



Bismillahi – Rahmani – Rahim

Mit dem Namen Allahs, des Gnädigen, des Barmherzigen

„Suche nach Wissen und wenn es aus China kommt“

Muhammad (s.a.s.)

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
der Philipps-Universität Marburg
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. R. Arnold
Abteilung für Gastroenterologie, Endokrinologie und Stoffwechsel
Direktor: Prof. Dr. med. R. Arnold

**Die Wirkung von Orexin B auf die Hormonsekretion
(Insulin, Glukagon und Somatostatin)
des isoliert perfundierten Rattenpankreas**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Medizin der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
BILAL FAROUK EL-ZAYAT AUS MARBURG
Marburg – 2003

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg am 17. Juni 2004

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch

Referent: Prof. Dr. R. Arnold

Korreferent: Prof. Dr. J. Koolman

2. Korreferent: Prof. Dr. R.Göke

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	6
1.1	HINFÜHRUNG ZUM THEMA	6
1.2	OREXIN.....	14
1.2.1	Geschichte.....	14
1.2.2	Expression/Stoffwechsel	14
1.2.3	Wirkung / Physiologie	15
1.3	LEPTIN.....	18
1.3.1	Geschichte.....	18
1.3.2	Expression/Stoffwechsel	19
1.3.3	Wirkung / Physiologie	19
1.3.4	Klinik	22
1.4	GLP-1.....	24
1.4.1	Geschichte.....	24
1.4.2	Expression	25
1.4.3	Wirkung / Physiologie	25
1.4.4	Klinische Anwendung.....	26
1.5	ZIELSETZUNG DER ARBEIT / FRAGESTELLUNG	28
2	MATERIAL UND METHODEN	29
2.1	MATERIAL.....	29
2.1.1	Perfusionsmedien.....	29
2.1.2	Orexin B.....	30
2.1.3	Leptin	30
2.1.4	GLP-1	30
2.1.5	RIA's.....	30
2.1.6	Ratten.....	31
2.2	PRÄPARATIONSPROZEDUR	33
2.2.1	Anatomie der Ratte	33
2.2.2	Benötigte Instrumente zur Präparation.....	33
2.2.3	Operationsverfahren.....	33
2.2.4	Perfusionsprinzip	35
2.2.5	Perfusion / Probengewinnung	36
2.3	BEARBEITUNG DER PROBEN	37
2.3.1	Insulin-RIA	37
2.3.2	Glukagon-RIA.....	37
2.3.3	Somatostatin-RIA	37

3	ERGEBNISSE.....	38
3.1	BEEINFLUSSUNG DER INSULINSEKRETION	40
3.1.1	Wirkung von Orexin B.....	40
3.1.2	Wirkung von Orexin B und Leptin	44
3.1.3	Wirkung von Orexin B und GLP-1	48
3.1.4	Wirkung von Orexin B und Arginin.....	52
3.2	BEEINFLUSSUNG DER GLUKAGONSEKRETION	57
3.2.1	Wirkung von Orexin B.....	57
3.2.2	Wirkung von Orexin B und Leptin	61
3.2.3	Wirkung von Orexin B und Arginin.....	65
3.3	BEEINFLUSSUNG DER SOMATOSTATINSEKRETION DURCH OREXIN B	69
3.3.1	Rohdaten.....	69
3.3.2	Aufteilung in Phasen.....	69
3.3.3	Korrelationen/Statistik - Beschreibung der Ergebnisse.....	70
3.3.4	Graphische Darstellung	70
4	DISKUSSION.....	71
4.1	BEEINFLUSSUNG DER INSULINSEKRETION	71
4.1.1	Orexin B.....	71
4.1.2	Orexin B und Leptin	72
4.1.3	Orexin B und GLP-1.....	73
4.1.4	Orexin B und Arginin	74
4.1.5	Zusammenschau	75
4.2	BEEINFLUSSUNG DER GLUKAGONSEKRETION	76
4.2.1	Orexin B.....	76
4.2.2	Orexin B und Leptin	77
4.2.3	Orexin B und Arginin	78
4.3	BEEINFLUSSUNG DER SOMATOSTATINSEKRETION	79
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	80
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	82
7	TABELLENVERZEICHNIS	97
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	100
9	VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER	101
10	DANKSAGUNG	104

1 EINLEITUNG

1.1 Hinführung zum Thema

Ein erwachsener Mensch ist normalerweise in der Lage, sein Körpergewicht über Jahre hinweg konstant zu halten. Um dies zu gewährleisten, muss die Energieaufnahme durch die Nahrung langfristig genau dem Energieumsatz des Körpers entsprechen. Hierfür ist der menschliche Körper mit einem sehr effizienten und komplexen Regulationssystem ausgestattet, das durch das Entstehen von Hungergefühlen dafür sorgt, dass ein Antrieb zur Nahrungsaufnahme vorhanden ist, und so die Energiebilanz ausgeglichen werden kann. Es scheint jedoch, dass die Mechanismen, die den Menschen vor dem Verhungern schützen sollen, besser ausgebildet sind, als die, die ihn davor schützen, zuviel Energie aufzunehmen und dadurch zu dick zu werden. Jeder zweite Erwachsene in Deutschland ist übergewichtig, bis zu 20 % der Bevölkerung sind laut WHOMONICA-Projekt¹ adipös. Die WHO spricht inzwischen sogar von einer „Adipositasepidemie“. Wenn sich der derzeitige Trend weiterhin fortsetzt, dann wird im Jahr 2040 die Hälfte der erwachsenen Bevölkerung einen BMI über 30 kg/m² haben und damit übergewichtig sein.² Die Folgen stehen drohend vor uns: Berechnungen ergeben beispielsweise für die Jahre 1995 bis 2025 einen Anstieg der Begleiterkrankung Diabetes mellitus Typ 2 um etwa 41 %.³

Bis zu 70 % der Adipositasentstehung ist genetisch mitbestimmt. Weitere Studien zeigen, dass physiologische Faktoren wie z.B. ein niedriger Grundumsatz oder ein niedriges Niveau an Spontan-Aktivität das Risiko erhöhen, übergewichtig zu werden.

Energie- und Nahrungsaufnahme des Körpers werden ebenso wie der Energieumsatz im Gehirn gesteuert. Zur Gewichtsregulation muss das Gehirn zum einen den Energiezustand des Körpers, sowie die gespeicherte Energie messen, und andererseits Hunger und Sättigkeit regulieren und anpassen. Die dominierende Rolle bei diesem Prozess spielt der Hypothalamus.

Bereits vor 50 Jahren⁴ wurden im Hypothalamus zwei verschiedene Regionen mit entgegengesetzter Wirkung auf die Nahrungsaufnahme identifiziert: der ventromediale Hypothalamus, der als Sättigungszentrum fungieren sollte, und der laterale Hypothalamus – das sogenannte Hungerzentrum.⁵ Beide Regionen stehen in Kontakt miteinander. Ist das eine Zentrum aktiv, wird das andere gehemmt und umgekehrt. Dennoch blieb lange Zeit unklar, wie die Hunger- bzw. Sättigungsregulation auf molekularer Ebene funktioniert.

Die Regulation der Energiehomoostase wird durch Hunger und Sättigung gesteuert.⁶ Als Sättigung wird das Ende der Nahrungsaufnahme bezeichnet. Die Dehnung des Magens und des Darms sowie deren Inhalt sind die wichtigsten Sättigungssignale. Kaubewegungen sowie sensorische Informationen aus Nase, Mund, Rachen und Speiseröhre sind ebenfalls daran beteiligt. Die Informationen werden an das ZNS über den Nervus vagus sowie über endokrine Zellen des Darmepithels weitergeleitet.⁷

Die glukostatische Theorie⁸ besagt nun, dass die Glukosekonzentration im Blut vom Hypothalamus registriert wird. Tatsächlich wurden inzwischen im Hypothalamus Neurone (Glukosensoren) entdeckt, die die Glukosekonzentration messen können.⁹⁺¹⁰ Ihre molekulare Identität ist zur Zeit noch völlig unbekannt und Gegenstand intensiver weltweiter Forschung. Glukosensoren werden auch im Stammhirn und in der Leber gefunden. Die Glukosensoren der Leber können den Glukosegehalt des Blutes bestimmen, das direkt vom Darm in die Leber gelangt. Tatsächlich führt im Versuch eine Infusion von Glukose in die Pfortader zur Unterdrückung der Nahrungsaufnahme.¹¹ Die Informationen der Glukosensoren der Leber werden über den Nervus vagus ans ZNS gesendet. Hohe Glukosekonzentrationen tragen zur Sättigung, niedrige zum Entstehen von Hunger bei.

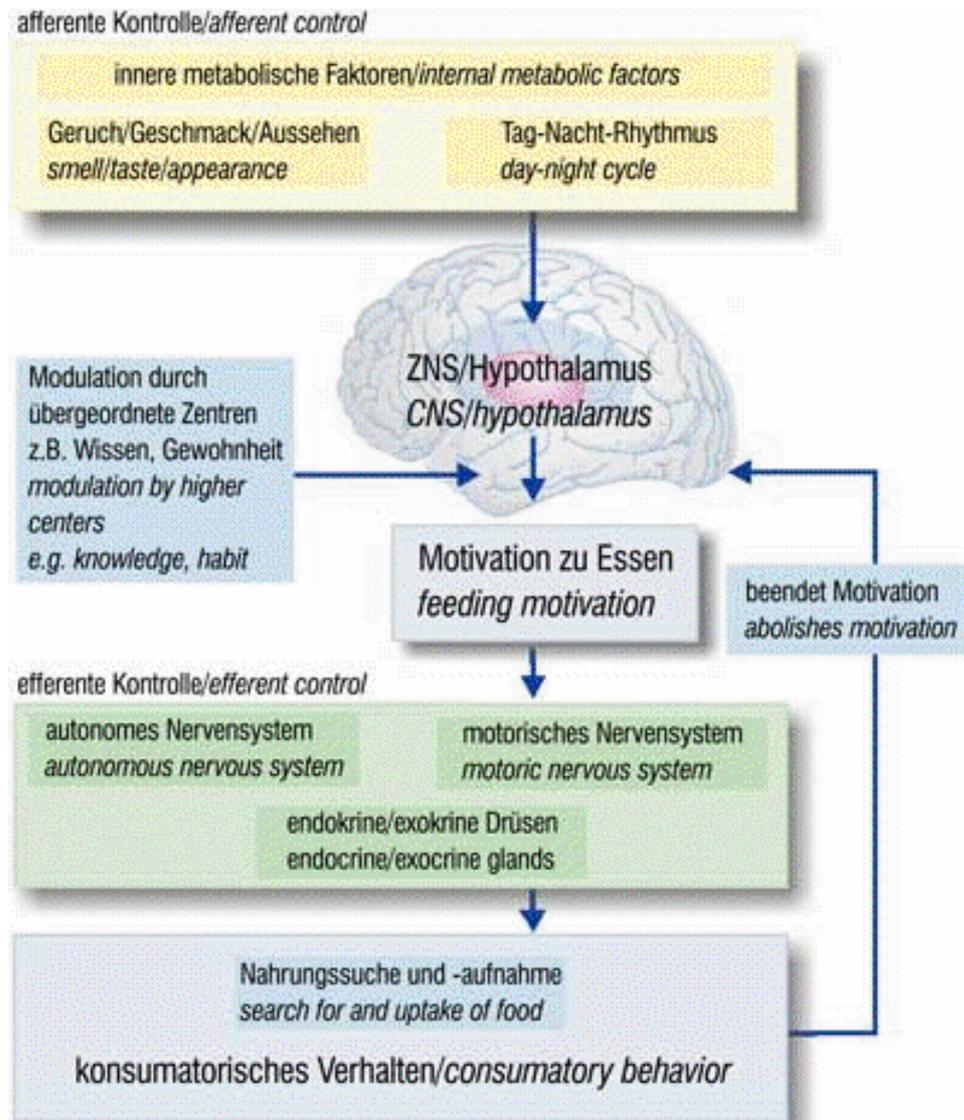


Abb. 1: Energiehomöostase¹²

Im Gegensatz zur glukostatischen Theorie, nach der das Nährstoffmolekül Glukose selbst das Signal darstellt, ist nicht bekannt, dass Nahrungsfette ebenfalls derartige Signalmoleküle repräsentieren. Nach dieser sog. lipostatischen Hypothese¹³ wird dem Gehirn mitgeteilt, wie gut der langfristige Energiezustand des Körpers in Form der Fettspeicher aussieht. Dies wurde gestützt durch Befunde an Mäusen, bei denen spontane Mutationen eines einzigen Gens, zu einer extremen Adipositas führen. Jedoch erst 1994 ist es *Friedman et al.* gelungen, bei einem dieser Mäusestämme, den so genannten obese (Ob) Mäusen, das defekte obese-Gen aufzuspüren und seinen

genetischen Kode zu entschlüsseln.¹⁴ Es stellte sich heraus, dass dieses Gen ein Protein namens „Leptin“ (von griechisch leptos = dünn oder schlank) kodiert, das von Fettzellen produziert wird. Je mehr Fettgewebe da ist, desto mehr Leptin wird produziert und desto höher ist die Blutkonzentration an Leptin. Injiziert man Leptin entweder in die Blutbahn oder direkt in den Hypothalamus von Ob-Mäusen, so wird die Futterraufnahme drastisch reduziert und die Mäuse nehmen stark an Gewicht ab. Das heißt, dass bei diesen Mäusen durch den Defekt des obese-Gens die Rückmeldung über die Fettspeicher des Körpers fehlt und dem ZNS dadurch eine ständige Unterernährung gemeldet wird. Somit kommt es zu einer extremen Gewichtszunahme.

Aus dem Dargestellten wird schnell klar, dass die Regulation der Energiehomöostase wesentlich komplexer ist als bislang vermutet, und daß das einfache Bild vom Hunger- und Sättigungszentrum nicht mehr aufrechterhalten werden kann. Vielmehr wird die Nahrungsaufnahme durch ein komplexes Netzwerk verschiedener übergeordneter Zentren gesteuert. Dieses orexische Netzwerk dient als Integrationszentrum zur Kontrolle der Nahrungsaufnahme und der Energiehomöostase. Ihm gehören mehrere Kerngebiete des Hypothalamus (periventriculäre, mediale und laterale Zone, ventromediales Sättigungs- und laterales Hungerzentrums, etc.) an, die mit verschiedenen höher- und tiefergestellten Zentren (dem dorsomedialen hypothalamischen Nukleus, dem Nukleus Arcuatus, dem Nukleus Paraventricularis, etc.) verbunden sind.

Kurz nach der Entdeckung des Leptins wurde auch dessen Rezeptor identifiziert.¹⁵ Der OB-Rb genannte Rezeptor existiert sowohl im Hypothalamus als auch in vielen anderen Zellen wie Muskelzellen, Leberzellen, Pankreaszellen etc.. Die Wirkung auf das Appetitsystem wird aber ausschließlich durch die Bindung von Leptin an die Rezeptoren im Hypothalamus vermittelt, wo es die Ausschüttung verschiedener Neuropeptide stimuliert oder inhibiert. Mäuse und Ratten, die einen Defekt im Leptinrezeptor haben, zeigen den gleichen Phänotyp wie die ob-Mäuse.

Die Annahme, dass eine gestörte Leptinproduktion, d.h. ein Leptinmangel für die Entstehung von Adipositas beim Menschen verantwortlich ist, hat sich leider nicht bestätigt.¹⁶ Zahlreiche Untersuchungen beim Menschen haben gezeigt, dass in der Regel bei Adipositas der Leptinspiegel im Blut erhöht ist, das ZNS jedoch nicht in der Lage ist, dies korrekt zu interpretieren. Wie und warum es zu einer solchen zentralen Leptinresistenz kommt, ist noch unverstanden und wird derzeit erforscht.

Neuropeptide, die die Nahrungsaufnahme beeinflussen

Stimulierend (orexigen):	Vermindernd (anorexigen):
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Neuropeptide Y (NPY) ◆ Melanin concentrating hormone (MCH) ◆ Agouti related peptide (AGRP) ◆ Galanin ◆ Orexin A und B ◆ β-Endorphin ◆ Peptide YY ◆ Opioide ◆ Noradrenalin (α2-Rezeptor) ◆ Gamma-Amino-Buttersäure (GABA) ◆ Ghrelin 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART) ◆ Cholecystokinin (CCK) ◆ Melanocyte-stimulating hormone (α-MSH) ◆ Corticotropin-releasing hormone (CRH) ◆ Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) ◆ Glukagon ◆ Thyrotropin releasing hormone (TRH) ◆ Interleukin β (IL-β) ◆ Urocortin ◆ Neurotensin ◆ Enterostatin ◆ Amylin ◆ Oxytocin ◆ Bombesin ◆ Serotonin ◆ Dopamin ◆ Histamin ◆ Noradrenalin (α1-Rezeptor, β1-Rezeptor)

Tabelle 1: Neuropeptide, die die Nahrungsaufnahme beeinflussen

Noradrenalin kann als einziger Transmitter sowohl stimulierend als auch hemmend auf die Nahrungsaufnahme wirken, je nachdem an welchen Rezeptor es bindet.

Weiterhin beeinflussen diverse Neurotransmitter und Neuropeptide die Hunger-Sättigungs-Regulation. Bislang konnten keine dafür spezifischen Transmitter gefunden werden. Für die Wirkung kommt es, wie auch sonst im Organismus, auf die genaue Kombination von Transmitter und Rezeptor an. Eine Auswahl der wichtigsten bisher bekannten hypothalamischen Neurotransmitter und -peptide des orexisches Netzwerks ist in Tabelle 1 aufgelistet.

Der wohl stärkste Stimulator des Eß- bzw. Fressverhalten ist das Neuropeptid Y (NPY), dessen zentrale Injektion sogar bei gesättigten Tieren die Nahrungsaufnahme stimuliert.¹⁷ Nahrungsentzug führt zu einer verstärkten Freisetzung, und Nahrungsaufnahme zur Reduktion der Freisetzung von NPY. Im Nukleus Paraventricularis des Hypothalamus freigesetztes NPY aktiviert mindestens einen bestimmten NPY-Rezeptor, den Y5-Rezeptor. Im Nukleus Arcuatus kontrolliert der Y5-Rezeptor als „Autorezeptor“ die Ausschüttung des NPY, seines eigenen Agonisten.¹⁸ Die Beteiligung des Y5-Rezeptors an der Kontrolle von Hunger und Sättigung sowie an der Energiehomöostase, macht die Entwicklung von Y5-Antagonisten zu einer interessanten und wahrscheinlich lohnenden Aufgabe für die Pharmaindustrie.

NPY wird durch Leptin reguliert, ein niedriger Leptinspiegel stimuliert die NPY-Ausschüttung, während ein hoher Leptinspiegel hemmend wirkt.¹⁹ Ein Gegenspieler von NPY ist dabei das Corticotropin-freisetzende Hormon (CRH).²⁰ Es zeigt katabole Wirkung, da es im Nukleus Paraventricularis zur Inhibition der Nahrungsaufnahme führt und den Energieverbrauch erhöht. Gleichzeitig ruft es die Stressantwort durch Freisetzung von Stresshormonen aus der Hypophyse hervor. Leptin stimuliert die Biosynthese und Freisetzung von CRH. Die Leptin-vermittelten Gewichtsverluste werden daher vermutlich durch die hypothalamische Freisetzung von CRF mit veranlasst. Tatsächlich ist der Leptinrezeptor in den CRH-Neuronen des Nukleus Paraventricularis enthalten.²¹ Eine Blockade des CRH-Weges führt auch zu einer verstärkten Nahrungsaufnahme nach NPY-Stimulation, d.h. CRH ruft den hemmenden

Effekt auf die Nahrungsaufnahme offenbar durch die Inhibition des anabolen NPY Signalweges hervor.

Wichtige Arbeiten der letzten Jahre haben die Bedeutung eines anderen Signalweges, des hypothalamischen Melanocortin-(MC)-Weges, für die Energiehomöostase verdeutlicht.²²⁺²³⁺²⁴ Die Peptide dieses Weges leiten sich aus dem Proopiomelanocortin (POMC) ab. Durch Spaltung entstehen aus dem POMC-Vorläufer eine Reihe von Peptid-Hormonen mit völlig unterschiedlicher Wirkung. Eines dieser Peptide, das α -Melanozyten-stimulierende-Hormon (α -MSH), aktiviert Melanozyten. Im ZNS bindet es an den MC-4 Rezeptor, der wichtig ist für die Energiehomöostase. Transgene Mäuse mit defektem MC-4 Rezeptor (knockout Mäuse) zeigen extreme Fettleibigkeit. Die sehr hohen Leptinspiegel dieser Mäuse legen nahe, dass die Tiere nicht adäquat auf erhöhte Leptinspiegel reagieren können. Die Assoziation von Leptin mit α -MSH und MC-4-Rezeptor wird durch die Lokalisation von Leptinrezeptoren in POMC Neuronen weiter gestützt. Vor einigen Jahren wurde ein Peptid entdeckt, das AGRP (agouti related peptide) genannt wird. AGRP ist normalerweise auf den Nucleus Arcuatus beschränkt und in Ob-Mäusen erhöht. AGRP ist ein spezifischer Antagonist am MC-4-Rezeptor, wo es die Bindung von α -MSH erschwert.²⁵ Experimentell erzeugte Überexpression von AGRP resultiert in Fettsucht wie der MC-4-Rezeptor knock-out selbst. Das Konzentrationsverhältnis von α -MSH und AGRP im Nucleus Arcuatus scheint also die Aktivität des MC-4-Rezeptors zu regulieren.²⁶

Zusätzlich zu den beschriebenen Neuropeptiden mit Wirkung auf die Regulation der Energiebilanz und Appetit im Hypothalamus, sind jüngst Peptide mit ähnlichen Wirkungen beschrieben worden. Einige von ihnen sind schon länger bekannte Peptide wie Melanin-konzentrierendes Hormon (MCH), glucagon-like-peptide 1 (GLP-1), Galanin oder Neuropeptin. Einflüsse dieser Peptide auf die Nahrungsaufnahme wurden meist nach ihrer zentralen Applikation festgestellt. Diese Arbeiten führten aber auch zur Entdeckung neuer, bislang unbekannter Neuropeptide. Hierzu zählt das CART-Peptid

(Cocain und Amphetamin-reguliertes Transkript), das zu einer starken Hemmung der Nahrungsaufnahme führt und die NPY-induzierte Nahrungsaufnahme vollständig hemmt.²⁷

Zwei weitere Peptide wurden kürzlich und unabhängig voneinander von zwei Arbeitsgruppen entdeckt. Sie leiten sich vom gleichen Prohormonvorläufer ab und wurden auf Grund ihrer Wirkung Orexin A und Orexin B²⁸ bzw. Hypocretine²⁹ getauft. Die Expression von Orexin ist bei Hunger erhöht und seine zentrale Administration ruft Hyperphagie hervor.

Das Bild, das die Regulation der Energiehomöostase und von Hunger- bzw. Sättigungsmechanismen beschreibt, zeigt sich derzeit als äußerst komplex, unvollständig und daher partiell verwirrend. Weder sind alle molekularen Teilnehmer am Geschehen, noch alle Orte des Geschehens derzeit bekannt. Dennoch haben die aufregenden Entdeckungen der letzten Jahre das Forschungsgebiet stark belebt, so dass bislang ein beträchtlicher Zuwachs an Erkenntnis erzielt wurde und sicherlich in naher Zukunft weiterhin erzielt werden wird.

1.2 Orexin

1.2.1 Geschichte

Im Rahmen einer größeren Untersuchung an Liganden bisher unklassifizierter G-Protein gekoppelter Zelloberflächen-Rezeptoren (GPCRs = G-protein-coupled cell surface receptors), fanden sich zwei sog. orphan-GPCRs, die eng zueinander in Beziehung standen. Die Forschergruppe um *Sakurai et al.* in Tsubuka, Japan, taufte sie 1998, wegen ihres nachweislichen Einflusses auf das Ernährungsverhalten, Orexin A bzw. B, dem griechischen Wort *orexis* folgend, was soviel bedeutet wie *Appetit*.³⁰ Unabhängig davon entdeckten *De Lecea et al.* diese fast zeitgleich und nannten sie Hypocretin.³¹ Die beiden der Gruppe der Neuropeptide zugehörigen Stoffe werden aus demselben Vorläufer-Peptid, dem Präpro-Orexin synthetisiert. Sie kommen v.a. in den Neuronen des lateralen Hypothalamus spezifisch vor, die als Zentrum für die Regulation der Nahrungsaufnahme beschrieben worden sind. Durch intraventrikuläre Applikation bei Ratten wird die Nahrungsaufnahme deutlich stimuliert.³²

Diese beiden neuartigen Neuropeptide, Orexin A und B, haben keine signifikante strukturelle Verwandtschaft zu bekannten bereits klassifizierten Regulationspeptiden.³³

1.2.2 Expression/Stoffwechsel

Sakurai et al. klonierten das gesamte humane Präpro-Orexin-Gen sowie die korrespondierende cDNA. Das humane Präpro-Orexin-Gen besteht aus 1432 Basenpaaren. Die humane Präpro-Orexin-mRNA kodiert für ein 131 Peptide langes Vorläufer-Peptid (Präpro-Orexin). Die beiden daraus resultierenden Peptide, enthalten 33 Aminosäuren (Orexin A) bzw. 28 Aminosäuren (Orexin B). Beide binden an einen spezifischen G-Protein-gekoppelten Orexin-Rezeptor, OX-1R und OX-2R³⁴ jedoch mit unterschiedlicher Affinität. Während der OX-1R selektiv Orexin A bindet ist OX-2R ein unselektiver Rezeptor für beide Oxine. Außerdem hat Orexin A eine größere Stabilität gegenüber proteolytischem Abbau als Orexin B.³⁵

Peyron et al. folgend werden die beiden Orexine ausschließlich in den Zellkörpern des lateralen Hypothalamus exprimiert.³⁶ Dies bestätigten auch *Mondal et al.* die kein Orexin im Fettgewebe oder den viszeralen Organen fanden.³⁷ Neuere Untersuchungen haben ergeben, dass Orexin und auch Orexinrezeptoren jedoch auch im enteralen Nervensystem, im Pankreas sowie auch im Darm vorhanden sind.³⁸⁺³⁹ Nachforschungen an anderen Organen bzw. Organsystemen auf das Vorhandensein von Orexin A und B bzw. die Rezeptoren OX-1R und OX-2R sind Gegenstand der aktuellen Forschung.

