

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

Direktor: Prof. Dr. med. B. Göke

**Die Wirkung des Dipeptidylpeptidase-4-Inhibitors Vildagliptin  
auf die Magenentleerung, die Glykämie und den  
Glukosestoffwechsel bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2**

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

vorgelegt von  
Thilo Lindenberger

aus  
Bayreuth

Jahr

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Jörg Schirra

---

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Bärbel Otto  
Priv. Doz. Dr. Peter Neth

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. J. Wörle

---

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

Tag der mündlichen Prüfung: 25.11.2010

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. Jörg Schirra danke ich für die engagierte Begleitung bei der Planung, Durchführung, Interpretation und für die geduldige Korrektur der Arbeit. Mein Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. Jürgen Wörle für die intensive Begleitung meiner Arbeit und Herrn Dr. Rainer Linke für die Unterstützung in der nuklearmedizinischen Fragestellung der Arbeit. Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Burkhard Göke, in dessen Clinical Research Unit der Medizinischen Klinik und Poliklinik II diese Arbeit durchgeführt wurde. Ich danke meinem Chefarzt am Klinikum Fürstfeldbruck, Herrn Prof. Dr. Rolf Eissele, der es mir mit einer Freistellung ermöglichte, die Laborarbeit zeitgerecht durchzuführen. Mein besonderer Dank gilt Frau Rita Schinkmann und Frau Silke Herrmann, die mir bei der Betreuung der Probanden und bei allen Laborarbeiten tatkräftig und sachkundig zur Seite standen. Und natürlich bedanke ich mich bei meiner Frau Kerstin und meinen Eltern für die fortwährende moralische Unterstützung, insbesondere während der experimentellen Phase der Arbeit.

## Abkürzungen

ANOVA	analysis of variance
AP	Alkalische Phosphatase
AUC	Area under the curve
$\beta$ -HCG	$\beta$ -Humanes Choriongonadotropin
BMI	Body Mass Index
Bw	body weight
CCK	Cholecystokinin
CK	Creatinkinase
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CRU	Clinical Research Unit
DD	Differentialdiagnose
DPP 4	Dipeptidylpeptidase 4
DPP 8	Dipeptidylpeptidase 8
DPP 9	Dipeptidylpeptidase 9
EDTA	Ethylendiamin-tetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMA	European Medicines Agency
FFT	Fast-Fourier-Transformation
GGT	Gammaglutamyltransferase
GOT	Glutamatoxalacetattransaminase
GPT	Glutamatpyruvattransaminase
GIP	Glukose-dependent insulinotropic polypeptide
GLP-1	Glukagon-like Peptide 1
GLP-2	Glukagon-like Peptide 2
GRPP	glicentin-related pancreatic peptide
HbA1c	Hämoglobin A1c
HBs-Ag	Hepatitis-B surface antigen
HCV-Ak	Hepatitis C-Antikörper
HIV	Human immunodeficiency virus
LDH	Lactatdehydrogenase
MBq	Megabecquerel
MMC	migrating motor complex

MPGF	major proglucagon fragment
mSv	Millisievert
MW	Mittelwert
n	number
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
NY	New York
NYHA	New York Heart Association
pp	postprandial
PP	Pancreatic Polypeptide
PPAR- $\gamma$	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PYY	Peptide YY
Ra	Rate of appearance
Rd	Rate of disappearance
RIA	Radioimmunoassay
ROI	Region of Interest
SEM	Standard Error of the Mean
Tc	Technetium
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
USA	Unites States of America
VAS	Visuelle Analog Skala
VIP	Vasoaktives Intestinales Polypeptid
vs.	versus
Y2R	Y2-Rezeptor
ZNS	Zentrales Nervensystem

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1 Diabetes mellitus Typ 2</b> .....	<b>8</b>
1.1.1 Epidemiologie .....	8
1.1.2 Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2 .....	8
1.1.3 Komplikationen des Diabetes mellitus Typ 2 .....	9
1.1.4 Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 .....	9
<b>1.2 GLP-1 und das Inkretinkonzept</b> .....	<b>12</b>
1.2.1 Geschichte des Inkretinkonzeptes .....	12
1.2.2 GLP-1-Synthese, Vorkommen, Rezeptoren .....	15
1.2.3 GLP-1-Wirkungen .....	17
1.2.4 GLP-1-Degradation .....	20
1.2.5 Inkretineffekt und Diabetes mellitus .....	22
1.2.6 Hemmstoffe der Dipeptidylpeptidase 4 .....	24
<b>1.3 Physiologie der Magenentleerung</b> .....	<b>25</b>
1.3.1 Funktionelle Anatomie des Magens .....	25
1.3.2 Myogene Steuerung der Magenentleerung .....	26
1.3.3 Neurogene Steuerung der Magenentleerung .....	27
1.3.4 Hormonelle Steuerung der Magenentleerung .....	28
1.3.5 Magenentleerung und Diabetes mellitus .....	28
<b>2 Ziele der Arbeit</b> .....	<b>30</b>
<b>2.1 Hauptziel</b> .....	<b>30</b>
<b>2.2 Nebenziele</b> .....	<b>31</b>
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>32</b>
<b>3.1 Genehmigungsverfahren und Einverständniserklärung</b> .....	<b>32</b>
<b>3.2 Fallzahlanalyse</b> .....	<b>32</b>
<b>3.3 Probanden</b> .....	<b>33</b>
3.3.1 Screening .....	33
3.3.2 Screening failure .....	36
<b>3.4 Studiendesign</b> .....	<b>36</b>
3.4.1 Versuchsablauf .....	37
3.4.2 Studienmedikation .....	39
3.4.3 Magenentleerungsszintigraphie .....	39
3.4.4 Duodenale Perfusion .....	40
3.4.5 Strahlenbelastung .....	42
<b>3.5 Pharmakodynamische Parameter</b> .....	<b>44</b>
3.5.1 Magenentleerung und Magenperistaltik .....	44
3.5.2 Plasmahormone und Glukose .....	44
3.5.3 Glukoseenrichment .....	45
3.5.4 Gastrointestinale Perzeption .....	46
<b>3.6 Patientenmonitoring</b> .....	<b>47</b>
<b>3.7 Statistik</b> .....	<b>48</b>
<b>4 Ergebnisse</b> .....	<b>50</b>
<b>4.1 Magenentleerung und Magenperistaltik</b> .....	<b>50</b>
4.1.1 Entleerungsrate, lag-period, Halbwertszeit, kumulative Magenentleerung .....	50
4.1.2 Magenentleerung proximaler und distaler Magen .....	54
4.1.3 Kontraktionsfrequenz, Kontraktionsamplitude .....	55
<b>4.2 Plasmahormone und Glukose</b> .....	<b>56</b>
4.2.1 Plasmaglukose .....	57

