, Spiller et al. 1984). Auf neuromuskulärer Ebene manifestiert sich ein Wechsel von propulsiver in nicht-propulsive Motilität und hemmt den gastrointestinalen Transit (Siegle et al. 1990). Die ileal brake initiiert eine intestino-intestinale und intestino-gastrale Rückkopplung, die Magenentleerung und Darmpassage verlangsamen (Spiller et al. 1984).

Layer et al. waren die ersten, die eine Korrelation zwischen den Effekten der ileal brake und GLP-1 Plasmakonzentrationen aufwiesen. Der Nachweis einer Hemmung der Motilität sowie der gastropankreatischen Sekretionen zum simultanen Anstieg von endogenem GLP-1 liess eine Rolle als Mediator erahnen (Layer et al. 1995, Layer et al. 1990). Jedoch gab es keine Studie die das anhand eines spezifischen Rezeptorantagonisten bestätigen konnte.

Synthetisches GLP-1 ist im Stande, dosisabhängig die antrale Kontraktilität zu hemmen, vor allem die antro-pyloro-duodenalen Wellen. Die phasische und tonische Motilität des Pylorus wird stimuliert um eine Hemmung der Magenentleerung zu erzielen (Schirra et al. 2000, Schirra et al. 2002). Weiterhin hemmt synthetisches GLP-1 die Magensäure sowie die exokrine Pankreassekretion (Schirra et al. 1997a, Wettergren et al. 1994, Wettergren et al. 1993, Wettergren et al. 1997). Die genauen physiologischen Eigenschaften von endogenem GLP-1 und seine Existenz als Mediator der ileal brake konnten wieder einmal nur anhand des spezifischen Antagonisten vollständig erforscht werden.

Die Messungen von endogenem GLP-1 Plasmakonzentrationen in unserer Studie ergaben folgende Schlussfolgerungen:

Durch die Perfusion einer kohlenhydrat- und fetthaltigen Lösung ins Ileum imitierten wir die physiologische Malabsorption. Die unverdauten, unabsorbierten Nährstoffe liefen mit einer Geschwindigkeit von 2,91 kcal/min und für eine kurze Dauer von 15



Minuten ins Ileum. Die komplette Lösung hatte eine Kilokalorienzahl von 43,59 und lag somit im physiologischen Bereich. Sobald die Mischmahlzeit ins Ileum gelang, zeigten sich erste Anzeichen des Bremsmechanismus. Verglichen wir die Konzentrationen von Amylase, Trypsin und Magensäure zu den letzten 20 Minuten vor der Ileumperfusion, dann zeigte sich eine signifikante Reduktion der Sekretion. Diese Reduktion der Sekretion ist Ausdruck der ileal brake. Unter Exendin(9-39) kam es am zweiten Versuchstag nach Verabreichung der Mischmahlzeit ebenfalls zu einem Abfall der gastropankreatischen Sekretionen. Dieser Abfall war jedoch um 50% reduziert unter dem GLP-1 Antagonisten. Somit zeigt unsere Arbeit, dass endogenes GLP-1 im Rahmen der ileal brake die Magensäure und exokrine Pankreassekretion hemmt.

Wieso reduziert aber Exendin(9-39) als GLP-1-Rezeptorantagonist die Sekretion nur zu 50% und nicht vollständig? Mehrere Erklärungen kommen hierfür in Frage.

#### *PYY als Mediator der ileal brake*

Neben GLP-1 wird auch dem Polypeptid YY eine wichtige Rolle als Mediator der ileal brake zugesprochen. PYY wird aus L-Zellen, die im Ileum und Kolon lokalisiert sind (Adrian et al. 1985), durch den Nährstoffkontakt mit Fetten und Kohlenhydraten (Adrian et al. 1987, Greeley et al. 1989), sezerniert. Pironi et al. beschreiben 1993 den Zusammenhang zwischen der ileal brake und PYY beim Menschen (Pironi et al. 1993). Es hemmt die Magenentleerung, die Darmmotilität und die Magensäuresekretion beim Menschen (Jain et al. 1989) und bietet sich ebenfalls als Enterogastron an.

In unserer Studie lösten wir die ileal brake durch die Nachahmung der physiologischen Malabsorption aus. Sowohl endogenes GLP-1 als auch PYY zeigten einen nährstoffgetriggerten signifikanten Anstieg. Unter der Exendin(9-39) kam es zu höheren PYY-Konzentrationen als in den Kontrollexperiment, dies legt eine Autofeedbackkontrolle der L-Zelle durch GLP-1 nahe, denn durch Exendin(9-39) wird sie aufgehoben. Somit existiert wahrscheinlich eine Autofeedbackkontrolle von GLP-1 auf die PYY-Sekretion.

Unter Exendin(9-39)amid blockieren wir den Effekt von endogenem GLP-1, jedoch kann PYY weiterhin seine Wirkung auf die gastropankreatische Sekretion und Motili-

tät ausüben. In wie weit PYY und GLP-1 synergistisch als Mediator der ileal brake wirken oder aber eine kompensatorische Wirkung haben, wenn der andere Partner ausfällt, muss man weiter erforschen. Ein möglicher Ansatz könnte eine Studie sein, in der man sowohl endogenes PYY als auch endogenes GLP-1 inhibieren könnte. Anhand eines solchen Experimentes könnte man näheres über das Zusammenspiel dieser Hormone erfahren.

#### *Existenz eines zweiten GLP-1 Rezeptors*

Immer wieder wird die Frage aufgeworfen, ob es nicht auch einen zweiten GLP-1 Rezeptor gibt. Es gibt Experimente, die zeigen, dass Exendin(9-39)amid nicht im Stande ist die inhibierenden Effekte von GLP-1 auf die Magensäure zu blocken (Fung et al. 1998). In Experimenten an Hunden erreichte der spezifische Rezeptorantagonist keine Hemmung auf die Effekte von endogenem GLP-1 auf die gastrointestinale Motilität (Daniel et al. 2002). Immer wieder gibt es Spekulationen auf Grund von neuen, nicht klassischen GLP-1 Effekten oder weil GLP-1 in Gewebe wirken soll, die mutmaßlich keine GLP-1 Rezeptoren aufweisen. Die vorliegenden Daten können nicht ausschließen, dass es noch einen weiteren GLP-1 Rezeptor gibt. Eine Hypothese wäre, dass wir keine vollständige Blockade des endogenen GLP-1 erreichen aufgrund eines zweiten GLP-1 Rezeptors, der bis jetzt noch nicht isoliert wurde, und deshalb nicht den gesamten Effekt der ileal brake durch Exendin(9-39) aufheben können. Dieser zweite Rezeptor könnte nach Andocken von GLP-1 seine Wirkung auf z.B. neuronalem Wege ausüben.

#### *Dosis von Exendin(9-39)*

Schirra et al. und Edwards et al. waren unabhängig voneinander die ersten die sich an Humanversuche mit dem GLP-1 Rezeptorantagonisten wagten (Edwards et al. 1999, Schirra et al. 1998b). Edwards et al. wollten die insulinotropen Effekte von GLP-1 blocken und hielten sich hierfür an physiologische postprandiale Werte von GLP-1 ( $0.5 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) (Kreymann et al. 1987), die sie anhand von Exendin(9-39)amid blocken wollten. Sie kamen zu dem Ergebniss, dass man ein Infusions-

Verhältnis von Exendin(9-39)amid zu GLP-1 von 1000:1 braucht um die Effekte des endogenen GLP-1 zu antagonisieren. Mit einer Dosis von  $500 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  an Exendin(9-39)amid erreichten sie eine komplette Blockade der GLP-1 induzierten Insulinsekretion in ihren Versuchen. In dem Experiment wurde die reine Blockade der insulinotropen Wirkung von GLP-1 untersucht. Exendin(9-39)amid kann als spezifischer Antagonist den Effekten von GLP-1 in Menschen entgegen wirken, hierfür sind aber sehr hohe Konzentrationen notwendig (Edwards et al. 1999).

Ein Jahr zuvor prüften Schirra et al. verschiedene Dosen von Exendin(9-39)amid und demonstrieren zum ersten Mal, dass der Antagonist dosisabhängig endogenes GLP-1 blockt. Sie hielten sich an physiologische postprandiale GLP-1 Richtwerte ( $0.3 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) die nach einer oralen Glukosezufuhr erreicht wurden (Nauck et al. 1993, Schirra et al. 1996). Mit einem molaren Verhältnis von 1000:1 gingen auch Schirra et al. vor. Eine Dosis von  $300 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  Exendin(9-39)amid hemmte in ihren Versuchen sowohl die insulinotrope Wirkung wie auch den Effekt auf die Motilität von GLP-1 in Menschen (Schirra et al. 2005, Schirra et al. 1998b). Sie demonstrierten, dass Exendin(9-39)amid den inhibierenden Effekt von GLP-1 auf die antroduodenale Motilität im Nüchternzustand wie auch postprandial hemmt (Schirra et al. 2005). Durch diesen letzten Versuch von Schirra et al. kann man sagen, dass obwohl die Dosis eine Rolle bei der Blockade zu spielen scheint, es kein Grund zur Annahme gibt, dass der Inkretin- und Enterogastroneffekt von verschiedenen Dosen von Exendin(9-39)amid gehemmt wird. Mit einem molaren Verhältnis von Exendin(9-39)amid zu GLP-1 von 1000:1 wird endogenes GLP-1 sowohl als Inkretin wie auch als Entero-gastron gehemmt.

In Ratten manifestierte sich die Blockade von GLP-1 viel stärker als in Menschen. Hier war Exendin(9-39)amid bei der 30-100 fachen Konzentration von GLP-1 bereits erfolgreich (Kolligs et al. 1995, Wang et al. 1995). Bei Pavianen wurden die Effekte von GLP-1 erst bei einer Dosis von  $150 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  geblockt. Das entspricht der 5 fachen Konzentration, die in Menschen notwendig ist um die Effekte von GLP-1 zu antagonisieren (D'Alessio et al. 1996). Die Dosis an Exendin(9-39)amid, die erforderlich ist um endogenes GLP-1 zu hemmen, scheint also sehr speziesspezifisch zu sein. Edwards et al. spekulierten über eine veränderte Postrezeptor-Verarbeitung von Exen-

din(9-39)amid, aufgrund dessen die vollständige Wirkung von GLP-1 nicht geblockt werden konnte. Sogar eine mangelhafte Bindung an den GLP-1 Rezeptor wurde in Erwägung gezogen (Edwards et al. 1999).

Interessant ist, dass Montrose-Rafizadeh et al. sehr viel potentere GLP-1 Antagonisten als Exendin(9-39)amid in ihren Experimenten entdeckten. Durch die Spaltung von 3-6 N-terminalen Aminosäuren identifizierten die Forscher Rezeptorantagonisten die eine 3-16 fach höhere Potenz besitzen als das bis dahin bekannte Exendin(9-39)amid. Ex-3-Ex-7 zeigen nicht nur höhere Bindungsaffinitäten zum Rezeptor sondern auch eine stärkere antagonistische Wirkung (Montrose-Rafizadeh et al. 1997). Durch den Einsatz dieser stärkeren Antagonisten könnte man eventuell bis dahin unidentifizierte physiologische Eigenschaften von GLP-1 entdecken.

Schirra et al. und Edwards et al. arbeiteten in ihren Experimenten beide mit dem gleichen molaren Verhältnis von GLP-1 und seinem Antagonisten. Beide Forschergruppen erzielten eine Hemmung der GLP-1 Effekte und behaupteten in ihren Studien die Blockade wäre "komplett" (Edwards et al. 1999, Schirra et al. 1998b). Genaue Prozentangaben der geblockten GLP-1 Rezeptoren gab es zur Zeit der Studien nicht. Allerdings hatten Schirra et al. ihre Studie vom Jahre 1998 (Schirra et al. 1998b) nachträglich analysieren lassen. Danach blockt die  $300 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  Dosis Exendin(9-39)amid GLP-1 zu circa 85-87%. Erst kürzlich durchgeführte Experimente gehen auf die genaue Wirkungskraft von Exendin(9-39)amid in Menschen ein. Die Dosisabhängigkeit von Exendin(9-39)amid wird jeweils mit einer Dosis von 300, 600, 900 und  $1200 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  untersucht. Dabei bestätigt sich, dass Exendin(9-39)amid  $300 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  GLP-1  $0.3 \text{ (pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$  zu ca. 85-88% hemmt. Mit  $900 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  erreicht der Antagonist eine mindestens 95%ige Hemmung und mit  $1200 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  eine mindestens 98% Hemmung (Schirra et al. 2008).

Ein eventueller Ansatz für die Zukunft wäre, die gleichen Experimente mit einer höheren Dosis an Exendin(9-39)amid durchzuführen um somit die 100% Wirkung von endogenem GLP-1 auszuschalten. Hierdurch könnte man die Bedeutung von GLP-1 als ein Mediator der ileal brake besser verstehen.