Die Forschergruppe um *Kastin* fand heraus, dass Orexin A eine hochlipophile Substanz ist, die die Blut-Hirn-Schranke schnell durch einfache Diffusion überwindet, und somit das Hirngewebe sehr schnell erreicht. Dies steht im Gegensatz zu dem geringer lipophilen Orexin B, welches schon im Blut sehr schnell metabolisiert und abgebaut wird.⁴⁰

Bei einem Nahrungskarenzversuch bei Ratten, stellte sich heraus, dass nach 48 Stunden die Orexin A und -B -Spiegel des lateralen Hypothalamus deutlich anstiegen, der Gehalt in anderen Hirngewebeabschnitten, im Vergleich zur Kontrollgruppe, jedoch signifikant zurückging. Dies lässt den Schluss zu, dass Orexine als Neuromodulatoren und/oder Neurotransmitter fungieren, die das Nahrungsverhalten beeinflussen in dem sie das Gefühl „Hunger“ vermitteln.⁴¹

1.2.3 Wirkung / Physiologie

Bei Untersuchungen bezüglich des Verlaufs der Orexinsynthese und Inkretion, konstatierten *Mondal et al.*, dass im Gehirn diesbezüglich keine zirkadiane Rhythmik existiert.⁴² Ihre Wirkung entfalten Orexine über eine Erhöhung des zytoplasmatischen Calciums, welches über eine G-Protein-vermittelte Steigerung des Calcium-Einstroms durch die Plasma-Membran-Kanäle bedingt wird. Die Peptide haben weiterhin sowohl auf prä- sowie auch auf postsynaptische Rezeptoren einen gleichermaßen ausgeprägten Effekt (*van den Pol et al.*).⁴³

Orexinhaltige Neurone im lateralen Hypothalamus der Ratte reagieren auf eine insulininduzierte Hypoglykämie mit einer Aktivierung desselben (*Sakurai et al.*).

Die zentrale Wirkung der Orexine ist die Regulation (insbesondere die Stimulation) der Nahrungsaufnahme, wobei die Stimulation bei Orexin A kontinuierlich, bei Orexin B jedoch nicht durchgängig nachzuweisen ist.⁴⁴

Durch ihr Vorkommen im lateralen Hypothalamus, und dessen essentielle Rolle in der zentralen Regulation der gastrointestinalen Funktion, vermuteten *Takahashi et al.*, dass die Orexine auch die zentrale Kontrolle der Magensäuresekretion beeinflussen. Die Versuche an Ratten ergaben, dass die intrazisternelle Injektion von Orexin A zwar dosisabhängig die Magensäuresekretion stimulierte, die intraperitoneale Applikation jedoch keinen Effekt zeigte. Sowohl eine Vagotomie als auch Atropin-Gabe blockierten diesen Prozess, woraus *Takahashi* schloss, dass Orexin A die Magensäuresekretion im Gehirn über eine Modulation des vagalen Systems stimuliert.⁴⁵

Die Beeinflussung der hypothalamischen Orexinausschüttung durch den Blutglukosespiegel und die Nahrungsaufnahme untersuchten *Cai et al.* Sie stellten fest, dass die Prä-pro-Orexin mRNA-Spiegel nach Fasten und nach einer akuten Hypoglykämie mit gleichzeitiger Nahrungskarenz signifikant ansteigen. Dies legt die Vermutung nahe, dass Orexine bei der Kurzzeit-Regulation des Energiehaushalts beteiligt sind, indem sie auf Abfälle des Blutglukosespiegels mit einer Stimulation der Nahrungsaufnahme reagieren.⁴⁶

Peyron et al. schließen aus ihren Studien, dass Orexine weitreichende physiologische Funktionen ausüben, die über die Regulation der Nahrungsaufnahme hinausgehen. Hierzu zählt die Regulation des Blutdrucks, des Neuroendokrinen Systems, der Körpertemperatur sowie des Schlaf-Wach-Zyklus.⁴⁷ Gerade zu diesem letztgenannten sind in letzter Zeit zahlreiche Publikationen erschienen, die weitreichende Eingriffe des Orexins in die Schlaf-Wach-Regulation konstatiert haben.

Pu et al. führten Versuche mit intracerebroventrikulärer Injektion von Orexin A und B an Ratten durch. Sie fanden heraus, dass dadurch die LH-Sekretion schnell stimuliert wurde; und zwar war der Effekt bei Orexin A - Injektion signifikant höher als bei den mit Orexin B injizierten Ratten. Somit fügten sie hinzu, dass Orexine zu einer Gruppe hypothalamischer Botenstoffe gehören, die die neurochemische Regulation von Reproduktion und Energiehaushalt

beeinflussen.⁴⁸ Diese These bestätigen *Kirchgessner et al.*. Ihre Untersuchungen ergaben, dass orexinhaltige Neurone nicht nur im lateralen Hypothalamus vorkommen. Sie stellten fest, dass eine Reihe von Neuronen im Darm, die unter anderem auch Leptinrezeptoren exprimieren, eine orexinähnliche Reaktivität aufweisen, sowie auch funktionelle Orexinrezeptoren exprimieren. Orexin stimuliert die sekretomotorischen Neurone im submukösen Plexus des Meerschweinchens und erhöht außerdem die Darmmotilität. Daraus schlussfolgert *Kirchgessner*, dass Orexin in der Regulation des Energiehaushalts im Darm eine wichtigere Rolle spielt, als ihm im ZNS zugeschrieben wird.⁴⁹

Eine weitere Folge der Orexinstimulation besteht in einer Erhöhung der Neuropeptid Y (NPY) - Freisetzung durch eine erhöhte Nahrungsaufnahme und eine Beeinflussung der endokrinen Regulation.⁵⁰⁺⁵¹

Leptin hingegen, von Adipozyten freigesetzt und Indikator für die Fettspeicher, hat eine gegensätzliche Wirkung auf dieselben Neurone. Dies führt zu einer Erniedrigung der NPY-Spiegel und daraus resultierend zu einer Erniedrigung der NPY-vermittelten hypothalamischen Funktionen.⁵²

Die Nahrungsaufnahme sowie die Körpergewichtszunahme sind bei mit Leptin behandelten Ratten signifikant geringer, als in der Kontrollgruppe (mit NaCl-Lsg). Die Orexin A Konzentration im lateralen Hypothalamus wird unter dem Einfluss von Leptin signifikant gesenkt.⁵³

Auf eine subkutane Bolusinjektion von Orexin A bzw. B in Ratten reagierten diese mit einem Ansteigen des Insulin- und auch des Glukosespiegels im Blut. Dieser Effekt war bei Orexin A deutlich ausgeprägter als bei Orexin B. Bei den anschließenden in vitro-Experimenten am Rattenpankreas stimulierte nur Orexin A die Insulinsekretion.⁵⁴

1.3 Leptin

1.3.1 Geschichte

Im Jahre 1994 ff. wurde das "Fettsuchtgen" (obese-Gen, ob-Gen) und dessen Genprodukt das so genannte Leptin (leptos: dünn) von *Friedman et al.* identifiziert.⁵⁵ In der Zwischenzeit sind weltweit zahlreiche Publikationen zur Rolle des Leptins in den verschiedensten medizinischen Disziplinen veröffentlicht worden. Das Leptinmolekül ist heute bereits bis zur Tertiärstruktur aufgeklärt.

Begonnen haben die Untersuchungen zum ob-Gen und zum Leptin an fettleibigen Mäusen mit einem Gendefekt. *Zhang et al.* waren die ersten, die 1994 das ob-Gen bei ob/ob-Mäusen kloniert und auch sequenziert haben. Sie stellten fest, dass bei ob/ob-Mäusen die Fettleibigkeit auf einer Punktmutation im ob-Gen beruht. Diese Mutation führte zu einem Abbruch der Proteinsynthese, und verhinderte somit die Bildung des ob-Gen-Proteins, nämlich des Leptins.⁵⁶

Die These, dass die Fettleibigkeit der Mäuse ihre Ursache in dem Genfehler hat, wurde durch weitere Nachforschungen bei Mäusen mit Leptin-Synthesedefekt erhärtet. Diese reagierten auf eine in vivo Injektion von Leptin mit einer Gewichtsabnahme, einer Verminderung der Nahrungsaufnahme, einer Zunahme des Grundumsatzes, der Körpertemperatur und der körperlichen Aktivität.⁵⁷⁺⁵⁸⁺⁵⁹⁺⁶⁰

Der Rezeptor, an den Leptin andockt, wurde 1995 von der Arbeitsgruppe um *Tartaglia*⁶¹ bei der Maus kloniert. Dieser wies strukturelle Ähnlichkeiten mit den Rezeptoren der Zytokinfamilie auf. Im Tiermodell konnten unterschiedliche Rezeptor-Varianten nachgewiesen werden, die verschiedene Funktionen erfüllen sollen. Hierzu gehört die Signalübertragung selbst, der Leptintransport durch die Blut-Hirn-Schranke sowie eine lösliche Rezeptorform, die als Transportprotein für das Leptin dient.⁶²

Von verschiedenen Arbeitsgruppen⁶³⁺⁶⁴⁺⁶⁵ wurde bei db/db-Mäusen eine defekte Form des Leptinrezeptors festgestellt, die die Signalübertragung unmöglich macht. Dieser Rezeptordefekt führt zu einer fehlenden Wirksamkeit

des Leptins bei diesen Mäusen, so dass trotz hoher Leptinserumspiegel bzw. Leptininjektionen die zu erwartende Gewichtsreduktion ausbleibt.

1.3.2 Expression/Stoffwechsel

Das für Leptin kodierende Gen wird als ob-Gen gekennzeichnet. Es kodiert ein 167 Aminosäuren großes Peptid; Leptin ist ein hydrophiles, globulär strukturiertes Protein mit einer relativen Molmasse von 16 kDa und wird ausschließlich von Adipozyten synthetisiert und sezerniert.⁶⁶ Es zirkuliert in monomerer Form im Plasma. Die Kristallstruktur des Leptins weist darauf hin, dass es zur Zytokin-Familie gehört.⁶⁷ Beim Menschen zirkuliert Leptin in freier, und an verschiedene Proteine gebundener Form, wobei diese Bindungsproteine bisher nicht eindeutig identifiziert werden konnten.⁶⁸ Es wird jedoch angenommen, dass eine zirkulierende Form des Leptinrezeptors als Bindungskomponente fungiert.⁶⁹ Bei schlanken Probanden wurde festgestellt, dass im Plasma das gebundene Leptin überwiegt, bei adipösen zirkuliert überwiegend freies Leptin.

Ferner konnte nachgewiesen werden, dass humanes Leptin pulsatil ausgeschüttet wird und diese Sekretion eine zirkadiane Rhythmik aufweist.⁷⁰

Der Leptinrezeptor ist auf dem sog. db-Gen kodiert, und hat eine entsprechende Zytokinrezeptor-Ähnlichkeit. Er wird v.a. im Hypothalamus exprimiert, und zwar in den Bereichen, in denen die Nahrungsaufnahme gesteuert wird. Weiterhin finden sich auch Leptinrezeptoren im Verdauungstrakt sowie auch auf den β -Zellen des endokrinen Pankreas.⁷¹

1.3.3 Wirkung / Physiologie

Die Nachforschungen zur Wirkungsweise des Leptins sind so umfangreich und zahlreich, dass wir heute auf eine Vielzahl von dokumentierten Untersuchungen zurückgreifen können, die zeigen, wie vielfältig und weitreichend die Wirkungen des Leptins im Gesamtorganismus sind. Da die detaillierte Darstellung dieser mannigfaltigen Wirkungen den Rahmen dieser

Arbeit sprengen würde, wird im nachfolgenden eine Auswahl der wichtigsten kurz dargestellt.

Leptin beeinflusst vorrangig die Regulation des Energiehaushalts, das Sättigungsgefühl und somit die Körperzusammensetzung. Es wird nach seiner Synthese und Sekretion durch die Adipozyten an Trägerproteine gebunden, passiert die Blut-Hirn-Schranke und bindet an seinen hypothalamischen Rezeptor. Hier vermittelt Leptin ein Absinken des "Hungerhormons" Neuropeptid Y (NPY) und einen Anstieg des Corticotropin-Releasing-Hormons (CRH), wodurch die Nahrungsaufnahme gebremst wird.⁷² Über eine Hemmung der Nahrungsaufnahme führt dies zu einer Abnahme des Adipozytenvolumens und der Körperfettmasse.⁷³

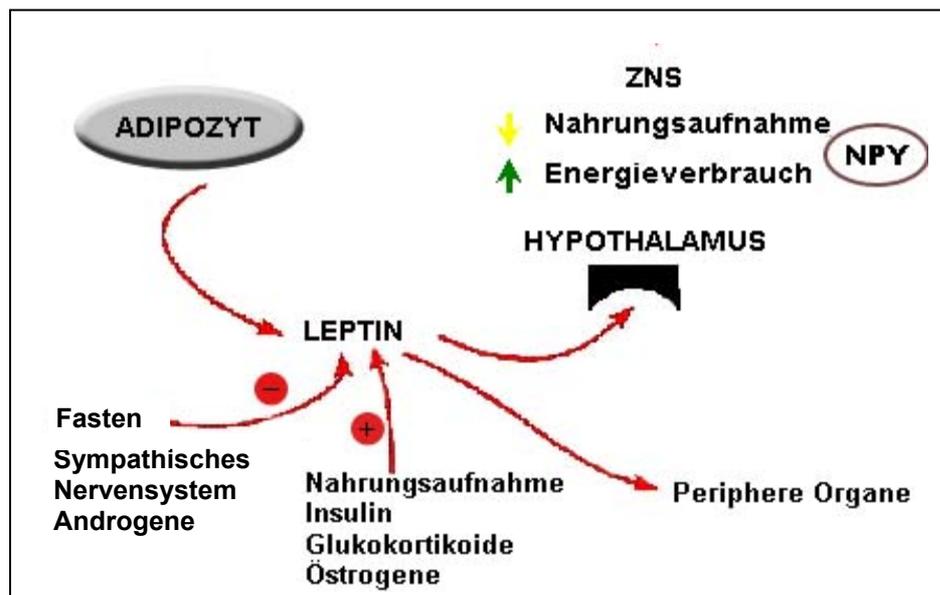


Abb. 2: Schematische Darstellung des Leptin-Regulationssystems⁷⁴

NPY = Neuropeptid Y

Die Serumkonzentration des Leptins korreliert beim Menschen sowie auch im Tiermodell direkt mit der Masse des Fettgewebes; d.h. bei großer Masse an Fettgewebe sind die Leptin-Serumspiegel hoch, bei niedriger Masse entsprechend klein.⁷⁵⁺⁷⁶⁺⁷⁷⁺⁷⁸

Fasten führt zu einer Senkung der Leptin-Spiegel⁷⁹⁺⁸⁰⁺⁸¹⁺⁸², wobei auch bei extremen Fasten, wie z.B. bei Anorexia nervosa, die enge Korrelation zwischen Leptin und Körperfettanteil im Serum⁸³⁺⁸⁴ erhalten bleibt. Frauen weisen bis zu dreimal höhere Leptinspiegel auf als Männer⁸⁵⁺⁸⁶⁺⁸⁷, wobei die Serum-Leptinkonzentrationen in der Prämenopause höher sind, als in der Postmenopause.⁸⁸ Mit dem Alter fallen die Serum-Leptinspiegel ab, so dass sie bei über 60-Jährigen um fast die Hälfte kleiner sind.⁸⁹

Es sind verschiedene Einflussmomente auf den Leptin-Serumspiegel erforscht worden. So verringern v.a. energieverbrauchende Zustände (z.B. Muskeltraining) den Leptinspiegel⁹⁰, während z.B. Glukokortikoide und Fieber diesen erhöhen.⁹¹

<u>Erhöhung der</u> Leptinsekretion durch	<u>Erniedrigung der</u> Leptinsekretion durch
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Hohe Fett- (Energie-) Zufuhr ◆ Hyperglykämie ◆ Hohe Insulinspiegel ◆ Hyperinsulinämie ◆ Nahrungszufuhr ◆ Nahrungsüberfluß ◆ Östrogene, Progesteron ◆ Glukokortikoide ◆ Hohe Körperfettmasse 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Fasten ◆ Hypoglykämie ◆ Kälte ◆ Katecholamine ◆ cAMP ◆ Fettsäuren ◆ Androgene ◆ Niedrige Körperfettmasse

Tabelle 2: Einflussfaktoren auf die Leptinsekretion (nach⁹²)

Auf hormonaler Ebene bewirkt Leptin am Rattenmodell sowohl eine potente Inhibition der basalen-, als auch der Glukose- und GLP-1-induzierten Insulinsekretion mit nachfolgender Hyperglykämie. Umgekehrt wird die Leptinproduktion durch hohe Spiegel von Insulin stimuliert. Demnach wird vermutet, dass Leptin als ein Teil des negativen Rückkopplungsmechanismus zurück zum endokrinen Pankreas fungiert, der signalisiert, dass kein Insulin

mehr benötigt wird, um die Fettspeicher aufzufüllen. Aufgrund des direkten Einflusses von Leptin auf die insulinsezernierenden Zellen des Pankreas, wird Leptin in die Gruppe der metabolischen Hormone eingeordnet.⁹³⁺⁹⁴

Im Bereich des Hypothalamus ist die direkte Leptinwirkung vielfältig; erwähnenswert ist hier, dass Leptin direkt inhibitorisch auf die Orexinsekretion wirkt, was zu einer Reduzierung der Nahrungsaufnahme führt.⁹⁵

Ein weiteres Forscherteam entdeckte, dass Leptin auch eine Schlüsselrolle in der Kontrolle der Knochenmasse spielt. Es fungiert als ein natürlicher Inhibitor des Knochens, indem es an das Gehirn signalisiert, die Geschwindigkeit zu drosseln, mit der neuer Knochen gebildet wird.⁹⁶

Wie schon oben bei der Pankreaswirkung von Leptin erläutert, wurden durch zahlreiche Forschergruppen Leptinrezeptoren an peripheren Organen identifiziert. Leptin werden hier Einflüsse auf die Steuerung zahlreicher Körperfunktionen wie Pubertät, Reproduktion und auch Hämatopoese zugeschrieben.

1.3.4 Klinik

Aus der oben aufgeführten Vielfältigkeit der Wirkungen des Leptins und des Leptinrezeptors resultieren entsprechend diverse Dysfunktionen beim Ausfall dessen funktioneller Aktivität, die v.a. durch Mutationen verursacht wird. Die verschiedenen möglichen Mutationen können sowohl die Expression des Leptins, als auch die des Leptinrezeptors bzw. die nachfolgende Signalweitergabe betreffen. Auch Leptin-Antikörper, Veränderungen der Leptin-Transportproteine oder Störungen des Transports durch die Blut-Hirn-Schranke können die Wirkung des Leptins minimieren. Letztlich kann auch eine Leptinresistenz als Störung zugrunde liegen; diese kann aus der Fettleibigkeit resultieren, diese aber dann auch wiederum verstärken.⁹⁷ Eine Mutation auf dem ob-Gen kann dazu führen, dass defekte Leptinmoleküle gebildet werden, die nicht vom Rezeptor erkannt werden. Es kommt zu einer Gewichtszunahme, unter anderem durch eine Fehlsteuerung von NPY und CRH, aus der eine ungebremste Nahrungsaufnahme resultiert. Zum anderen kann eine Mutation im db-Gen zur Produktion defekter Leptinrezeptoren

führen. Dadurch wird der Regelkreis unterbrochen: weil der Rezeptor defekt ist, kommt es zu einer erhöhten Leptinproduktion, die zur Adipositas führt.

Ein gänzlich fehlendes Leptin, aber auch ein defekter Leptin-Rezeptor im ZNS, äußern sich also in extremer Fettleibigkeit, hoher Nahrungsaufnahme, Hyperglykämie und Hyperinsulinämie, sowie in weiteren Störungen des Glukosestoffwechsels.⁹⁸ Demnach könnte Leptin auch bei metabolischen Störungen, v.a. beim Diabetes mellitus Typ II, eine wichtige Rolle spielen. Hierbei wird als zentrale Ursache für die Manifestation des Diabetes aber auch der Adipositas eine Endorganresistenz gegenüber Leptin vermutet.

Die Rolle von Leptin in der Regulation des Knochenstoffwechsels, könnte neue Dimensionen in der Therapie der Osteoporose eröffnen.⁹⁹

Bei schwerkranken Patienten mit Tumoren, schweren Infektionen, etc., bei denen die erhöhten Serum-Leptinspiegel durch Zytokin- und Endotoxinfreisetzung induziert sind, bewirkt Leptin mit großer Wahrscheinlichkeit die Anorexie und Kachexie, zumindest jedoch deren Aufrechterhaltung. Hier lässt die Entwicklung sowohl von Leptinantagonisten als auch von Leptinrezeptoragonisten und -antagonisten auf völlig neue Therapieansätze hoffen, die auch bei der Therapie der Adipositas und des metabolischen Syndroms eingesetzt werden könnten.¹⁰⁰

1.4 GLP-1

1.4.1 Geschichte

Schon im Jahre 1905 versuchten *Moore et al.*¹⁰¹ Diabetes mellitus Patienten mit der Injektion von Dünndarmmukosa-Extrakten zu therapieren. Sie konstatierten, dass das Duodenum einen chemischen Stimulus für die endokrine Sekretion des Pankreas darstellt. 25 Jahre später, nach der Entdeckung des Insulins, stellten *Zunz und La Barre*¹⁰² fest, dass Darm-Extrakte zwei aktive Komponenten enthalten: die eine stimuliert das exokrine Pankreas, genannt „Exkretin“, die andere beeinflusst v.a. das endokrine Pankreas und senkt den Blutglukose-Spiegel. Diese nannten sie „Inkretin“. Es handelt sich um einen Komplex, der dafür sorgt, dass nach oraler Aufnahme von Glukose die Insulinsekretion stärker stimuliert wird, als z.B. bei i.v.-Gabe. Dies spricht dafür, dass endokrine Faktoren aus dem Darm mit einer zusätzlichen insulinotropen Wirkung die Insulinsekretion stimulieren.¹⁰³ Im Laufe der Jahre wurden verschiedenste gefundene Stoffe auf ihre Funktion als Inkretin hin untersucht, von denen das 1970 von *Brown* isolierte GIP (= Glukose-dependent insulinotropic polypeptide bzw. gastric inhibitory peptide) sowie auch das GLP-1 (glucagon-like peptide-1, s.u.) die Bedingungen am ehesten erfüllte. Zur Beurteilung des Inkretin-Effekts zogen *Perley und Kipnis*¹⁰⁴ das Verhältnis zwischen der Insulin-Sekretion nach einer definierten oralen Glukosegabe und der intravenösen Applikation der gleichen Glukosemenge heran. Mehrere Studien zeigten, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ II der Inkretin-Effekt deutlich geringer ist als bei gesunden Probanden, auch wenn die GIP-Sekretion normal ist.¹⁰⁵ Dies wird auf eine verminderte Sensitivität der B-Zellen des Pankreas auf GIP bei Diabetes Typ II zurückgeführt.¹⁰⁶ Dieser Schluss wird auch dadurch bekräftigt, dass die Applikation von extrem hohen GIP Konzentrationen die Insulinsekretion bei Typ II-Diabetikern nicht signifikant erhöht.¹⁰⁷ Andererseits kann man nicht ausschließen, dass der verminderte Inkretin-Effekt durch das Fehlen anderer Inkretine als das GIP bedingt ist.

Verschiedene Studien in den darauf folgenden Jahren zeigten, dass GIP nicht das einzige Inkretin sein kann. So wurde in Experimenten zum einen das GIP

durch spezifische Antikörper eliminiert¹⁰⁸, zum anderen wurde über Immunoabsorption GIP vollständig aus dem Darm entfernt.¹⁰⁹ Hierbei wurde der Inkretineffekt nur um ca. 50 % reduziert, was ein klarer Hinweis darauf ist, dass noch andere Stoffe im Darm außer GIP eine Inkretinwirkung ausüben müssen.