4.2.2 Insulin .....	58
4.2.3 C-Peptid .....	60
4.2.4 Glukagon .....	61
4.2.5 GLP-1 (bioaktiv) .....	63
4.2.6 GIP (bioaktiv) .....	64
4.2.7 PYY (1-36), PYY (3-36) .....	66
4.2.8 Glukoseenrichments .....	69
4.2.8.1 Gesamtglukoseerscheinerate .....	70
4.2.8.2 Mahlzeitglukoseerscheinerate .....	72
4.2.8.3 endogene Glukoseproduktion .....	74
<b>4.3 Gastrointestinale Perzeption (VAS).....</b>	<b>75</b>
4.3.1 Hunger .....	76
4.3.2 Sättigung.....	77
<b>5 Diskussion.....</b>	<b>79</b>
<b>6 Zusammenfassung.....</b>	<b>89</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>91</b>

# **1 Einleitung**

## ***1.1 Diabetes mellitus Typ 2***

### **1.1.1 Epidemiologie**

Die weltweite Anzahl an Diabetes mellitus erkrankter Menschen nimmt sprunghaft zu und entwickelt sich zu einer der größten gesundheitlichen Herausforderungen der heutigen Zeit. Lag die weltweite Prävalenz des Diabetes mellitus im Jahr 2000 noch bei 2,8%, wird sie bis zum Jahre 2030 auf 4,4% ansteigen. Dies würde weltweit einer Anzahl von etwa 366 Millionen Diabetikern entsprechen (1). Nach neueren Daten besteht im Jahr 2007 allein bei 17,5 Millionen US-Amerikanern ein Diabetes mellitus. Die volkswirtschaftliche Belastung dadurch lag in den USA im Jahr 2007 bei 174 Milliarden US-Dollar (2). In Europa wird die Zahl der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 auf 28 Millionen geschätzt (3). Die Zunahme der an Diabetes mellitus erkrankten Personen ist durch eine zunehmende Alterung der Gesellschaft, Verstädterung sowie Zunahme von Übergewicht und körperlicher Inaktivität bedingt (1). Über 90% der neu diagnostizierten Diabetesfälle betreffen Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 2.

### **1.1.2 Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2**

Bis heute werden Insulinresistenz und Betazellfunktion als die beiden Hauptdefekte in der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 gesehen (4). Insulinresistenz wird als verminderte Ansprechbarkeit der Zielorgane Leber, Skelettmuskulatur und Fettgewebe auf Insulin definiert (5). In der Leber wird die physiologische Hemmung der Glukoneogenese durch Insulin gestört, was zu einer Erhöhung der hepatischen Glukoseproduktion führt. Am Skelettmuskel führt Insulinresistenz zu einer verminderten Glukoseaufnahme. Zudem wird die Glukoseoxidation und Glykogensynthese gestört, was über einen zunehmenden Glukoseumbau in Laktat zu einer Erhöhung der hepatischen Glukoneogenese führt. Im Fettgewebe resultiert aus Insulinresistenz eine exzessive Lipolyse, was über eine Erhöhung von freien Fettsäuren zu einer Stimulation der hepatischen Glukoneogenese führt. In der Entwicklung der Insulinresistenz spielen Gewichtszunahme und genetische Disposition eine wichtige Rolle (4). Am Krankheitsbeginn kompensiert die pankreatische Betazelle die Insulinresistenz mit einer erhöhten Insulinsekretion im Sinne einer kompensatorischen Hyperinsulinämie. Mit zunehmender Insulinresistenz erschöpft die Betazelle und führt



über eine relatives Insulindefizit zu erhöhten Blutzuckerwerten (5). Mit zunehmender Betazellfunktion verschlechtert sich die Glukosehomöostase weiter.

### **1.1.3 Komplikationen des Diabetes mellitus Typ 2**

Diabetes mellitus Typ 2 ist mit mikrovaskulären und makrovaskulären Komplikationen vergesellschaftet. Mikrovaskuläre Komplikationen (Retinopathie, Nephropathie, Neuropathie) können anscheinend bereits in Phasen des Prädiabetes manifest werden. Demgegenüber beginnt das Risiko für die Entwicklung makrovaskulärer Komplikationen wie Koronare Herzerkrankung, cerebrovaskuläre Durchblutungsstörungen und periphere Durchblutungsstörungen schon bei normalen Blutzuckerspiegeln ( $\text{HbA1c} < 6\%$ ) (6). Folglich können bei vielen Patienten schon bei der Diagnosestellung Diabetes mellitus Typ 2 makrovaskuläre Komplikationen bestehen. Dies bedeutet, dass Insulinresistenz und Hyperinsulinämie, bereits vor Auftreten einer messbaren Hyperglykämie, zusammen mit anderen kardiovaskulären Risikofaktoren (Übergewicht, arterieller Hypertonus, Dyslipidämie) zur Ausbildung makrovaskulärer Komplikationen führen können (7). Makrovaskuläre Erkrankungen sind somit als multifaktorielles Geschehen im Sinne des „metabolischen Syndroms“ zu sehen.

### **1.1.4 Therapie des Diabetes mellitus Typ 2**

Maßnahmen hinsichtlich Gewichtsreduktion, Diät sowie vermehrte körperliche Betätigung sind oft nicht ausreichend, um eine gute Glukosehomöostase zu gewährleisten. Daher kommen im nächsten Schritt in der Regel orale Antidiabetika zum Einsatz, die mit verschiedenen Wirkmechanismen arbeiten und verschiedene Nebenwirkungen aufweisen.

Sulfonylharnstoffe wirken in erster Linie durch eine Stimulation der pankreatischen Betazelle mit Steigerung der Insulinsekretion blutzuckersenkend (8). Durch die glukoseunabhängige Insulinfreisetzung sind vermehrt Hypoglykämien und eine durch die Hyperinsulinämie hervorgerufene Gewichtszunahme die häufigsten Nebenwirkungen (8). In einigen Studien wurde eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität unter Therapie mit Sulfonylharnstoffen beschrieben (9). Demgegenüber wurde in der UKPDS-Studie (United Kingdom Prospective Diabetes Study) weder eine Steigerung noch eine Abnahme von makrovaskulären Komplikationen im Vergleich zur diätetisch behandelten Kontrollgruppe beobachtet (10). Der fehlende positive Effekt hinsichtlich makrovaskulärer Komplikationen könnte auf die Hyperinsulinämie mit konsekutiver Gewichtszunahme,

beides mit dem metabolischen Syndrom vergesellschaftet, zurückgeführt werden (9). Ein schleichender Wirkungsverlust unter langjähriger Sulfonylharnstofftherapie wird auf eine zunehmende Erschöpfung der Betazellfunktion zurückgeführt. In vitro führte die Inkubation von menschlichen Inselzellen mit hohen Dosen Sulfonylharnstoff zu einer gesteigerten Betazellapoptose (11). Ebenso konnte in Zellkulturen gezeigt werden, dass eine verlängerte Exposition von Betazellen gegenüber Glibenclamid zu einer verringerten Ansprechbarkeit der Betazelle führt (12).