Anzumerken ist jedoch, dass exogenes GLP-1 mit  $0.3 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  zu wirklich maximalen postprandialen Gesamt-GLP-1-Spiegeln führt (Schirra et al. 1996), die gerade noch als physiologisch zu bezeichnen sind. Da man aber heute weiß, dass das zirkulierende endogene GLP-1 zu etwa 80% inaktives GLP-1 ist (Deacon et al. 1996, Hansen et al. 1999, Hansen et al. 2000), sind diese Dosen 0.3/0.5 (Schirra et al./ Edwards et al.) als supraphysiologisch anzusehen. Da selbst die supraphysiologischen Spiegel durch Exendin(9-39)amid  $300 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  zu mindestens 85-88% gehemmt werden, wird der Hemmeffekt von endogenem GLP-1 in vorliegender Studie wahrscheinlich grösser sein. Wir schätzen somit eine Hemmung von GLP-1 von deutlich über 90% in folgender Studie und folglich fast vollständig.

#### *Duodenale, jejunale und kolonale brake*

Klinische Studien zeigen, dass die ileal brake nicht alleine verantwortlich ist für die Kontrolle des gastrintestinalen Transits. Patienten nach Ileumresektionen haben bei einer Zunahme der Fettaufnahme weiterhin das Fett verdauen und absorbieren können. Das würde darauf hinweisen, dass die Darmpassage gehemmt wurde um eine adequate zeitintensivere Verdauung zu ermöglichen. Es muss also auch ein Kontrollmechanismus im proximaleren Teil des Darmes geben (Woolf et al. 1983).

Neben der ileal brake wurden eine duodenale (Shahidullah et al. 1973, 1975), jejunale (Lin et al. 1996a) und kolonale brake (Wen et al. 1998), beschrieben. Lin et al. konnten in einer Studie den unmittelbaren Unterschied zwischen der jejunalen und der ileal brake evaluieren. Durch die Infusion einer gleichen Menge an Ölsäure einmal ins proximale Dünndarm und einmal ins distale Dünndarm wurden die jejunale und die ileal brake untersucht. Der gastrointestinale Transit wird stärker durch die Fett-getriggerte ileal brake gehemmt als durch die jejunale brake (Lin et al. 1997). Die ileal brake kann jedoch teilweise kompensiert werden wenn diese ausfällt (Thompson et al. 1998).

Das Ileum ist ca. 150 cm lang, wir perfundierten die Mischmahlzeit ins proximale Ileum, 150 cm distal des Pylorus. Somit wollten wir, dass die unverdauten Nährstoffe ihre Wirkung im Ileum erzielen. Dennoch muss man davon ausgehen, dass Nährstoffe

auch ins Colon gelangt sein könnten und diese die colonale brake, also einen weiteren Bremsmechanismus ausgelöst haben könnten.

L-Zellen sind auch im Colon lokalisiert (Eissele et al. 1992). Falls Nährstoffe unserer gemischten Mahlzeit ins Colon gelangt sind, könnten sie auch hier endogenes GLP-1 freisetzen. Aber noch mehr könnten die unverdauten Fette im Colon die PYY-Freisetzung angeregt haben und daraufhin die ileal brake ausgelöst haben (Wen et al. 1998). Wir können nicht ausschliessen, dass die Mischmahlzeit ins Caecum gelangt ist. Wir gehen jedoch anhand früherer Studien (Lin et al. 1997, Thompson et al. 1998) davon aus, dass die ileal brake stärker ausgeprägt ist als alle anderen Bremsmechanismen. Somit findet in vorliegender Studie wahrhaft im Wesentlichen die ileal brake statt, angeregt durch den Kontakt von Nährstoffen im Ileum.

In wie weit diverse neurohumorale Mediatoren an der ileal brake beteiligt sind, können wir mit folgenden Daten nicht aussagen. Fakt ist jedoch, dass noch weitere Experimente notwendig sind um die einzelnen Auslöser neben GLP-1 und PYY kennenzulernen.

#### *PP unter der ileal brake*

Das pankreatische Hormon ist ein Peptidhormon bestehend aus 36 Aminosäuren aus den PP- oder auch F-Zellen der Langerhans-Inseln des Pankreas, dessen Konzentration im Blut nach protein- und fettreicher Nahrung ansteigt. Es hemmt unter anderem die Pankreasenzyme und die Darmmotilität. PP gilt als ein strenger hormonaler Marker des vagal-cholinergen Input (Schwartz et al. 1978, Schwartz 1983)

Unsere Ergebnisse zeigten einen signifikanten Anstieg von PP, sobald die Aminosäurelösung ins Duodenum lief. Unter der ileal brake kam es zu einem Abfall der PP-Konzentration ( $1.3 \pm 0.9$  vs  $6.3 \pm 1.8$ ,  $P < 0.05$ ). Unter der Exendin-9-Infusion wird dieser Abfall von PP aufgehoben. Endogenes GLP-1 hemmt somit die PP-Sekretion.

Diese Ergebnisse bestätigen Daten von früheren Studien mit synthetischem GLP-1 auf die PP-Konzentration (Dupre et al. 1995, Schirra et al. 1997a, Schirra et al. 1998a). Die früheren Studien zeigten die hemmende Funktion auf PP durch exogenes GLP-1. Wir demonstrieren die gleichen Effekte, jedoch von endogenem GLP-1. Wir können

deshalb annehmen, dass endogenes GLP-1 über einen cholinergen Input auf die gastroduodenale Motilität wirkt. Über eine Hemmung des exzitatorischen cholinergen Inputs vermittelt endogenes GLP-1 seine Wirkungen auf die Motilität.

#### *Gastrin unter der ileal brake*

Gastrin, ein Peptidhormon des Magen-Darm-Traktes, wird in den G-Zellen im Antrum des Magens und im Duodenum gebildet und von dort über Blutgefäße zu seinen Wirkorten transportiert. Es übt den stärksten Reiz für die Produktion von Magensäure aus. Gastrin wirkt vor allem auf den Magen. Es stimuliert die glatte Muskulatur des Magens, die Produktion von Pepsinogen in den Hauptzellen des Magens, die Salzsäure-Produktion der Belegzellen und die Histamin-Produktion der Enterochromaffinen Zellen. Gastrin wirkt auch auf das Pankreas, es stimuliert dort die Ausschüttung von Insulin, Glukagon und Somatostatin.

Durch die ileale Mischmahlzeit kommt es zu einem signifikanten Anstieg von Gastrin. Es gibt keinen Unterschied der Gastrinkonzentrationen unter Exendin(9-39). Obwohl die ileal brake eine Magensäurehemmung induziert, wurden eher ansteigende Gastrinkonzentrationen gemessen. Somit ist zum einen Gastrin nicht in die ileal brake der Magensäuresekretion involviert und zum anderen hat endogenes GLP-1 keinen hemmenden Effekt auf Gastrin.

Auch Wettergren et al.'s Studie zeigte keine Wirkung von exogenem GLP-1 auf die Gastrinspiegel. Ausserdem war der inhibitorische Effekt von GLP-1 auf die Magensäure unabhängig von Gastrin- oder Somatostatinplasmakonzentrationen (Wettergren et al. 1994). Der hemmende Effekt von synthetischem GLP-1 auf die Magensäure hängt von einer intakten vagalen Innervation des Magens ab (Wettergren et al. 1997). Wie genau GLP-1 die Magensäure hemmt ist noch nicht vollständig erforscht, ein Teil wird jedoch über vagale-cholinerge Fasern vermittelt.

*CCK-8 unter der ileal brake*

Cholecystokinin ist ebenfalls ein Peptidhormon des Magen-Darm-Trakts. Es wird im oberen Duodenum sowie im Jejunum in enteroendokrinen I-Zellen produziert. Die Ausschüttung des Hormons wird durch Fett- und Aminosäuren im Nahrungsbrei angeregt. CCK vermindert die Wirkung von Gastrin im Magen durch kompetitive Verdrängung vom CCK-2-Rezeptor und vermindert dadurch die Salzsäureproduktion. Vor allem ist postprandial freigesetztes CCK ein bedeutender Stimulator der Pankreasenzymsekretion. Dies erfolgt zum Teil direkt über CCK-1 Rezeptoren an den Acinuszellen, zum Teil auch indirekt über eine vagal-cholinerge Stimulation. Cholecystokinin ist über CCK-2-Rezeptoren auch zentralnervös beteiligt an der Auslösung des Sättigungsgefühls.

Unter Aminosäuren steigt die CCK-8-Sekretion nicht signifikant an. Nach Auslösung der ileal brake fallen die CCK-8-Plasmapkonzentrationen über einen Zeitraum von etwa 120 min ab, wenn auch nicht signifikant. Unter Exendin(9-39) kommt es zu höheren CCK-8 Werten als im Kontrollexperiment ( $0.77 \pm 0.29$  vs  $0.25 \pm 0.11$ ,  $P < 0.05$ ). Dies lässt vermuten, dass endogenes GLP-1 eine hemmende Funktion auf die CCK-8 Sekretion hat. Neben einer Hemmung des vagal-cholinergen Input ist also auch eine Hemmung von CCK ein wahrscheinlicher Mechanismus, über den endogenes GLP-1 zur Hemmung der exogenen Pankreassekretion beiträgt. Wir wissen seit neuestem, dass die Fett-induzierte GLP-1-Sekretion zum Teil über den CCK-1-Rezeptor vermittelt wird (Beglinger et al. 2010). Insofern lässt sich ein negatives Feedbacksystem seitens GLP-1 auf CCK durch unsere Ergebnisse erahnen.

Wir wissen, dass CCK durch duodenale Nährstoffe freigesetzt wird und anschliessend die pylorische Motilität stimuliert (Fraser et al. 1993a). Cholecystokinin moduliert die gastroduodenale Motilität. Anhand eines spezifischen CCK-Antagonisten kann man zeigen, dass postprandial freigesetztes endogenes CCK den Magenfundus relaxiert (Feinle et al. 1996), die Antrummotilität hemmt und den Pylorus stimuliert (Katschinski et al. 1996). Weitere inhibitorische Peptidhormone wie Gastrin, Glukagon, Sekretin und GIP weisen nur in supraphysiologischen Dosen eine hemmende Wirkung auf die Motilität auf. Somit ist endogenes GLP-1 neben CCK-8 ebenfalls ein Enterogastron und reguliert die Motilität.



## 5.5 Wirkung von GLP-1 auf die Motilität

Die gastroduodenale Motilität besteht im Wesentlichen aus einer Abfolge von Kontraktionen und Erschlaffungen der glatten Muskulatur des Magendarmtrakts. Verantwortlich für die Kontraktionen scheint hauptsächlich der exzitatorische Neurotransmitter Acetylcholin zu sein. Für die Erschlaffung dagegen spielen sowohl inhibitorische Neurotransmitter wie auch postprandial freigesetzte gastrointestinale Hormone eine Rolle.

### *Antrale Motilität*

Die ileale brake hat einen signifikanten Effekt auf den Motilitätsindex, einen globalen Parameter der Motilität. Dieser nimmt drastisch ab, sobald die ileale Mischmahlzeit perfundiert wird. Unter Exendin(9-39) ist die Abnahme des Motilitätsindex bei Ileumperfusion geringer ausgeprägt als im Kontrollexperiment, jedoch ist der Unterschied nicht signifikant.

Die antrale Kontraktionsfrequenz wird nicht signifikant beeinflusst weder durch die ileale brake noch durch den GLP-1-Rezeptorantagonisten.

Die Kontraktionsamplitude im Antrum nimmt unter der ileal brake signifikant ab, somit hemmt die ileal brake die Motilität. Unter dem GLP-1-Rezeptorantagonisten kommt es zu einer Reduktion dieser Hemmung. Zu jeder Phase sowohl basal, unter Aminosäuren wie unter der ilealen Mahlzeit gibt es höhere Kontraktionsamplituden unter Exendin(9-39).

Sehen wir uns den Motilitätsindex an, ist der Effekt von Exendin nur angedeutet, bei der Amplitude dagegen ist er signifikant. Wir erinnern daran, dass eine Phase III, in der jede Kontraktion nach distal fortgeleitet wird, immer von einer Phase I gefolgt wird, einer Ruhephase in der fast keine Kontraktionen stattfinden und die mindestens 5 aber auch bis zu 60 Minuten andauern kann. Der Phase III folgt immer eine Phase I, womit der Zyklus erneut beginnt.

Für die Basalphase werden bei 7 von 10 Probanden Phase III mit der Hintergrundinfusion Exendin-9 gezählt, jedoch nur bei 3 von 10 unter Saline. Die Zahl der Phase III

könnte eine Erklärung für den nicht signifikativen Motilitätseffekt von Exendin-9 sein, da hier mehr Phase III auftreten und daraufhin mehr Ruhephasen. Wir erwarteten eine gesteigerte Motilität unter Exendin-9, die jedoch durch die erhöhte Anzahl von Phase I nicht gemessen wurde.