Der Durchbruch kam vor ca. 15 Jahren mit der Entdeckung von GLP-1 dem glucagon-like peptide-1.

1.4.2 Expression

Das Glukagon-Gen kodiert für eine mRNA, die in ein multifunktionales Prohormon, nämlich dem Proglukagon translatiert wird. Dieses wird dann durch gewebespezifische Proteasen weiter prozessiert. Das besondere an dem Glukagon-Gen ist die außergewöhnlich spezifische, unterschiedliche posttranslationale Prozessierung von Proglukagon im Pankreas, im Gegensatz zu der im Darm. In den α -Zellen des endokrinen Pankreas entsteht aus dem Proglukagon v.a. Glukagon. Im Darm hingegen werden aus demselben Prohormon zwei Glukagon-ähnliche Peptide, nämlich GLP-1 und GLP-2 prozessiert.¹¹⁰ Das GLP-1 wiederum wird in zwei verschiedenen Isoformen synthetisiert, GLP-1(7-37) und GLP-1(7-36)amid.¹¹¹ Diese beiden Peptidhormone zählen zu den potentesten intestinalen insulinotropen Inkretinhormonen, die derzeit bekannt sind.

1.4.3 Wirkung / Physiologie

GLP-1 ist das Inkretinhormon, dem allein 50-70 % der Gesamt-Inkretinwirkung zuzuschreiben ist. Zusammen mit dem gastric inhibitory polypeptide (GIP) scheint GLP-1 den Großteil, wenn nicht den gesamten Inkretin-Effekt bzgl. der hormonalen Kontrolle des Glukosemetabolismus zu haben.¹¹²⁺¹¹³

GLP-1, nicht aber GLP-2, wirkt glukoseabhängig auf die β -Zellen des Pankreas mit einer potenten Stimulation der glukoseinduzierten

Insulinsekretion. Bei niedrigem Glukosespiegel reduziert sich der insulinotrope Effekt von GLP-1 auf ein Minimum.¹¹⁴⁺¹¹⁵¹¹⁶

Weiterhin erhöht GLP-1 die Ausschüttung von Somatostatin aus den δ -Zellen des endokrinen Pankreas, während die Sekretion von Glukagon supprimiert wird.¹¹⁷ *Gutniak et al.* vermuteten bei ihren in vivo Experimenten an Typ-I-Diabetikern, dass GLP-1 die Glukagonsekretion der α -Zellen des Pankreas direkt inhibiert.¹¹⁸ Spätere Nachforschungen hierzu ergaben jedoch, dass die inhibitorische Wirkung von GLP-1 auf die Glukagonsekretion vielmehr auf einer parakrinen Hemmung derselben durch Somatostatin beruht, was auf die oben erwähnte direkte Stimulation der δ -Zellen zurückzuführen ist.¹¹⁹

Weitere wichtige Wirkungen von GLP-1 sind zum einen eine Verminderung der Sekretion von Magensäure¹²⁰ sowie eine Verlangsamung der Magen-Darm-Passage, bei der eine Dosisabhängigkeit festzustellen ist.¹²¹

Interessant zu beobachten ist der Einfluss von Leptin auf die GLP-1-Wirkung. Dieses Hormon spielt, wie oben erwähnt, eine zentrale Rolle in der Nahrungszufuhr und Energiebilanz. Es stellte sich heraus, dass Leptin den insulinotropischen Effekt von GLP-1 inhibiert. Dieses führt zu einer verminderten Funktion des Inkretin-Komplexes und daraus resultierend zu Störungen im Glukosehaushalt.¹²²

1.4.4 Klinische Anwendung

Nachforschungen zur klinischen Anwendung von GLP-1 ergaben, dass GLP-1 und GIP einen additiven insulinotropen Effekt in vitro aber auch in vivo haben.¹²³ Außerdem können supraphysiologische Konzentrationen von GLP-1, im Gegensatz zu GIP, die herabgesetzte Reaktivität der β -Zellen überwinden und die Insulin-Sekretion bei Typ-II-Diabetikern stimulieren.¹²⁴

GLP-1 vermochte erhöhte Blutglukose-Spiegel sogar bei Diabetespatienten zu normalisieren, die nicht (mehr) auf Sulfonylharnstoffe ansprechen¹²⁵, was den möglichen Einsatz von GLP-1 bei der Therapie des Diabetes mellitus Typ II nahe legt. Auch bei Patienten mit hepatogenem Diabetes und nachfolgender

Insulinresistenz, sowie auch bei Patienten mit Hyperglukagonämie bei Typ-II-Diabetes, erscheint die therapeutische Anwendung von GLP-1 sinnvoll.¹²⁶⁺¹²⁷

Bei Diabetes mellitus Typ II Patienten führt die präprandiale Injektion von GLP-1 zu einer postprandialen Verminderung des Blutglukosespiegels und einer erhöhten Insulinsekretion. Bei Patienten mit einer ausgeprägten Nüchternhyperglykämie führte die GLP-1 Injektion zu einem Ansteigen des Insulinspiegels, einer Verminderung des Glukagonspiegels und einer Hemmung der Magen-Darm-Passage im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe.¹²⁸

1.5 Zielsetzung der Arbeit / Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es die metabolische Wirkung des Orexin B näher zu erforschen. Aufgrund der vielfältigen Wirkungsweisen und Funktionen des Orexin B, insbesondere auf den Stoffwechsel und Energiehaushalt, stellt sich die Frage, inwiefern sich die Orexin-B-Applikation auf die Hormonsekretion direkt auswirkt. Bisherige Forschergruppen konzentrierten sich v.a. auf die zentralen Wirkungen von Orexin B.

Die Existenz von peripheren Orexinrezeptoren wurde mehrfach nachgewiesen. Der Schwerpunkt dieser Untersuchung liegt deshalb auf der Überprüfung der Rolle des Orexin B in der Regulation des endokrinen Pankreas. Konkret wird der Einfluss auf die Insulin-, Glukagon- und Somatostatinsekretion des Pankreas untersucht. Hinzu kommt die Prüfung, inwiefern Leptin, Arginin und GLP-1 eine eventuelle Orexin B-Wirkung beeinflussen.

Als Modellobjekt und Versuchstier diente das isolierte Pankreas der männlichen Ratte, welches mit den entsprechenden Lösungsgemischen perfundiert wurde.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Perfusionsmedien

Nach der Präparation des Pankreas aus der Ratte (siehe unten) wird es mit einem Lösungsgemisch perfundiert. Zur Herstellung einer sinnvollen Portion (1950 ml) dieses Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffers benötigt man folgende Komponenten:

1. 0,9 % NaCl - Lösung.....	1500 ml
2. 1,15 % KCl - Lösung	60 ml
3. 1,62% CaCl ₂ – Lösung.....	45 ml
4. 2,11 % KH ₂ PO ₄ – Lösung.....	15 ml
5. 3,82 % MgSO ₄ – Lösung.....	15 ml
6. 1,3 % NaHCO ₃	315 ml
7. 0,2 % BSA (Rinderserumalbumin)	3,9 g
8. für 2,8 mM Glukose-Lösung	555 mg α -D-Glukose/1000 ml
9. für 10 mM Glukose-Lösung	1980 mg α -D-Glukose/1000 ml

Ansetzen des Perfusionspuffers:

Zu Beginn füllt man die entsprechend benötigten Mengen der Stammlösungen (1.-6.) mit Glaspipetten nacheinander unter ständigem Rühren (Rührfisch) in ein großes Glasgefäß. Nach Zugabe des Albumins (7., Behring, Marburg, Deutschland) wird das gesamte Gemisch für 30 Minuten mit 95 % O₂ und 5 % CO₂ mit ca. 50ml/min im 37° C warmen Wasserbad begast. Der pH-Wert wird mittels HCl bzw. NaOH auf physiologische 7,4 eingestellt. Anschließend wird das Lösungsgemisch in zwei Teile aufgeteilt. Dem einen geben wir dann als basale Pufferlösung die Menge an α -D-Glukose hinzu, damit das Gesamtgemisch 2,8 mM Glukose enthält (8.). Dem anderen noch zuckerlosen Teil, der den eigentlichen Perfusionspuffer darstellt, fügen wir die Glukosemenge hinzu, damit das Gesamtgemisch 10 mM Glukose enthält (9.). Erst jetzt werden bei Bedarf die gewünschten Konzentrationen der Stoffe

beigefügt, deren Einfluss auf die Pankreasaktion bestimmt werden soll (Orexin B, Leptin, GLP-1, Arginin).

2.1.2 Orexin B

Das verwendete Orexin B für Ratten und Mäuse wurde von Peninsula Laboratories Europe Ltd., Merseyside, England, geliefert.

Molekulargewicht: 1 mol \approx 2936,47 g/l
 10^{-8} mol \approx 29,36 μ g/l

2.1.3 Leptin

Es wurde rekombinantes murines Leptin der Fa. Peprotech über Fa. Tebu (Frankfurt, Deutschland) bezogen.

Molekulargewicht: 10^{-9} mol \approx 18,7 μ g/l

2.1.4 GLP-1

Verwendet wurde das „Glucagon-like peptide-1 (7-36)amide (GLP-1)“ der Fa. „Bachem“ aus Heidelberg, Deutschland.

Molekulargewicht: 1 mol = 4111,5 g/l
 10^{-9} mol \approx 4,1 μ g/l

2.1.5 RIA's

2.1.5.1 *Insulin-RIA*

Coat-A-Count Insulin-RIA von DPC[®], Los Angeles, USA

Sensitivität: 1,2 μ U/ml

Als Standard diente eine Mischung aus Ratteninsulin I und II

2.1.5.2 *Glukagon-RIA*

Double Antibody – RIA von DPC[®], Los Angeles, USA

Sensitivität: \sim 13 pg/ml

Als Standard diente hier synthetisiertes humanes Glukagon in einer Proteinmatrix.

2.1.5.3 *Somatostatin-RIA*

Bei unseren Messungen verwendeten wir den Somatostatin ¹²⁵I RIA Kit der Fa. DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA.

Sensitivität: < 8 pg/ml

Als Standard diente synthetisches Somatostatin (SS-14), gelöst in BSA-Borat-Puffer.

2.1.6 Ratten

Insgesamt wurden die Ergebnisse von Versuchen an 130 männlichen Wistar-Ratten ausgewertet. Das Geschlecht wurde gewählt, da man bei männlichen Ratten aufgrund des fehlenden Zyklus einen stabileren Hormonhaushalt erwartet. Die Ratten kamen von Charles-River (Sulzfeld, Deutschland) und waren im Durchschnitt 180-200 g schwer. Die Verwendung der Ratten wurde durch die Ethik-Kommision der Philipps-Universität Marburg genehmigt.

2.2 Präparationsprozedur

2.2.1 Anatomie der Ratte

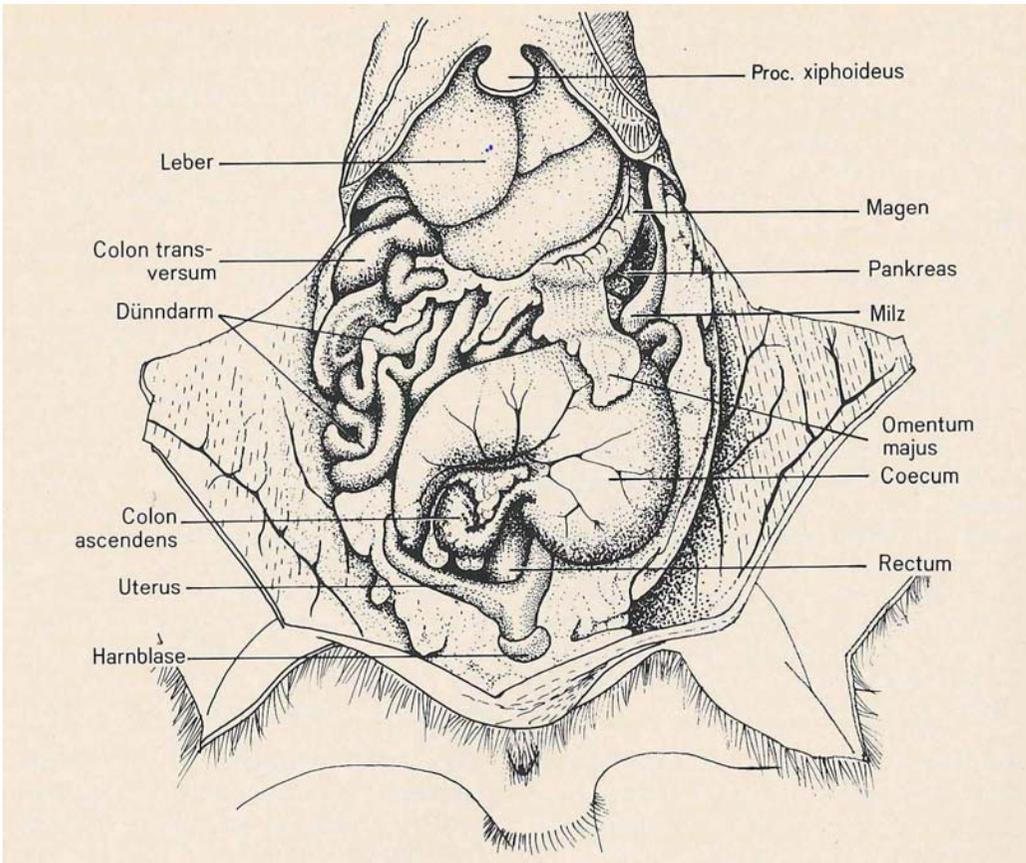


Abb. 3: Situs der Baueingeweide der Ratte¹⁰⁵



Abb. 4: Intraoperativer Situs¹⁰⁶

2.2.2 Benötigte Instrumente zur Präparation

- Grobe Schere
- Feine Schere
- Pinzette, vorne gebogen
- Tupfer zur stumpfen Präparation
- Faden/Garn
- Zwei Kanülen (Plastikschläuche ca. 5 cm lang und 1 mm Durchmesser, schräg angeschnitten)
- Wärmeplatte
- Wälzpumpe mit konstanter Förderleistung

2.2.3 Operationsverfahren

Die Ratten werden für die Operation 24 Stunden auf Nahrungskarenz gesetzt, so dass ihnen außer der Wasserflasche keine Nahrung zur Verfügung steht. Nach vorsichtiger Injektion von Pentobarbital (~45 mg/kg Körpergewicht) in die freie Bauchhöhle der Ratte, wird diese für einige Minuten in Ruhe gelassen, bis das Narkotikum seine volle Wirkung entfaltet, und bei der Ratte sämtliche Reflexe erlöschen. Nach der korrekten Lagerung der Ratte in vertikaler Rückenlage wird das Fell befeuchtet. Der erste Schnitt mit der groben Schere durchtrennt das Fell und die äußersten Hautschichten. Anschließend schneidet man die vordere Muskelwand vorsichtig von ventral medial kaudal bis zum Proc. xiphoideus vertikal mit der Schere ein. Danach wird die vordere muskuläre Bauchwand mit zwei Transversalschnitten von kaudal medial nach lateral in Höhe des Thoraxrandes so eingeschnitten, dass die Eingeweide freigelegt werden. Jeweils links und rechts werden sodann die Flanken eröffnet, so dass das Präparationsgebiet ausreichend gut einsehbar und präparierbar ist.

Nach erfolgreicher Freilegung der äußeren Wandschichten wird zunächst die A. hepatica propria aufgesucht, stumpf präpariert, freigelegt und ligiert. Daraufhin wird die A. mesenterica vom umgebenden Gewebe mobilisiert und in Aortennähe ligiert. Als Folge der Ligatur verändert sich nun die Farbe des

Darmpakets, was auch zur Erfolgskontrolle dient. Nun legt man das Ileum frei und mobilisiert es vom Colon bis in Höhe der Mesenterialwurzel. Das (leere) Rektum wird so kaudal wie möglich doppelt ligiert und zwischen den Ligaturen durchtrennt. Jetzt wird das Colon vorsichtig vom Pankreas bis zur Mesenterialwurzel abpräpariert. Anschließend wird nach erfolgreicher doppelter Ligatur der zweiten Jejunumschlinge über der Mesenterialwurzel diese zwischen den Ligaturen durchtrennt. Zur Entfernung des Darmpakets wird nun die Mesenterialwurzel einfach ligiert und hinter der Ligatur durchtrennt. Auch der Ösophagus wird in Kardianähe einfach ligiert und proximal der Ligatur durchtrennt. Nach Mobilisierung der Aorta wird jeweils ca. 1,5 cm oberhalb des Truncus coeliacus sowie zwischen Truncus coeliacus und der bereits ligierten A. mesenterica eine Ligatur vorgelegt. Ebenso wird um die V. portae eine Ligatur vorgelegt.

Jetzt wird mit der vorgelegten Ligatur oberhalb des Truncus coeliacus die Aorta mit einem doppelten Knoten ligiert. Sofort wird die Aorta mit einer Pinzette gegriffen, angehoben, ventral eingeschnitten und mit einer ca. 1 mm dicken Kanüle kanüliert. Die Kanüle wird nun soweit vorgeschoben, dass ihre Öffnung genau vor dem Abgang des Truncus coeliacus aus der Aorta liegt, und in dieser Position fixiert. Unmittelbar danach wird die Pfortader auf die gleiche Weise kanüliert; die Kanüle wird 1-1,5 cm in die V. portae vorgeschoben und mit Hilfe der vorgelegten Ligaturen fixiert. Nach erfolgreicher Kanülierung wird die Perfusion angeschlossen, und das Organpaket mit dem Pankreas großzügig in Höhe der Wirbelsäule herausgeschnitten. Das so erhaltene Organpaket wird sofort auf eine auf 37° C vorgeheizte Wärmeplatte gelegt.

2.2.4 Perfusionsprinzip

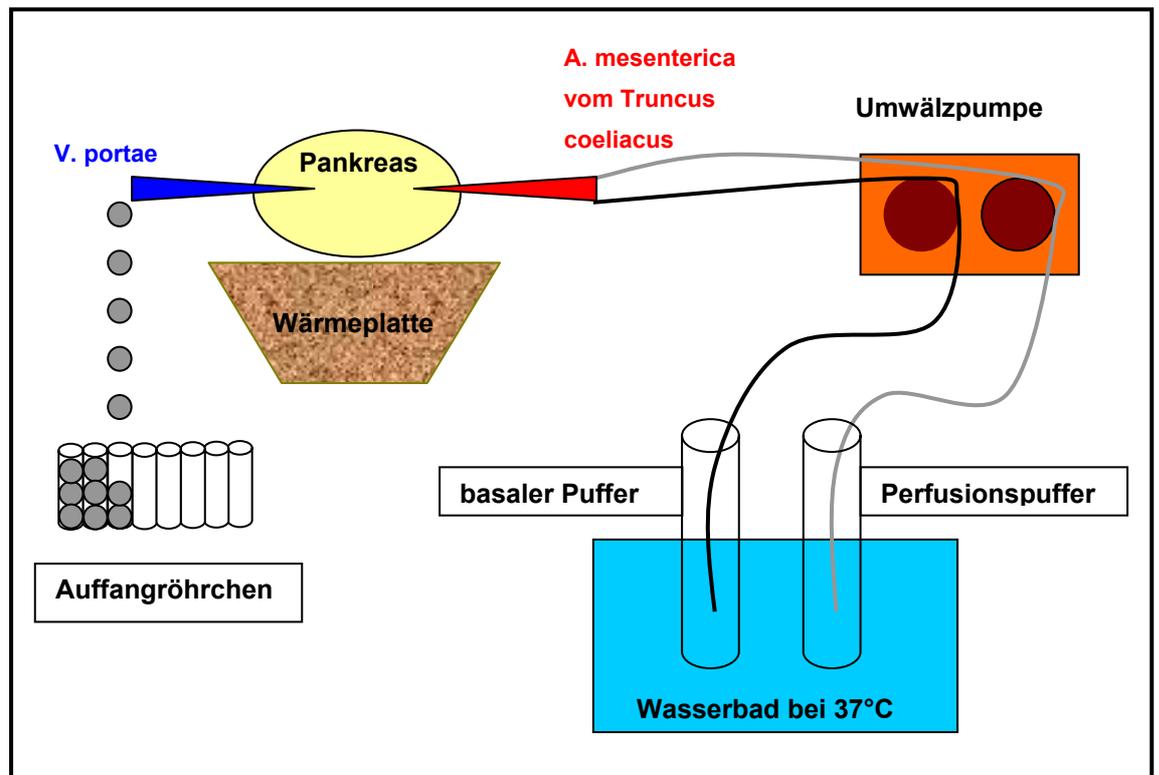


Abb. 5: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus



Abb. 6: Pankreas, Magen und Dünndarm¹⁰⁷

2.2.5 Perfusion / Probengewinnung

Nach der erfolgreichen Kanülierung der Aorta wird sofort die Perfusionspumpe zur Hemmung der Blutgerinnung kurzzeitig angestellt und wieder abgestellt. Nach Kanülierung der V. portae wird die Perfusion wieder angestellt. Diese ist auf eine Pumpgeschwindigkeit von 5 ml/min geeicht. Zu allererst wird das Organpaket mit dem basalen Puffer perfundiert. Nach drei Minuten ab Anschluss der Pumpe wird begonnen das Perfundat aufzusammeln. Hierzu dienen Reagenzgläser, die den basalen Puffer (mit einer Glukosekonzentration von 2,8 mmol/l) dreimalig im Drei-Minuten-Rhythmus auffangen. Hiernach wird das Rattenpankreas mit dem eigentlichen Perfusionspuffer, mit 10 mmol/l Glukose und den verschiedenen zu überprüfenden Determinanten, perfundiert. Die ersten fünf Minuten dieses zweiten Perfusionsabschnitts (Stimulationsphase) wird im Minutentakt, anschließend für weitere 21 Minuten im Drei-Minuten-Takt das Perfusat in Reagenzgläsern gesammelt. Hiermit soll der Einfluss auf die erste und die zweite Phase der biphasischen Insulinsekretion separat beurteilt werden. Die so erhaltenen Proben werden in kleine markierte Reagenzgefäße gefüllt und sofort bei -20°C tiefgefroren.

2.3 Bearbeitung der Proben

2.3.1 Insulin-RIA

Das Insulin des Perfusates wurde mittels Radioimmunoassay (DPC, Los Angeles, California, USA) gemessen. Als Standard wurde eine Mischung aus Ratteninsulin-I und -II verwendet.

2.3.2 Glukagon-RIA

Das Glukagon des Perfusates wurde mittels Radioimmunoassay (DPC, Los Angeles, California, USA) gemessen. Als Standard wurde synthetisches humanes Glukagon in einer Protein-Matrix verwendet.

2.3.3 Somatostatin-RIA

Das Somatostatin des Perfusates wurde mittels ^{125}I -Radioimmunoassay (DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA) gemessen. Als Standard wurde synthetisches Somatostatin (SS-14), gelöst in BSA-borate Puffer mit Thimerosal verwendet.

3 ERGEBNISSE

Im Rahmen der Untersuchungen wurden an den Ratten Perfusionen mit verschiedenen Stoffen bzw. Stoffgemischen durchgeführt. Begonnen wurde mit der Perfusion des Rattenpankreas mit einer Geschwindigkeit von 5 ml/min., zuerst mit „basaler“ Glukose in einer Konzentration von 2,8 mM, damit das Rattenpankreas zwar vital bleibt, die Insulinsekretion jedoch noch nicht stimuliert wird. Eine zweite Gruppe wurde mit eben dieser „basalen“ Glukosekonzentration für neun Minuten und anschließend mit einer 10 mM Glukosekonzentration perfundiert, um die Insulinsekretion im Pankreas zu stimulieren, und die Wirkung der erhöhten Glukosekonzentration auf die Stimulation der Insulinsekretion zu verifizieren. Die Ergebnisse dieser beiden Versuchsgruppen gelten als Referenzwerte für alle nachfolgenden Versuche.

So wurden nacheinander die Wirkung von Orexin B allein, sowie in Kombination mit Leptin, GLP-1 und Arginin auf die Hormonsekretion von Insulin und Glukagon durch Hinzufügen der verschiedenen Stoffe zur Perfusionslösung nach Beendigung der basalen Perfusion untersucht.

Die Untersuchungen bezüglich der Beeinflussung der Somatostatinsekretion wurde nur mit Orexin B allein durchgeführt, da es hier v.a. darum ging, einen orientierenden Einblick in die Funktion von Orexin B zu bekommen, zumal dessen Kosten sehr hoch sind.

Bekanntlich läuft die Insulinsekretion im Pankreas zweistufig ab: eine erste schnelle und starke Sekretion, sowie eine geringere aber dafür länger anhaltende zweite Phase. Um die Phasen entsprechend registrieren zu können, wurden nach Ablauf der ersten neun Minuten mit basaler Glukosekonzentration die Proben für fünf Minuten im Minutentakt, anschließend, zur Registrierung der zweiten Phase, über 21 Minuten im Drei-Minutentakt entnommen.