Das Biguanid Metformin senkt den Blutzucker primär über eine Hemmung der hepatischen Glukoneogenese. In geringerem Maße erhöht Metformin auch die periphere Insulinsensitivität und reduziert die intestinale Glukoseaufnahme (8). Da Metformin glukoseabhängig wirkt, birgt es nicht die Gefahr von Hypoglykämien (13). In verschiedenen großen Studien fand sich eine signifikante Metformin-bedingte Senkung aller makrovaskulären Komplikationen bei übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (14). Im Gegensatz zu Sulfonylharnstoffen bewirkt Metformin keine Gewichtszunahme durch Hyperinsulinämie. Es kann vielmehr zu einem leichten Gewichtsverlust kommen (8). Etwa 20–30% der metforminbehandelten Patienten klagen über gastrointestinale Beschwerden wie Übelkeit, Völlegefühl und/oder Durchfall (15). Über die bei älteren Biguaniden gefürchtete Laktatazidose wird bei Verabreichung von Metformin nur noch selten berichtet. Es werden 0,03 Fälle pro 1000 Gebrauchsjahre gezählt (16). Kontraindikationen bestehen für Patienten mit Risikofaktoren für die Ausbildung einer Laktatazidose wie Niereninsuffizienz (Serumkreatinin > 1,5 mg/dl bei Männern, Serumkreatinin > 1,4 mg/dl bei Frauen), Leberinsuffizienz oder schweren Infektionen. Auch bei Erkrankungen, die mit einer Gewebehypoxämie einhergehen (Herzinsuffizienz, COPD) sollte Metformin nur nach strenger Indikationsstellung gegeben werden.

$\alpha$ -Glukosidasehemmer wie Acarbose hemmen die Kohlenhydratresorption im Dünndarm und kappen somit die postprandialen Blutzuckerspitzen. Sie wirken als reversible Hemmstoffe der  $\alpha$ -Glukosidase und  $\alpha$ -Amylase, die nichtabsorbierbare Stärke und Saccharose in absorbierbare Glukose spalten (17).  $\alpha$ -Glukosidasehemmer wirken insulinunabhängig, so dass sie keine Hypoglykämien bewirken. Die Einnahme von Acarbose führt jedoch bei vielen Patienten zu gastrointestinalen Beschwerden wie Diarrhöen oder Flatulenz (bis 70%), was auf unverdaute Kohlenhydrate im Darmtrakt

zurückzuführen ist (18). Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Stenosen im Gastrointestinaltrakt und Niereninsuffizienz (Serumkreatinin > 2 mg/dl) stellen Kontraindikationen für den Einsatz von Acarbose dar.

Thiazolidindione (Pioglitazone/Rosiglitazone) erhöhen die Insulinempfindlichkeit von Skelettmuskulatur, Fettgewebe und Hepatozyten und verbessern dadurch die insulinabhängige Glukoseaufnahme. Zudem vermindern sie die hepatische Glukoseproduktion. Glitazone sind selektive Agonisten des Peroxisomen-Proliferator-aktivierten-Rezeptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ). Eine Aktivierung dieser Rezeptoren bedingt die Transkription verschiedener Gene, die den Kohlenhydrat- sowie den Fettstoffwechsel steuern (8). Die Wirkung von Glitazonen ist an die Anwesenheit von Insulin gebunden. Da Glitazone nicht direkt die Insulinsekretion stimulieren, ist die Ausbildung von Hypoglykämien gering. In vitro und indirekt am Menschen ist in verschiedenen Studien eine Verbesserung der Betazellfunktion unter Thiazolidintherapie beschrieben (19,20). Neben dem blutzuckersenkenden Effekt weisen Glitazone zusätzlich positive Effekte auf weitere kardiovaskuläre Risikofaktoren auf. Neben einer Blutdrucksenkung (21) sind eine Verbesserung des Lipidprofils mit konsekutiver Reduzierung der makrovaskulären Morbidität und Mortalität beschrieben (22). Eine bekannte Nebenwirkung der Glitazone ist die Ausbildung peripherer Ödeme bei etwa 3–5% der Patienten. Dieser Effekt wird auf eine verminderte Natriumausscheidung mit vermehrter Flüssigkeitsretention zurückgeführt. Eine Gewichtszunahme von bis zu 2 kg ist sehr wahrscheinlich Folge einer Kombination von Flüssigkeitsretention und Fettaufbau (8). Aufgrund der Ödembildung sind Glitazone bei Herzinsuffizienz NYHA III-IV kontraindiziert. Das Thiazolidindion Troglitazone wurde bereits im Jahre 2000 aufgrund Lebertoxizität vom Markt genommen. Auch bei Rosiglitazone und Pioglitazone sind Transaminasenerhöhungen beschrieben, so dass bei Patienten mit bekannten Lebererkrankungen die Indikation streng zu stellen ist (23).

Als fünftes orales Antidiabetikum finden Glinide (Repaglinide/Nateglinide) Anwendung bei Diabetes mellitus Typ 2. Glinide stimulieren, ähnlich den Sulfonylharnstoffen, die Insulinsekretion. Auch Glinide bergen die Gefahr von Hypoglykämien. Diese sind aufgrund der kurzen Halbwertszeit gegenüber Sulfonylharnstoffen jedoch nicht so ausgeprägt (24). Glinide sind kontraindiziert bei Leberinsuffizienz, da sie über die Leber metabolisiert werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bisher keine optimale Therapie für die Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 mit oralen Antidiabetika gefunden worden ist. Das Inkretinkonzept, dessen Anfänge bereits über 100 Jahre zurückliegen, erscheint als vielversprechende Möglichkeit.

## ***1.2 GLP-1 und das Inkretinkonzept***

### **1.2.1 Geschichte des Inkretinkonzeptes**

Bereits 1902 erkannten Bayliss und Starling, dass Extrakte der Darmschleimhaut einen Faktor enthalten, der auf dem Blutweg die exokrine Pankreassekretion stimuliert. Sie nannten diesen Faktor „Sekretin“. 1905 behandelten Moore et al. 5 Jugendliche mit neu manifestiertem Diabetes mellitus oral mit sauren Duodenalextrakten, wobei bei 3 der Probanden die Glukosurie über mehrere Wochen verschwand. Zunz und La Barre prägten 1929 den Begriff „Inkretin“ für intestinale Substanzen, die Einfluss auf die endokrine Funktion der Bauchspeicheldrüse nehmen. 1935 wies Heller einen Faktor aus Dünndarmschleimhaut nach, der bei Kaninchen blutzuckersenkend wirkte und den er „Duodenin“ nannte.

Erst die Möglichkeit, Insulin per Radioimmunassay zu messen (25), ermöglichte es, eine funktionelle Verbindung zwischen Dünndarm und endokrinem Pankreas zu bestätigen. McIntyre et al und Elrick et al zeigten 1964, dass die Insulinantwort auf orale Glukosegabe höher und schneller war als die bei einer äquimolaren intravenösen Glukosegabe. Diese Erscheinung wird als „Inkretineffekt“ bezeichnet (Abbildung 1).