### *Duodenale Motilität*

Im Kontrollexperiment kommt es zu einem signifikanten Abfall des Motilitätsindex bei Auslösung der ileal brake. Unter Exendin(9-39) erfolgt keine Reduktion des Motilitätsindex und der Motilitätsindex ist während der ileal brake unter der Exendin(9-39) höher als im Kontrollexperiment ( $7.3 \pm 0.3$  vs  $4.7 \pm 0.6$ ,  $P < 0.01$ ). Dieses Ergebnis zeigt, dass endogenes GLP-1 die duodenale Motilität hemmt und Exendin(9-39) als sein Rezeptorantagonist diesen Effekt zum Teil aufhebt. Die duodenalen Kontraktionsamplituden werden signifikant gehemmt sobald die ileal brake ausgelöst wird. Die duodenale Kontraktionsfrequenz zeigt jedoch nur eine angedeutete Hemmung durch die ileal brake ( $9.2 \pm 2.2$  vs.  $14.5 \pm 3.1$ , ns.). Unter Exendin(9-39) gibt es weder für die Kontraktionsfrequenz noch für die Kontraktionsamplitude einen signifikanten Unterschied. Die Kontraktionsfrequenzen fallen unter Exendin(9-39) höher aus, der Effekt ist angedeutet, auch wenn er nicht signifikant ist. Auch hier gehen wir davon aus, dass es durch die erhöhte Zahl an Phase III Phasen unter Exendin(9-39) anschliessend zu Phase I, also Ruhephasen kommt. Dadurch wird es erschwert, eine Aufhebung der Motilitätshemmung durch den GLP-1-Rezeptorantagonisten zu messen. Allerdings legen diese Daten sehr nahe, dass endogenes GLP-1 auch an der ileal brake der gastroduodenalen Motilität entscheidend beteiligt ist.

## ***5.6 Implikationen für einen therapeutischen Einsatz***

In der Klinik ist die Rolle der ileal brake in bezug auf die Absorption von Arzneistoffen von großer Bedeutung. Orale Medikamente sind sowohl in flüssiger wie auch fester Form erhältlich. Die Bioverfügbarkeit dieser Medikamente hängt davon ab wie lange sie im Dünndarm verweilen, um dort absorbiert zu werden. Die Zersetzung der

Arzneimittel ist abhängig von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Medikamentes, vom pH des Gastrointestinaltraktes, von der Anwesenheit störender Faktoren im Darmlumen und von der absorptiven Fläche (Dressman et al. 1993). Ist die Durchgangszeit durch eine gestörte oder nicht vorhandene Bremse im Dünndarm und Magen verkürzt, kann die Arzneimittelabsorption beeinträchtigt und die Wirkung vermindert werden. Eine wirksame Strategie ist es also die ileal brake durch Nährstoffkontakt auszulösen um somit den intestinalen Transit zu beeinflussen und die Bioverfügbarkeit von Medikamenten in Patienten mit beschleunigter Darmpassage zu verbessern. Dobson et al. hatten 1999 Experimente durchgeführt in denen sie gesunden Probanden Kapseln mit Ölsäure verabreichen. Da Ölsäure ein starker Auslöser der ileal brake ist, erreichten sie eine verlängerte intestinale Verweilzeit von soliden Markerstoffen (Dobson et al. 1999).

In unserer Studie zeigten wir, dass endogenes GLP-1 ein Mediator der ileal brake ist. Während der Auslösung der ileal brake, kam es zu einem signifikanten Anstieg von endogenem GLP-1. Durch die Präsenz von Kohlenhydraten und Fetten im Ileum werden die Effekte der ileal brake ausgelöst. Eine Reduktion von gastropankreatischen Sekretionen sowie eine Hemmung der antro-duodenalen Motilität wurde durch das Darmhormon GLP-1 erreicht. Eine vorangegangene Studie von Schirra et al. bestätigte anhand des GLP-1 Rezeptorantagonisten, dass endogenes GLP-1 im Nüchternzustand tonisch die phasische Motoraktivität von proximalem Magen und Antrum inhibiert. Weiterhin vermittelt endogenes GLP-1 postprandial die Akkomodation des Magenfundus, ist an der postprandialen Hemmung der antro-duodenalen Motilität und der Steigerung des Pylorustonius beteiligt (Schirra et al. 2009).

Die Erkenntnisse der physiologischen Eigenschaften von endogenem GLP-1 könnte man sich in Zukunft bei Krankheiten zu Nutze machen bei denen der Bremsmechanismus geschädigt oder aufgehoben ist. Das könnte nach Darmresektionen, nach Magenoperationen, chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, bei diabetischen Malabsorptionen oder bei anderen gastrointestinalen Erkrankungen der Fall sein. Ein Nachteil ist jedoch die sehr kurze Halbwertszeit von GLP-1 im Kreislauf. Aufgrund der raschen Spaltung durch das Enzym DPP-IV beträgt die Halbwertszeit von biologisch aktivem GLP-1 nur ein bis zwei Minuten (Vilsboll et al. 2003).

GLP-1-Agonisten mit verlängerter Wirkdauer sowie der physiologische GLP-1 Rezeptoragonist, Exendin-4, und DPP-IV-resistente Formen sind seit den letzten Jahren unter Evaluation (Drucker 2003, Holz et al. 2003, Meier et al. 2003). Die Studien untersuchen in erster Linie den Inkretineffekt. Exendin-4, das aus dem Gift der Heloderma Suspectum Echse isoliert wird, weist eine 53% Sequenzhomologie zu GLP-1 auf. Das Hormon ist DPP-IV gegenüber resistent und kann somit länger im Kreislauf verweilen (Edwards et al. 2001). In gesunden Menschen wirkt Exendin-4 insulinotrop und senkt sowohl im Nüchternzustand als auch postprandial den Blutglukosespiegel wenn i.v. verabreicht (Edwards et al. 2001). Zusammen mit oralen Antidiabetika verabreicht senkt der Agonist den HbA1c-Wert (Fineman et al. 2003). Ab der zwanzigsten Woche erfolgen überdies Gewichtsverluste unter der Therapie (Baron et al. 2003) Auch DPP-IV Enzyminhibitoren wurden als potentielle Antidiabetika sehr genau erforscht und sind mittlerweile auf dem Markt. Sie ermöglichen eine Blutzuckersenkung in Gesunden und in Patienten mit Diabetes mellitus (Demuth et al. 2002, Rothenburg et al. 2000). Sie senken signifikant den Blutglukosespiegel und den HbA1c Wert (Ahren et al. 2002).

Aufgrund der Motilitätsänderungen a) Zunahme des Fundustonus, b) Steigerung der antralen Motilität und c) Hemmung des Pylorustonus ist unter Exendin(9-39)amid eine Beschleunigung der Magenentleerung zu erwarten. Zukünftige Studien müssen zeigen, ob das stimmt, und ob der GLP-1-Antagonist auch in der Lage ist, bei Patienten mit symptomatischer Gastroparese die Magenentleerung unter therapeutischen Gesichtspunkten zu beschleunigen. Eine kürzlich veröffentlichte Studie von Nicolaus et al. konnte jedoch keinen Effekt durch den GLP-1-Rezeptorantagonisten auf die Magenentleerung nachweisen (Nicolaus et al. 2011). Endogenes GLP-1 scheint quantitativ eher kein dominanter Regulator der Magenentleerung zu sein.

Neben Dobsons Ansatz (Dobson et al. 1999), also ein Auslösen der ileal brake anhand von Nährstoffen, könnten demnächst auch GLP-1 Agonisten respektiv DPP-IV Inhibitoren bei Patienten mit Malassimilationssyndromen in Einsatz kommen. Sicher ist, dass GLP-1 als Enterogastron eine wichtige Rolle im Ablauf der Nährstoffaufnahme spielt. Zukünftige Studien müssen zeigen ob GLP-1-Analoga auch in der Lage sind bei

Patienten mit symptomatischer Maldigestion respektiv Malabsorption die Motilität zu beeinflussen.

Halten wir in dieser Studie unseren Schwerpunkt auf GLP-1 als Enterogastron, darf man nicht ausser Acht lassen, dass GLP-1 als Inkretinhormon in den letzten Jahren an grossem wissenschaftlichen Interesse dazugewonnen hat. Als Inkretinhormon ist es in den letzten Jahren zu einem idealen Kandidaten in der Diabetestherapie geworden. Das Darmhormon reduziert den Blutglukosespiegel über drei unterschiedliche Mechanismen: a) Es erhöht die Insulinsekretion, b) vermindert die Glukagonausschüttung und c) hemmt die Magenentleerung. Damit ist es vielen zur Zeit verfügbaren Antidiabetika überlegen. Von grossem Vorteil ist, dass GLP-1 die Insulinsekretion in Abhängigkeit vom Glukosespiegel erhöht. So wird die Gefahr einer möglichen Hypoglykämie bei Überdosierung vermieden. Die insulinstimulierende Wirkung von GLP-1 beim Diabetiker (NIDDM = Non Insulin Dependend Diabetes Mellitus) soll auch nach mehreren Erkrankungsjahren erhalten bleiben (Perfetti et al. 2000). Weitere Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass GLP-1 den Appetit und die Nahrungsaufnahme reduziert (Gutzwiller et al. 1999a, Naslund et al. 1999), und die Wirkung von Insulin an dessen Zielzellen (Muskel, Fett und Leber) verstärkt (D'Alessio et al. 1994). Dies erklärt das große Interesse an GLP-1 als einem neuen Medikament in der Diabetestherapie. Auch hier spielt die kurze Halbwertszeit von GLP-1 eine Rolle. Nach subkutaner Injektion sinkt die GLP-1-Konzentration schnell wieder auf Basalwerte ab (Ritzel et al. 1995). Kontinuierlich gegeben, normalisiert es bei Diabetikern (NIDDM) den Blutzuckerspiegel (Elahi et al. 1994) und reduziert den Appetit (Toft-Nielsen et al. 1999). Noch bedeutungsvoller ist wahrscheinlich, dass die postprandialen Glukoseexkursionen abgeschwächt werden (Rachman et al. 1997). Dies alles geschieht ohne offensichtliche Nebenwirkungen (Toft-Nielsen et al. 1999). Weitere Studien sind jedoch nötig, um Wirkungen und Nebenwirkungen von GLP-1 weiter zu definieren und um Möglichkeiten zu finden, seine Wirkdauer zu verlängern (Perfetti et al. 2000). Mittlerweile sind sowohl DPP-IV-Inhibitoren wie auch GLP-1 Analoga zugelassen und auf dem Markt und man beobachtet weiterhin die Wirkungen und Nebenwirkungen dieser Medikamente.

**Zusammenfassend** wurde in folgender Arbeit gezeigt, dass endogenes GLP-1 als Enterogastron die ileal brake auslöst. Durch die Anwesenheit von physiologischen Nährstoffmengen im Ileum kommt es im Rahmen der ileal brake zu einer Hemmung der gastropankreatischen Sekretion und der antroduodenalen Motilität. Durch die Gabe des GLP-1 Rezeptorantagonisten kommt es zu einer partiellen Unterbindung der ileal brake. Die Hemmung auf die Magensäure- und exokrine Pankreassekretion wird durch den GLP-1 Antagonisten zu etwa 50% vermindert. GLP-1 spielt eine wichtige Rolle als Enterogastron in der Verdauung und Absorption von Nährstoffen. Dies könnte auch die hohe Dichte an L-Zellen im distalen Dünndarm erklären, vor allem im terminalen Ileum und Colon. Die physiologische Malabsorption ermöglicht einen Kontakt zwischen Nährstoffen und distal lokalisierten L-Zellen und trägt bei zu dem postprandialen Anstieg von GLP-1. Endogenes GLP-1 wiederum hemmt die Sekretion und Motilität des oberen Gastrointestinaltrakts. Es übt darüberhinaus eine Autofeedback-Kontrolle auf die L-Zelle aus und hemmt somit nicht nur die eigene Freisetzung sondern auch die von PYY.

## 6 Zusammenfassung

Im Rahmen der physiologischen Malabsorption gelangen unverdaute und unabsorbierbare Nährstoffe ins Ileum, die zu einer Hemmung des gastrointestinalen Transits und der gastropankreatischen Sekretionen führen. Dieser Bremsmechanismus, der zu einer optimalen Verarbeitung der Nährstoffe beiträgt, ist die ‚ileal brake‘, ein primärer, inhibitorischer Feedbackmechanismus. Die Bedeutung der ileal brake wird erst erkannt, wenn ihre intestino-intestinale und intestino-gastrale Rückkopplung ausfällt, z.B. durch Schädigung des Ileums bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen oder nach Resektion des distalen Dünndarms. Es folgen eine beschleunigte Passage der Nährstoffe mit Malabsorption, Meteorismus und Durchfällen. Darüber hinaus steht die Absorption von Arzneistoffen in Zusammenhang mit der ileal brake. Die Bioverfügbarkeit eines Medikamentes hängt zu einem grossen Teil davon ab, wie lange es im Dünndarm verweilt, um dort absorbiert zu werden.