Die nachfolgend aufgeführten Ergebnisse beinhalten zum einen die Darstellung der unbearbeiteten Konzentrationen an sezerniertem Hormon, eine graphische Darstellung derselben, und anschließend eine Zusammenlegung und Aufteilung derselben in die zwei genannten Phasen sowie deren statistische Auswertung. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SEM dargestellt. Als statistische Methode wurde der T-Test gewählt. Das statistische Signifikanzniveau wurde bei 5 % angesetzt.

3.1 Beeinflussung der Insulinsekretion

3.1.1 Wirkung von Orexin B

3.1.1.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
μU Insulin/ml	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	2,7	2,0	1,3	1,6	3,6	3,6	3,6	3,0	2,9	2,8	3,4	3,8	3,5	4,1	3,8
2,8mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M Orexin B	3,3	1,7	1,8	1,6	1,9	2,0	2,0	1,6	1,4	1,8	1,8	1,6	1,5	1,9	2,0
2,8mM/10 mM Glukose mit 10^{-10} M Orexin B	1,6	1,5	1,1	1,2	1,7	2,2	2,1	1,8	1,7	1,8	1,9	2,7	1,4	1,8	1,7
2,8 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	1,2	1,4	1,0	1,1	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,2	1,1	1,2	0,8	0,8	1,1
2,8 mM/10 mM Glukose	3,8	3,0	1,9	2,2	3,3	3,2	2,7	2,0	2,2	2,6	2,5	2,5	2,3	2,3	2,9
2,8 mM Glukose	1,8	1,9	1,3	1,5	1,5	1,5	1,6	1,2	1,2	1,5	1,4	1,4	1,0	1,1	1,3

Tabelle 3: Wirkung von Orexin B - Rohdaten

3.1.1.2 Aufteilung in Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, lässt sich der Einfluss von Orexin B auf die Insulinsekretion folgendermaßen darstellen:

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) μU Insulin / ml / 0-8 min	2. Phase (Spätphase) μU Insulin / ml / 9-27 min.
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	119,3 SEM = 30,13	321,6 SEM = 94,22
2,8 mM/10 mM Glukose	99,0 SEM = 14,30	225,1 SEM = 27,74
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-10} M Orexin B	70,0 SEM = 11,13	169,9 SEM = 20,83
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M Orexin B	67,3 SEM = 15,60	157,2 SEM = 36,14
2,8 mM Glukose	54,3 SEM = 4,39	116,5 SEM = 8,58
2,8 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	38,9 SEM = 3,22	91,7 SEM = 8,82

Tabelle 4: Wirkung von Orexin B - aufgeteilt in Phasen

3.1.1.3 Statistik & Beschreibung der Ergebnisse

- ◆ Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose
② 2,8 mM Glukose

<i>Phase 1</i>	①	②
Mittelwert	99,0	54,3
Beobachtungen	6	5
t-Statistik	-2,74	
P	0,01	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 5: Statistik Phase 1 (2,8/[10]mM Glukose)

<i>Phase 2</i>	①	②
Mittelwert	225,10	116,50
Beobachtungen	6	5
t-Statistik	-3,43	
P	0,004	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 6: Statistik Phase 2 (2,8/[10]mM Glukose)

Zu Beginn führten wir Kontrolluntersuchungen durch, um zu zeigen, dass das Modell funktioniert. In Gegenwart von 2,8 mM Glukose ist die Insulinsekretion auf niedrigem Niveau stabil. Die Stimulation mit 10 mM Glukose ergab eine Verdopplung der Insulinsekretion während der ersten und der zweiten Phase der Insulinsekretion (p jeweils < 0,01).

- ◆ Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8 mM Glukose

<i>Phase 1</i>	①	②
Mittelwert	38,94	54,32
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-2,82	
P	0,01	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 7: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

<i>Phase 2</i>	①	②
Mittelwert	91,72	116,50
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-2,01	
P	0,04	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 8: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

Bei Perfusion des Rattenpankreas mit einer durchgängig „basalen“ Glukosekonzentration von 2,8 mM ohne Stimulation mit 10 mM Glukose kann man bei Addition von 10^{-8} M Orexin B eine Verminderung der Insulinsekretion um ca. 25 % im Vergleich zur Perfusion ohne Orexin B

beobachten. Diese Beobachtung ist durchweg in Phase 1 ($p=0,01$) als auch in Phase 2 der Insulinsekretion ($p=0,04$) statistisch signifikant.

- ◆ Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-10} M Orexin B
 ② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	69,96	98,97
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-1,55	
P	0,08	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 9: Statistik Phase 1 (2,8 /10mM Glukose [+ 10^{-10} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	169,94	224,98
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-1,53	
P	0,08	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 10: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-10} M Orexin B])

Bei Stimulation der Pankreasaktivität mit 10 mM Glukose führt das Hinzufügen von 10^{-10} M Orexin B zum Perfusionsgemisch zu einer Verminderung der Insulinsekretion um ebenfalls etwa 25–30 %, die sowohl die Früh- als auch die Spätphase betrifft.

- ◆ Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Orexin B
 ② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	67,30	98,97
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-1,50	
P	0,08	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 11: Statistik Phase 1 (2,8 /10mM Glukose [+ 10^{-9} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	157,20	225,12
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-1,52	
P	0,08	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 12: Statistik Phase 2 (2,8 /10mM Glukose [+ 10^{-9} M Orexin B])

Eine Erhöhung der Orexin-B-Dosis um eine Zehnerpotenz (10^{-9} M) führt bei der ebenfalls mit 10 mM Glukose stimulierten Perfusion des Pankreas ebenfalls zu einer Verminderung der Insulinsekretion im Vergleich zur

Perfusion ohne Orexin B. Auch die Reduktionsrate ist mit 30 % in der Früh- und in der Spätphase der vorangegangenen Untersuchung ähnlich.

- ◆ Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B
 ② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	119,30	98,97
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	0,65	
P	0,27	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 13: Statistik Phase 1 (2,8 /10mM Glukose [+ 10-8 M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	321,63	225,12
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	1,07	
P	0,16	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 14: Statistik Phase 2 (2,8 /10mM Glukose [+ 10-8 M Orexin B])

Die weitere Erhöhung der Orexin-B-Konzentration auf 10^{-8} M führt jetzt aber, bei auch hier mit 10 mM Glukose stimuliertem Rattenpankreas, zu einer deutlichen Steigerung der Insulinsekretion im Vergleich zur Perfusion ohne Orexin B. Die Stimulation ist in der Spätphase mit einer Erhöhung um ca. 50 % deutlicher ausgeprägt, als in der Frühphase (~ 20 %).

3.1.1.4 Graphische Darstellung

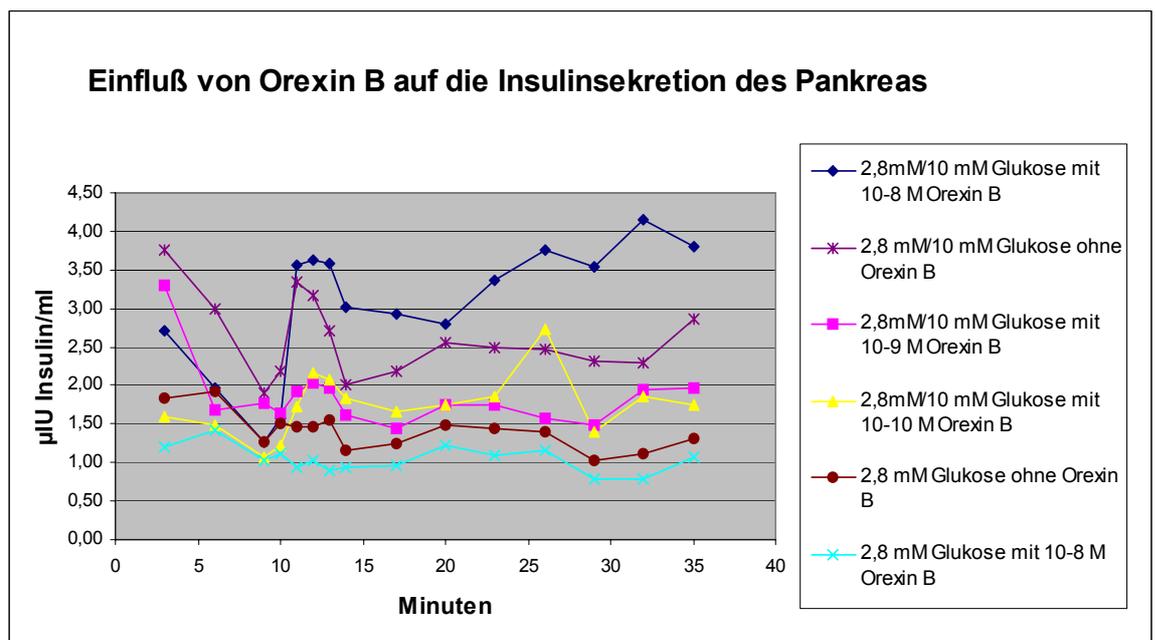


Abb. 7: Einfluß von Orexin B auf die Insulinsekretion des Pankreas

3.1.2 Wirkung von Orexin B und Leptin

3.1.2.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
μU Insulin/ml	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M Leptin	3,5	2,6	1,9	1,8	3,0	2,9	2,7	2,3	2,1	2,4	2,0	1,9	2,0	1,7	1,5
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M Leptin und 10^{-8} M Orexin B	2,4	2,7	1,8	1,8	2,8	3,4	3,0	2,5	2,2	2,1	2,1	2,0	1,9	2,3	2,2
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	2,7	2,0	1,3	1,6	3,6	3,6	3,6	3,0	2,9	2,8	3,4	3,8	3,5	4,1	3,8
2,8 mM/10 mM Glukose	3,8	3,0	1,9	2,2	3,3	3,2	2,7	2,0	2,2	2,6	2,5	2,5	2,3	2,3	2,9

Tabelle 15: Wirkung von Orexin B und Leptin – Rohdaten

3.1.2.2 Aufteilung in Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, lässt sich der Einfluss von Orexin B bei der kombinierten Gabe mit Leptin auf die Insulinsekretion des Rattenpankreas folgendermaßen darstellen:

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) μU Insulin / ml / 0-8 min.	2. Phase (Spätphase) μU Insulin / ml / 9-27 min.
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	119,3 SEM = 30,13	321,6 SEM = 94,22
2,8 mM/10 mM Glukose	99,0 SEM = 14,30	225,1 SEM = 27,74
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M Leptin und 10^{-8} M Orexin B	101,1 SEM = 20,04	188,9 SEM = 28,70
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M Leptin	95,1 SEM = 12,76	171,3 SEM = 10,24

Tabelle 16: Wirkung von Orexin B und Leptin - aufgeteilt in Phasen

3.1.2.3 Statistik & Beschreibung der Ergebnisse

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	95,15	98,97
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-0,20	
P	0,42	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 17: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin])

Phase 2	①	②
Mittelwert	171,29	225,12
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-1,68	
P	0,06	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 18: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin])

Die Perfusion des Rattenpankreas unter 10 mM Glukosestimulation mit 10^{-9} M Leptin führt in der Frühphase der Pankreasaktivität zu keiner erkennbaren Änderung der Insulinsekretion, im Vergleich zur Perfusion ohne Leptin. In der Spätphase wird jedoch die Insulinsekretion um ca. 25 % vermindert ($p = 0,06$).

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	101,08	98,99
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	0,09	
P	0,47	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 19: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	188,87	225,12
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-0,90	
P	0,20	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 20: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B])

Bei der kombinierten Perfusion des mit 10 mM Glukose stimulierten Pankreas mit Leptin und Orexin B zeigt sich verglichen mit der Perfusion ohne diese beiden Substanzen in der Frühphase auch hier kein erkennbarer

Unterschied. In Phase 2 der Pankreasaktivität ist dementsprechend bei der kombinierten Perfusion eine Senkung der Insulinsekretion um ca. 16 % im Vergleich zu der, ohne Leptin und ohne Orexin B vorhanden. Die Senkung der Insulinsekretion ist jedoch geringer, als bei Perfusion mit Leptin allein.

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin
② 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	95,15	101,08
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-0,25	
P	0,40	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 21: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	171,29	188,87
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-0,58	
P	0,29	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 22: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Wenn man nun diese kombinierte Perfusion von Leptin und Orexin B mit der Perfusion nur mit Leptin vergleicht, so zeigt sich beim glukosestimulierten Pankreas eine höhere Insulinsekretion bei der kombinierten Perfusion mit Leptin und Orexin, im Vergleich zur alleinigen Perfusion mit Leptin. Die Steigerung der Insulinsekretion beträgt in der Spätphase bei Perfusion mit Leptin und Orexin ca. 10 %.

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B + 10^{-9} M Leptin
② 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	101,08	119,30
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-0,50	
P	0,31	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 23: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10^{-9} M Leptin])

Phase 2	①	②
Mittelwert	188,87	321,63
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-1,35	
P	0,11	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 24: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10^{-9} M Leptin])

Hier wird die Wirkung der kombinierten Perfusion von Leptin und Orexin B mit der alleinigen Perfusion mit Orexin B verglichen. Unter Pankreasaktivierung mit 10 mM Glukose erkennt man, dass bei der kombinierten Perfusion mit Leptin und Orexin B, die Insulinsekretion niedriger ist, als wenn das Pankreas allein mit Orexin B perfundiert wird. In der Frühphase ist der Unterschied noch relativ gering ausgeprägt (ca. + 18 %). In der Spätphase ist die Insulinsekretion bei Perfusion mit Orexin B jedoch über 70 % größer, als wenn mit Orexin und Leptin perfundiert wird.

3.1.2.4 Graphische Darstellung

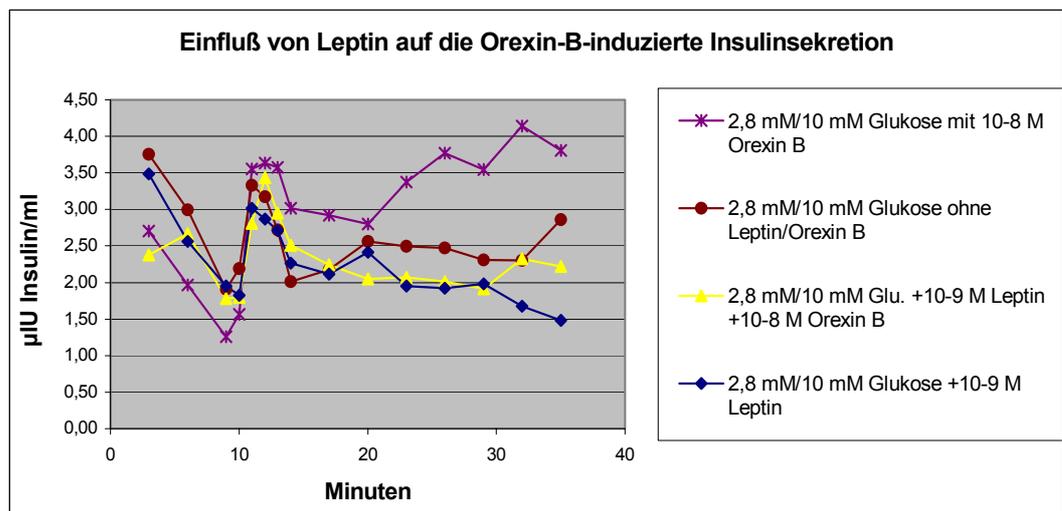


Abb. 8: Einfluß von Leptin auf die Orexin-B-induzierte Insulinsekretion

3.1.3 Wirkung von Orexin B und GLP-1

3.1.3.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
μU Insulin/ml	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M GLP-1	2,2	2,1	1,8	2,2	4,3	5,4	5,2	4,4	4,9	6,2	6,7	5,7	6,8	7,5	8,7
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M GLP-1 und 10^{-8} M Orexin B	3,2	3,1	2,0	2,6	3,9	5,0	5,6	4,4	4,5	5,8	6,0	7,2	5,8	7,0	6,4
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	2,7	2,0	1,3	1,6	3,6	3,6	3,6	3,0	2,9	2,8	3,4	3,8	3,5	4,1	3,8
2,8 mM/10 mM Glukose	3,8	3,0	1,9	2,2	3,3	3,2	2,7	2,0	2,2	2,6	2,5	2,5	2,3	2,3	2,9

Tabelle 25: Wirkung von Orexin B und GLP-1 – Rohdaten

3.1.3.2 Aufteilung in Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, lässt sich der Einfluss von Orexin B bei der kombinierten Gabe mit GLP-1 auf die Insulinsekretion des Rattenpankreas folgendermaßen darstellen:

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) μU Insulin / ml / 0-8 min.	2. Phase (Spätphase) μU Insulin / ml / 9-27 min.
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M GLP-1	182,2 SEM = 67,75	623,3 SEM = 208,07
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-9} M GLP-1 und 10^{-8} M Orexin B	174,9 SEM = 40,36	574,5 SEM = 126,24
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	119,3 SEM = 30,13	321,6 SEM = 94,22
2,8 mM/10 mM Glukose	99,0 SEM = 14,30	225,1 SEM = 27,74

Tabelle 26: Wirkung von Orexin B und GLP-1 - aufgeteilt in Phasen

3.1.3.3 Korrelationen/Statistik - Beschreibung der Ergebnisse

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M GLP-1
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	182,23	98,97
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	1,32	
P	0,11	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 27: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M GLP-1])

Phase 2	①	②
Mittelwert	623,33	225,12
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	2,09	
P	0,03	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 28: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M GLP-1])

Bei Stimulation des Rattenpankreas mit 10 mM Glukose und anschließender Perfusion mit GLP-1, erkennt man eine deutliche und massive Steigerung der Insulinsekretion in beiden Phasen der Pankreasaktivität. In der Spätphase ist diese Steigerung fast um das dreifache höher als bei Perfusion ohne GLP-1, und damit stärker als in der Frühphase, in der durch Perfusion mit GLP-1 die sezernierte Insulinmenge fast verdoppelt wird.

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M GLP-1 + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	174,85	98,97
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	1,91	
P	0,04	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 29: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M GLP-1 + 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	574,54	225,12
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	2,96	
P	0,01	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 30: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M GLP-1 + 10^{-8} M Orexin B])

Perfundiert man das glukoseaktivierte Rattenpankreas jetzt zusätzlich zum GLP-1 auch mit Orexin B, so wird die Insulinsekretion im Vergleich zur Perfusion ohne diese beiden Substanzen auch deutlich erhöht. Die Zugabe von Orexin B zum Perfusionsgemisch mit GLP-1 führt jedoch zu keiner weiteren Steigerung der GLP-1 stimulierten Insulinsekretion, sondern eher sogar zu einer Verminderung dieser.

Statistisch signifikant ($p=0,04$) wird die Insulinsekretion in der Frühphase um ca. 80 % erhöht; in der Spätphase beträgt die auch hier statistisch signifikante Erhöhung ($p=0,01$) bei Perfusion mit GLP-1 und Orexin B sogar 155 % an sezerniertem Insulin im Vergleich zur Perfusion ohne beide Substanzen.

- Perfusion mit:
 - ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M GLP-1
 - ② 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M GLP-1 + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	182,23	174,85
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,09	
P	0,46	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 31: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M GLP-1 [+ 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	623,33	574,54
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,20	
P	0,42	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 32: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M GLP-1 [+ 10^{-8} M Orexin B])

Vergleicht man jetzt die kombinierte Perfusion von GLP-1 und Orexin B mit der Perfusion bei der nur GLP-1 hinzugefügt wird, so findet man beim mit 10 mM Glukose stimulierten Pankreas keine statistisch verwertbare Veränderung. Die Menge an sezerniertem Insulin ist sowohl in der Früh- als auch in der Spätphase minimal geringer bei Perfusion mit der Kombination aus beiden Substanzen, im Vergleich zu der mit GLP-1 alleine. Insofern ist kein additiver Effekt von Orexin B auf die Insulinsekretion eruierbar.

- Perfusion mit:
 - ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B + 10^{-9} M GLP-1
 - ② 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	174,85	119,30
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	1,10	
P	0,15	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 33: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10^{-9} M GLP-1])

Phase 2	①	②
Mittelwert	574,54	321,63
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	1,61	
P	0,07	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 34: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10^{-9} M GLP-1])

Hier wird nun die kombinierte Perfusion mit GLP-1 und Orexin B mit der Perfusion nur mit Orexin B beim glukoseaktivierten Pankreas verglichen. Zu erkennen ist eine deutliche stärkere Insulinsekretion, wenn mit GLP-1 koperfundiert wird. Diese Steigerung betrifft beide Phasen der Pankreasaktivität, kommt aber in der Spätphase (+ 80 %) deutlicher zum Vorschein.

3.1.3.4 Graphische Darstellung

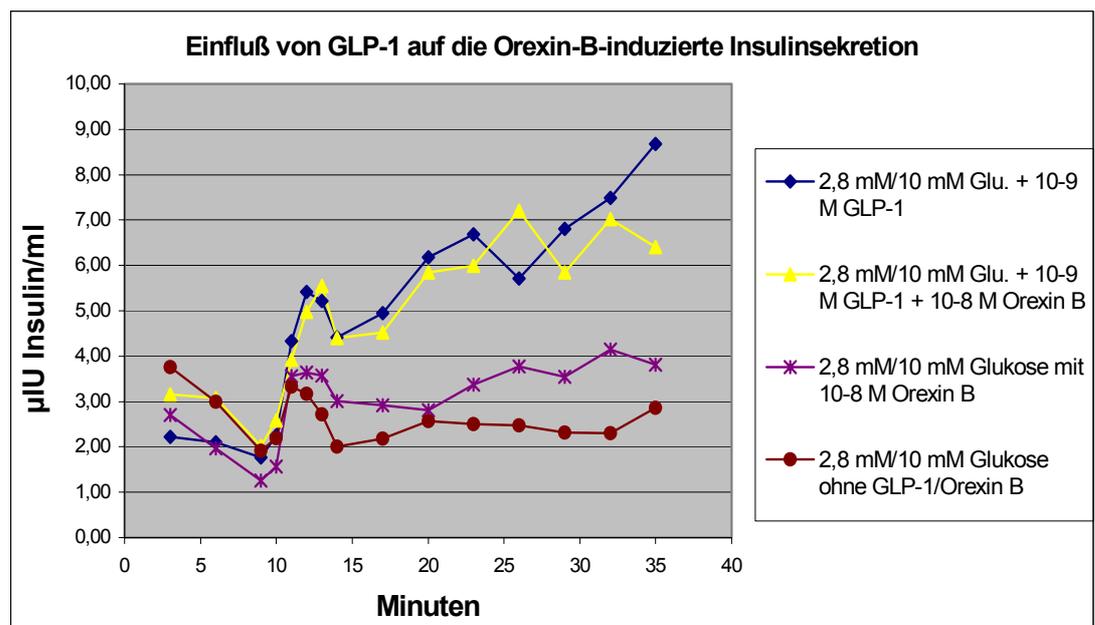


Abb. 9: Einfluß von GLP-1 auf die Orexin-B-induzierte Insulinsekretion

3.1.4 Wirkung von Orexin B und Arginin

3.1.4.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
$\mu\text{U Insulin/ml}$	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8 mM Glukose mit 10 mM Arginin	1,2	1,9	1,1	1,4	1,2	1,2	1,2	1,1	1,3	1,3	1,2	1,1	1,0	1,0	1,1
2,8 mM Glukose mit 10 mM Arginin und 10^{-8} M Orexin B	1,9	1,6	1,6	1,6	1,3	1,2	1,4	1,3	1,5	1,5	1,5	1,2	1,0	1,6	1,7
2,8 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	1,2	1,4	1,0	1,1	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,2	1,1	1,2	0,8	0,8	1,1
2,8 mM Glukose	1,8	1,9	1,3	1,5	1,5	1,5	1,6	1,2	1,2	1,5	1,4	1,4	1,0	1,1	1,3

Tabelle 35: Wirkung von Orexin B und Arginin – Rohdaten

3.1.4.2 Aufteilung in Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, lässt sich der Einfluss von Orexin B bei der kombinierten Gabe mit Arginin auf die Insulinsekretion des Rattenpankreas folgendermaßen darstellen:

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) $\mu\text{U Insulin / ml / 0-8 min.}$	2. Phase (Spätphase) $\mu\text{U Insulin / ml / 9-27 min.}$
2,8 mM Glukose mit 10 mM Arginin	50,1 SEM = 6,46	101,4 SEM = 12,13
2,8 mM Glukose mit 10 mM Arginin und 10^{-8} M Orexin B	56,7 SEM = 7,01	126,3 SEM = 8,94
2,8 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	38,9 SEM = 3,22	91,7 SEM = 8,82
2,8 mM Glukose	54,3 SEM = 4,39	116,5 SEM = 8,58

Tabelle 36: Wirkung von Orexin B und Arginin - aufgeteilt in Phasen

3.1.4.3 Korrelationen/Statistik - Beschreibung der Ergebnisse

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin
② 2,8 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	50,14	54,32
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-0,53	
P	0,30	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 37: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin])

Phase 2	①	②
Mittelwert	101,41	116,50
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-1,02	
P	0,17	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 38: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin])

Sämtliche Versuche, mit denen der Einfluss von Arginin untersucht werden sollte, wurden ohne vorangehende Stimulation des Pankreas mittels 10 mM Glukose durchgeführt, da somit die Insulinsekretion a priori maximal stimuliert wäre und eine substantielle Auswertung unmöglich gewesen wäre, zumal Arginin die Glukosestimulierte Insulinsekretion nicht weiter steigert.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Perfusion des unstimulierten Rattenpankreas mit Arginin im Vergleich zu der ohne Arginin keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Insulinsekretion hat. In beiden Phasen ist sogar eine geringe (statistisch nicht signifikante) Senkung der Insulinsekretion nachweisbar (Spätphase: -15 %).