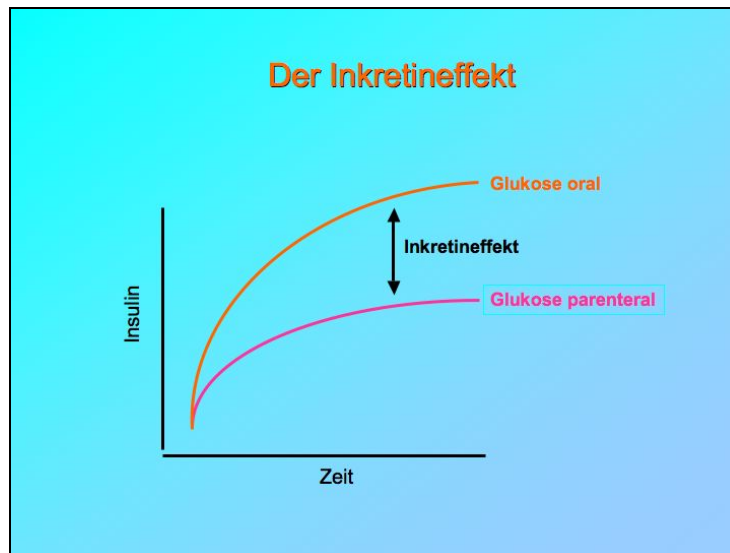


Abbildung 1: Inkretineffekt

Unger prägte für diese Verbindung von intestinalen Hormonen und dem Pankreas den Begriff „enteroinsulinäre Achse“ (Abbildung 2).

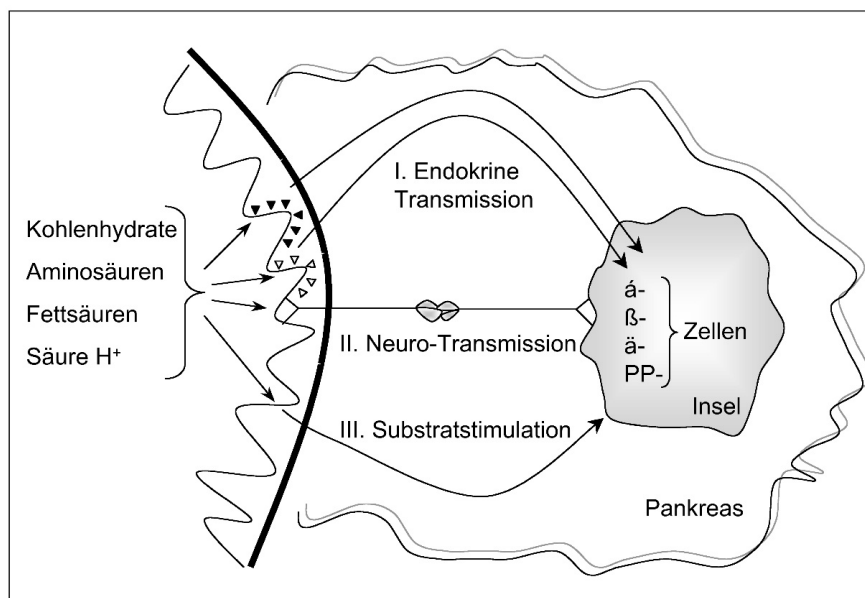


Abbildung 2: Enteroinsulinäre Achse

Nach Creutzfeldt besitzen Inkretinhormone 3 Eigenschaften:

1. Sekretion nach oraler Kohlenhydratbelastung
2. Steigerung der Insulinsekretion der pankreatischen Betazelle
3. Glukoseabhängigkeit der Insulinfreisetzung

1970 konnte zunächst GIP unter dem Namen „Gastric inhibitory polypeptide“ als ein die Magensäuresekretion inhibierendes Peptid isoliert werden (26). Nach Entdeckung einer signifikanten glukoseabhängigen insulinotropen Wirkung im Jahre 1973 wurde GIP in „Glukose-dependent insulinotropic polypeptide“ umbenannt (27). GIP wird hauptsächlich in den K-Zellen des proximalen Dünndarms (Duodenum und oberes Jejunum) sezerniert (28). Eine Freisetzung von GIP findet nur nach Absorption von Nährstoffen in Form von Glukose, aber auch nach Aufnahme von langkettigen Fettsäuren und Aminosäuren statt (28). Über GIP-Rezeptoren an der Betazelle des Pankreas bewirkt GIP eine glukoseabhängige Steigerung der Insulinsekretion und erfüllt daher die Kriterien eines Inkretinhormons. Nicht endgültig geklärt ist bis heute, wie GIP an der Alphazelle des Pankreas wirkt. GIP-Rezeptoren an der Alphazelle sind bei Ratten nachgewiesen (29,30), ob eine direkte Beeinflussung der Glukagonsekretion durch GIP besteht, konnte bisher nicht abschließend geklärt werden.

Über extrapankreatische Rezeptoren scheint GIP die glukagoninduzierte Lipolyse zu hemmen (31), die Insulinsensitivität der Adipozyten zu steigern (32) und somit eine Rolle im Fettstoffwechsel zu spielen. Auch ein direkter Einfluss von GIP auf die Plasmaglukosewerte wird diskutiert. So ist eine Reduktion der hepatischen Glukoseproduktion beschrieben worden (32).

Quantitativ wird der Anteil des GIP am Inkretineffekt mit circa 50% bemessen (33). Es müssen daher weitere Hormone existieren, die den Inkretineffekt bewirken. Das 1986 isolierte Glukagon-like Peptide 1 (GLP-1) gilt heute als das stärkste insulinotrope Hormon (34). Experimentell wurde gezeigt, dass die Gabe eines GLP-1-Rezeptor-Antagonisten (Exendin 9–39) den Inkretineffekt um circa 60% verringert (35). Der Inkretineffekt wird somit durch ein Zusammenspiel der Wirkungen dieser beiden Peptidhormone vermittelt (36).

### 1.2.2 GLP-1-Synthese, Vorkommen, Rezeptoren

Die Sequenz von GLP-1 ist im Proglukagon-Gen kodiert (37). Das Proglukagon-Gen liegt auf dem langen Arm des Chromosoms 2, besteht aus 6 Exons und 5 Introns (38) und wird hauptsächlich in den Alphazellen der Pankreasinseln und in den L-Zellen der Mucosa des distalen Bereichs des Gastrointestinaltrakts (Ileum, Kolon, Rektum) exprimiert (39).