Darmhormone wie Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) und Polypeptid YY (PYY) werden postprandial aus L-Zellen, die reichlich im Ileum und Colon vorkommen, freigesetzt. Die Bedeutung der hohen Dichte der L-Zellen im distalen Dünndarm ist noch unklar. Da synthetisches GLP-1 in der Lage ist, sowohl gastropankreatische Sekretion wie auch die Darmmotilität zu hemmen, vermutet man endogenes GLP-1 als ein Mediator der ileal brake. Unter Einsatz des GLP-1-Antagonisten Exendin(9-39)amid soll erstmals die Bedeutung von aus dem Ileum freigesetzten endogenem GLP-1 als Enterogastron, als dem bislang unbekanntem Mediator der ‚ileal brake‘, in Menschen untersucht werden.

12 gesunde Probanden erhalten eine Aminosäureperfusion ins Duodenum (3 ml/min, 0,6 kcal/min), um die endogene Magensäure- und exokrine Pankreasenzymsekretion zu stimulieren. Nach 60 Minuten erfolgt eine 15 minütige Perfusion einer Mischmahlzeit (90 ml, 44 kcal) ins Ileum, die aus Stärke, Maltose, Fetten und Ölsäure besteht, um die physiologische Malabsorption nachzuahmen. Gastrale und duodenale Sekretproben werden kontinuierlich in 10 min-Intervallen während 420 Minuten gesammelt und der Output von Magensäure, Amylase und Trypsin wird nach der Doppelmarkerverdünnungsmethode gemessen. Simultan wird perfusionsmanometrisch die antroduodenale

Motilität gemessen. An zwei Versuchstagen wird in randomisierter Reihenfolge der GLP-1-Rezeptorantagonist Exendin(9-39) ( $300 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) oder 0.154 M NaCl intravenös verabreicht.

In der vorliegenden Arbeit werden die basale Magensäure- und exokrine Pankreassekretion durch eine kontinuierliche Aminosäureperfusion ins Duodenum deutlich stimuliert. Nährstoffe im Ileum induzieren die ‚ileal brake‘, eine anhaltende, aber reversible Reduktion der gastropankreatischen Sekretion und der antroduodenalen Motilität für die Dauer von etwa zwei Stunden. Dies geht einher mit einem Anstieg von GLP-1- und PYY-Plasmaspiegeln. Durch die Gabe des GLP-1 Rezeptorantagonisten kommt es zu einer partiellen, aber deutlichen und signifikanten Unterdrückung dieser ‚ileal brake‘. Die Hemmung auf die Magensäure- und Pankreasenzymsekretion sowie auf die duodenale Motilität wird durch den GLP-1 Antagonisten zu etwa 50% vermindert. Wir folgern, dass endogenes GLP-1 als Enterogastron und Mediator der ‚ileal brake‘ in die Regulation der postprandialen gastropankreatischen Sekretion und antroduodenalen Motilität involviert ist.

Der Reduktion der gastropankreatischen Sekretion und der antroduodenalen Motilität im Rahmen der ‚ileal brake‘ gehen einher mit einer Reduktion der Plasmakonzentrationen des Pankreatischen Polypeptids (PP, Marker des vagal-cholinergen output) und des CCK-8. Exendin(9-39) unterdrückt die Reduktion von PP und CCK-8. Dies weist darauf hin, dass eine vagal-cholinerge Hemmung als Mechanismus in die hemmende Wirkung von GLP-1 involviert ist. Eine Hemmung von CCK-8 könnte zusätzlich eine Rolle in der GLP-1-induzierten Hemmung der Pankreasenzymsekretion spielen.

GLP-1 spielt eine wichtige Rolle nicht nur als Inkretinhormon in der Kontrolle der postprandialen Blutzuckerhomöostase sondern auch als Enterogastron in der Verdauung und Absorption von Nährstoffen. Dies könnte die bislang unklare hohe Dichte an L-Zellen im distalen Dünndarm erklären, vor allem im terminalen Ileum und Colon. Die physiologische Malabsorption ermöglicht einen Kontakt zwischen Nährstoffen und distal lokalisierten L-Zellen und trägt bei zu dem postprandialen Anstieg von GLP-1. Endogenes GLP-1 wiederum hemmt die Sekretion und Motilität des oberen Gastrointestinaltrakts. Es übt darüberhinaus wahrscheinlich eine Autofeedback-



Kontrolle auf die L-Zelle aus und hemmt somit nicht nur die eigene Freisetzung sondern auch die von PYY.

Neben seinem großen Potential als neues Medikament in der Diabetestherapie könnte GLP-1 in Zukunft auch als Mediator der ileal brake und wichtiger Enterogastron an medizinischem Interesse gewinnen. Patienten nach Darmresektionen, chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, im Allgemeinen bei Maladigestion und Malabsorption, könnten von einer verlangsamten Darmassage profitieren. Eine wirksame Strategie könnte das Auslösen der ‚ileal brake‘ sein, ob durch direkten Nährstoffkontakt im Ileum oder durch Gabe von GLP-1. Somit könnte man den intestinalen Transit beeinflussen und Verdauung und Absorption wie auch die Bioverfügbarkeit von Medikamenten verbessern.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Adrian, T. E.; Ferri, G. L.; Bacarese-Hamilton, A. J.; Fuessl, H. S.; Polak, J. M. und Bloom, S. R. (1985): Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY, *Gastroenterology* (Band 89), Nr. 5, Seite 1070-7.
2. Adrian, T. E.; Savage, A. P.; Fuessl, H. S.; Wolfe, K.; Besterman, H. S. und Bloom, S. R. (1987): Release of peptide YY (PYY) after resection of small bowel, colon, or pancreas in man, *Surgery* (Band 101), Nr. 6, Seite 715-9.
3. Ahren, B.; Simonsson, E.; Larsson, H.; Landin-Olsson, M.; Torgeirsson, H.; Jansson, P. A.; Sandqvist, M.; Bavenholm, P.; Efendic, S.; Eriksson, J. W.; Dickinson, S. und Holmes, D. (2002): Inhibition of dipeptidyl peptidase IV improves metabolic control over a 4-week study period in type 2 diabetes, *Diabetes Care* (Band 25), Nr. 5, Seite 869-75.
4. Anderson, I. H.; Levine, A. S. und Levitt, M. D. (1981): Incomplete absorption of the carbohydrate in all-purpose wheat flour, *N Engl J Med* (Band 304), Nr. 15, Seite 891-2.
5. Anvari, M.; Dent, J.; Malbert, C. und Jamieson, G. G. (1995): Mechanics of pulsatile transpyloric flow in the pig, *J Physiol* (Band 488 ( Pt 1)), Seite 193-202.
6. Balks, H. J.; Holst, J. J.; von zur Muhlen, A. und Brabant, G. (1997): Rapid oscillations in plasma glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in humans: cholinergic control of GLP-1 secretion via muscarinic receptors, *J Clin Endocrinol Metab* (Band 82), Nr. 3, Seite 786-90.
7. Baron, A. ; Poon, T.; Taylor, K.; Nielsen, L.; Boies, S.; Zhou, J.; Zhuang, D.; Varns, A.; Kim, D.; Fineman, M. S. und Kolterman, O. (2003): Exenatide (synthetic exendin-4) showed marked HbA<sub>1c</sub> decline over 5 months in patients with type 2 diabetes failing oral agents in an open-label study., 63rd Scientific Sessions of the American Diabetes Association New Orleans.

8. Bayliss, W. M. und Starling, E. H. (1902): The mechanism of pancreatic secretion, *J Physiol* (Band 28), Nr. 5, Seite 325-53.
9. Beglinger, S.; Drewe, J.; Schirra, J.; Goke, B.; D'Amato, M. und Beglinger, C. (2010): Role of fat hydrolysis in regulating glucagon-like Peptide-1 secretion, *J Clin Endocrinol Metab* (Band 95), Nr. 2, Seite 879-86.
10. Bell, G. I.; Sanchez-Pescador, R.; Laybourn, P. J. und Najarian, R. C. (1983): Exon duplication and divergence in the human preproglucagon gene, *Nature* (Band 304), Nr. 5924, Seite 368-71.
11. Brown, J. C. (1971): A gastric inhibitory polypeptide. I. The amino acid composition and the tryptic peptides, *Can J Biochem* (Band 49), Nr. 2, Seite 255-61.
12. Brown, J. C. und Dryburgh, J. R. (1971): A gastric inhibitory polypeptide. II. The complete amino acid sequence, *Can J Biochem* (Band 49), Nr. 8, Seite 867-72.
13. Brown, J. C.; Mutt, V. und Pederson, R. A. (1970a): Further purification of a polypeptide demonstrating enterogastrone activity, *J Physiol* (Band 209), Nr. 1, Seite 57-64.
14. Brown, J. C. und Pederson, R. A. (1970b): A multiparameter study on the action of preparations containing cholecystokinin-pancreozymin, *Scand J Gastroenterol* (Band 5), Nr. 6, Seite 537-41.
15. Brown, J. C. und Pederson, R. A. (1977): GI Hormones and insulin secretion Proceedings of the Vth International Congress of Endocrinology, Amsterdam.
16. Brown, J. C.; Pederson, R. A.; Jorpes, E. und Mutt, V. (1969): Preparation of highly active enterogastrone, *Can J Physiol Pharmacol* (Band 47), Nr. 1, Seite 113-4.
17. Brown, N. J.; Read, N. W.; Richardson, A.; Rumsey, R. D. und Bogentoft, C. (1990): Characteristics of lipid substances activating the ileal brake in the rat, *Gut* (Band 31), Nr. 10, Seite 1126-9.
18. Brown, N. J.; Rumsey, R. D.; Bogentoft, C. und Read, N. W. (1992): The effect of adrenoceptor antagonists on the ileal brake mechanism in the rat, *Br J Pharmacol* (Band 105), Nr. 3, Seite 751-5.

19. Bryant, M. G.; Bloom, S. R.; Polak, J. M.; Hobbs, S.; Domschke, W.; Domschke, S.; Mitznegg, P.; Ruppin, H. und Demling, L. (1983): Measurement of gut hormonal peptides in biopsies from human stomach and proximal small intestine, *Gut* (Band 24), Nr. 2, Seite 114-9.
20. Brynes, A. E.; Frost, G. S.; Edwards, C. M.; Ghatei, M. A. und Bloom, S. R. (1998): Plasma glucagon-like peptide-1 (7-36) amide (GLP-1) response to liquid phase, solid phase, and meals of differing lipid composition, *Nutrition* (Band 14), Nr. 5, Seite 433-6.
21. Bullock, B. P.; Heller, R. S. und Habener, J. F. (1996): Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide-1 receptor, *Endocrinology* (Band 137), Nr. 7, Seite 2968-78.
22. Byrne, M. M.; Gliem, K.; Wank, U.; Arnold, R.; Katschinski, M.; Polonsky, K. S. und Goke, B. (1998a): Glucagon-like peptide 1 improves the ability of the beta-cell to sense and respond to glucose in subjects with impaired glucose tolerance, *Diabetes* (Band 47), Nr. 8, Seite 1259-65.
23. Byrne, M. M.; Pluntke, K.; Wank, U.; Schirra, J.; Arnold, R.; Goke, B. und Katschinski, M. (1998b): Inhibitory effects of hyperglycaemia on fed jejunal motility: potential role of hyperinsulinaemia, *Eur J Clin Invest* (Band 28), Nr. 1, Seite 72-8.
24. Camilleri, M.; Malagelada, J. R.; Brown, M. L.; Becker, G. und Zinsmeister, A. R. (1985): Relation between antral motility and gastric emptying of solids and liquids in humans, *Am J Physiol* (Band 249), Nr. 5 Pt 1, Seite G580-5.
25. Code, C.F. und Schlegel, J. (1973): The gastrointestinal Interdigestive house-keeper: motor correlates of the interdigestive myoelectric complex of the dog. , *Fourth International Symposium on GI motility, Vancouver, Vancouver.*
26. Creutzfeldt, W. (1979): The incretin concept today, *Diabetologia* (Band 16), Nr. 2, Seite 75-85.
27. Creutzfeldt, W.; Feurle, G. und Ketterer, H. (1970): Effect of gastrointestinal hormones on insulin and glucagon secretion, *N Engl J Med* (Band 282), Nr. 20, Seite 1139-41.