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	56,72	54,32
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,29	
P	0,39	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 39: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	126,25	116,50
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,79	
P	0,23	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 40: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])

Die kombinierte Perfusion des unstimulierten Rattenpankreas mit Orexin B und Arginin führt ebenfalls zu keiner statistisch aussagekräftigen Änderung der Insulinsekretion im Vergleich zur basalen Perfusion ohne diese beiden Substanzen. Andeutungsweise kann man jedoch eine leichte Steigerung der Insulinsekretion aus dem Pankreas erkennen.

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin
② 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	50,14	56,72
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-0,69	
P	0,26	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 41: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	101,41	126,25
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-1,65	
P	0,07	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 42: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Vergleicht man jetzt die Perfusion von Arginin am unstimulierten Pankreas mit der von Arginin und Orexin B, zeigt sich sogleich der stimulierende Effekt auf die Insulinsekretion von Orexin B. Dies führt im Rattenpankreas nämlich zu einer Erhöhung der Insulinsekretion, die in der Spätphase (+25 %) deutlicher ausgeprägt ist, als in der Frühphase (+13 %) der endokrinen Pankreasaktivität.

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B + 10 mM Arginin
② 2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B

<i>Phase 1</i>	①	②
Mittelwert	56,72	38,94
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	2,30	
P	0,025	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 43: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])

<i>Phase 2</i>	①	②
Mittelwert	126,25	91,72
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	2,75	
P	0,01	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 44: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])

Hier wird isoliert die Wirkung von Arginin auf die Orexin-B-stimulierte Insulinsekretion evaluiert. Man erkennt bei der Perfusion des unstimulierten Rattenpankreas mit Orexin B, dass beim Hinzufügen von Arginin eine deutliche, konstante und signifikante Steigerung der Insulinsekretion, sowohl in der Früh- (+45 %) als auch in der Spätphase (+38 %) der β -Zell-Aktivität hervorgerufen wird.

3.1.4.4 Graphische Darstellung

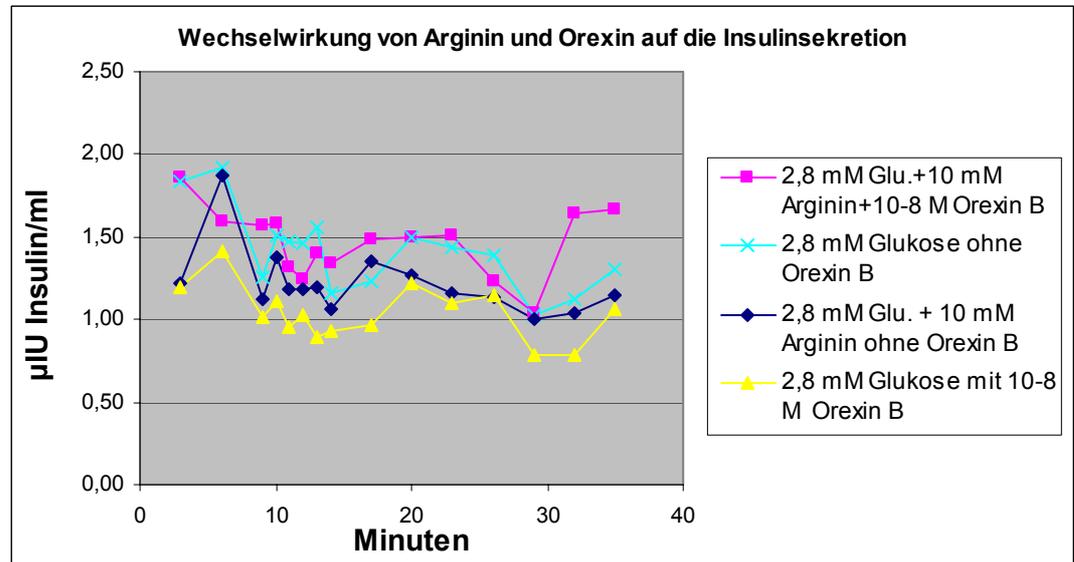


Abb. 10: Wechselwirkung von Arginin und Orexin B auf die Insulinsekretion

3.2 Beeinflussung der Glukagonsekretion

3.2.1 Wirkung von Orexin B

3.2.1.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	18,6	16,4	26,6	20,6	22,2	16,0	16,2	14,3	14,2	17,0	15,1	12,0	12,4	14,3	9,4
2,8mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁹ M Orexin B	16,3	14,2	13,5	16,6	15,1	10,3	6,4	11,1	9,5	10,9	11,7	10,1	12,0	13,8	13,0
2,8mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻¹⁰ M Orexin B	130,4	174,8	174,2	107,8	117,9	50,4	34,5	28,0	17,9	26,5	28,3	24,6	19,0	22,7	18,8
2,8 mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	36,2	90,7	131,9	170,7	239,6	223,4	202,5	172,0	181,1	135,2	111,0	86,0	87,3	96,6	63,6
2,8 mM/10 mM Glukose	59,1	53,8	62,1	42,0	31,3	24,0	26,5	23,1	19,0	30,6	19,7	16,9	14,2	16,4	12,1
2,8 mM Glukose	10,1	18,2	50,7	76,8	104,0	91,6	203,6	199,8	169,6	192,3	269,4	326,2	222,4	225,1	275,8

Tabelle 45: Wirkung von Orexin B - Rohdaten

3.2.1.2 Aufteilung in Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, lässt sich der Einfluss von Orexin B auf die Glukagonsekretion wie folgt darstellen:

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) pg Glukagon / ml / 0-8 min.	2. Phase (Spätphase) pg Glukagon / ml / 9-27 min.
2,8 mM Glukose	7001,9 SEM = 1996,93	23334,7 SEM = 7302,95
2,8 mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	7758,0 SEM = 2004,65	8420,8 SEM = 2186,15
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻¹⁰ M Orexin B	1837,9 SEM = 1011,22	2079,1 SEM = 628,02
2,8 mM/10 mM Glukose	1031,6 SEM = 267,16	1551,4 SEM = 396,33
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	622,8 SEM = 115,08	1161,3 SEM = 204,97
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁹ M Orexin B	431,3 SEM = 70,01	1071,4 SEM = 167,86

Tabelle 46: Wirkung von Orexin B - aufgeteilt in Phasen

3.2.1.3 Korrelationen/Statistik - Beschreibung der Ergebnisse

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	622,80	1031,60
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-1,30	
P	0,11	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 47: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	1161,27	1551,44
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-0,81	
P	0,22	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 48: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

Bei Stimulation des Rattenpankreas mit 10 mM Glukose und anschließender Perfusion mit 10^{-8} M Orexin B zeigt sich im Vergleich zur Perfusion ohne Orexin B eine deutliche Senkung der Glukagonsekretion bei Perfusion mit Orexin B, die in der Frühphase (-40 %) stärker ausgeprägt ist, als in der Spätphase (-25 %).

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Orexin B
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	431,34	1031,60
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-1,99	
P	0,04	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 49: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	1071,37	1551,44
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	-1,03	
P	0,17	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 50: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Orexin B])

Auch bei Perfusion des glukosestimulierten Pankreas mit einer um eine Zehnerpotenz geringeren Orexin B-Konzentration in Höhe von 10^{-9} M, wird die Glukagonsekretion in beiden Aktivitätsphasen klar vermindert. In

der Frühphase ist dies statistisch signifikant, und mit einem Minus von 58 % auch deutlicher erkennbar als in der Spätphase (- 31 %).

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-10} M Orexin B
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	1837,91	1031,60
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,77	
P	0,23	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 51: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-10} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	2079,14	1551,44
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,69	
P	0,25	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 52: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-10} M Orexin B])

Bei Perfusion des mit 10 mM Glukose stimulierten Rattenpankreas mit einer noch mal um eine Zehnerpotenz geringeren Orexin B-Konzentration (10^{-10} M), zeigt sich ein umgekehrtes Bild. Hier erkennt man beim Vergleich mit der Perfusion gänzlich ohne Orexin B eine Erhöhung der Glukagonmenge, die aus den α -Zellen sezerniert wird. Diese ist jedoch statistisch nicht signifikant, auch wenn sie eine Erhöhung um bis zu 80 % in der Frühphase erreicht.

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	7757,97	7001,86
Beobachtungen	5	4
t-Statistik	0,25	
P	0,40	
Kritischer t-Wert	1,89	

Tabelle 53: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	8420,83	23334,73
Beobachtungen	5	4
t-Statistik	-1,97	
P	0,045	
Kritischer t-Wert	1,89	

Tabelle 54: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

Bei der Perfusion des Pankreas ohne vorherige Glukosestimulation zeigt sich bei der Perfusion mit Orexin B ein gemischtes Bild. Es fällt auf, dass die sezernierten Glukagonkonzentrationen um ein mehrfaches höher sind, als wenn initial zusätzlich mit 10 mM Glukose perfundiert wird.

In der Frühphase steigt die Glukagonsekretion mit einem Plus von etwa 10 % leicht an, statistisch jedoch nicht signifikant! In der Spätphase der α -Zell-Aktivität hingegen wird statistisch signifikant deutlich ($p=0,045$), dass bei der Perfusion mit Orexin B die Glukagonsekretion aus dem Pankreas stark, hier um knapp zwei Drittel im Vergleich zur Perfusion ohne Orexin B, reduziert wird.

3.2.1.4 Graphische Darstellung

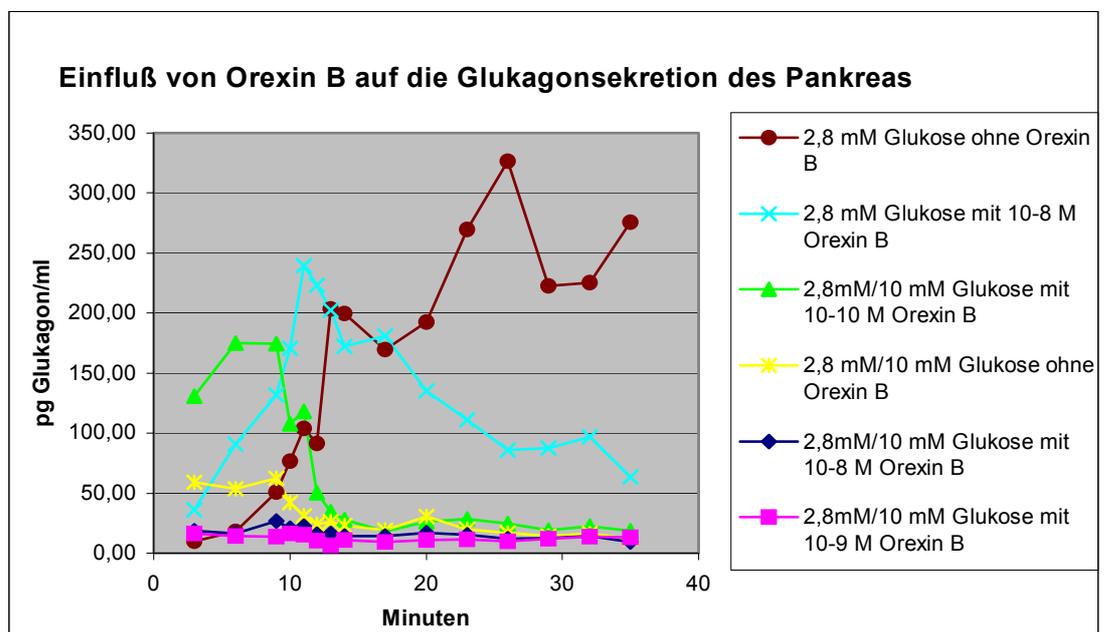


Abb. 11: Einfluß von Orexin B auf die Glukagonsekretion des Pankreas

3.2.2 Wirkung von Orexin B und Leptin

3.2.2.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8 mM/10 mM Glukose +10 ⁻⁹ M Leptin	69,0	160,0	169,0	145,8	117,5	57,9	32,5	35,2	16,6	x	x	x	x	x	X
2,8 mM/10 mM Glukose +10 ⁻⁹ M Leptin +10 ⁻⁸ M Orexin B	77,1	121,6	96,7	86,6	80,4	59,0	34,7	21,8	19,9	x	x	x	x	X	x
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	18,6	16,4	26,7	20,6	22,2	16,0	16,2	14,3	14,2	17,1	15,1	12,0	12,4	14,3	9,4
2,8 mM/10 mM Glukose	59,1	53,8	62,1	42,0	31,3	24,0	26,5	23,1	19,0	30,6	19,7	16,9	14,2	16,4	12,1

Tabelle 55: Wirkung von Orexin B und Leptin – Rohdaten

3.2.2.2 Aufteilung in Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, beeinflusst die kombinierte Perfusion des Pankreas von Orexin B und Leptin die Glukagonsekretion wie folgt.

Leider sind bei der Messung der Daten der Spätphase mehrere Daten ausgefallen, so dass sie insgesamt nicht beurteilbar ist!

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) pg Glukagon / ml / 0-8 min.	2. Phase (Spätphase) pg Glukagon / ml / 9-27 min.
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁹ M Leptin	2047,3 SEM = 510,83	Datenfehler
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁹ M Leptin und 10 ⁻⁸ M Orexin B	1710,8 SEM = 151,43	Datenfehler
2,8 mM/10 mM Glukose	1031,60 SEM = 292,65	1478,2 SEM = 434,16
2,8mM/10 mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	622,80 SEM = 115,08	1161,3 SEM = 204,97

Tabelle 56: Wirkung von Orexin B und Leptin - aufgeteilt nach Phasen

3.2.2.3 Korrelationen/Statistik - Beschreibung der Ergebnisse

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	2047,27	1031,60
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	1,73	
P	0,06	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 57: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin])

Leptin wirkt bei Perfusion des mit 10 mM Glukose stimulierten Rattenpankreas in der Frühsekretionsphase mit einer deutlichen Erhöhung der Glukagonausscheidung, die fast das Doppelte erreicht, im Vergleich zur Perfusion ohne Leptin.

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin
② 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	2047,27	1710,84
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,63	
P	0,27	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 58: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Bei Stimulation des Pankreas mit 10 mM Glukose und anschließender Perfusion mit Leptin bewirkt das Hinzufügen von Orexin B zum Perfusionsgemisch einen Abfall der Glukagonsekretion in Höhe von etwa

20 %. Insofern scheint Orexin B die leptinstimulierte Glukagonsekretion zu hemmen.

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B + 10^{-9} M Leptin
② 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	1710,84	622,80
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	5,72	
P	0,000222	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 59: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Das Hinzufügen von Leptin zum Perfusionsgemisch mit Orexin B bewirkt in der Frühphase unter Glukosestimulation (10 mM) eine deutliche und statistisch signifikante ($p=0,0002$) Steigerung der Glukagonsekretion. Diese Steigerung beträgt im Mittelwert fast das 3-fache im Vergleich zur alleinigen Perfusion mit Orexin B aber ohne Leptin.

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8/10 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	1710,84	1031,60
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	2,06	
P	0,04	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 60: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B])

Die kombinierte Perfusion mit Leptin und Orexin bei Glukosestimulation des Pankreas zeigt im Gegensatz zur Perfusion ohne die beiden Stoffe in der Frühphase eine deutliche Erhöhung der Glukagonsekretion um nahezu 70 % bei vorhandener statistischer Signifikanz ($p=0,04$). Trotzdem ist die Steigerung der Glukagonsekretion bei Anwesenheit von Orexin B insgesamt klar geringer, als bei Perfusion mit Leptin allein.

3.2.2.4 Graphische Darstellung

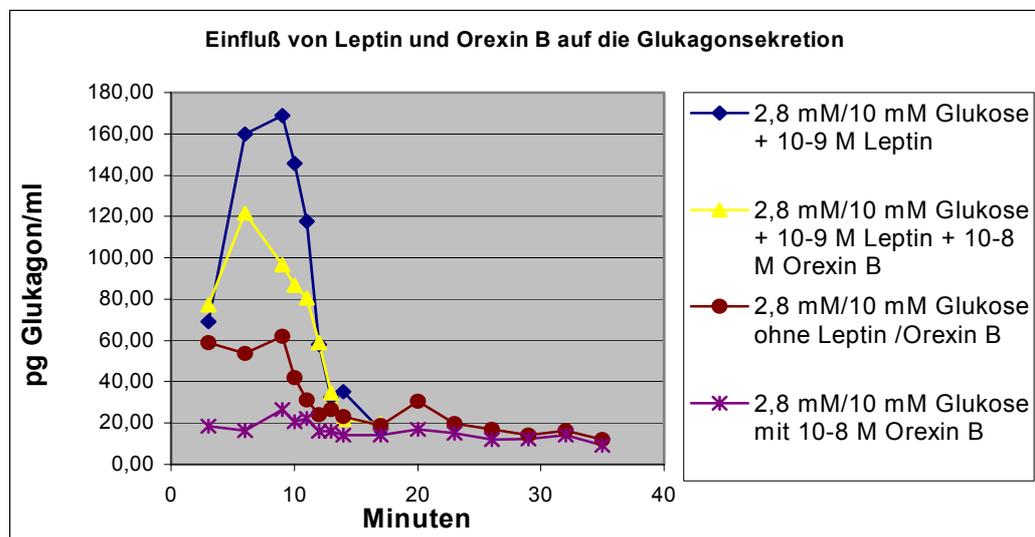


Abb. 12: Einfluß von Leptin und Orexin B auf die Glukagonsekretion

3.2.3 Wirkung von Orexin B und Arginin

3.2.3.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
pg Glukagon/ml	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin	100,1	121,9	113,0	677,3	737,4	484,8	476,0	414,6	470,3	536,0	574,5	630,3	746,6	742,1	857,8
2,8 mM Glukose +10 mM Arginin +10 ⁻⁸ M Orexin B	72,3	95,1	92,1	804,8	545,5	364,2	348,6	342,7	388,6	428,3	451,8	540,2	663,0	695,8	926,6
2,8 mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	36,2	90,7	131,9	170,7	239,6	223,4	202,5	172,0	181,1	135,2	111,0	86,0	87,3	96,6	63,6
2,8 mM Glukose	10,1	18,2	50,7	76,8	104,0	91,6	203,6	199,8	169,6	192,3	269,4	326,2	222,4	225,1	275,8

Tabelle 61: Wirkung von Orexin B und Arginin – Rohdaten

3.2.3.2 Aufteilung auf Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, beeinflusst die kombinierte Perfusion des Pankreas von Orexin B und Arginin die Glukagonsekretion wie folgt:

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) pg Glukagon / ml / 0-8 min.	2. Phase (Spätphase) pg Glukagon / ml / 9-27 min.
2,8 mM Glukose mit 10 mM Arginin	20909,8 SEM = 6477,74	61311,6 SEM = 23444,33
2,8 mM Glukose mit 10 mM Arginin und 10 ⁻⁸ M Orexin B	17857,7 SEM = 4522,96	54655,0 SEM = 13542,35
2,8mM Glukose mit 10 ⁻⁸ M Orexin B	7758,0 SEM = 2004,65	8420,8 SEM = 2186,15
2,8 mM Glukose	7001,9 SEM = 2232,63	23334,7 SEM = 8164,94

Tabelle 62: Wirkung von Orexin B und Arginin – aufgeteilt nach Phasen

3.2.3.3 Korrelationen/Statistik - Beschreibung der Ergebnisse

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin
② 2,8 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	20909,79	7001,86
Beobachtungen	5	4
t-Statistik	1,83	
P	0,06	
Kritischer t-Wert	1,89	

Tabelle 63: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin])

Phase 2	①	②
Mittelwert	61311,62	23334,73
Beobachtungen	5	4
t-Statistik	1,38	
P	0,11	
Kritischer t-Wert	1,89	

Tabelle 64: Statistik Phase2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin])

Die Perfusion des Rattenpankreas ohne vorherige 10 mM Glukoseperfusion, führt bei Addition von Arginin zu einer massiven Erhöhung der Glukagonsekretion. Im Vergleich zur Perfusion ohne Arginin sind die Mengen an sezerniertem Glukagon hier, sowohl in der Früh- als auch in der Spätphase der Pankreasaktivität, um etwa das dreifache höher.

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin
② 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B

Phase 1	①	②
Mittelwert	20909,79	17857,73
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,39	
P	0,35	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 65: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	61311,62	54655,04
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	0,25	
P	0,41	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 66: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])

Durch Hinzufügen von Orexin B zur Perfusionslösung mit Arginin bei fehlender 10 mM Glukosestimulation, wird die Sekretion von Glukagon aus dem endokrinen Rattenpankreas vermindert. In der Frühphase beträgt die Reduktion ca. 15 %, in der Spätphase nur noch ca. 11 %.

- Perfusion mit: ① 2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B + 10 mM Arginin
② 2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B

<i>Phase 1</i>	①	②
Mittelwert	17857,73	7757,97
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	2,04	
P	0,04	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 67: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])

<i>Phase 2</i>	①	②
Mittelwert	54655,04	8420,83
Beobachtungen	5	5
t-Statistik	3,37	
P	0,0049	
Kritischer t-Wert	1,86	

Tabelle 68: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])

Bei fehlender Glukosestimulation des Rattenpankreas und in Anwesenheit von Orexin B steigert die Addition von Arginin zum Perfusionsgemisch die Glukagonsekretion auch wieder um ein Vielfaches. In der ersten Phase der Pankreasaktivität bewirkt Arginin in Anwesenheit von Orexin B eine 2,5-fache Erhöhung der Glukagonsekretion; in der Spätphase steigt die Glukagonsekretion sogar auf das 6,5-fache an, bei vorhandener statistischer Signifikanz.

- Perfusion mit:
 - ① 2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B
 - ② 2,8 mM Glukose

Phase 1	①	②
Mittelwert	17857,73	7001,86
Beobachtungen	5	4
t-Statistik	1,98	
P	0,04	
Kritischer t-Wert	1,89	

Tabelle 69: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])

Phase 2	①	②
Mittelwert	54655,04	23334,73
Beobachtungen	5	4
t-Statistik	1,85	
P	0,05	
Kritischer t-Wert	1,89	

Tabelle 70: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])

Bei Perfusion des nicht mit Glukose stimulierten Rattenpankreas bewirkt auch eine Kombination von Arginin und Orexin B im Vergleich zur Perfusion ohne beide Substanzen eine massive Erhöhung der Sekretion von Glukagon aus den α -Zellen. Die Ergebnisse betreffen beide Phasen in gleicher Weise (Phase 1: + 255 %, Phase 2: + 235 %) und sind statistisch signifikant ($p=0,04$ bzw. $p=0,05$).

Dennoch ist die Höhe der sezernierten Glukagonmenge geringer als bei singulärer Perfusion mit Arginin ohne Orexin B.

3.2.3.4 Graphische Darstellung

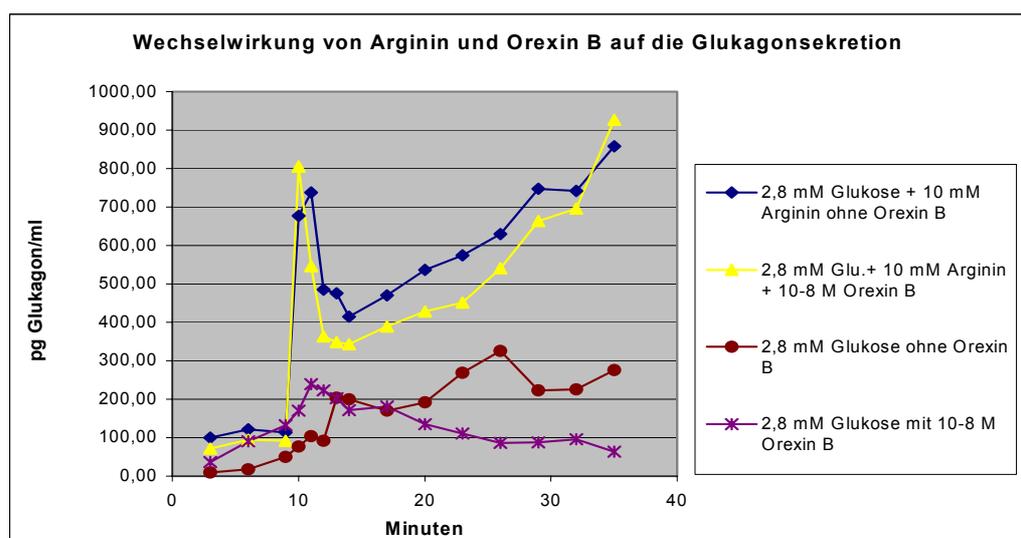


Abb. 13: Wechselwirkung von Arginin und Orexin B auf die Glukagonsekretion

3.3 Beeinflussung der Somatostatinsekretion durch Orexin B

3.3.1 Rohdaten

Minuten	3	6	9	10	11	12	13	14	17	20	23	26	29	32	35
	basale Phase			Frühphase						Spätphase					
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	200,7	250,9	279,0	164,4	153,4	205,1	254,8	318,1	351,8	341,8	321,4	310,8	283,0	243,2	232,8
2,8 mM/10 mM Glukose	173,1	309,5	324,5	284,1	278,4	299,8	322,4	315,0	296,2	278,7	283,1	294,8	250,8	271,6	189,3

Tabelle 71: Wirkung durch Orexin B – Rohdaten

3.3.2 Aufteilung in Phasen

Zusammengefasst und aufgeteilt in eine erste und zweite Phase, beeinflusst die Perfusion des Pankreas mit Orexin B die Somatostatinsekretion wie folgt:

(basale Phase: -9-0 min; Frühphase: 0-8 min; Spätphase: 9-27 min)

	1. Phase (Frühphase) pg Somatostatin / ml / 0-8 min.	2. Phase (Spätphase) pg Somatostatin / ml / 9-27 min.
2,8 mM/10 mM Glukose mit 10^{-8} M Orexin B	10756,7 SEM = 4200,98	25995,4 SEM = 9083,49
2,8 mM/10 mM Glukose ohne Orexin B	11941,9 SEM = 2565,11	23525,7 SEM = 3872,71

Tabelle 72: Wirkung durch Orexin B – aufgeteilt nach Phasen

3.3.3 Korrelationen/Statistik - Beschreibung der Ergebnisse

- Perfusion mit: ① 2,8/10 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B
② 2,8/10 mM Glukose

<i>Phase 1</i>	①	②
Mittelwert	10756,68	11941,85
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	-0,25	
P	0,40	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 73: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

<i>Phase 2</i>	①	②
Mittelwert	25995,36	23525,73
Beobachtungen	5	6
t-Statistik	0,27	
P	0,40	
Kritischer t-Wert	1,83	

Tabelle 74: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])

Es ist kein Einfluss von Orexin B auf die Somatostatinsekretion des mit 10 mM Glukose stimulierten Rattenpankreas erkennbar.