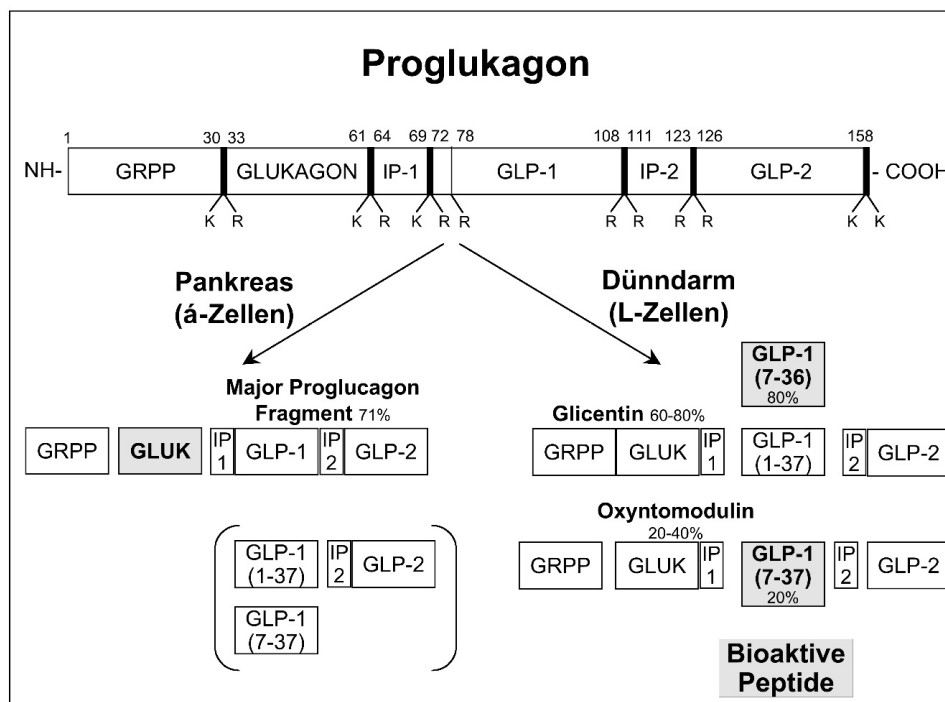
Aus dem Proglukagon-Gen entsteht zunächst über Pre-Proglukagon das Prohormon Proglukagon. Proglukagon ist ein Protein, das aus 156 Aminosäuren besteht (40). In den Alphazellen des Pankreas wird aus Proglukagon über posttranslationale Prozessierung das bioaktive Hormon Glukagon gebildet. Neben der Bildung von Glukagon werden bei diesem Schritt das N-terminale glicentin-related pancreatic peptide (GRPP) sowie das C-terminal lokalisierte major proglucagon fragment (MPGF) freigesetzt (40). Das GRPP ist wahrscheinlich metabolisch inaktiv. Eine weitere Spaltung des MPGF findet nicht statt, die biologische Aktivität des MPGF ist unbekannt.

In den L-Zellen des unteren Gastrointestinaltrakts wird aus Proglukagon das Enteroglukagon Glicentin, Oxyntomodulin sowie GLP-1 und GLP-2 gebildet (39). GLP-2 zählt nicht zu den Inkretinhormonen, da es keine insulinotrope Wirkung hat. Zudem wird in den L-Zellen neben GLP-1 in Form einer Co-Sekretion das Sättigungshormon Peptide YY (PYY) abgeschieden (41). PYY ist ein aus 36 Aminosäuren bestehendes Polypeptid, das 1980 zum ersten Mal beschrieben wurde und zur Familie der Pancreatic Polypeptide (PP) gehört. Es wird vornehmlich im unteren Gastrointestinaltrakt, vor allem im Rektum, Colon und Ileum sezerniert (41). PYY existiert in 2 Formen. Zum einen liegt PYY (1-36) (total) vor, welches die komplette 36-Aminosäuresequenz aufweist. Zum anderen findet man PYY (3-36), welches die am amino-terminalen Ende trunkierte Form darstellt. Die Trunkierung erfolgt in vivo rasch durch das Enzym Dipeptidylpeptidase 4 (DPP 4), das entstandene PYY (3-36) stellt die im Wesentlichen bioaktive Form des PYY dar und macht etwa 54% des zirkulierenden postprandialen PYY aus (42). PYY (3-36) bindet an den Y2-Rezeptor (Y2R), inhibiert die Sekretion von Magensäure sowie von Pankreasenzymen und hemmt die gastrointestinale Motilität. Nach einer oralen Mahlzeit steigt der Plasmaspiegel von PYY (3-36) schnell an, daher wird PYY eine Rolle im Bereich der Sättigungsregulation zugeschrieben (43). Besondere Aufmerksamkeit erlangte PYY, nachdem Batterham et al postulierten, dass die periphere Gabe von PYY (3-36) eine anorektische Wirkung sowohl im Tierversuch als auch beim Menschen aufweist (44,45).

Andere Forschungsgruppen konnten diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigen (46). Die Diskussion, ob PYY als potentiell Anorektikum therapeutisch genutzt werden kann, hält daher weiter an.

Das entstandene GLP-1 ist ein aus 37 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon, das biologisch inaktiv ist. Durch Abspaltung von 6 Aminosäuren am N-terminalen Ende entsteht das biologisch aktive GLP-1 (7-37). Nach Amidierung am C-terminalen Ende wird GLP-1(7-36)amid gebildet, welches den Hauptanteil des zirkulierenden bioaktiven GLP-1 ausmacht (47). Beide Peptide sind in ihrer insulinotropen Wirkung äquipotent. Die amidierte Form weist eine etwas verlängerte Plasmahalbwertszeit auf (47).

Abbildung 3 zeigt das Alternative Posttranslationale Prozessing von Proglukagon in Pankreas und Intestinum.



**Abbildung 3: Alternatives Posttranslationales Prozessing von Proglukagon in Pankreas und Intestinum**

Die Freisetzung von GLP-1 in den L-Zellen des unteren Gastrointestinaltrakts wird durch Kohlenhydrate und Aminosäuren in der Nahrung stimuliert. Der Hauptanteil der L-Zellen liegt im Ileum sowie im distalen Colon und nimmt nach distal kontinuierlich zu. Die



höchste Dichte befindet sich im Rektum (48). Die Sekretion von GLP-1 beginnt jedoch rasch nach der Nahrungsaufnahme, wobei die distalen Darmabschnitte in der kurzen Zeit nicht von Nahrungssubstraten erreicht werden können. Der basale Plasmaspiegel von GLP-1 liegt bei circa 5–10 pmol/l und steigt nach oraler Glukoseaufnahme um das 4–5fache an (49). Einerseits werden neuronale Signale sowie noch unbekannte hormonale Mediatoren aus dem proximalen Darmtrakt für die rasche GLP-1-Sekretion verantwortlich gemacht (49,50). Andererseits wird die L-Zelldichte im oberen Gastrointestinaltrakt (Jejunum) für die GLP-1-Freisetzung als ausreichend angesehen (40). Eine Erklärung für die Lokalisation der L-Zellen vorwiegend im unteren Gastrointestinaltrakt wird heute im Rahmen der „ileal brake“ gesehen, die die Aufgabe hat, den Nahrungsnachschub zu unterbinden, wenn die Nahrung im unteren Verdauungstrakt angelangt ist (51).

Die zahlreichen Wirkungen von GLP-1 werden über einen GLP-1-spezifischen Rezeptor vermittelt, der zur Sieben-Transmembran-Domänen-Familie der Peptidhormon-Rezeptoren gehört (52). Das für den Rezeptor kodierende Gen liegt auf dem langen Arm des Chromosom 6 und weist mindestens 7 Exone auf (53). Der GLP-1-Rezeptor wird in den Betazellen sowie den Somatostatin produzierenden Deltazellen der Langerhansinseln des Pankreas exprimiert (54). Ebenso konnte er in einzelnen Studien auf den Glukagon produzierenden Alphazellen des Pankreas nachgewiesen werden (55).

Außerhalb des endokrinen Pankreas konnten in der Lunge, im Herzen, in der Niere, im Magen und im Zentralen Nervensystem (ZNS) spezifische GLP-1-Rezeptoren nachgewiesen werden (56). Die Existenz von GLP-1-Rezeptoren in Leber, Skelettmuskulatur und Fettgewebe ist umstritten.