28. Cuche, G.; Cuber, J. C. und Malbert, C. H. (2000): Ileal short-chain fatty acids inhibit gastric motility by a humoral pathway, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (Band 279), Nr. 5, Seite G925-30.
29. Cullinan, C. A.; Brady, E. J.; Saperstein, R. und Leibowitz, M. D. (1994): Glucose-dependent alterations of intracellular free calcium by glucagon-like peptide-1(7-36amide) in individual ob/ob mouse beta-cells, *Cell Calcium* (Band 15), Nr. 5, Seite 391-400.
30. D'Alessio, D. A.; Kahn, S. E.; Leusner, C. R. und Ensink, J. W. (1994): Glucagon-like peptide 1 enhances glucose tolerance both by stimulation of insulin release and by increasing insulin-independent glucose disposal, *J Clin Invest* (Band 93), Nr. 5, Seite 2263-6.
31. D'Alessio, D. A.; Vogel, R.; Prigeon, R.; Laschansky, E.; Koerker, D.; Eng, J. und Ensink, J. W. (1996): Elimination of the action of glucagon-like peptide 1 causes an impairment of glucose tolerance after nutrient ingestion by healthy baboons, *J Clin Invest* (Band 97), Nr. 1, Seite 133-8.
32. Damholt, A. B.; Kofod, H. und Buchan, A. M. (1999): Immunocytochemical evidence for a paracrine interaction between GIP and GLP-1-producing cells in canine small intestine, *Cell Tissue Res* (Band 298), Nr. 2, Seite 287-93.
33. Daniel, E. E.; Anvari, M.; Fox-Threlkeld, J. E. und McDonald, T. J. (2002): Local, exendin-(9-39)-insensitive, site of action of GLP-1 in canine ileum, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (Band 283), Nr. 3, Seite G595-602.
34. Deacon, C. F.; Nauck, M. A.; Toft-Nielsen, M.; Pridal, L.; Willms, B. und Holst, J. J. (1995): Both subcutaneously and intravenously administered glucagon-like peptide I are rapidly degraded from the NH<sub>2</sub>-terminus in type II diabetic patients and in healthy subjects, *Diabetes* (Band 44), Nr. 9, Seite 1126-31.
35. Deacon, C. F.; Pridal, L.; Klarskov, L.; Olesen, M. und Holst, J. J. (1996): Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig, *Am J Physiol* (Band 271), Nr. 3 Pt 1, Seite E458-64.

36. Demuth, H.U.; Hoffman, T.; Glund, K.; McIntosh, C. H.; Pederson, R. A.; Fueker, K.; Fischer, S. und Hanefeld, M. (2002): Single dose treatment of diabetic patients by the DP IV inhibitor P32/98., *Diabetes* (Band 49), Nr. Suppl. 1, Seite A:102.
37. Dobson, C. L.; Davis, S. S.; Chauhan, S.; Sparrow, R. A. und Wilding, I. R. (1999): The effect of oleic acid on the human ileal brake and its implications for small intestinal transit of tablet formulations, *Pharm Res* (Band 16), Nr. 1, Seite 92-6.
38. Dressman, J. B.; Bass, P.; Ritschel, W. A.; Friend, D. R.; Rubinstein, A. und Ziv, E. (1993): Gastrointestinal parameters that influence oral medications, *J Pharm Sci* (Band 82), Nr. 9, Seite 857-72.
39. Drucker, D. J. (2003): Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes, *Diabetes Care* (Band 26), Nr. 10, Seite 2929-40.
40. Drucker, D. J.; Philippe, J.; Mojsov, S.; Chick, W. L. und Habener, J. F. (1987): Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line, *Proc Natl Acad Sci U S A* (Band 84), Nr. 10, Seite 3434-8.
41. Dumoulin, V.; Dakka, T.; Plaisancie, P.; Chayvialle, J. A. und Cuber, J. C. (1995): Regulation of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide, peptide YY, and neurotensin secretion by neurotransmitters and gut hormones in the isolated vascularly perfused rat ileum, *Endocrinology* (Band 136), Nr. 11, Seite 5182-8.
42. Dunphy, J. L.; Taylor, R. G. und Fuller, P. J. (1998): Tissue distribution of rat glucagon receptor and GLP-1 receptor gene expression, *Mol Cell Endocrinol* (Band 141), Nr. 1-2, Seite 179-86.
43. Dupre, J.; Behme, M. T.; Hramiak, I. M.; McFarlane, P.; Williamson, M. P.; Zabel, P. und McDonald, T. J. (1995): Glucagon-like peptide I reduces postprandial glycemic excursions in IDDM, *Diabetes* (Band 44), Nr. 6, Seite 626-30.
44. Dupre, J.; Ross, S. A.; Watson, D. und Brown, J. C. (1973): Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man, *J Clin Endocrinol Metab* (Band 37), Nr. 5, Seite 826-8.

45. Ebert, R. und Creutzfeldt, W. (1982): Influence of gastric inhibitory polypeptide antiserum on glucose-induced insulin secretion in rats, *Endocrinology* (Band 111), Nr. 5, Seite 1601-6.
46. Ebert, R.; Unger, H. und Creutzfeldt, W. (1983): Preservation of incretin activity after removal of gastric inhibitory polypeptide (GIP) from rat gut extracts by immunoadsorption, *Diabetologia* (Band 24), Nr. 6, Seite 449-54.
47. Edwards, C. M.; Stanley, S. A.; Davis, R.; Brynes, A. E.; Frost, G. S.; Seal, L. J.; Ghatei, M. A. und Bloom, S. R. (2001): Exendin-4 reduces fasting and postprandial glucose and decreases energy intake in healthy volunteers, *Am J Physiol Endocrinol Metab* (Band 281), Nr. 1, Seite E155-61.
48. Edwards, C. M.; Todd, J. F.; Mahmoudi, M.; Wang, Z.; Wang, R. M.; Ghatei, M. A. und Bloom, S. R. (1999): Glucagon-like peptide 1 has a physiological role in the control of postprandial glucose in humans: studies with the antagonist exendin 9-39, *Diabetes* (Band 48), Nr. 1, Seite 86-93.
49. Eissele, R.; Goke, R.; Willemer, S.; Harthus, H. P.; Vermeer, H.; Arnold, R. und Goke, B. (1992): Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man, *Eur J Clin Invest* (Band 22), Nr. 4, Seite 283-91.
50. Elahi, D.; Andersen, D. K.; Brown, J. C.; Debas, H. T.; Hershcopf, R. J.; Raizes, G. S.; Tobin, J. D. und Andres, R. (1979): Pancreatic alpha- and beta-cell responses to GIP infusion in normal man, *Am J Physiol* (Band 237), Nr. 2, Seite E185-91.
51. Elahi, D.; McAloon-Dyke, M.; Fukagawa, N. K.; Meneilly, G. S.; Sclater, A. L.; Minaker, K. L.; Habener, J. F. und Andersen, D. K. (1994): The insulinotropic actions of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (7-37) in normal and diabetic subjects, *Regul Pept* (Band 51), Nr. 1, Seite 63-74.
52. Elliott, R. M.; Morgan, L. M.; Tredger, J. A.; Deacon, S.; Wright, J. und Marks, V. (1993): Glucagon-like peptide-1 (7-36)amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion patterns, *J Endocrinol* (Band 138), Nr. 1, Seite 159-66.

53. Elrick, H.; Stimmler, L.; Hlad, C. J., Jr. und Arai, Y. (1964): Plasma Insulin Response to Oral and Intravenous Glucose Administration, *J Clin Endocrinol Metab* (Band 24), Seite 1076-82.
54. Eng, J.; Kleinman, W. A.; Singh, L.; Singh, G. und Raufman, J. P. (1992): Isolation and characterization of exendin-4, an exendin-3 analogue, from *Heloderma suspectum* venom. Further evidence for an exendin receptor on dispersed acini from guinea pig pancreas, *J Biol Chem* (Band 267), Nr. 11, Seite 7402-5.
55. Fehmann, H. C.; Goke, R. und Goke, B. (1992): Glucagon-like peptide-1(7-37)/(7-36)amide is a new incretin, *Mol Cell Endocrinol* (Band 85), Nr. 1-2, Seite C39-44.
56. Fehmann, H. C.; Goke, R. und Goke, B. (1995): Cell and molecular biology of the incretin hormones glucagon-like peptide-I and glucose-dependent insulin releasing polypeptide, *Endocr Rev* (Band 16), Nr. 3, Seite 390-410.
57. Fehmann, H. C. und Habener, J. F. (1991): Functional receptors for the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) on a somatostatin secreting cell line, *FEBS Lett* (Band 279), Nr. 2, Seite 335-40.
58. Feinle, C.; D'Amato, M. und Read, N. W. (1996): Cholecystokinin-A receptors modulate gastric sensory and motor responses to gastric distension and duodenal lipid, *Gastroenterology* (Band 110), Nr. 5, Seite 1379-85.
59. Fineman, M. S.; Bicsak, T. A.; Shen, L. Z.; Taylor, K.; Gaines, E.; Varns, A.; Kim, D. und Baron, A. D. (2003): Effect on glycemic control of exenatide (synthetic exendin-4) additive to existing metformin and/or sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes, *Diabetes Care* (Band 26), Nr. 8, Seite 2370-7.
60. Flint, A.; Raben, A.; Astrup, A. und Holst, J. J. (1998): Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans, *J Clin Invest* (Band 101), Nr. 3, Seite 515-20.
61. Fone, D. R.; Horowitz, M.; Dent, J.; Read, N. W. und Heddle, R. (1989): Pyloric motor response to intraduodenal dextrose involves muscarinic mechanisms, *Gastroenterology* (Band 97), Nr. 1, Seite 83-90.



62. Fraser, R.; Fone, D.; Horowitz, M. und Dent, J. (1993a): Cholecystokinin octapeptide stimulates phasic and tonic pyloric motility in healthy humans, *Gut* (Band 34), Nr. 1, Seite 33-7.
63. Fraser, R.; Horowitz, M.; Maddox, A. und Dent, J. (1993b): Dual effects of cisapride on gastric emptying and antropyloroduodenal motility, *Am J Physiol* (Band 264), Nr. 2 Pt 1, Seite G195-201.
64. Fung, L. C.; Chisholm, C. und Greenberg, G. R. (1998): Glucagon-like peptide-1-(7-36) amide and peptide YY mediate intraduodenal fat-induced inhibition of acid secretion in dogs, *Endocrinology* (Band 139), Nr. 1, Seite 189-94.
65. Go, V. L.; Hofmann, A. F. und Summerskill, W. H. (1970): Simultaneous measurements of total pancreatic, biliary, and gastric outputs in man using a perfusion technique, *Gastroenterology* (Band 58), Nr. 3, Seite 321-8.
66. Goke, R.; Fehmann, H. C. und Goke, B. (1991): Glucagon-like peptide-1(7-36) amide is a new incretin/enterogastrone candidate, *Eur J Clin Invest* (Band 21), Nr. 2, Seite 135-44.
67. Goke, R.; Fehmann, H. C.; Linn, T.; Schmidt, H.; Krause, M.; Eng, J. und Goke, B. (1993): Exendin-4 is a high potency agonist and truncated exendin-(9-39)-amide an antagonist at the glucagon-like peptide 1-(7-36)-amide receptor of insulin-secreting beta-cells, *J Biol Chem* (Band 268), Nr. 26, Seite 19650-5.
68. Goke, R.; Goke, B.; Richter, G. und Arnold, R. (1988): [The entero-insular axis: the new incretin candidate glucagon-like peptide-1(7-36)amide (GLP-1(7-36))amide], *Z Gastroenterol* (Band 26), Nr. 11, Seite 715-9.
69. Goke, R.; Larsen, P. J.; Mikkelsen, J. D. und Sheikh, S. P. (1995a): Distribution of GLP-1 binding sites in the rat brain: evidence that exendin-4 is a ligand of brain GLP-1 binding sites, *Eur J Neurosci* (Band 7), Nr. 11, Seite 2294-300.
70. Goke, R.; Larsen, P. J.; Mikkelsen, J. D. und Sheikh, S. P. (1995b): Identification of specific binding sites for glucagon-like peptide-1 on the posterior lobe of the rat pituitary, *Neuroendocrinology* (Band 62), Nr. 2, Seite 130-4.

71. Goke, R.; Trautmann, M. E.; Haus, E.; Richter, G.; Fehmann, H. C.; Arnold, R. und Goke, B. (1989): Signal transmission after GLP-1(7-36)amide binding in RINm5F cells, *Am J Physiol* (Band 257), Nr. 3 Pt 1, Seite G397-401.
72. Greeley, G. H., Jr.; Hashimoto, T.; Izukura, M.; Gomez, G.; Jeng, J.; Hill, F. L.; Lluís, F. und Thompson, J. C. (1989): A comparison of intraduodenally and intracolonicly administered nutrients on the release of peptide-YY in the dog, *Endocrinology* (Band 125), Nr. 4, Seite 1761-5.
73. Groger, G.; Unger, A.; Holst, J. J.; Goebell, H. und Layer, P. (1997): Ileal carbohydrates inhibit cholinergically stimulated exocrine pancreatic secretion in humans, *Int J Pancreatol* (Band 22), Nr. 1, Seite 23-9.
74. Gros, L.; Thorens, B.; Bataille, D. und Kervran, A. (1993): Glucagon-like peptide-1-(7-36) amide, oxyntomodulin, and glucagon interact with a common receptor in a somatostatin-secreting cell line, *Endocrinology* (Band 133), Nr. 2, Seite 631-8.
75. Guo, Y. S.; Fujimura, M.; Lluís, F.; Tsong, Y.; Greeley, G. H., Jr. und Thompson, J. C. (1987): Inhibitory action of peptide YY on gastric acid secretion, *Am J Physiol* (Band 253), Nr. 3 Pt 1, Seite G298-302.
76. Gutniak, M.; Orskov, C.; Holst, J. J.; Ahren, B. und Efendic, S. (1992): Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7-36)amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus, *N Engl J Med* (Band 326), Nr. 20, Seite 1316-22.
77. Gutzwiller, J. P.; Drewe, J.; Goke, B.; Schmidt, H.; Rohrer, B.; Lareida, J. und Beglinger, C. (1999a): Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type 2, *Am J Physiol* (Band 276), Nr. 5 Pt 2, Seite R1541-4.
78. Gutzwiller, J. P.; Goke, B.; Drewe, J.; Hildebrand, P.; Ketterer, S.; Handschin, D.; Winterhalder, R.; Conen, D. und Beglinger, C. (1999b): Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans, *Gut* (Band 44), Nr. 1, Seite 81-6.
79. Hammer, J.; Lang, K. und Kletter, K. (1998): Accelerated right colonic emptying after simulated upper gut hemorrhage, *Am J Gastroenterol* (Band 93), Nr. 4, Seite 628-31.