3.3.4 Graphische Darstellung

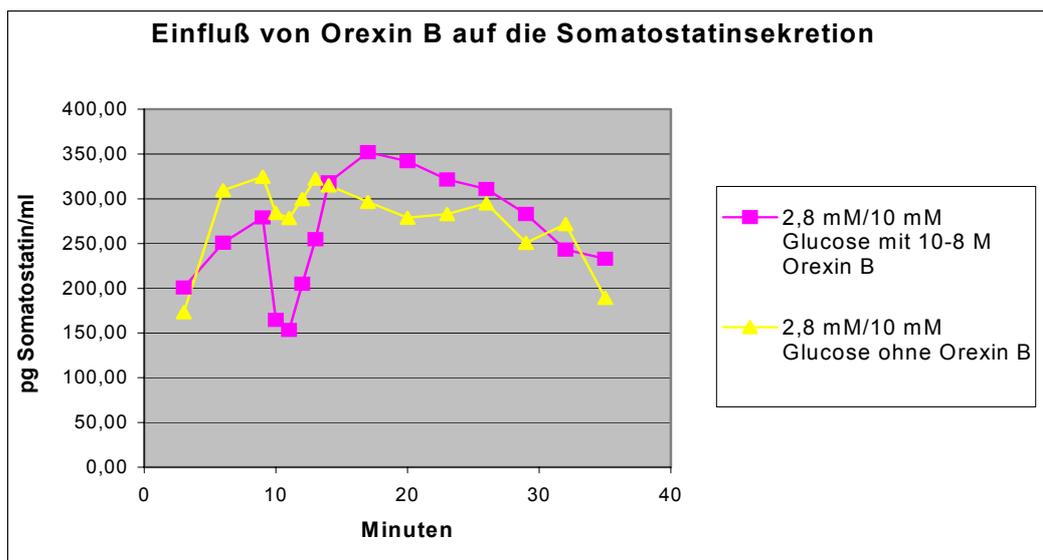


Abb. 14: Einfluß von Orexin B auf die Somatostatinsekretion

4 DISKUSSION

4.1 Beeinflussung der Insulinsekretion

4.1.1 Orexin B

Die Versuche mit der Perfusion von Orexin B zeigen am endokrinen Rattenpankreas hinsichtlich der Insulinsekretion verschiedene Ergebnisse.

Bei Perfusion mit basaler Glukose von 2,8 mM und fehlender Glukosestimulation scheint Orexin B die Insulinsekretion aus dem Pankreas zu hemmen. Gaben von niedrigkonzentriertem Orexin B (10^{-10} M und 10^{-9} M) haben auch bei Stimulation der Insulinsekretion mit 10 mM Glukose eine geringe hemmende Wirkung, die in beiden Sekretionsphasen ähnlich ist. Bei der höchsten gegebenen Orexin-B-Konzentration von 10^{-8} M kehrt sich das Bild: die Wirkung auf die stimulierte Insulinsekretion zeigt eine deutliche Sekretionssteigerung von Insulin um bis zu 50 %, vor allem in der Spätphase. Das heisst, das für die insulinsekretionssteigernde Wirkung des Orexin B's eine gewisse Konzentrationsschwelle überwunden werden muss, damit das Orexin B seine Wirkung entfalten kann. Die Erklärung für diese unterschiedliche und teils gegensätzliche Wirkungen könnte in einer unterschiedlichen Rezeptorwirkung der verschiedenen Orexin-B-Konzentrationen liegen. Bei niedrigen Dosierungen würden dann durch Orexin B eher die Insulinsekretion-hemmenden Rezeptoren, bei hohen Konzentrationen eher die Sekretion fördernden Rezeptoren im Pankreas stimuliert.¹³²

Die fehlende Stimulation der Insulinsekretion bei Perfusion mit nur „basaler“ Glukose (2,8 mM) und ohne Aktivierung der pankreatischen β -Zelle deutet auf die Notwendigkeit der Anwesenheit von hohen Glukosekonzentration hin, die das Orexin B benötigt, um seinen Effekt zu bewirken. Diese ist z.B. postprandial im Blut der V. portae vorhanden, was für eine vorherrschende Wirksamkeit des Orexin B's in diesem Zusammenhang sprechen würde. Somit könnte Orexin B die schnelle Insulinsekretion aus dem Pankreas noch weiter stimulieren, um postprandiale Blutzuckerspitzen zu verhindern. Die stärkere Beeinflussung der Spätphase der Insulinsekretion in den oben dargestellten

Versuchen deutet aber auch auf eine nachhaltige Wirksamkeit hinsichtlich einer konstanten Senkung des Blutglukosespiegels, zumindest aber das Halten auf einem niedrigen (normalen) Niveau, hin.

In Zukunft wären zum einen Experimente mit noch höheren Orexin-B-Dosierungen ($> 10^{-8}$ M Orexin B) angezeigt, um diesen Effekt deutlicher darzustellen. Zum anderen wären auch Nachforschungen bzgl. der Rezeptordichte auf den Pankreaszellen sinnvoll, die die zahlenmäßige und regionale Verteilung der OX-2-Rezeptoren verdeutlichen.

4.1.2 Orexin B und Leptin

Die Experimente am Rattenpankreas mit Leptin und Orexin B zeigen ein klares Bild der Wirkungsweise beider Substanzen. Leptin bewirkt, wie bereits vorher¹³³ gezeigt werden konnte, eine, wenn auch nicht sehr ausgeprägte, Verminderung der Insulinsekretion, die eher langfristig in der Spätphase der β -Zell-Aktivität wirkt. Die Zugabe von 10^{-8} M Orexin B zum Perfusionsgemisch mit Leptin scheint diese Verminderung teilweise aufzuheben, gleicht sie jedoch nicht vollständig aus. Demnach könnte Orexin B als Gegenspieler des Leptins an der β -Zelle betrachtet werden.

Die kombinierte Perfusion von Leptin mit Orexin B zeigt sowohl im Vergleich mit der Perfusion mit Orexin B als auch bei der „puren“- mit 10 mM Glukose-Perfusion, dass das Orexin B in der Dosierung 10^{-8} M nur schwerlich gegen die insulinsenkende Wirkung des Leptins gegenhalten kann. Über die gesamte gemessene Dauer der Insulinsekretion bewirkt Orexin B in der genannten Dosierung nur eine geringe Erhöhung der Insulinsekretion. Diese ist in der Spätphase deutlicher ausgeprägt als in der Frühphase der Pankreasaktivität. Wahrscheinlich spielt hier die (evtl. noch zu geringe) Dosierung des Orexin B's die entscheidende Rolle. Eine weitere Erforschung dieses Sachverhalts wäre sicherlich förderlich zum Verständnis der Wechselwirkungen von Orexin B und Leptin.

Festzuhalten ist hier auf jeden Fall, dass die insulinsenkende Potenz von 10^{-9} M Leptin deutlich stärker ist, als die insulinsteigernde Potenz von 10^{-8} M Orexin B. Dies vermag, zumindest in höheren Dosierungen, die insulinsekretionshemmende Wirkung von Leptin zu vermindern.

Die oben beschriebene vorrangige Wirkung von Leptin auf die Spätphase der Insulinsekretion steht im Gegensatz zu den in der Einleitung genannten Forschungsarbeiten, bei denen die Inhibierung in der ersten Phase der biphasischen Insulinsekretion deutlicher ausgeprägt sein soll.¹³⁴

Aus dem direkten Einfluss von Leptin auf die insulinsezernierenden Zellen des Pankreas, kann die in der Einführung beschriebene These bestätigt werden, dass Leptin der Gruppe der metabolischen Hormone zuzuordnen ist. Umgekehrt soll die Leptinproduktion durch hohe Spiegel von Insulin stimuliert werden, weshalb man vermuten kann, dass Leptin als ein Teil des negativen Rückkopplungsmechanismus zurück zum endokrinen Pankreas fungiert, der signalisiert, dass kein Insulin mehr benötigt wird, um die Fettspeicher aufzufüllen. Hierfür würde auch die eher längerfristige (v.a. die Spätphase betreffende) Wirkung auf die Insulinsekretion sprechen.

4.1.3 Orexin B und GLP-1

In den nachfolgenden Experimenten wurde die Interaktion zwischen GLP-1 und Orexin B in Bezug auf die Insulinsekretion des endokrinen Pankreas der Ratte untersucht. Hierbei zeigte sich bei alleiniger Perfusion mit GLP-1 eine, den Erwartungen¹³⁵ entsprechende, massive Zunahme der Insulinsekretion aus dem mit 10 mM Glukose stimulierten Pankreas, im Vergleich zur Perfusion ohne GLP-1. Diese Wirkung betraf beide Phasen der Insulinsekretion gleichermaßen. Bei Hinzufügen von Orexin B 10^{-8} M zur Perfusionslösung mit GLP-1 konnte jedoch kein additiver insulinsekretorischer Effekt beobachtet werden. Beim direkten Vergleich der kombinierten Perfusion von GLP-1 und Orexin B und der Perfusion nur mit Orexin B zeigt sich deutlich, dass GLP-1

die sehr viel stärkere insulinsezernierende Wirkung zuzuschreiben ist. Trotzdem vermag das Hinzufügen von Orexin B zum Perfusionsgemisch mit GLP-1 keine weitere Steigerung der Insulinsekretion aus den β -Zellen zu ermöglichen.

Evtl. können hier weitere Versuche mit höheren Orexin B-Konzentrationen aber auch mit niedrigeren GLP-1-Konzentrationen das Ausmass der Wirksamkeit des Orexin B's verdeutlichen. Es kann aber auch sein, dass die maximale Sekretionskapazität der β -Zellen allein durch die GLP-1-Stimulation erreicht worden ist, und diese somit durch noch höhere Konzentrationen, sei es Orexin B oder GLP-1, nicht mehr weiter zu steigern ist.

4.1.4 Orexin B und Arginin

Wie schon oben erwähnt, wurden sämtliche Ratten bei den Untersuchungen mit Arginin lediglich mit basaler Glukoselösung der Konzentration 2,8 mM perfundiert, da Arginin die Glukose-stimulierte Insulinsekretion nicht weiter steigert.

Merkwürdigerweise stimuliert Arginin bei der „basalen“ Perfusion des Rattenpankreas die Insulinsekretion überhaupt nicht, was entgegen dem aktuellen Wissensstand ist. Eine Ursache hierfür haben wir letzten Endes nicht finden können.

Bei der Beurteilung der Versuche erkennt man die Wirkmechanismen und die Interaktionen von Orexin B und Arginin nur bei der singulären Perfusion. So sehen wir bei der kombinierten Perfusion von Arginin und Orexin B und auch bei der singulären Perfusion nur mit Arginin im Vergleich zur Perfusion ohne beide Substanzen keine Änderung bzw. sogar eine diskrete Senkung, die dem eigentlichen bekannten Wirkmechanismus beider Substanzen widerspricht. Erst der Vergleich der kombinierten Wirkung beider Substanzen sowie der Perfusion mit nur einer der beiden Substanzen entspricht annähernd den Erwartungen. So zeigt sich die Wirkung von Orexin B mit der nun bekannten Erhöhung der Insulinsekretion, auch wenn diese nur sehr gering ausgeprägt ist.

Weiterhin zeigt sich die Wirkung von Arginin als Stimulator der Insulinsekretion nur in Kombination mit Orexin B. Somit kann hier von einer gegenseitigen Verstärkung von Arginin und Orexin B ausgegangen werden, was gerade durch die o.g. statistisch signifikanten Ergebnisse der kombinierten Perfusion von Arginin und Orexin B untermauert wird.

4.1.5 Zusammenschau

Die Ergebnisse zeigen, dass Orexin B die Insulinsekretion am Rattenpankreas stimuliert. Deutliche Unterschiede bestehen jedoch in der Potenz für diese Stimulation. Dies kann zum einen an der unterschiedlichen Verteilung der OX-2-Rezeptoren liegen, zum anderen sicherlich aber auch an der unterschiedlichen Affinität des Orexin B zu diesen¹³⁶ (siehe auch 1.2.2.). Möglich wäre, dass die Bindung von Orexin B an den OX-2-Rezeptor relativ unspezifisch ist, so dass evtl. andere Stoffe am selben Rezeptor binden können, die gegenteilig wirken, oder das Orexin B aus der Bindung verdrängen.¹³⁷

Weitere Schwachstellen von Orexin B könnten auch im pharmakologischen Bereich liegen; zum einen ist bekannt, dass es nur relativ schwach lipophil ist. Es könnte weiterhin sein, dass Orexin B im Organismus relativ schnell metabolisiert wird, und somit für die Wirkung auf die β -Zellen nicht mehr zur Verfügung steht.¹³⁸ Eine weitere Ursache könnte auch der zu rasche (proteolytische) Abbau des Orexin B's sein.¹³⁹ Außerdem könnte auch die unterschiedliche Rezeptorverteilung im gastrointestinalen System, insbesondere des Pankreas eine weitere Ursache für die unterschiedliche Wirkung des Hormons sein.¹⁴⁰

Detaillierte und substantielle weitere Nachforschungen in diesem Bereich müssten folgen, um hier detailliert Aufschluss über die genaue Wirkung und Interaktion von Orexin B und dessen Rezeptoren zu geben.

4.2 Beeinflussung der Glukagonsekretion

4.2.1 Orexin B

Die Perfusion des endokrinen Rattenpankreas mit verschiedenen Orexin B-Konzentrationen zeigt hinsichtlich der Glukagonsekretion unterschiedliche Ergebnisse. Bei vorheriger Perfusion mit 10 mM Glukose, zeigt sich bei Perfusion mit niedrigen Orexin B-Konzentrationen (10^{-10} M) kein statistisch aussagekräftiger Unterschied. Wird jedoch mit höheren Konzentrationen von Orexin B in der Größenordnung 10^{-9} M und 10^{-8} M perfundiert, so zeigt sich eine deutliche Verminderung der Glukagonsekretion, die v.a. die Frühphase der α -Zell-Aktivität betreffen.

Insgesamt sind die sezernierten Glukagonmengen jedoch nicht sehr hoch, da bekanntlich ein hoher Glukosespiegel, wie er durch die vorangehende Perfusion mit 10 mM Glukose imitiert wird, per se zu einer Hemmung der glukagonsezernierenden α -Zellen des endokrinen Pankreas führt. Die zusätzliche Perfusion mit Orexin B bewirkt eine weitere deutliche Reduktion, der primär schon geringen Glukagonsekretion.

Umgekehrt zeigt sich bei Perfusion des endokrinen Pankreas mit nur wenig „basaler“ Glukose (2,8 mM) eine deutlich stärkere Glukagonsekretion aus den α -Zellen, die in der Spätphase mehr als das zehnfache der Perfusion mit 10 mM Glukose beträgt. Auch hier konnte durch Perfusion mit Orexin B eine deutliche Hemmung dieser Glukagonsekretion erzielt werden, so dass diese in der Spätphase nur einem Drittel der Menge entspricht, die ohne Anwesenheit von Orexin B sezerniert wurde.

Festzuhalten ist also, dass Orexin B die Glukagonsekretion im endokrinen Pankreas sowohl in der Früh- als auch in der Spätphase supprimiert, unabhängig davon, ob das endokrine Pankreas aktiviert ist, oder nicht.

Dies steht im Einklang mit der stimulierenden Wirkung des Orexin B's auf die Insulinsekretion während beider Phasen der endokrinen Pankreasaktivität und zeigt, dass dem Orexin B eine metabolische Funktion zuzuschreiben ist.

Die Hemmung der Glukagonsekretion scheint jedoch u.a. dosisabhängig zu sein, wie auch schon bei der Beeinflussung der Insulinsekretion erkennbar war. Konzentrationen kleiner 10^{-9} M Orexin B scheinen keine Wirkung zu haben.

Hinsichtlich der verschiedenen Rezeptorwirkungen von Orexin B wird auf die entsprechenden Ausführungen im vorangegangenen Kapitel verwiesen.

4.2.2 Orexin B und Leptin

Zu Beginn muss festgehalten werden, dass unsere Daten bezüglich des Leptins in der Spätphase der Pankreasaktivität Lücken aufweisen, und diese somit nicht beurteilbar ist.

Die Versuche zeigen dennoch deutlich, zumindest die frühe Aktivitätsphase des endokrinen Pankreas betreffend, dass Leptin, die Glukagonsekretion massiv stimuliert, selbst wenn vorher mit 10 mM Glukose, vorperfundiert wird. Orexin B vermag, in einer Konzentration von 10^{-8} M, diese leptinstimulierte Glukagonsekretion der α -Zellen zu unterdrücken, wenn auch nur schwach.

Ein ähnlicher Einfluss auf die Spätphase kann mit hoher Wahrscheinlichkeit vermutet, hier jedoch nicht belegt werden.

Demnach kann Orexin B als Gegenspieler des Leptins auch an der α -Zelle betrachtet werden. Gegebenenfalls könnten hier Versuche mit höheren Konzentrationen ($> 10^{-8}$ M) an Orexin B oder geringeren Leptin-Konzentrationen die gegensätzlichen Wirkungen und die Interaktionen von Orexin B und Leptin verifizieren, und über die Potenz des jeweiligen Gegenspielers Auskunft geben.

4.2.3 Orexin B und Arginin

Sämtliche Versuche mit Arginin am endokrinen Rattenpankreas wurden wieder nur mit einer basalen Glukoseperfusion der Konzentration 2,8 mM durchgeführt. Die Aktivität des endokrinen Pankreas wurde also nicht mit 10 mM Glukose stimuliert, zumal diese die Glukagonsekretion empfindlich gehemmt hätte.

Die Ergebnisse zeigen, dass durch Stimulation der α -Zellen mit Arginin die Sekretion von Glukagon aus dem Rattenpankreas sehr ausgeprägt gesteigert wird. Orexin B wirkt hier mit einer Hemmung der Arginin-stimulierten Glukagonsekretion, auch wenn diese nur gering ausfällt.

Das Ergebnis hinsichtlich des Einflusses von Arginin auf die Glukagonsekretion aus den α -Zellen war entsprechend den Erwartungen, zumal diese Funktion für Arginin und andere Aminosäuren in der Literatur schon seit Jahren beschrieben ist. Um so mehr verwundert, dass in den vorangegangenen Versuchen, hinsichtlich der Beeinflussung der endokrinen **Insulin**sekretion, keine Wirkung des Arginins festzustellen war. Hier hätte man ebenfalls eine deutliche Stimulation der β -Zell-Aktivität mit konsekutiver Zunahme der Insulinausschüttung erwartet.

Was die (schwache) Wirkung des Orexin B's angeht, so kann diese zum einen an der zu niedrig gewählten Orexin B-Konzentration liegen bzw. an der zu hoch gewählten Argininkonzentration; man erkennt zumindest ansatzweise den Antagonismus, den Orexin B gegenüber Arginin ausübt.

Aufgrund der verschiedenen Angriffspunkte im Metabolismus und Hormonstoffwechsel ist an dieser Stelle jedoch keine fundierte Aussage zur genauen Interaktion zwischen beiden Stoffen möglich.

4.3 Beeinflussung der Somatostatinsekretion

Somatostatin wirkt, wie allgemein bekannt, mit einer (parakrinen) Hemmung der Freisetzung von Insulin und Glukagon aus dem endokrinen Pankreas.¹⁴¹

Deswegen sollte im Rahmen dieser Arbeit auch die Wirkung von Orexin B auf die Beeinflussung dieser Hemmung über die Beeinflussung der δ -Zell-Aktivität des Pankreas orientierend untersucht werden.

Die durchgeführten Experimente hinsichtlich der Wirksamkeit von Orexin B auf die endokrine pankreatische Sekretion von Somatostatin bei der Ratte ergaben, dass Orexin B in der applizierten Dosierung keinen Einfluss auf die Somatostatinsekretion hat. Dieses Phänomen könnte zum einen aus einer zu niedrigen Dosierung des Orexin B's, aber auch aus einer verminderten Ansprechbarkeit der δ -Zellen auf Orexin B resultieren. Die fehlende Wirkung könnte auch damit begründet werden, dass auf den δ -Zellen des Rattenpankreas keine bzw. zu wenig OX-2-Rezeptoren lokalisiert sind, an denen das Orexin seine Wirkung entfalten könnte.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Nachdem 1998 die Orexine entdeckt wurden, sind primär zahlreiche Untersuchungen weltweit bezüglich ihrer Wirksamkeit auf das zentrale Nervensystem durchgeführt worden. Die Identifizierung der Orexinrezeptoren sowie vermehrte Hinweise auf eine mögliche auch peripher existierende Wirkung der Orexine führten zur Zielsetzung dieser Arbeit. Untersucht werden sollte der periphere Einfluss von Orexin B auf die Hormonsekretion des Pankreas. Hierzu wurde ein etabliertes Perfusionssystem an männlichen Wistar-Ratten verwendet. Nach 24 stündiger Nahrungskarenz wurde bei den Ratten das Pankreas operativ isoliert und zwischen Truncus coeliacus und Vena portae mit einem abgestimmten Perfusionsmedium perfundiert. Zu Beginn wurde das Pankreas nur „basal“ perfundiert, dann mit 10 mM Glukose die Sekretionsaktivität stimuliert. Nacheinander wurde nun der Einfluss der verschiedenen Substanzen auf das Rattenpankreas durch Hinzugeben zum Perfusionsmedium überprüft. So wurden sukzessive verschiedene Orexin B Konzentrationen sowie die Wirkung von Leptin, GLP-I und Arginin auf das Pankreas untersucht. Die Probengewinnung des Perfusats aus der Vena portae fand in verschiedenen Zeitabständen fraktioniert statt, so dass die Früh- und die Spätphase der Pankreasaktivität separat beurteilbar waren. Diese Proben wurden dann auf ihren Gehalt an Insulin, Glukagon und teilweise auch an Somatostatin mittels Radioimmunoassay untersucht. Die resultierenden Daten wurden in drei Phasen aufbereitet: eine basale, sowie die eigentlich entscheidenden erste und zweite Sekretionsphasen des Rattenpankreas.

Die Ergebnisse zeigten, dass Orexin B in hohen Konzentrationen eine deutliche Stimulation der Insulinsekretion des Pankreas bewirkt, die in der Spätphase stärker ausgeprägt ist.

Die Wirkungsweise von Leptin als Inhibitor der Insulinsekretion konnte auch in diesen Untersuchungen nachgewiesen werden. Es wirkt als funktioneller Antagonist des Orexin B, wenn auch dieses in der verwendeten Konzentration von 10^{-8} M den Leptineffekt nicht vollständig ausgleichen konnte. Die Untersuchungen bezüglich des Einflusses von Orexin B auf die GLP-1

stimulierte Insulinsekretion, zeigten eine geringe Steigerung derselben. Jedoch wurde klar, dass die verwendete Dosierung von Orexin B mit 10^{-8} M die starke Wirkung des 10^{-9} M GLP-1 nur gering verstärken konnte, der insulinsteigernde Effekt jedoch maßgeblich auf das GLP-1 zurückzuführen ist.

Die singuläre Perfusion mit Arginin zeigte merkwürdigerweise keinen statistisch relevanten Einfluss auf die Insulinsekretion des Pankreas. Im Gegensatz hierzu zeigte sich bei der kombinierten Applikation von Orexin B und Arginin eine deutliche Steigerung der Insulinsekretion, so dass von einer gegenseitigen Verstärkung beider Substanzen hinsichtlich der Stimulation der Insulinsekretion ausgegangen werden muss.