So vielfältig die Verteilung GLP-1-spezifischer Rezeptoren in den verschiedenen Geweben ist, so vielfältig sind auch die verschiedenen GLP-1-Wirkungen.

### **1.2.3 GLP-1-Wirkungen**

Als stärkstes bekanntes Inkretinhormon wirkt GLP-1 hauptsächlich am endokrinen Pankreas. Die starke Stimulation der Insulinfreisetzung in den Betazellen der pankreatischen Inselzellen ist unbestritten und in vielen experimentellen und klinischen Studien belegt (40,57). Entscheidend für ein Inkretinhormon ist hierbei die Glukoseabhängigkeit der Wirkung an der Betazelle. Bei niedrigen oder euglykämischen

Glukosekonzentrationen ist keine oder nur eine schwache Stimulation der Insulinfreisetzung zu beobachten (57,58). Sinken die Plasmaglukosekonzentrationen unter euglykämische Werte, kann durch GLP-1-Gaben keine Stimulation der Insulinfreisetzung erreicht werden (59). Somit löst GLP-1 beim Menschen keine akuten Hypoglykämien aus, was GLP-1 für den Einsatz in der Diabetes-Therapie prädestiniert.

Neben der erhöhten direkten Insulinfreisetzung regt GLP-1 die Biosynthese von Proinsulin und somit von Insulin über eine vermehrte Transkription des Proinsulin-Gens in den Betazellen an (60). Ein weiterer indirekter Mechanismus zur Erhöhung der Insulinsekretion ist die Erhöhung der Glukosesensitivität der Betazelle. Durch GLP-1-Wirkung wird zudem die Anzahl der glukosesensiblen Betazellen erhöht (61,62). GLP-1 und der Schlüsselreiz Glukose wirken somit additiv. Nach kurzer Stimulation durch GLP-1 lässt sich eine deutlich höhere Insulinsekretion nachweisen. Dies wird als „Priming Effect“ bezeichnet. Er führt dazu, dass insgesamt mehr Betazellen Insulin freisetzen (62).

In zahlreichen experimentellen Studien wurde nachgewiesen, dass GLP-1 eine wichtige Funktion innerhalb der Regulation von Proliferation, Neogenese und Apoptose von Betazellen besitzt. In Tierversuchen konnte eine Stimulation der Betazellproliferation und Betazellneogenese mit einer begleitenden Hemmung der Betazellapoptose nachgewiesen werden (63,64). Da ein Betazellmangel bei verminderter Proliferation sowie gesteigerter Apoptose pathognomonisch für die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 ist, kann ein zukünftiger Therapieansatz im betazelltrophen Potential von GLP-1 liegen.

Eine zweite wichtige Wirkung von GLP-1 im Inselzellapparat ist die Hemmung der Glukagonsekretion in den Alphazellen (65). Auch diese Wirkung ist glukoseabhängig. Nur bei eu- und hyperglykämischen Plasmaglukosespiegeln wird die Glukagonsekretion gehemmt, während bei Hypoglykämie die gegenregulatorische Glukagonsekretion erhalten bleibt (59). Die Ausschüttung von Somatostatin aus den Deltazellen wird durch GLP-1 aktiviert (66). Diskutiert wird, ob der glukagonostatische Effekt des GLP-1 einen sekundären Effekt durch die vermehrte Ausschüttung von Insulin und Somatostatin darstellt (67), oder ob es sich um eine direkte Einwirkung von GLP-1 auf den spezifischen GLP-1-Rezeptor an der Alphazelle handelt. Wie bereits erwähnt, konnte ein spezifischer GLP-1-Rezeptor an der Alphazelle jedoch nur in einzelnen Studien nachgewiesen werden.

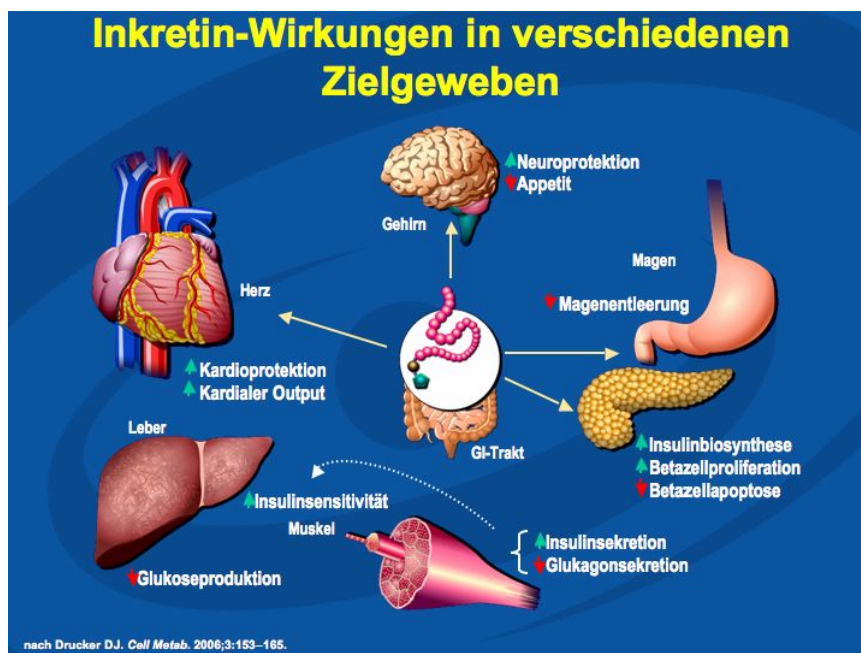
Neben den beschriebenen endokrinen Effekten weist GLP-1 vielfältige extrapancreatische Wirkungen auf, die den Gastrointestinaltrakt sowie das Zentrale Nervensystem betreffen. Neben der Hemmung der Magensäuresekretion (68) bewirkt GLP-1 eine Hemmung der Magenentleerung (69). Über die Hemmung der Magenentleerung gelangen Nahrungsbestandteile langsamer in den Dünndarm, die Resorption der Nährstoffe ist verzögert, so dass der Blutzuckerspiegel nach Nahrungsaufnahme langsamer ansteigt (70,71). Schirra et al zeigten, dass die GLP-1-bedingte Magenentleerungsverzögerung sowohl durch Hemmung der antro-duodenalen Motilität als auch durch eine Erhöhung des Pylorustonius vermittelt wird (69,72,73). Als am ehesten sekundärer Effekt bei GLP-1-vermittelter Verzögerung der Magenentleerung wird eine Hemmung der Sekretion von exokrinen Pankreasenzymen gesehen. Durch GLP-1-Gabe kommt es zu einer erniedrigten Plasmakonzentration von ungebundenen Fettsäuren, was als positiver Nebeneffekt der GLP-1-bedingten Magenentleerungsverzögerung gesehen werden kann (74). Allerdings bleibt zu beachten, dass ein Teil der Diabetiker eine funktionelle Magenentleerungsstörung aufweist (75) und somit möglicherweise für eine Therapie mit GLP-1 nicht in Frage kommt.