80. Hansen, L.; Deacon, C. F.; Orskov, C. und Holst, J. J. (1999): Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine, *Endocrinology* (Band 140), Nr. 11, Seite 5356-63.
81. Hansen, L.; Hartmann, B.; Bisgaard, T.; Mineo, H.; Jorgensen, P. N. und Holst, J. J. (2000): Somatostatin restrains the secretion of glucagon-like peptide-1 and -2 from isolated perfused porcine ileum, *Am J Physiol Endocrinol Metab* (Band 278), Nr. 6, Seite E1010-8.
82. Harper, A. A.; Hood, A. J.; Mushens, J. und Smy, J. R. (1979): Pancreatone, an inhibitor of pancreatic secretion in extracts of ileal and colonic mucosa, *J Physiol* (Band 292), Seite 455-67.
83. Heddle, R.; Fone, D.; Dent, J. und Horowitz, M. (1988): Stimulation of pyloric motility by intraduodenal dextrose in normal subjects, *Gut* (Band 29), Nr. 10, Seite 1349-57.
84. Heddle, R.; Miedema, B. W. und Kelly, K. A. (1993): Integration of canine proximal gastric, antral, pyloric, and proximal duodenal motility during fasting and after a liquid meal, *Dig Dis Sci* (Band 38), Nr. 5, Seite 856-69.
85. Heller, H. (1935): Ueber das insulinotrope Hormon der Darmscheidhaut (Duodenin). *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, Nr. 177, Seite 127-133.
86. Heller, R. S. und Aponte, G. W. (1995): Intra-islet regulation of hormone secretion by glucagon-like peptide-1-(7--36) amide, *Am J Physiol* (Band 269), Nr. 6 Pt 1, Seite G852-60.
87. Heller, R. S.; Kieffer, T. J. und Habener, J. F. (1997): Insulinotropic glucagon-like peptide I receptor expression in glucagon-producing alpha-cells of the rat endocrine pancreas, *Diabetes* (Band 46), Nr. 5, Seite 785-91.
88. Herrmann-Rinke, C.; Voge, A.; Hess, M. und Goke, B. (1995): Regulation of glucagon-like peptide-1 secretion from rat ileum by neurotransmitters and peptides, *J Endocrinol* (Band 147), Nr. 1, Seite 25-31.

89. Herrmann, C.; Goke, R.; Richter, G.; Fehmann, H. C.; Arnold, R. und Goke, B. (1995): Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients, *Digestion* (Band 56), Nr. 2, Seite 117-26.
90. Hobsley, M. und Silen, W. (1969): Use of an inert marker (phenol red) to improve accuracy in gastric secretion studies, *Gut* (Band 10), Nr. 10, Seite 787-95.
91. Holgate, A. M. und Read, N. W. (1985): Effect of ileal infusion of intralipid on gastrointestinal transit, ileal flow rate, and carbohydrate absorption in humans after ingestion of a liquid meal, *Gastroenterology* (Band 88), Nr. 4, Seite 1005-11.
92. Holst, J. J. (1999): Glucagon-like peptide-1, a gastrointestinal hormone with a pharmaceutical potential, *Curr Med Chem* (Band 6), Nr. 11, Seite 1005-17.
93. Holst, J. J. (2003): Implementation of GLP-1 based therapy of type 2 diabetes mellitus using DPP-IV inhibitors, *Adv Exp Med Biol* (Band 524), Seite 263-79.
94. Holst, J. J.; Orskov, C.; Nielsen, O. V. und Schwartz, T. W. (1987): Truncated glucagon-like peptide I, an insulin-releasing hormone from the distal gut, *FEBS Lett* (Band 211), Nr. 2, Seite 169-74.
95. Holz, G. G. und Chepurny, O. G. (2003): Glucagon-like peptide-1 synthetic analogs: new therapeutic agents for use in the treatment of diabetes mellitus, *Curr Med Chem* (Band 10), Nr. 22, Seite 2471-83.
96. Holz, G. G. th; Kuhlreiber, W. M. und Habener, J. F. (1993): Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1(7-37), *Nature* (Band 361), Nr. 6410, Seite 362-5.
97. Holz, G. G. th; Leech, C. A. und Habener, J. F. (1995): Activation of a cAMP-regulated Ca(2+)-signaling pathway in pancreatic beta-cells by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1, *J Biol Chem* (Band 270), Nr. 30, Seite 17749-57.
98. Houghton, L. A.; Read, N. W.; Heddle, R.; Horowitz, M.; Collins, P. J.; Chatterton, B. und Dent, J. (1988): Relationship of the motor activity of the antrum, pylorus, and duodenum to gastric emptying of a solid-liquid mixed meal, *Gastroenterology* (Band 94), Nr. 6, Seite 1285-91.

99. Hummel, B. C. (1959): A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin, *Can J Biochem Physiol* (Band 37), Seite 1393-9.
100. Jain, N. K.; Boivin, M.; Zinsmeister, A. R.; Brown, M. L.; Malagelada, J. R. und DiMagno, E. P. (1989): Effect of ileal perfusion of carbohydrates and amylase inhibitor on gastrointestinal hormones and emptying, *Gastroenterology* (Band 96), Nr. 2 Pt 1, Seite 377-87.
101. Johansson, C. (1975): Studies of gastrointestinal interactions. VII. Characteristics of the absorption pattern of sugar, fat and protein from composite meals in man. A quantitative study, *Scand J Gastroenterol* (Band 10), Nr. 1, Seite 33-42.
102. Katschinski, M.; Dahmen, G.; Reinshagen, M.; Beglinger, C.; Koop, H.; Nustede, R. und Adler, G. (1992): Cephalic stimulation of gastrointestinal secretory and motor responses in humans, *Gastroenterology* (Band 103), Nr. 2, Seite 383-91.
103. Katschinski, M.; Schirra, J.; Beglinger, C.; Langbein, S.; Wank, U.; D'Amato, M. und Arnold, R. (1996): Intestinal phase of human antro-pyloro-duodenal motility: cholinergic and CCK-mediated regulation, *Eur J Clin Invest* (Band 26), Nr. 7, Seite 574-83.
104. Keller, J.; Holst, J. J. und Layer, P. (2006): Inhibition of human pancreatic and biliary output but not intestinal motility by physiological intraileal lipid loads, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (Band 290), Nr. 4, Seite G704-9.
105. Kellow, J. E.; Borody, T. J.; Phillips, S. F.; Tucker, R. L. und Haddad, A. C. (1986): Human interdigestive motility: variations in patterns from esophagus to colon, *Gastroenterology* (Band 91), Nr. 2, Seite 386-95.
106. Kelly, K. A. (1981): *Motility of the Stomach and Gastroduodenal Junction., Physiology of the Gastrointestinal Tract*, L. R. Johnson. New York, Ravens Press.
107. Kieffer, T. J. und Habener, J. F. (1999): The glucagon-like peptides, *Endocr Rev* (Band 20), Nr. 6, Seite 876-913.
108. Kieffer, T. J.; McIntosh, C. H. und Pederson, R. A. (1995): Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in

vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV, *Endocrinology* (Band 136), Nr. 8, Seite 3585-96.

109. Kolligs, F.; Fehmann, H. C.; Goke, R. und Goke, B. (1995): Reduction of the incretin effect in rats by the glucagon-like peptide 1 receptor antagonist exendin (9-39) amide, *Diabetes* (Band 44), Nr. 1, Seite 16-9.

110. Kosaka, T. und Lim, R.K.S. (1930): Demonstration of the humoral agent in fat inhibition of gastric secretion., *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, Nr. 27, Seite 890-891.

111. Kreymann, B.; Williams, G.; Ghatei, M. A. und Bloom, S. R. (1987): Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man, *Lancet* (Band 2), Nr. 8571, Seite 1300-4.

112. LaBarre, J. und Still, E.U. (1930): Studies on the physiology of secretin., *Am J Physiol*, Nr. 91, Seite 649-653.

113. Larsen, P. J. und Holst, J. J. (2005): Glucagon-related peptide 1 (GLP-1): hormone and neurotransmitter, *Regul Pept* (Band 128), Nr. 2, Seite 97-107.

114. Larsson, L. I.; Holst, J.; Hakanson, R. und Sundler, F. (1975): Distribution and properties of glucagon immunoreactivity in the digestive tract of various mammals: an immunohistochemical and immunochemical study, *Histochemistry* (Band 44), Nr. 4, Seite 281-90.

115. Laugier, R. und Sarles, H. (1977): Action of oleic acid on the exocrine pancreatic secretion of the conscious rat: evidence for an anti-cholecystokinin-pancreozymin factor, *J Physiol* (Band 271), Nr. 1, Seite 81-92.

116. Lauritsen, K. B.; Moody, A. J.; Christensen, K. C. und Lindkaer Jensen, S. (1980): Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin release after small-bowel resection in man, *Scand J Gastroenterol* (Band 15), Nr. 7, Seite 833-40.

117. Layer, P.; Carlson, G. L. und DiMagno, E. P. (1985): Partially purified white bean amylase inhibitor reduces starch digestion in vitro and inactivates intraduodenal amylase in humans, *Gastroenterology* (Band 88), Nr. 6, Seite 1895-902.

118. Layer, P.; Chan, A. T.; Go, V. L. und DiMagno, E. P. (1988): Human pancreatic secretion during phase II antral motility of the interdigestive cycle, *Am J Physiol* (Band 254), Nr. 2 Pt 1, Seite G249-53.
119. Layer, P.; Go, V. L. und DiMagno, E. P. (1986): Fate of pancreatic enzymes during small intestinal aboral transit in humans, *Am J Physiol* (Band 251), Nr. 4 Pt 1, Seite G475-80.
120. Layer, P.; Holst, J. J.; Grandt, D. und Goebell, H. (1995): Ileal release of glucagon-like peptide-1 (GLP-1). Association with inhibition of gastric acid secretion in humans, *Dig Dis Sci* (Band 40), Nr. 5, Seite 1074-82.
121. Layer, P.; Peschel, S.; Schlesinger, T. und Goebell, H. (1990): Human pancreatic secretion and intestinal motility: effects of ileal nutrient perfusion, *Am J Physiol* (Band 258), Nr. 2 Pt 1, Seite G196-201.
122. Levitt, M. D.; Hirsh, P.; Fetzer, C. A.; Sheahan, M. und Levine, A. S. (1987): H<sub>2</sub> excretion after ingestion of complex carbohydrates, *Gastroenterology* (Band 92), Nr. 2, Seite 383-9.
123. Lin, H. C. und Chen, J. H. (2003): Slowing of intestinal transit by fat depends on an ondansetron - sensitive, efferent serotonergic pathway, *Neurogastroenterol Motil* (Band 15), Nr. 3, Seite 317-22.
124. Lin, H. C.; Zhao, X. T. und Wang, L. (1996a): Jejunal brake: inhibition of intestinal transit by fat in the proximal small intestine, *Dig Dis Sci* (Band 41), Nr. 2, Seite 326-9.
125. Lin, H. C.; Zhao, X. T. und Wang, L. (1997): Intestinal transit is more potently inhibited by fat in the distal (ileal brake) than in the proximal (jejunal brake) gut, *Dig Dis Sci* (Band 42), Nr. 1, Seite 19-25.
126. Lin, H. C.; Zhao, X. T.; Wang, L. und Wong, H. (1996b): Fat-induced ileal brake in the dog depends on peptide YY, *Gastroenterology* (Band 110), Nr. 5, Seite 1491-5.
127. Lloyd, K. C.; Amirmoazzami, S.; Friedik, F.; Heynio, A.; Solomon, T. E. und Walsh, J. H. (1997): Candidate canine enterogastrones: acid inhibition before and after vagotomy, *Am J Physiol* (Band 272), Nr. 5 Pt 1, Seite G1236-42.