Hinsichtlich der Glukagonsekretion des Pankreas zeigt Orexin B einen deutlichen inhibierenden Effekt auf die α -Zellen. Dieser Effekt vermag jedoch nicht die sekretionsstimulierende Wirkung des Leptin auf das Rattenpankreas zu relativieren; es vermindert in der verwendeten 10^{-8} M Konzentrationen die Sekretionsmenge nur geringgradig. Ähnlich sieht es bei der Interaktion von Orexin B und Arginin aus. Arginin als bekannter potenter Stimulator der Glukagonsekretion wird in seiner Wirkung durch Orexin B eingeschränkt. Aber auch hier vermag das mit 10^{-8} M dosierte Orexin B die Argininwirkung (10 mM) nicht vollständig aufheben.

Die orientierenden Untersuchungen hinsichtlich der Beeinflussung der Somatostatinsekretion zeigten hingegen keine erkennbare Wirksamkeit von Orexin B auf die Funktion der δ -Zellen.

Weitere Untersuchungen hinsichtlich der detaillierten Einflussnahme des Orexin B's im Hormonhaushalt müssten folgen, v.a. mit noch höheren Dosierungen desselben. Zum anderen wären Nachforschungen bzgl. der Rezeptorwirkung und auch der Rezeptordichte auf den Pankreaszellen aufschlussreich, die die genaue Funktion sowie die zahlenmäßige und regionale Verteilung der OX-2-Rezeptoren verdeutlichen. Wichtige Hinweise für die Wirkungsweise des Orexin B's würden auch die (konkurrierende) Situation der verschiedenen Substanzen am Orexinrezeptor darstellende Untersuchungen geben.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- ¹ World Health Organisation MONICA Project. A worldwide monitoring system for cardiovascular disease. *World Health Statistics Annual* 1989:27-149.
- ² Heseker H, Schmid A.: Epidemiology of obesity, *Ther Umsch.* 2000 Aug;57(8):478-81
- ³ Tolonen H, Mahonen M, Asplund K, Rastenyte D, Kuulasmaa K, Vanuzzo D, Tuomilehto J.: Do trends in population levels of blood pressure and other cardiovascular risk factors explain trends in stroke event rates? Comparisons of 15 populations in 9 countries within the WHO MONICA Stroke Project. *World Health Organization Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease. Stroke.* 2002 Oct;33(10):2367-75.
- ⁴ Mayer, J.: Regulation of energy intake and body weight: glucostatic theory and lipostatic hypothesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 63, 15 (1955)
- ⁵ Novin, D., Wyrwicka, W., Bray, G.A. (Ed.): *Hunger. Basic mechanism and clinical implications.* New York, Raven press 1976
- ⁶ Anand, B.K.: Nervous regulation of food intake. *Physiol. Rev.* 41, 677 (1961)
- ⁷ Leibowitz, S.F.: Neurochemical systems of the hypothalamus. Control of feeding and drinking behavior and water-electrolyte excretion. In: P.J. Morgane, J. Panksepp (Eds.): *Handbook of the hypothalamus, Vol. 3, Part A, Behavioral studies of the hypothalamus.* New York, Basel: Marcel Dekker 1980
- ⁸ Mayer, J.: Regulation of energy intake and body weight: glucostatic theory and lipostatic hypothesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 63, 15 (1955)
- ⁹ Oomura Y, Sasaki K, Suzuki K, Muto T, Li AJ, Ogita Z, Hanai K, Tooyama I, Kimura H, Yanaihara N.: A new brain glucosensor and its physiological significance. *Am J Clin Nutr.* 1992 Jan;55(1 Suppl):278S-282S. Review.
- ¹⁰ Borg MA, Tamborlane WV, Shulman GI, Sherwin RS.: Local lactate perfusion of the ventromedial hypothalamus suppresses hypoglycemic counterregulation. *Diabetes.* 2003 Mar;52(3):663-6.
- ¹¹ Burcelin R, Dolci W, Thorens B.: Portal glucose infusion in the mouse induces hypoglycemia: evidence that the hepatportal glucose sensor stimulates glucose utilization. *Diabetes.* 2000 Oct;49(10):1635-42.

- ¹² „Kontrolle des Körpergewichts: Zentrale Regulationsmechanismen von Hunger und Sättigung“ Prof. Dr. Susanne Klaus, Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof, Deutsches Institut für Ernährungsforschung Jahresbericht 1998.
- ¹³ Mayer, J.: Regulation of energy intake and body weight: glucostatic theory and lipostatic hypothesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 63, 15 (1955)
- ¹⁴ Zhang, Y.; Proenca, R.; Maffei, M.; Barone, M.; Leopold, L.; Friedman, J.M.: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994, 372: 425-32
- ¹⁵ Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu W-S, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ: Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G-Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell* 1998 Feb;92:573-585
- ¹⁶ Considine, R.V.; Sinha, M.K.; Heiman, M.L.; Kriauciunas, A.; Stephens, T.W.; Nyce, M.R.; Ohannesian, J.P.; Marco, C.C.; McKee, L.J.; Bauer, T.L.; Caro, J.F.: Serum immunoreactive-leptin concentration in normal-weight and obese humans; *New Engl. J. Med.* 1996, 334: 292-95
- ¹⁷ Paez X, Myers RD.: Insatiable feeding evoked in rats by recurrent perfusion of neuropeptide Y in the hypothalamus. *Peptides*. 1991 May-Jun;12(3):609-16.
- ¹⁸ Hu Y, Bloomquist BT, Cornfield LJ, DeCarr LB, Flores-Riveros JR, Friedman L, Jiang P, Lewis-Higgins L, Sadlowski Y, Schaefer J, Velazquez N, McCaleb ML.: Identification of a novel hypothalamic neuropeptide Y receptor associated with feeding behavior. *J Biol Chem.* 1996 Oct 18;271(42):26315-9.
- ¹⁹ Beck B.: Neuropeptides and obesity. *Nutrition*. 2000 Oct;16(10):916-23. Review.
- ²⁰ Morris MJ, Pavia JM.: Stimulation of neuropeptide Y overflow in the rat paraventricular nucleus by corticotropin-releasing factor. *J Neurochem.* 1998 Oct;71(4):1519-24.
- ²¹ Morris MJ, Pavia JM.: Stimulation of neuropeptide Y overflow in the rat paraventricular nucleus by corticotropin-releasing factor. *J Neurochem.* 1998 Oct;71(4):1519-24.
- ²² Vergoni AV, Bertolini A.: Role of melanocortins in the central control of feeding. *Eur J Pharmacol.* 2000 Sep 29;405(1-3):25-32. Review.
- ²³ Watanobe H, Schioth HB, Wikberg JE, Suda T.: The melanocortin 4 receptor mediates leptin stimulation of luteinizing hormone and prolactin surges in steroid-primed ovariectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Apr 21;257(3):860-4.
- ²⁴ Lu H, Buisson A, Jen KC, Dunbar JC.: Leptin resistance in obesity is characterized by decreased sensitivity to proopiomelanocortin products. *Peptides*. 2000 Oct;21(10):1479-85.

- ²⁵ Lu D, Willard D, Patel IR, Kadwell S, Overton L, Kost T, Luther M, Chen W, Woychik RP, Wilkison WO, et al.: Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature*. 1994 Oct 27;371(6500):799-802.
- ²⁶ Ebihara K, Ogawa Y, Katsuura G, Numata Y, Masuzaki H, Satoh N, Tamaki M, Yoshioka T, Hayase M, Matsuoka N, Aizawa-Abe M, Yoshimasa Y, Nakao K.: Involvement of agouti-related protein, an endogenous antagonist of hypothalamic melanocortin receptor, in leptin action. *Diabetes*. 1999 Oct;48(10):2028-33.
- ²⁷ Broberger C.: Hypothalamic cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) neurons: histochemical relationship to thyrotropin-releasing hormone, melanin-concentrating hormone, orexin/hypocretin and neuropeptide Y. *Brain Res*. 1999 Nov 27;848(1-2):101-13.
- ²⁸ Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu W-S, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ: Orexins and Orexin Receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G-protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998 Feb;92:573-585
- ²⁹ De Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao XB, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg ELF, Gautvik VT, Bartlett II FS, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG: The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Neurobiology* 1998 Jan;95:322-327
- ³⁰ Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu W-S, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ: Orexins and Orexin Receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G-protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998 Feb;92:573-585
- ³¹ De Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao XB, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg ELF, Gautvik VT, Bartlett II FS, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG: The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Neurobiology* 1998 Jan;95:322-327
- ³² Meister B, Hakansson ML: Orexins – new hypothalamic peptides that stimulate appetite. *Lakartidningen* 1998 Dec 16;95(51-52):5885-5887
- ³³ Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu W-S, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ: Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G-Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell* 1998 Feb;92:573-585

- ³⁴ Meister B, Hakansson ML: Orexins – new hypothalamic peptides that stimulate appetite. *Lakartidningen* 1998 Dec 16;95(51-52):5885-5887
- ³⁵ Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu W-S, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ: Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G-Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell* 1998 Feb;92:573-585
- ³⁶ Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS: Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 1998 Dec 1;18 (23):9996-10015
- ³⁷ Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Yanagisawa M, Matsukura S: Widespread distribution of orexin in rat brain and its regulation upon fasting. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Mar 24;256(3):495-499
- ³⁸ Kirchgessner AL: Orexins in the brain-gut-axis. *Endocr Rev* 2002 Feb;23(1):1-15
- ³⁹ Adam JA, Menheere PP, van Dielen FM, Soeters PB, Buurman WA, Greve JW: Decreased plasma orexin-A levels in obese individuals. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002 Feb;26(2):274-276
- ⁴⁰ Kastin AJ, Akerstrom V.: Orexin A but not orexin B rapidly enters brain from blood by simple diffusion. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999 Apr;289(1):219-23
- ⁴¹ Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Yanagisawa M, Matsukura S: Widespread distribution of orexin in rat brain and its regulation upon fasting. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Mar 24;256(3):495-499
- ⁴² Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Yanagisawa M, Matsukura S: Widespread distribution of orexin in rat brain and its regulation upon fasting. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Mar 24;256(3):495-499
- ⁴³ Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS: Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 1998 Dec 1;18 (23):9996-10015
- ⁴⁴ Edwards CM, Abusnana S, Sunter D, Murphy KG, Ghatei MA, Bloom SR.: The effect of the orexins on food intake: comparison with neuropeptide Y, melanin-concentrating hormone and galanin. *J Endocrinol.* 1999 Mar;160(3):R7-12.

- ⁴⁵ Takahashi N; Okumura T; Yamada H; Kohgo Y: Stimulation of Gastric Acid Secretion by Centrally Administered Orexin- A in Conscious Rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Jan 27;254(3):623-627
- ⁴⁶ Cai XJ, Widdowson PS, Harrold J, Wilson S, Buckingham RE, Arch JR, Tadayyon M, Clapham JC, Wilding J, Williams G.: Hypothalamic orexin expression: modulation by blood glucose and feeding. *Diabetes*. 1999 Nov;48(11):2132-7.
- ⁴⁷ Horvath et al, außerdem Piper DC, Upton N, Smith MI, Hunter AJ: The novel brain neuropeptide, orexin-A, modulates the sleep-wake cycle of rats. *Eur J Neurosci* 2000 Feb;12(2):726-730
- ⁴⁸ Pu S; Jain MR; Kalra PS; Kalra SP: Orexins, a novel family of hypothalamic neuropeptides, modulate pituitary luteinizing hormone secretion in an ovarian steroid-dependent manner. *Regul Pept* 1998 Nov 30;78(1-3):133-6
- ⁴⁹ Kirchgessner AL, Liu M: Orexin synthesis and response in the gut. *Neuron* 1999 Dec;24(4):941-951
- ⁵⁰ Frankish HM, Dryden S, Hopkins D, Wang Q, Williams G. : Neuropeptide Y, the hypothalamus, and diabetes: insights into the central control of metabolism. *Peptides*. 1995;16(4):757-71.
- ⁵¹ Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B.: The discovery of leptin and its impact in the understanding of obesity. *Eur J Endocrinol*. 1996 Dec;135(6):649-50.
- ⁵² Horvath TL, Diano S, van den Pol AN: Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci* 1999 Feb 1;19(3):1072-87
- ⁵³ Beck B.: Hypothalamic hypocretin/orexin and neuropeptide Y: divergent interaction with energy depletion and leptin. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Apr 29;258(1):119-22
- ⁵⁴ Nowak KW, Mackowiak P, Switonska MM, Fabis M, Malendowicz LK: Acute orexin effects on insulin secretion in the rat: in vivo and in vitro studies. *Life Sci* 2000;66(5):449-454
- ⁵⁵ Zhang,Y.; Proenca,R.; Maffei,M.; Barone,M.; Leopold,L.; Friedman,J.M.: Positional cloning of the mouse obese gene and ist human homologue. *Nature* 1994, 372: 425-32
- ⁵⁶ Zhang,Y.; Proenca,R.; Maffei,M.; Barone,M.; Leopold,L.; Friedman,J.M.: Positional cloning of the mouse obese gene and ist human homologue. *Nature* 1994, 372: 425-32
- ⁵⁷ Halaas,J.L.; Gajiwala,K.S.; Maffei,M.; Cohen,S.L.; Chait,B.T.; Rabinowitz,D.; Lallone,R.L.; Burley,S.K.; Friedman,J.M.: Weight-reducing effects of the plasma-protein encoded by the obese gene; *Science* 1995, 269: 543-46

- ⁵⁸ Pellemounter, M.A.; Cullen, M.J.; Baker, M.B.; Hecht, R.; Winters, D.; Boone, T.; Collins, F.: Effects of the obese gene-product on body weight regulation in ob/ob mice; *Science* 1995, 269: 540-43
- ⁵⁹ Schwartz, M.W.; Baskin, D.G.; Bukowski, T.R.; Kuijper, J.L.; Foster, D.; Lasser, G.; Prunkard, D.E.; Porte, D.; Woods, S.C.; Seeley, R.J.; Weigle, D.S.: Specificity of leptin action on elevated blood-glucose levels and hypothalamic neuropeptide-Y-gene-expression in ob/ob mice; *Diabetes* 1996, 45: 531-35
- ⁶⁰ Weigle, D.S.; Bukowski, T.R.; Foster, D.C. et al.: Recombinant ob protein reduces feeding and body weight in the ob/ob mouse; *J.Clin.Invest.* 1995, 96: 2065-70
- ⁶¹ Tartaglia, L.A.; Dembski, M.; Weng, X.; Deng, N.H.; Culpepper, J.; Devos, R.; Richards, G.J.; Campfield, L.A.; Clark, F.T.; Deeds, J.; Muir, C.; Sanker, S.; Moriarty, A.; Moore, K.J.; Smutko, J.S.; Mays, G.G.; Woolf, E.A.; Monroe, C.A.; Tepper, R.I.: Identification and expression cloning of a leptin receptor, Ob-R.; *Cell*. 1995, 83: 1263-71
- ⁶² Lee, G.H.; Proenca, R.; Montez, J.M.; Carroll, K.M.; Darvishzadeh, J.G.; Lee, J.I.; Friedman, J.M.: Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice; *Nature* 1996, 379: 632-35
- ⁶³ Lee, G.H.; Proenca, R.; Montez, J.M.; Carroll, K.M.; Darvishzadeh, J.G.; Lee, J.I.; Friedman, J.M.: Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice; *Nature* 1996, 379: 632-35
- ⁶⁴ Chua, S.C.; Chung, W.K.; Wu-Peng, X.S.; Zhang, Y.; Liu, S.M.; Tartaglia, L.; Leibel, R.L.: Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the ob (leptin) receptor; *Science* 1996, 271: 994-96
- ⁶⁵ Chen, H.; Charlat, O.; Tartaglia, L.A.; Woolf, E.A.; Weng, X.; Ellis, S.J.; Lakey, N.D.; Culpepper, J.; Moore, K.J.; Breitbart, R.E.; Duyk, G.M.; Trepper, R.I.; Morgenstern, J.P.: Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor. Identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice; *Cell* 1996, 84: 491-95
- ⁶⁶ Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-431
- ⁶⁷ Madej, T.; Boguski, M.S.; Bryant, S.H.: Threading analysis suggest that the obese gene product may be a helical cytokine, *FEBS Lett.* 1995, 373: 13-18
- ⁶⁸ Hale, L.; Becker, G.W.; Bowsher, R.R.; Stephens, T.W.; Caro, J.F.: Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J.Clin.Invest.* 1996, 98: 1277-82

- ⁶⁹ Lee,G.H.; Proenca,R.; Montez,J.M.; Carroll,K.M.; Darvishzadeh,J.G.; Lee,J.I.; Friedman,J.M.: Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996, 379: 632-35
- ⁷⁰ Sinha,M.K.; Ohannesian,J.P.; Heiman,M.L.; Kriauciunas,A.; Stephens,T.W.; Magosin,S.; Marco,C.; Caro,J.F.: Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin dependent diabetes mellitus subjects. *J.Clin.Invest.* 1996, 97: 1344-7
- ⁷¹ Fehmann HC, Berghöfer P, Brandhorst D, Brandhorst H, Hering B, Bretzel RG, Göke B: Leptin inhibition of insulin secretion from isolated human islets. *Acta Diabetol* 1997;34:249-252
- ⁷² Pschyrembel, 259. Auflage, 2002, S. 951
- ⁷³ Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM: Weight reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995;269:543-546
- ⁷⁴ überarbeitet nach C. Spitzweg et al., *Dt. Ärzteblatt* 1997; 94: [Heft 44]
- ⁷⁵ Considine,R.V.; Sinha,M.K.; Heiman,M.L.; Kriauciunas,A.; Stephens,T.W.; Nyce,M.R.; Ohannesian,J.P.; Marco,C.C.; Mc Kee,L.J.; Bauer,T.L.; Caro,J.F.: Serum immunoreactive-leptin concentration in normal-weight and obese humans; *New Engl.J.Med.* 1996, 334: 292-95
- ⁷⁶ Nicklas,B.J.; Toth,M.J.; Goldberg,A.P.; Poehlmann,E.T.: Racial differences in plasma leptin concentrations in obese postmenopausal women; *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1997, 82(1): 315-7
- ⁷⁷ Ronnema,T.; Karonen,S.L.; Rissanen,A.; Koskenvuo,M.; Koivisto,V.A.: Relation between plasma leptin levels and measures of body fat in identical twins discordant for obesity; *Ann.Intern.Med.* 1997, 126(1): 26-31
- ⁷⁸ Laughlin,G.A.; Morales,A.J.; Yen,S.S.: Serum leptin levels in women with polycystic ovary syndrome: the role of insulin; *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1997, 82(6): 1692-6
- ⁷⁹ Considine,R.V.; Sinha,M.K.; Heiman,M.L.; Kriauciunas,A.; Stephens,T.W.; Nyce,M.R.; Ohannesian,J.P.; Marco,C.C.; Mc Kee,L.J.; Bauer,T.L.; Caro,J.F.: Serum immunoreactive-leptin concentration in normal-weight and obese humans; *New Engl.J.Med.* 1996, 334: 292-95
- ⁸⁰ Weigle,D.S.; Duell,P.B.; Connor,W.E.; Steiner,R.A.; Soules,M.R.; Kuijper,J.L.: Effect of fasting, refeeding, and dietary fat restriction on plasma leptin levels; *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1997, 82(2): 561-5

- ⁸¹ Scholz,G.H.; Englaro,P.; Thiele,I.; Schol,M.; Klusmann,T.; Kellner,K.; Rascher,W.; Blum,W.F.: Dissociation of serum leptin concentration and body fat content during long term dietary intervention in obese individuals; *Horm.Metab.Res.* 1996, 28(12): 718-23
- ⁸² Boden,G.; Chen,X.; Mozzoli,M.; Ryan,I.: Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects; *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1996, 81(9): 3419-23
- ⁸³ Ferron, F.; Considini,R.V.; Peino,R.; Lado,I.G.; Dieguez,C.; Casanueva,F.F.:: Serum leptin concentrations in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa and non-specific eating disorders correlate with the body mass index but are independent of the respective disease; *Clin.Endocrinol.Ox.* 1997, 46(3): 289-93
- ⁸⁴ Casanueva, F.F.; Diguez,C.; Popovic,V; Peino,R.; Considini,R.V.; Caro,J.F.: Serum immunoreactive leptin concentrations in patients with anorexia nervosa before and after partial weight recovery; *Biochem.Mol.Med.* 1997, 60(2): 116-20
- ⁸⁵ Al Shoumer, K.A.; Anayaoku,V.; Richmond,W.; Johnston,D.G.: Elevated leptin concentrations in growth hormone deficient hypopituitary adults; *Clin.Endocrinol.Ox.* 1997, 47(2): 153-9
- ⁸⁶ Scholz,G.H.; Englaro,P.; Thiele,I.; Schol,M.; Klusmann,T.; Kellner,K.; Rascher,W.; Blum,W.F.: Dissociation of serum leptin concentration and body fat content during long term dietary intervention in obese individuals; *Horm.Metab.Res.* 1996, 28(12): 718-23
- ⁸⁷ Kless,W.; Englaro,P.; Hanitsch,S.; Rascher,W.; Attanasio,A.; Blum,W.F.: High leptin concentrations in serum of very obese children are further stimulated by dexamethasone; *Horm.Metab.Res.* 1996, 28(12): 708-10
- ⁸⁸ Rosenbaum,M.; Nicolson,M.; Hirsch,J.; Heymsfield,S.B.; Gallagher,D.; Chu,F.; Leibel,R.L.: Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin; *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1996, 81(9): 3424-27
- ⁸⁹ Ostlund,R.E. Jr.; Yang,J.W.; Klein,S.; Gingerich,R.: Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates; *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1996, 81(11): 3909-13
- ⁹⁰ Trayburn et al. 1995, Hardie et al. 1996, Zheng et al. 1996)
- ⁹¹ Wabitsch M et al. 1997, Murakami et al. 1995, De Vos et al. 1995, Slieker et al. 1996, Miell et al. 1996, Becker et al. 1995, Devos et al. 1995, Sladin et al. 1995, Grunfeld et al. 1996
- ⁹² Remesar,X.; Rafecas,I.; Fernandez-Lopez,J.A.; Alemany,M.: Leptin; *Med.Res.Rev.* 1997, 17(3): 225-34

- ⁹³ Fehmann HC, Peiser C, Bode HP, Stamm M, Staats P, Hedetoft C, Lang RE, Goke B: Leptin: a potent inhibitor of insulin secretion. *Peptides* 1997;18(8):1267-73
- ⁹⁴ Fehmann HC, Bode HP, Ebert T, Karl A, Goke B: Interaction of GLP-I and leptin at rat pancreatic B-cells: effects on insulin secretion and signal transduction. *Horm Metab Res* 1997 Nov;29(11):572-6
- ⁹⁵ Hakansson M, de Lecea L, Sutcliffe JG, Yanagisawa M, Meister B.: Leptin receptor- and STAT3-immunoreactivities in hypocretin/orexin neurones of the lateral hypothalamus. *J Neuroendocrinol.* 1999 Aug;11(8):653-63
- ⁹⁶ Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, Shen J, Vinson C, Rueger JM, Karsenty G.: Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass; *Cell* 2000 Jan 21;100(2):197-207
- ⁹⁷ Marsh DJ, Hollopeter G, Huszar D, Lauffer R, Yagaloff KA, Fisher SL, Burn P, Palmiter RD: Response of melanocortin-4 receptor-deficient mice to anorectic and orexigenic peptides. *Nat Genet.* 1999 Jan;21(1):119-22
- ⁹⁸ Fehmann HC, Peiser C, Bode HP, Stamm M, Staats P, Hedetoft C, Lang RE, Goke B: Leptin: a potent inhibitor of insulin secretion. *Peptides.* 1997;18(8):1267-73
- ⁹⁹ Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G.: Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system; *Cell* 2002 Nov 1;111(3):305-17
- ¹⁰⁰ Dr. Werner Kühnel: LEPTIN - Neue Möglichkeiten in Diagnostik und Therapie; Literaturreview 1996-1998, DPC AKADEMIE Bad Nauheim
- ¹⁰¹ Moore B, Edie ES, Abram JH: On the treatment of diabetes mellitus by acid extract of duodenal mucous membrane. *Biochem J* 1906;1:28-38
- ¹⁰² Zunz E, La Barre J: Contributions à l'étude des variations physiologiques de la sécrétion interne du pancreas: Relations entre les sécrétions externe et interne du pancréas. *Arch Int Physiol Biochim* 1929;31:20-44.
- ¹⁰³ Creutzfeldt W: The incretin concept today. *Diabetologia* 1979;16:75-78
- ¹⁰⁴ Perley MJ, Kipnis DM: Plasma insulin responses to oral and intravenous Glukose: Studies in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest* 1967;46:1954-1962
- ¹⁰⁵ Nauck M, Stöckmann F, Ebert R, Creutzfeldt W: Reduced incretin effect in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1986;29:46-52

- ¹⁰⁶ Creutzfeldt W, Nauck M: Gut hormones and diabetes mellitus. *Diabet Metabol Rev* 1992;8:149-177
- ¹⁰⁷ Nauck M, Heimesaat MM, Ørskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W: Preserved incretin activity of GLP-1 [7-36 amide] but not of synthetic human GIP in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993;91:301-307
- ¹⁰⁸ Lauritsen KB, Holst JJ, Moody AJ: Depression of insulin release by anti-GIP serum after oral Glukose in rats. *Scand J Gastroenterol* 1981;16:417-421
- ¹⁰⁹ Ebert R, Unger H, Creutzfeldt W: Preservation of incretin activity after removal of gastric inhibitory polypeptide (GIP) from rat gut extracts by immunoabsorption. *Diabetologia* 1983;24:449-454
- ¹¹⁰ Mojsov S, Heinrich G, Wilson IB, Ravvazola M, Orci L, Habener JF: Preproglucagon gene expression in pancreas and intestine diversifies at the level of post-translational processing. *J Biol Chem* 1986;261:11880-11889
- ¹¹¹ Mojsov S, Kopiczynski M, Habener JF: Both amidated and nonamidated forms of glucagon-like peptide I are synthesized in the rat intestine and the pancreas. *J Biol Chem* 1990;265:8001-8008
- ¹¹² Kolligs F, Fehmann HC, Goke R, Goke B.: Reduction of the incretin effect in rats by the glucagon-like peptide 1 receptor antagonist exendin (9-39) amide. *Diabetes*. 1995 Jan;44(1):16-9.
- ¹¹³ Habener JF: The incretin notion and its relevance to diabetes: Gastrointestinal hormones in medicine. *Endocrinol Metab Clin NA* 1993;22:775-794
- ¹¹⁴ Fehmann HC, Bode HP, Ebert T, Karl A, Göke B: Interaction of GLP-I and leptin at rat pancreatic B-cells: effects on insulin secretion and signal transduction. *Horm Metab Res* 1997 Nov;29(11):572-6
- ¹¹⁵ Fehmann HC, Goke R, Goke B.: Cell and molecular biology of the incretin hormones glucagon-like peptide-I and glucose-dependent insulin releasing polypeptide. *Endocr Rev*. 1995 Jun;16(3):390-410.
- ¹¹⁶ Schmidt WE, Siegel EG, Creutzfeldt W: Glucagon-like peptide-1 but not glucagon-like peptide-2 stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets. *Diabetologia* 1985;28:704-707.
- ¹¹⁷ Fehmann HC, Habener JF.: Functional receptors for the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) on a somatostatin secreting cell line. *FEBS Lett*. 1991 Feb 25;279(2):335-40.