Nach wie vor kontrovers diskutiert wird ein möglicher direkter GLP-1-Einfluss auf den peripheren Glukosestoffwechsel. Ein direkter Effekt auf die Insulinsensitivität durch GLP-1 ist bei Typ-1-Diabetikern beschrieben worden (76), jedoch nicht bei Typ-2-Diabetikern. Eine Verbesserung der Insulinresistenz unter GLP-1-Gabe bei Typ-2-Diabetikern ist jedoch beschrieben (77). Ein direkter insulinunabhängiger GLP-1-Effekt auf den peripheren Glukosestoffwechsel kann somit nicht ausgeschlossen werden. Beweise für diese Hypothese stehen allerdings aus.

Mit dem Nachweis von GLP-1-spezifischen Rezeptoren im Hypothalamus konnte man GLP-1 eine zentrale Rolle bei der Regulation von Appetit und Nahrungsaufnahme zuweisen. Turton et al zeigten durch intrazerebroventrikuläre GLP-1-Gaben bei Ratten eine deutliche Hemmung der Nahrungsaufnahme (78). Tang-Christensen et al fanden einen gleichen Effekt bei der Flüssigkeitsaufnahme bei Ratten (79). Beim Menschen konnte durch intravenös gegebenes GLP-1 die Essmenge reduziert werden (80). Flint et al setzten erstmals Visuelle Analog Skalen ein, um indirekt Sättigung, Appetit und Völlegefühl zu messen. Unter GLP-1-Gabe zeigte sich eine deutliche Zunahme von Sättigung und

Völlegefühl bei gleichzeitig vermindertem Appetit (81). Als positiver Effekt dieser GLP-1-Wirkung scheint sich eine Verringerung des Körpergewichts zu bestätigen (77).

Neben den beschriebenen GLP-1-Effekten in der Glukosehomöostase konnten auch davon unabhängige Wirkungen beschrieben werden. Bei Ratten wurden unter GLP-1-Gaben Blutdruck und Herzfrequenz erhöht (82). Unter GLP-1-Infusionen konnte ebenfalls bei Ratten über die Stimulation pulmonaler GLP-1-Rezeptoren eine Steigerung der Schleimsekretion und der Relaxation der glatten Muskulatur beobachtet werden (83,84). Inwieweit ähnliche zentralnervöse Mechanismen beim Menschen durch GLP-1 bewirkt werden und welche weiteren Therapiemöglichkeiten sich daraus für GLP-1 ergeben, ist unklar und derzeit Gegenstand von Studien.



**Abbildung 4: Wirkungen des Inkretinhormons GLP-1 in verschiedenen Zielgeweben**

Der Wirkungsbereich von GLP-1 im Rahmen des Glukosestoffwechsels ist somit vielfältig und bietet verschiedene Angriffspunkte bei der Behandlung des Diabetes mellitus.

#### 1.2.4 GLP-1-Degradation

Die Degradation von GLP-1 erfolgt im Plasma hauptsächlich durch die ubiquitär vorkommende prolinspezifische Aminopeptidase Dipeptidylpeptidase 4 (DPP 4). Diese Exoprotease spaltet am N-terminalen Ende die ersten beiden Aminosäuren Histidin und

Alanin ab (85). Das daraus entstehende Spaltprodukt GLP-1(9-37) bzw. GLP-1(9-36)amid ist biologisch inaktiv und wird von einigen Autoren als Antagonist des GLP-1-Rezeptors gesehen (86). Dieser proteolytische Vorgang ist ein rasch nach GLP-1-Sekretion einsetzender Schritt und erklärt die kurze Halbwertszeit des intakten biologisch aktiven GLP-1(7-36)amid (87). In der GLP-1-Gesamtkonzentration nimmt die degradierte Form GLP-1(9-36)amid etwa 75% ein, während die biologisch aktive Form GLP-1(7-36)amid in lediglich circa 15% vorliegt (88). Neben diesem Hauptabbauweg bestehen weitere Eliminationswege für GLP-1. Beispielsweise erfolgt der Abbau von GLP-1 durch die Neutrale Endopeptidase 24.11, einem Enzym, das C-terminal Aminosäuren abspaltet (89). Auch die renale Elimination spielt eine signifikante Rolle im Rahmen des GLP-1-Abbaus (90).

Wie bereits erwähnt, kommt DPP 4 in verschiedensten Gewebearten vor. Das Enzym konnte in Niere, Leber, Pankreas sowie im Serum nachgewiesen werden, die höchsten Aktivitäten wurden in den Bürstensaummembranen des Dünndarms gefunden (91). Zudem ist DPP 4 identisch mit dem Zelloberflächen-Glykoprotein CD26 auf T-Lymphozyten und scheint somit eine Rolle in der Immunabwehr zu spielen, was jedoch bis heute nicht ausreichend geklärt ist.

Im Organismus existieren zahlreiche Peptide mit prolinreichen Regionen, die ein Substrat für die DPP 4 darstellen. Viele dieser Peptide erfüllen wichtige Funktionen als Peptidhormone, Neuropeptide (wie das anorektisch wirkende PYY) oder Chemokine. Auch das wichtige Inkretinhormon GIP ist ein DPP-4-Substrat, allerdings in geringerem Maße als GLP-1 (85).

Abbildung 5 zeigt grafisch die Degradation von GLP-1 durch das Enzym Dipeptidylpeptidase 4 (DPP 4).