128. Loud, F. B.; Holst, J. J.; Christiansen, J. und Rehfeld, J. F. (1988): Effect of glucagon on vagally induced gastric acid secretion in humans, *Dig Dis Sci* (Band 33), Nr. 4, Seite 405-8.
129. Lu, M.; Wheeler, M. B.; Leng, X. H. und Boyd, A. E., 3rd (1993): The role of the free cytosolic calcium level in beta-cell signal transduction by gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide I(7-37), *Endocrinology* (Band 132), Nr. 1, Seite 94-100.
130. Lund, P. K.; Goodman, R. H.; Dee, P. C. und Habener, J. F. (1982): Pancreatic preproglucagon cDNA contains two glucagon-related coding sequences arranged in tandem, *Proc Natl Acad Sci U S A* (Band 79), Nr. 2, Seite 345-9.
131. Malbert, C. H. und Mathis, C. (1994): Antropyloric modulation of transpyloric flow of liquids in pigs, *Gastroenterology* (Band 107), Nr. 1, Seite 37-46.
132. Meier, J. J.; Gallwitz, B. und Nauck, M. A. (2003): Glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide: potential applications in type 2 diabetes mellitus, *Bio-Drugs* (Band 17), Nr. 2, Seite 93-102.
133. Mentlein, R.; Gallwitz, B. und Schmidt, W. E. (1993): Dipeptidyl-peptidase IV hydrolyses gastric inhibitory polypeptide, glucagon-like peptide-1(7-36)amide, peptide histidine methionine and is responsible for their degradation in human serum, *Eur J Biochem* (Band 214), Nr. 3, Seite 829-35.
134. Minami, H. und McCallum, R. W. (1984): The physiology and pathophysiology of gastric emptying in humans, *Gastroenterology* (Band 86), Nr. 6, Seite 1592-610.
135. Minich, D. M.; Vonk, R. J. und Verkade, H. J. (1997): Intestinal absorption of essential fatty acids under physiological and essential fatty acid-deficient conditions, *J Lipid Res* (Band 38), Nr. 9, Seite 1709-21.
136. Mojsov, S.; Weir, G. C. und Habener, J. F. (1987): Insulinotropin: glucagon-like peptide I (7-37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas, *J Clin Invest* (Band 79), Nr. 2, Seite 616-9.



137. Montrose-Rafizadeh, C.; Yang, H.; Rodgers, B. D.; Beday, A.; Pritchette, L. A. und Eng, J. (1997): High potency antagonists of the pancreatic glucagon-like peptide-1 receptor, *J Biol Chem* (Band 272), Nr. 34, Seite 21201-6.
138. Moody, A. J. (1980): Gut glucagon-like immunoreactants, *Clin Gastroenterol* (Band 9), Nr. 3, Seite 699-709.
139. Nakagawa, A.; Satake, H.; Nakabayashi, H.; Nishizawa, M.; Furuya, K.; Nakano, S.; Kigoshi, T.; Nakayama, K. und Uchida, K. (2004): Receptor gene expression of glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic polypeptide, in rat nodose ganglion cells, *Auton Neurosci* (Band 110), Nr. 1, Seite 36-43.
140. Naslund, E.; Barkeling, B.; King, N.; Gutniak, M.; Blundell, J. E.; Holst, J. J.; Rossner, S. und Hellstrom, P. M. (1999): Energy intake and appetite are suppressed by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in obese men, *Int J Obes Relat Metab Disord* (Band 23), Nr. 3, Seite 304-11.
141. Nauck, M. A.; Bartels, E.; Orskov, C.; Ebert, R. und Creutzfeldt, W. (1993): Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic human gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide infused at near-physiological insulinotropic hormone and glucose concentrations, *J Clin Endocrinol Metab* (Band 76), Nr. 4, Seite 912-7.
142. Nauck, M. A.; Niedereichholz, U.; Ettl, R.; Holst, J. J.; Orskov, C.; Ritzel, R. und Schmiegel, W. H. (1997): Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans, *Am J Physiol* (Band 273), Nr. 5 Pt 1, Seite E981-8.
143. Nicolaus, M.; Brodl, J.; Linke, R.; Woerle, H. J.; Goke, B. und Schirra, J. (2011): Endogenous GLP-1 regulates postprandial glycemia in humans: relative contributions of insulin, glucagon, and gastric emptying, *J Clin Endocrinol Metab* (Band 96), Nr. 1, Seite 229-36.
144. O'Halloran, D. J.; Nikou, G. C.; Kreymann, B.; Ghatei, M. A. und Bloom, S. R. (1990): Glucagon-like peptide-1 (7-36)-NH<sub>2</sub>: a physiological inhibitor of gastric acid secretion in man, *J Endocrinol* (Band 126), Nr. 1, Seite 169-73.

145. Ohtani, N.; Sasaki, I.; Naito, H.; Shibata, C. und Matsuno, S. (2001): Mediators for fat-induced ileal brake are different between stomach and proximal small intestine in conscious dogs, *J Gastrointest Surg* (Band 5), Nr. 4, Seite 377-82.
146. Olsen, O. und Christiansen, J. (1990): Inhibition of human gastric acid secretion by peptide YY and secretin, *Digestion* (Band 47), Nr. 3, Seite 156-9.
147. Orskov, C. (1992): Glucagon-like peptide-1, a new hormone of the entero-insular axis., *Diabetologia* (Band 35), Nr. 8, Seite 701-11.
148. Orskov, C.; Bersani, M.; Johnsen, A. H.; Hojrup, P. und Holst, J. J. (1989): Complete sequences of glucagon-like peptide-1 from human and pig small intestine, *J Biol Chem* (Band 264), Nr. 22, Seite 12826-9.
149. Orskov, C.; Rabenhøj, L.; Wettergren, A.; Kofod, H. und Holst, J. J. (1994): Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans, *Diabetes* (Band 43), Nr. 4, Seite 535-9.
150. Orskov, C.; Wettergren, A. und Holst, J. J. (1993): Biological effects and metabolic rates of glucagonlike peptide-1 7-36 amide and glucagonlike peptide-1 7-37 in healthy subjects are indistinguishable, *Diabetes* (Band 42), Nr. 5, Seite 658-61.
151. Owyang, C.; Green, L. und Rader, D. (1983): Colonic inhibition of pancreatic and biliary secretion, *Gastroenterology* (Band 84), Nr. 3, Seite 470-5.
152. Pappas, T. N.; Debas, H. T.; Chang, A. M. und Taylor, I. L. (1986a): Peptide YY release by fatty acids is sufficient to inhibit gastric emptying in dogs, *Gastroenterology* (Band 91), Nr. 6, Seite 1386-9.
153. Pappas, T. N.; Debas, H. T.; Goto, Y. und Taylor, I. L. (1985): Peptide YY inhibits meal-stimulated pancreatic and gastric secretion, *Am J Physiol* (Band 248), Nr. 1 Pt 1, Seite G118-23.
154. Pappas, T. N.; Debas, H. T. und Taylor, I. L. (1986b): Enterogastrone-like effect of peptide YY is vagally mediated in the dog, *J Clin Invest* (Band 77), Nr. 1, Seite 49-53.
155. Perfetti, R. und Merkel, P. (2000): Glucagon-like peptide-1: a major regulator of pancreatic beta-cell function, *Eur J Endocrinol* (Band 143), Nr. 6, Seite 717-25.

156. Perley, M. J. und Kipnis, D. M. (1967): Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects, *J Clin Invest* (Band 46), Nr. 12, Seite 1954-62.
157. Pironi, L.; Stanghellini, V.; Miglioli, M.; Corinaldesi, R.; De Giorgio, R.; Ruggeri, E.; Tosetti, C.; Poggioli, G.; Morselli Labate, A. M.; Monetti, N. und et al. (1993): Fat-induced ileal brake in humans: a dose-dependent phenomenon correlated to the plasma levels of peptide YY, *Gastroenterology* (Band 105), Nr. 3, Seite 733-9.
158. Quigley, E. M. (1996): Gastric and small intestinal motility in health and disease, *Gastroenterol Clin North Am* (Band 25), Nr. 1, Seite 113-45.
159. Rachman, J.; Barrow, B. A.; Levy, J. C. und Turner, R. C. (1997): Near-normalisation of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in subjects with NIDDM, *Diabetologia* (Band 40), Nr. 2, Seite 205-11.
160. Rai, A.; Singh, G.; Raffaniello, R.; Eng, J. und Raufman, J. P. (1993): Actions of Helodermatidae venom peptides and mammalian glucagon-like peptides on gastric chief cells, *Am J Physiol* (Band 265), Nr. 1 Pt 1, Seite G118-25.
161. Rask, E.; Olsson, T.; Soderberg, S.; Johnson, O.; Seckl, J.; Holst, J. J. und Ahren, B. (2001): Impaired incretin response after a mixed meal is associated with insulin resistance in nondiabetic men, *Diabetes Care* (Band 24), Nr. 9, Seite 1640-5.
162. Raufman, J. P.; Singh, L.; Singh, G. und Eng, J. (1992): Truncated glucagon-like peptide-1 interacts with exendin receptors on dispersed acini from guinea pig pancreas. Identification of a mammalian analogue of the reptilian peptide exendin-4, *J Biol Chem* (Band 267), Nr. 30, Seite 21432-7.
163. Read, N. W.; McFarlane, A.; Kinsman, R. I.; Bates, T. E.; Blackhall, N. W.; Farrar, G. B.; Hall, J. C.; Moss, G.; Morris, A. P.; O'Neill, B. und et al. (1984): Effect of infusion of nutrient solutions into the ileum on gastrointestinal transit and plasma levels of neurotensin and enteroglucagon, *Gastroenterology* (Band 86), Nr. 2, Seite 274-80.

164. Ritzel, R.; Orskov, C.; Holst, J. J. und Nauck, M. A. (1995): Pharmacokinetic, insulinotropic, and glucagonostatic properties of GLP-1 [7-36 amide] after subcutaneous injection in healthy volunteers. Dose-response-relationships, *Diabetologia* (Band 38), Nr. 6, Seite 720-5.
165. Roberge, J. N. und Brubaker, P. L. (1991): Secretion of proglucagon-derived peptides in response to intestinal luminal nutrients, *Endocrinology* (Band 128), Nr. 6, Seite 3169-74.
166. Roberge, J. N. und Brubaker, P. L. (1993): Regulation of intestinal proglucagon-derived peptide secretion by glucose-dependent insulinotropic peptide in a novel enteroendocrine loop, *Endocrinology* (Band 133), Nr. 1, Seite 233-40.
167. Rocca, A. S. und Brubaker, P. L. (1999): Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion, *Endocrinology* (Band 140), Nr. 4, Seite 1687-94.
168. Rothenburg, P.; Kalbag, J.; Smith, H.; Gingerich, R.; Nedelman, J.; Villhauer, E.; McLeod, J. und Hughes, T. (2000): Treatment with a DPP-IV inhibitor, NVP-DPP728, increases prandial intact GLP-1 levels and reduces glucose exposure in humans., *Diabetes* (Band 49), Nr. Suppl. 1, Seite A:39.
169. Schirra, J.; Houck, P.; Wank, U.; Arnold, R.; Goke, B. und Katschinski, M. (2000): 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* (Band 46), Nr. 5, Seite 622-31.
170. Schirra, J.; Katschinski, M.; Weidmann, C.; Schafer, T.; Wank, U.; Arnold, R. und Goke, B. (1996): Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans, *J Clin Invest* (Band 97), Nr. 1, Seite 92-103.
171. Schirra, J.; Kuwert, P.; Wank, U.; Leicht, P.; Arnold, R.; Goke, B. und Katschinski, M. (1997a): Differential effects of subcutaneous GLP-1 on gastric emptying, antroduodenal motility, and pancreatic function in men, *Proc Assoc Am Physicians* (Band 109), Nr. 1, Seite 84-97.

172. Schirra, J.; Leicht, P.; Hildebrand, P.; Begliner, C.; Arnold, R.; Goke, B. und Katschinski, M. (1997b): Insulinotropic activity of incretin hormones in men., *Gastroenterology* (Band 112), Seite A1186.
173. Schirra, J.; Leicht, P.; Hildebrand, P.; Beglinger, C.; Arnold, R.; Goke, B. und Katschinski, M. (1998a): Mechanisms of the antidiabetic action of subcutaneous glucagon-like peptide-1(7-36)amide in non-insulin dependent diabetes mellitus, *J Endocrinol* (Band 156), Nr. 1, Seite 177-86.
174. Schirra, J.; Morper, M.; Nicolaus, M.; Woerle, H. J. und Goke, B. (2008): The efficacy of Exendin(9-39)amide as a GLP-1 receptor antagonist in human, *United European Gastroenterology Week, Vienna 2008*.
175. Schirra, J.; Nicolaus, M.; Roggel, R.; Katschinski, M.; Storr, M.; Woerle, H. J. und Goke, B. (2005): Endogenous GLP-1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans, *Gut*.
176. Schirra, J.; Nicolaus, M.; Roggel, R.; Katschinski, M.; Storr, M.; Woerle, H. J. und Goke, B. (2006): Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans, *Gut* (Band 55), Nr. 2, Seite 243-51.
177. Schirra, J.; Nicolaus, M.; Woerle, H. J.; Struckmeier, C.; Katschinski, M. und Goke, B. (2009): GLP-1 regulates gastroduodenal motility involving cholinergic pathways, *Neurogastroenterol Motil* (Band 21), Nr. 6, Seite 609-18, e21-2.
178. Schirra, J.; Sturm, K.; Leicht, P.; Arnold, R.; Goke, B. und Katschinski, M. (1998b): Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in humans, *J Clin Invest* (Band 101), Nr. 7, Seite 1421-30.
179. Schirra, J.; Wank, U.; Arnold, R.; Goke, B. und Katschinski, M. (2002): Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on motility and sensation of the proximal stomach in humans, *Gut* (Band 50), Nr. 3, Seite 341-8.
180. Schjoldager, B. T.; Mortensen, P. E.; Christiansen, J.; Orskov, C. und Holst, J. J. (1989): GLP-1 (glucagon-like peptide 1) and truncated GLP-1, fragments of human

proglucagon, inhibit gastric acid secretion in humans, *Dig Dis Sci* (Band 34), Nr. 5, Seite 703-8.