- ¹¹⁸ Gutniak M, Ørskov C, Holst JJ, Ahren B, Effendic S: Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1992;326:1316-1322
- ¹¹⁹ Fehmann HC, Janssen M, Goke B.: Interaction of glucagon-like peptide-I (GLP-I) and galanin in insulin (beta TC-1)- and somatostatin (RIN T3)-secreting cells and evidence that both peptides have no receptors on glucagon (INR1G9)-secreting cells. *Acta Diabetol.* 1995 Oct;32(3):176-81.
- ¹²⁰ Wettergren A, Petersen H, Ørskov C, Christiansen J, Sheikh SP, Holst JJ: 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* 1994;29:501-505
- ¹²¹ Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE, Myhre J, Christiansen J, Holst JJ: Truncated GLP-1 (proglucagon 87-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Dig Dis Sci* 1993;38:665-673
- ¹²² Fehmann HC, Bode HP, Ebert T, Karl A, Goke B: Interaction of GLP-I and leptin at rat pancreatic B-cells: effects on insulin secretion and signal transduction. *Horm Metab Res* 1997 Nov;29(11):572-6
- ¹²³ Fehmann HC, Göke B, Göke R, Trautmann ME, Arnold R: Synergistic stimulatory effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and Glukose-dependent insulin-releasing polypeptide on the endocrine rat pancreas. *FEBS Lett* 1989;252:109-112.
- ¹²⁴ Nathan DM, Schreiber E, Fogel H, Mojsow S, Habener JF: Insulinotropic action of glucagon like peptide-1-(7-36) in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 1992;15:270-276
- ¹²⁵ Nathan DM, Schreiber E, Fogel H, Mojsow S, Habener JF: Insulinotropic action of glucagon like peptide-1-(7-36) in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 1992;15:270-276
- ¹²⁶ Nauck MA, Kleine N, Ørskov C, Holst JJ, Wilms B, Creutzfeldt W: Normalization of fasting hyperglycaemia by exogenous glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1993;36:741-744
- ¹²⁷ J.D. Duvigneau, F. Schmitz, A. Reinecke-Lüthge, G. Klöppel, U.R. Fölsch, W.E. Schmidt, EG Siegel: GLP-1(7-36)amid normalisiert die Insulinresistenz bei zirrhatischen Ratten; 35. Jahrestagung der Deutschen Diabetes-Gesellschaft, München; 31. Mai - 3. Juni 2000

- ¹²⁸ Gutniak M, Ørskov C, Holst JJ, Ahren B, Effendic S: Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1992;326:1316-1322
- ¹²⁹ „Kükenthal's Leitfaden für das zoologische Praktikum“ von Maximilian Renner, 19. Auflage, Fischer 1984
- ¹³⁰ http://a-s.clayton.edu/biology/BIOL1151L/lab02/rat_images/ratwhole.jpg
- ¹³¹ http://a-s.clayton.edu/biology/BIOL1151L/lab02/rat_images/ratstomachpancreas.jpg
- ¹³² Voisin T, Rouet-Benzineb P, Reuter N, Laburthe M.: Orexins and their receptors: structural aspects and role in peripheral tissues. *Cell Mol Life Sci.* 2003 Jan;60(1):72-87.
- ¹³³ Fehmann HC, Bode HP, Ebert T, Karl A, Goke B: Interaction of GLP-I and leptin at rat pancreatic B-cells: effects on insulin secretion and signal transduction. *Horm Metab Res* 1997 Nov;29(11):572-6
- ¹³⁴ Fehmann HC, Peiser C, Bode HP, Stamm M, Staats P, Hedetoft C, Lang RE, Goke B: Leptin: a potent inhibitor of insulin secretion. *Peptides* 1997;18(8):1267-73
- ¹³⁵ Guenifi A, Ahren B, Abdel-Halim SM.: Differential effects of glucagon-like peptide-1 (7-36)amide versus cholecystikinin on arginine-induced islet hormone release in vivo and in vitro; *Pancreas* 2001 Jan;22(1):58-64
- ¹³⁶ Meister B, Hakansson ML: Orexins – new hypothalamic peptides that stimulate appetite. *Lakartidningen* 1998 Dec 16;95(51-52):5885-5887
- ¹³⁷ Holmqvist T, Akerman KE, Kukkonen JP: High specificity of human orexin receptors for orexins over neuropeptide Y and other neuropeptides. *Neurosci Lett.* Jun 2001 15;305(3):177-80.
- ¹³⁸ Kastin AJ, Akerstrom V.: Orexin A but not orexin B rapidly enters brain from blood by simple diffusion. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999 Apr;289(1):219-23
- ¹³⁹ Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu W-S, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ: Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G-Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell* 1998 Feb;92:573-585
- ¹⁴⁰ Voisin T, Rouet-Benzineb P, Reuter N, Laburthe M.: Orexins and their receptors: structural aspects and role in peripheral tissues. *Cell Mol Life Sci.* 2003 Jan;60(1):72-87.
- ¹⁴¹ Silbernagl, S., Despopoulos, A.: Taschenatlas der Physiologie, S.248, 3. Aufl. 1988, München, Thieme-Verlag

weitere verwendete Literatur (in alphabet. Reihenfolge)

- Bennek C, Gehrt I, Keller A, Keller E, Kratzsch J, Blum WF, Kiess W.: Arginine infusion and/or acute changes of growth hormone levels do not acutely alter leptin serum levels; *J Pediatr Endocrinol Metab* 1999 Nov-Dec;12(6):847-51
- Clement, K., Vaisse, C., Lahlou, N., Cabrol, S., Pelloux, V., Cassuto, D., Gormelen, M., Dina, C., Chambaz, J., Lacorte, J.M., Basdevant, A., Bougneres, P., Lebouc, Y., Froguel, P., Guy-Grand, B. (1998): A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998 392:398-401
- Elmquist, J.K., Elias, C.F., Saper, C.B. (1999), From Lesions to Leptin: Hypothalamic Control of Food Intake and Body Weight *Neuron* 22, 221-232
- Flier JS, Maratos-Flier E: Obesity and the Hypothalamus: Novel Peptides for New Pathways. *Cell* 1998 Feb;92:437-440
- Flier, J.F., Maratos-Flier, E. (1998), Obesity and the Hypothalamus: Novel Peptides for New Pathways. *Cell* 92, 437-440
- Friedman J.M., Halaas J.L. (1998), Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395: 763-770
- Giannini, A.J., Slaby, A.E. (Ed.) (1993), *The Eating Disorders*. Springer Verlag, New York Inc.
- Hirschberg, A.L. (1998), Hormonal regulation of appetite and food intake. *Ann. Med.* 30, 7-20
- Husier BR, Blum JW: Metabolic and endocrine changes in response to endotoxin administration with or without oral arginine supplementation; *J Dairy Sci* 2002 Aug;85(8):1927-35
- Jain MR, Horvath TL, Kalra PS, Kalra SP: Evidence that NPY Y1 receptors are involved in stimulation of feeding by orexins (hypocretins) in sated rats. *Regul Pept* 2000 Feb 8;87(1-3):19-24
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (Ed.) (1991), *Principles of Neural Science*. Prentice-Hall International Inc., Third Edition
- Klaus S, Meyerhof W: Hunger entsteht im Gehirn – Die Neurobiologie des Essverhaltens, Teil 1. *Ernährung im Fokus* 1 (2001) 142–147

- Klaus S, Meyerhof W: Hunger entsteht im Gehirn – Die Neurobiologie des Essverhaltens, Teil 1. Ernährung im Fokus 1 (2001) 142–147
- Krude, H., Biebermann, H., Luck, W., Horn, R., Brabant, G., Gruters, A. (1998): Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet* 19 (2) 155-157
- Krude, H: „Entsteht Übergewicht im Gehirn? Adipositas als neuroendokrinologische Erkrankung“, Vortrag auf dem Seminar „Erst Babyspeck – dann Schwergewicht“, Institut Danone für Ernährung, 20./21.9.2001
- Leitzmann C. et al. Ernährung in Prävention und Therapie. Hippokrates 2001
- Mondal MS, Nakazato M, Matsukura S. Orexins (hypocretins): novel hypothalamic peptides with divergent functions. *Biochem Cell Biol.* 2000;78(3):299-305. Review.
- Montague, C.T., Farooqi, I.S., Whitehead, J.P., Soos, M.A., Rau, H., Wareham, N.J., Sewter, C.P., Digby, J.E., Mohammed, S.N., Hurst, J.A., Cheetham, C.H., Earley, A.R., Barnett, A.H., Prins, J.B., O’Rahilly, S. (1997), Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 387: 903-8
- Müller MJ: „Prävalenz der Adipositas bei Kindern“, Vortrag auf der DGE-Arbeitstagung „Ernährungsprobleme im Kindes- und Jugendalter“, 25./26.9.2001
- Piper DC, Upton N, Smith MI, Hunter AJ: The novel brain neuropeptide, orexin-A, modulates the sleep-wake cycle of rats. *Eur J Neurosci* 2000 Feb;12(2):726-730
- Renner, Maximilian: „Kükenthal’s Leitfaden für das zoologische Praktikum“, 19. Auflage, Fischer 1984
- Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Hirsch, J. (1997), Obesity. *The New England Journal of Medicine* 337, 396-407
- Sakurai T, Moriguchi T, Furuya K, Kajiwara N, Nakamura T, Yanagisawa M, Goto K.: Structure and function of human prepro-orexin gene. *J Biol Chem.* 1999 Jun 18;274(25):17771-6.
- Shibahara M, Sakurai T, Nambu T, Takenouchi T, Iwaasa H, Egashira SI, Ihara M, Goto K.: Structure, tissue distribution, and pharmacological characterization of Xenopus orexins. *Peptides.* 1999;20(10):1169-76.
- Smart D.: Orexins: a new family of neuropeptides. *Br J Anaesth.* 1999 Nov;83(5):695-7.
- Smart D, Jerman J.: The physiology and pharmacology of the orexins. *Pharmacol Ther.* 2002 Apr-May;94(1-2):51-61.

- Smith, G.P. (Ed.) (1998), Satiating: From Gut to Brain. Oxford, University Press, Inc.
- Strobel, A., Issad, T., Camoin, L., Ozata, M., Strosberg, A.D. (1998): A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 18 (3) 213-215
- Switonska MM, Kaczmarek P, Malendowicz LK, Nowak KW: Orexins and adipoinular axis function in the rat. *Regul Pept.* 2002 Mar 15;104(1-3):69-73.
- Toates, F. (Ed.) (1998), Control of Behaviour. Springer Verlag - The Open University
- Vaisse, C., Clement, K., Guy-Grand, B., Froguel, P. (1998): A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet* 20 (2) 113-114
- Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE, Myhre J, Christiansen J, Holst JJ: Truncated GLP-1 (proglucagon 87-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Dig Dis Sci* 1993;38:665-673
- Yeo, G.S., Farooqi, I.S., Aminian, S., Halsall, D.J., Stanhope, R.G., O'Rahilly, S. (1998): A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Genet* 20 (2) 111-112

7 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Neuropeptide, die die Nahrungsaufnahme beeinflussen	10
Tabelle 2: Einflussfaktoren auf die Leptinsekretion	21
Beeinflussung der Insulinsekretion	
Tabelle 3: Wirkung von Orexin B - Rohdaten	40
Tabelle 4: Wirkung von Orexin B - aufgeteilt in Phasen	40
Tabelle 5: Statistik Phase 1 (2,8/10)mM Glukose)	41
Tabelle 6: Statistik Phase 2 (2,8/10)mM Glukose)	41
Tabelle 7: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	41
Tabelle 8: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	41
Tabelle 9: Statistik Phase 1 (2,8 /10mM Glukose [+ 10 ⁻¹⁰ M Orexin B])	42
Tabelle 10: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻¹⁰ M Orexin B])	42
Tabelle 11: Statistik Phase 1 (2,8 /10mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M Orexin B])	42
Tabelle 12: Statistik Phase 2 (2,8 /10mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M Orexin B])	42
Tabelle 13: Statistik Phase 1 (2,8 /10mM Glukose [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	43
Tabelle 14: Statistik Phase 2 (2,8 /10mM Glukose [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	43
Tabelle 15: Wirkung von Orexin B und Leptin – Rohdaten	44
Tabelle 16: Wirkung von Orexin B und Leptin - aufgeteilt in Phasen	44
Tabelle 17: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M Leptin])	45
Tabelle 18: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M Leptin])	45
Tabelle 19: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M Leptin + 10 ⁻⁸ M Orexin B])	45
Tabelle 20: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M Leptin + 10 ⁻⁸ M Orexin B])	45
Tabelle 21: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁹ M Leptin [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	46
Tabelle 22: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁹ M Leptin [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	46
Tabelle 23: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁸ M Orexin B [+ 10 ⁻⁹ M Leptin])	46
Tabelle 24: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁸ M Orexin B [+ 10 ⁻⁹ M Leptin])	46
Tabelle 25: Wirkung von Orexin B und GLP-1 – Rohdaten	48
Tabelle 26: Wirkung von Orexin B und GLP-1 - aufgeteilt in Phasen	48
Tabelle 27: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M GLP-1])	49
Tabelle 28: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M GLP-1])	49
Tabelle 29: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M GLP-1 + 10 ⁻⁸ M Orexin B])	49
Tabelle 30: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10 ⁻⁹ M GLP-1 + 10 ⁻⁸ M Orexin B])	49
Tabelle 31: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁹ M GLP-1 [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	50
Tabelle 32: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁹ M GLP-1 [+ 10 ⁻⁸ M Orexin B])	50
Tabelle 33: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁸ M Orexin B [+ 10 ⁻⁹ M GLP-1])	51
Tabelle 34: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose + 10 ⁻⁸ M Orexin B [+ 10 ⁻⁹ M GLP-1])	51

Tabelle 35: Wirkung von Orexin B und Arginin – Rohdaten	52
Tabelle 36: Wirkung von Orexin B und Arginin - aufgeteilt in Phasen.....	52
Tabelle 37: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin]).....	53
Tabelle 38: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin]).....	53
Tabelle 39: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])	54
Tabelle 40: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])	54
Tabelle 41: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])	54
Tabelle 42: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])	54
Tabelle 43: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])	55
Tabelle 44: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])	55

Beeinflussung der Glukagonsekretion

Tabelle 45: Wirkung von Orexin B - Rohdaten	57
Tabelle 46: Wirkung von Orexin B - aufgeteilt in Phasen	57
Tabelle 47: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])	58
Tabelle 48: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])	58
Tabelle 49: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Orexin B])	58
Tabelle 50: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Orexin B])	58
Tabelle 51: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-10} M Orexin B])	59
Tabelle 52: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-10} M Orexin B])	59
Tabelle 53: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B]).....	59
Tabelle 54: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B]).....	59
Tabelle 55: Wirkung von Orexin B und Leptin – Rohdaten	61
Tabelle 56: Wirkung von Orexin B und Leptin - aufgeteilt nach Phasen	61
Tabelle 57: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin]).....	62
Tabelle 58: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin [+ 10^{-8} M Orexin B])	62
Tabelle 59: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose + 10^{-9} M Leptin [+ 10^{-8} M Orexin B])	63
Tabelle 60: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-9} M Leptin + 10^{-8} M Orexin B])	63
Tabelle 61: Wirkung von Orexin B und Arginin – Rohdaten	65
Tabelle 62: Wirkung von Orexin B und Arginin – aufgeteilt nach Phasen.....	65
Tabelle 65: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin]).....	66
Tabelle 66: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin]).....	66
Tabelle 63: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])	66
Tabelle 64: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10 mM Arginin [+ 10^{-8} M Orexin B])	66
Tabelle 67: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])	67
Tabelle 68: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose + 10^{-8} M Orexin B [+ 10 mM Arginin])	67
Tabelle 69: Statistik Phase 1 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])	68
Tabelle 70: Statistik Phase 2 (2,8 mM Glukose [+ 10 mM Arginin + 10^{-8} M Orexin B])	68

Beeinflussung der Somatostatinsekretion durch Orexin B

Tabelle 71: Wirkung durch Orexin B – Rohdaten	69
Tabelle 72: Wirkung durch Orexin B – aufgeteilt nach Phasen.....	69
Tabelle 73: Statistik Phase 1 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])	70
Tabelle 74: Statistik Phase 2 (2,8/10 mM Glukose [+ 10^{-8} M Orexin B])	70

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Energiehomöostase ¹	8
Abb. 2: Schematische Darstellung des Leptin-Regulationssystems.....	20
Abb. 3: Situs der Baueingeweide der Ratte ¹⁰⁵	32
Abb. 4: Intraoperativer Situs ¹⁰⁶	32
Abb. 5: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus.....	35
Abb. 6: Pankreas, Magen und Dünndarm ¹⁰⁷	35
Abb. 7: Einfluß von Orexin B auf die Insulinsekretion des Pankreas.....	43
Abb. 8: Einfluß von Leptin auf die Orexin-B-induzierte Insulinsekretion.....	47
Abb. 9: Einfluß von GLP-1 auf die Orexin-B-induzierte Insulinsekretion	51
Abb. 10: Wechselwirkung von Arginin und Orexin B auf die Insulinsekretion.....	56
Abb. 11: Einfluß von Orexin B auf die Glukagonsekretion des Pankreas	60
Abb. 12: Einfluß von Leptin und Orexin B auf die Glukagonsekretion	64
Abb. 13: Wechselwirkung von Arginin und Orexin B auf die Glukagonsekretion.....	68
Abb. 14: Einfluß von Orexin B auf die Somatostatinsekretion.....	70

9 VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER

Meine akademischen Lehrer waren (in alphabetischer Reihenfolge):

Arnold, R., Prof. Dr. med., Marburg
Aumüller, G., Prof. Dr. med., Marburg
Barth, P.J., Prof. Dr. med., Marburg
Basler, H.-D., Prof. Dr. phil. Dr. med. habil., Marburg
Batterjee, K., Dr. med., Jeddah, Saudi-Arabien
Baum, E., Prof. Dr. med., Marburg
Becker, H., PD Dr. med., Marburg
Bertalanffy, H., Prof. Dr. med., Marburg
Bien, S., Prof. Dr. med., Marburg
Christiansen, H., PD Dr. med., Marburg
Doss, M.O., Prof. Dr. med., Marburg
Engel, P., Prof. Dr., Marburg
Fartab, M., Dr. med., Zofingen, Schweiz
Fehmann, H.C., Prof. Dr. med., Marburg
Feuser, Prof. Dr. med., Marburg
Garrel, T.v., Dr. med., Marburg
Geus, A., Prof. Dr. med., Marburg
Gotzen, L., Prof. Dr. med., Marburg
Griss, Prof. Dr. med., Marburg
Gröne, H.-J., Prof. Dr. med., Marburg
Habermehl, A., Prof. Dr. med., Marburg
Happle, Prof. Dr. med., Marburg
Happle, R., Prof. Dr. med., Marburg
Hawi, A., Dr. med., Braunschweig
Hellinger, A., PD Dr. med., Marburg
Hesse, L., PD Dr. med., Marburg
Hofmann, R., Prof. Dr. med., Marburg
Junge, A., Dr. med., Marburg

Kern, H.F., Prof. Dr. med., Marburg
Klenk, H.D., Prof. Dr. med., Marburg
Klose, K. J., Prof. Dr. med., Marburg
König, A., Prof. Dr. med., Marburg
Koolman, J., Prof. Dr. med., Marburg
Krieg, J.-C., Prof. Dr. med., Marburg
Lang, R. E., Prof. Dr. med., Marburg
Lemke, T., Dr. med., Marburg
Lennartz, H., Prof. Dr. med., Marburg
Leppek, R., Dr. med., Marburg
Loew, P.G., Dr. med., Marburg
Maisch, Prof. Dr. med., Marburg
Nagamia, H.F., Tampa, USA
Nies, Prof. Dr. med., Marburg
Oertel, W.H., Prof. Dr. med., Marburg
Peter, J. H., Prof. Dr. Dr., Marburg
Reichardt, C., Prof. Dr. med., Marburg
Remschmidt, Prof. Dr. Dr. med., Marburg
Richter, G., Prof. Dr. med., Marburg
Rosenow, F., Prof. Dr. med., Marburg
Rothmund, M., Prof. Dr. med., Marburg
Schachtschabel, D.-O., Prof. Dr. med., Marburg
Schäfer, H., Prof. Dr. rer. nat., Marburg
Schnabel, M., PD Dr. med., Marburg
Schneider, J., Prof. Dr. med., Marburg
Schulz, K.-D., Prof. Dr. med., Marburg
Seifart, K.-H., Prof. Dr. med., Marburg
Seitz, J., Prof. Dr. med., Marburg
Seyberth, Prof. Dr. med., Marburg
Sommer, N., Prof. Dr. med., Marburg
Storck, M., Prof. Dr. med., Marburg
Vohland, H.-W., Dr. med., Marburg
Voigt, K., Prof. Dr. med., Marburg

Vonesch, H.J., Dr. med., Zofingen, Schweiz

Wagner, H.-J., Prof. Dr. med., Marburg

Walther, Prof. Dr. med., Marburg

Weide, R., PD Dr. med., Koblenz

Weihe, E., Prof. Dr. med., Marburg

Wennemuth, G., Dr. med., Marburg

Werner, J.A., Prof. Dr. med., Marburg

Wichert, P.v., Prof. Dr. med., Marburg

Wulff, H., Prof. Dr. med., Marburg

und viele weitere ...

Ihnen allen gebürt meine Hochachtung und mein Dank für die wertvolle
Ausbildung!

10 DANKSAGUNG

Alles Lob gebührt Allah (t),
der mich befähigte, das Medizinstudium erfolgreich abzuschließen und es mir
ermöglichte, diese Dissertationsarbeit zu vollenden.

Mein Dank gilt der gesamten klinischen Forschergruppe Gastroenterologie des
Klinikums der Philipps Universität Marburg, allen voran meinem Betreuer
Prof. Dr. H.C. Fehmann (†), der das Zustandekommen dieser Arbeit immer
vorantrieb und mich anleitete und motivierte – häufig bis in die späten
Abendstunden. Möge er in Frieden ruhen und möge Allah (t) seiner Frau und
Familie Geduld und Kraft schenken..

Ich danke Hendrik Meiss, Dr. Ulrich Wulbrand, Tim Ebert und Alexander Karl
für praktische und theoretische Tipps und Hinweise.

Frau Petra Staats und Kathleen Dörsch, sowie im Tierlabor Laszlo und Andreas
Demant standen mir auch jederzeit für Fragen und Anregungen zur Seite.

Und last but not least gilt meine Hochachtung meinen Eltern, die mich in
meinem gesamten Studium und auch dem Erstellen dieser Arbeit nicht nur
finanziell unterstützt haben, sondern immer für mich und meine Wünsche da
waren. Geiches gilt für meine gesamte Familie und auch vor allem für meine
liebe Frau, die sich häufig in Geduld üben musste.

Wal hamdu lillahi rabbil, 'alamin

(und gepriesen sei Allah (t), der Herr der Welten)