181. Schmidt, W. E.; Siegel, E. G. und Creutzfeldt, W. (1985): Glucagon-like peptide-1 but not glucagon-like peptide-2 stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets, *Diabetologia* (Band 28), Nr. 9, Seite 704-7.

182. Schwartz, TW (1983), *Gastroenterology* (Band 85), Seite 1411-1425.

183. Schwartz, TW et al. (1978), *J Clin Invest* (Band 61), Seite 781-789.

184. Shahidullah, M.; Kennedy, T. L. und Parks, T. G. (1973): Proceedings: the duodenal brake--hormonal or vagal?, *Br J Surg* (Band 60), Nr. 11, Seite 912-3.

185. Shahidullah, M.; Kennedy, T. L. und Parks, T. G. (1975): The vagus, the duodenal brake, and gastric emptying, *Gut* (Band 16), Nr. 5, Seite 331-6.

186. Siegle, M. L.; Schmid, H. R. und Ehrlein, H. J. (1990): Effects of ileal infusions of nutrients on motor patterns of canine small intestine, *Am J Physiol* (Band 259), Nr. 1 Pt 1, Seite G78-85.

187. Sjolund, K.; Sanden, G.; Hakanson, R. und Sundler, F. (1983): Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study, *Gastroenterology* (Band 85), Nr. 5, Seite 1120-30.

188. Spiller, R. C.; Trotman, I. F.; Adrian, T. E.; Bloom, S. R.; Misiewicz, J. J. und Silk, D. B. (1988): Further characterisation of the 'ileal brake' reflex in man--effect of ileal infusion of partial digests of fat, protein, and starch on jejunal motility and release of neurotensin, enteroglucagon, and peptide YY, *Gut* (Band 29), Nr. 8, Seite 1042-51.

189. Spiller, R. C.; Trotman, I. F.; Higgins, B. E.; Ghatei, M. A.; Grimble, G. K.; Lee, Y. C.; Bloom, S. R.; Misiewicz, J. J. und Silk, D. B. (1984): The ileal brake--inhibition of jejunal motility after ileal fat perfusion in man, *Gut* (Band 25), Nr. 4, Seite 365-74.

190. Stephen, A. M.; Haddad, A. C. und Phillips, S. F. (1983): Passage of carbohydrate into the colon. Direct measurements in humans, *Gastroenterology* (Band 85), Nr. 3, Seite 589-95.

191. Stoffel, M.; Espinosa, R., 3rd; Le Beau, M. M. und Bell, G. I. (1993): Human glucagon-like peptide-1 receptor gene. Localization to chromosome band 6p21 by fluorescence in situ hybridization and linkage of a highly polymorphic simple tandem repeat DNA polymorphism to other markers on chromosome 6, *Diabetes* (Band 42), Nr. 8, Seite 1215-8.
192. Szurszewski, J. H. (1969): A migrating electric complex of canine small intestine, *Am J Physiol* (Band 217), Nr. 6, Seite 1757-63.
193. Tang-Christensen, M.; Larsen, P. J.; Goke, R.; Fink-Jensen, A.; Jessop, D. S.; Moller, M. und Sheikh, S. P. (1996): Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats, *Am J Physiol* (Band 271), Nr. 4 Pt 2, Seite R848-56.
194. Thompson, J. S.; Quigley, E. M.; Adrian, T. E. und Path, F. R. (1998): Role of the ileocecal junction in the motor response to intestinal resection, *J Gastrointest Surg* (Band 2), Nr. 2, Seite 174-85.
195. Thorens, B. (1992): Expression cloning of the pancreatic beta cell receptor for the gluco-incretin hormone glucagon-like peptide 1, *Proc Natl Acad Sci U S A* (Band 89), Nr. 18, Seite 8641-5.
196. Thorens, B.; Porret, A.; Buhler, L.; Deng, S. P.; Morel, P. und Widmann, C. (1993): Cloning and functional expression of the human islet GLP-1 receptor. Demonstration that exendin-4 is an agonist and exendin-(9-39) an antagonist of the receptor, *Diabetes* (Band 42), Nr. 11, Seite 1678-82.
197. Toft-Nielsen, M. B.; Madsbad, S. und Holst, J. J. (1999): Continuous subcutaneous infusion of glucagon-like peptide 1 lowers plasma glucose and reduces appetite in type 2 diabetic patients, *Diabetes Care* (Band 22), Nr. 7, Seite 1137-43.
198. Tougas, G.; Anvari, M.; Dent, J.; Somers, S.; Richards, D. und Stevenson, G. W. (1992): Relation of pyloric motility to pyloric opening and closure in healthy subjects, *Gut* (Band 33), Nr. 4, Seite 466-71.
199. Turton, M. D.; O'Shea, D.; Gunn, I.; Beak, S. A.; Edwards, C. M.; Meeran, K.; Choi, S. J.; Taylor, G. M.; Heath, M. M.; Lambert, P. D.; Wilding, J. P.; Smith, D. M.;

- Ghatei, M. A.; Herbert, J. und Bloom, S. R. (1996): A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding, *Nature* (Band 379), Nr. 6560, Seite 69-72.
200. Unger, R. H. und Eisentraut, A. M. (1969): Entero-insular axis, *Arch Intern Med* (Band 123), Nr. 3, Seite 261-6.
201. Uttenthal, L. O.; Toledano, A. und Blazquez, E. (1992): Autoradiographic localization of receptors for glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in rat brain, *Neuropeptides* (Band 21), Nr. 3, Seite 143-6.
202. Van Citters, G. W. und Lin, H. C. (1999): The ileal brake: a fifteen-year progress report, *Curr Gastroenterol Rep* (Band 1), Nr. 5, Seite 404-9.
203. Vantrappen, G.; Janssens, J.; Hellemans, J. und Ghoo, Y. (1977): The interdigestive motor complex of normal subjects and patients with bacterial overgrowth of the small intestine, *J Clin Invest* (Band 59), Nr. 6, Seite 1158-66.
204. Vilsboll, T.; Agerso, H.; Krarup, T. und Holst, J. J. (2003): Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects, *J Clin Endocrinol Metab* (Band 88), Nr. 1, Seite 220-4.
205. Vonk, R. J.; Kalivianakis, M.; Minich, D. M.; Bijleveld, C. M. und Verkade, H. J. (1997): The metabolic importance of unabsorbed dietary lipids in the colon, *Scand J Gastroenterol Suppl* (Band 222), Seite 65-7.
206. Wang, Z.; Wang, R. M.; Owji, A. A.; Smith, D. M.; Ghatei, M. A. und Bloom, S. R. (1995): Glucagon-like peptide-1 is a physiological incretin in rat, *J Clin Invest* (Band 95), Nr. 1, Seite 417-21.
207. Wei, Y. und Mojsov, S. (1995): Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences, *FEBS Lett* (Band 358), Nr. 3, Seite 219-24.
208. Wen, J.; Luque-de Leon, E.; Kost, L. J.; Sarr, M. G. und Phillips, S. F. (1998): Duodenal motility in fasting dogs: humoral and neural pathways mediating the colonic brake, *Am J Physiol* (Band 274), Nr. 1 Pt 1, Seite G192-5.
209. Wettergren, A.; Petersen, H.; Orskov, C.; Christiansen, J.; Sheikh, S. P. und Holst, J. J. (1994): Glucagon-like peptide-1 7-36 amide and peptide YY from the L-cell of the



ileal mucosa are potent inhibitors of vagally induced gastric acid secretion in man, *Scand J Gastroenterol* (Band 29), Nr. 6, Seite 501-5.

210. Wettergren, A.; Schjoldager, B.; Mortensen, P. E.; Myhre, J.; Christiansen, J. und Holst, J. J. (1993): Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man, *Dig Dis Sci* (Band 38), Nr. 4, Seite 665-73.

211. Wettergren, A.; Wojdemann, M.; Meisner, S.; Stadil, F. und Holst, J. J. (1997): The inhibitory effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 7-36 amide on gastric acid secretion in humans depends on an intact vagal innervation, *Gut* (Band 40), Nr. 5, Seite 597-601.

212. Wheeler, M. B.; Lu, M.; Dillon, J. S.; Leng, X. H.; Chen, C. und Boyd, A. E., 3rd (1993): Functional expression of the rat glucagon-like peptide-I receptor, evidence for coupling to both adenylyl cyclase and phospholipase-C, *Endocrinology* (Band 133), Nr. 1, Seite 57-62.

213. Wingate, D. L.; Sandberg, R. J. und Phillips, S. F. (1972): A comparison of stable and <sup>14</sup>C-labelled polyethylene glycol as volume indicators in the human jejunum, *Gut* (Band 13), Nr. 10, Seite 812-5.

214. Woolf, G. M.; Miller, C.; Kurian, R. und Jeejeebhoy, K. N. (1983): Diet for patients with a short bowel: high fat or high carbohydrate?, *Gastroenterology* (Band 84), Nr. 4, Seite 823-8.

215. Yalow, R. S. und Berson, S. A. (1960): Immunoassay of endogenous plasma insulin in man, *J Clin Invest* (Band 39), Seite 1157-75.

216. Yang, H.; Egan, J. M.; Wang, Y.; Moyes, C. D.; Roth, J.; Montrose, M. H. und Montrose-Rafizadeh, C. (1998): GLP-1 action in L6 myotubes is via a receptor different from the pancreatic GLP-1 receptor, *Am J Physiol* (Band 275), Nr. 3 Pt 1, Seite C675-83.

217. You, C. H. und Chey, W. Y. (1987): Secretin is an enterogastrone in humans, *Dig Dis Sci* (Band 32), Nr. 5, Seite 466-71.

218. Zhao, X. T.; Wang, L. und Lin, H. C. (2000): Slowing of intestinal transit by fat depends on naloxone-blockable efferent, opioid pathway, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (Band 278), Nr. 6, Seite G866-70.

## 8 Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name	Samera Shakir
Geburtsdatum	30. September 1981
Geburtsort	Norwich (UK)
Familienstand	verheiratet

### Aktuelle Anstellung

2011 -	Assistenzarzt, Kardiologie, Inselspital Bern, Schweiz
2010 - 2011	Assistenzarzt, Innere Medizin, Hôpitaux Universitaires de Genève, Schweiz
2009 - 2010	Assistenzarzt, Innere Medizin, Hôpital Riviera, Vevey, Schweiz
2008 - 2009	Assistenzarzt, Anästhesiologie, Hôpital eHny, Yverdon-les-Bains, Schweiz

### Ausbildung

05/2008	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung nach neuer ÄAppO, Note gut
08/2003	Ärztliche Vorprüfung („Physikum“)
2002 - 2008	Ludwig-Maximilians-Universität München Humanmedizin
2001 - 2002	Centre Universitaire de Luxembourg Humanmedizin
1992 - 2001	Lycée classique Robert Schuman, Luxembourg Baccalauréat

### Promotion

Thema	Dissertationsarbeit: „GLP-1 mediates the ileal brake in humans“ in der Abteilung für Gastroenterologie und Endokrinologie, Medizinische Klinik II, Klinikum Großhadern, Universitätsklinikum München, beim Prof. Dr. Jörg Schirra
-------	--

- 10/2008 Vortrag auf dem Kongress « United European Gastroenterology Week ». UEGW. Wien
- 09/2007 Vortrag auf dem Kongress „Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten, DGVS“. Bochum
- 08/2007 Abstract von „GLP-1 mediates the ileal brake in humans“ in der „Zeitschrift für Gastroenterologie“, Ausgabe August 2007, publiziert.
- 05/2006 Poster-session auf dem gastroenterologischen Kongress „Digestive Disease Week 2006“ (DDW). Los Angeles
- 11/2005 Vortrag auf dem Kongress „Deutsche Gesellschaft für Neurogastroenterologie und Motilität e.V.“. München

### **Praktisches Jahr**

- 05 - 07/ 2007 *Klinikum der Universität München, München*  
Anästhesiologie
- 02 - 05/2007 *The Royal Oldham Hospital, University of Manchester*  
Nephrologie, Geriatrie
- 12/2006 - 02/2007 *Mayday University Hospital, London*  
Innere Medizin
- 08 - 12/2006 *Hôpitaux Universitaires de Genève, Genf*  
Herz- und Gefässchirurgie

### **Sprachkenntnisse**

Englisch, Deutsch, Französisch, Luxemburgisch und Urdu