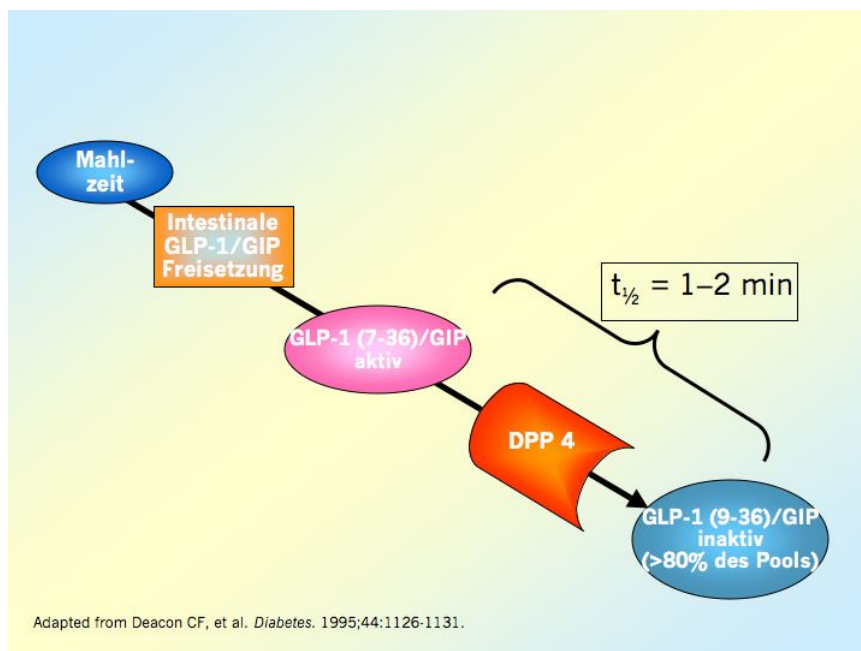


Abbildung 5: Degradation von GLP-1 durch das Enzym DPP 4

### 1.2.5 Inkretineffekt und Diabetes mellitus

Nachdem die physiologischen Eigenschaften von GLP-1 erkannt waren, war der nächste Schritt, dieses Potential in der antidiabetischen Therapie einzusetzen. GLP-1 wirkt blutzuckersenkend über eine Stimulation der Insulinsekretion, einer Hemmung der Glukagonfreisetzung sowie über eine Verlangsamung der Magenentleerung (68). Zudem wird das Hungergefühl und die Nahrungsaufnahme reduziert (80). Der Inkretineffekt bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 ist jedoch reduziert (92). Nach oraler Glukosegabe fand sich bei Typ-2-Diabetikern eine reduzierte GLP-1-Antwort (92), die mitverantwortlich für die erniedrigte postprandiale Insulinfreisetzung sein könnte. Bereits bei Menschen mit gestörter Glukosetoleranz, ohne Anzeichen eines manifesten Diabetes mellitus, wurde eine verminderte GLP-1-Sekretion nachgewiesen (93). Hinsichtlich der Sekretion von GIP bei Typ-2-Diabetikern liegen unterschiedliche Untersuchungsergebnisse vor. Nach oraler Glukosegabe wurden sowohl Hypo- als auch Hypersekretionen von GIP gefunden (94). Die exogene Gabe von GIP zeigt eine deutlich reduzierte insulinotrope Wirkung sowohl bei Typ-2-Diabetikern als auch bei gesunden Probanden (92). Obwohl GIP über die Steigerung der Insulinsekretion ein quantitativ

wichtiges Inkretinhormon darstellt, ist somit ein therapeutischer Einsatz bei Diabetes mellitus derzeit nicht sinnvoll.

Die Erkenntnis, dass die bei stoffwechselgesunden Menschen nachgewiesenen insulinotropen und glukagonostatischen GLP-1-Wirkungen bei Typ-2-Diabetikern erhalten bleiben, rechtfertigte den Einsatz von GLP-1 in der Therapie des Diabetes mellitus. Exogene Gaben von GLP-1 führen zu einer Verbesserung von postprandialen als auch basalen Blutzuckerwerten bei Typ-2-Diabetikern (95,96). Die insulinotrope und auch die glukagonostatische GLP-1-Wirkung sind streng glukoseabhängig. Unterhalb einer Plasmablutzuckerkonzentration von circa 65 mg/dl sistiert die Stimulation der Insulinsekretion trotz Fortführung der GLP-1-Gaben (97). Auch bei einer kontinuierlichen Zufuhr von hohen supraphysiologischen GLP-1-Dosen wurde ein Plasmablutzuckerspiegel von 60 mg/dl nicht unterschritten (98). Zudem trat bei Langzeitgabe von GLP-1 keine Tachyphylaxie auf (77). Somit konnten bei einer Therapie mit GLP-1 keine gefährlichen Hypoglykämien beobachtet werden (99). Ein Einsatz von GLP-1 in der antidiabetischen Therapie würde damit einen entscheidenden Vorteil gegenüber den bekannten, die Insulinsekretion stimulierenden Substanzen aufweisen, denn Insulin selbst wie auch Sulfonylharnstoffe wirken glukoseunabhängig und bergen das Risiko von Hypoglykämien.

Trotz des therapeutischen Potentials von GLP-1 bei Typ-2-Diabetikern ist der Einsatz von GLP-1 in der antidiabetischen Therapie aufgrund der kurzen Halbwertszeit des nativen Hormons (circa 1–2 Minuten) problematisch. Wie beschrieben, baut die Dipeptidylpeptidase 4 das Peptid rasch in die inaktive Form GLP-1(9-36)amid ab (85). Um diesem Problem zu begegnen, wurden stabilere GLP-1-Moleküle mit einer verlängerten Halbwertszeit entwickelt. Als erstes dieser „Inkretin-Mimetika“ wurde Exenatide (Byetta®, Amylin Pharmaceuticals), aus dem Speichel der Krustenechse *Heloderma suspectum* (100), 2005 in den USA als Kombinationspräparat mit oralen Antidiabetika zugelassen. Die Einführung in Europa erfolgte im November 2006.

Vor etwa 10 Jahren konnte im Tierversuch erstmals gezeigt werden, dass die orale Gabe eines Hemmstoffes der Dipeptidylpeptidase 4 die Aktivität der DPP 4 fast vollständig hemmt und deutlich höhere Spiegel des intakten GLP-1 erreicht werden konnten. Begleitend konnten eine Verbesserung der Glukosetoleranz und eine Verstärkung der Insulinantwort nach oraler Glukosegabe beobachtet werden (101,102). Im Folgenden

konnten diese Beobachtungen beim Typ-2-Diabetiker bestätigt werden (103). Somit war der Weg für die Entwicklung oraler DPP-4-Hemmer in der antidiabetischen Therapie geebnet.

#### **1.2.6 Hemmstoffe der Dipeptidylpeptidase 4**

Vildagliptin ist ein von Novartis entwickelter oraler, potenter, selektiver und reversibler Hemmstoff der DPP 4. Er gehört zu einer neuen Gruppe oraler Antidiabetika, deren Ausgangspunkt das Inkretinkonzept darstellt. Vildagliptin bindet mit hoher Affinität an die menschliche DPP 4. In Dosis-Wirkungs-Studien mit Vildagliptin bei Typ-2-Diabetikern konnte eine 90%ige DPP-4-Hemmung gesehen werden, die über 12 Stunden anhielt (104). Vildagliptin erhöht die postprandiale Zirkulation von bioaktivem GLP-1 um etwa das Doppelte und verbessert die Glukosetoleranz im Tiermodell sowie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (103,105). Vildagliptin wird nach oraler Einnahme schnell absorbiert, die maximale Wirkstoffkonzentration wird etwa nach 0,5–1,5 Stunden erreicht (104). Die Bioverfügbarkeit liegt bei über 80% und ist unabhängig von der Nahrungsaufnahme (106). Die Proteinbindung ist sehr gering, sie liegt lediglich bei etwa 9% (106). Vildagliptin unterliegt nicht dem Cytochrom-P450-Metabolismus und weist keine Interaktionen mit anderen häufig eingenommenen Medikamenten auf (107,108). Etwa 85% des Wirkstoffes werden im Urin ausgeschieden, die restlichen 15% mit der faeces (104). In Meta-Analysen der bisher mit Vildagliptin durchgeführten Langzeitstudien konnten HbA1c-Absenkungen von 0,7% (109) bzw. 0,6% (110) gegenüber Placebo gesehen werden. Vildagliptin war damit Sulfonylharnstoffen und Thiazolidindionen nicht unterlegen (111). Eine signifikante HbA1c-Reduktion ist entscheidend, da der HbA1c-Wert mit der kardiovaskulären Mortalität korreliert (112). Die Nüchtern- und postprandialen Blutzuckerwerte unter Vildagliptin-Therapie konnten ebenso signifikant gesenkt werden (109). Eine signifikante Gewichtsabnahme unter Vildagliptin-Therapie gegenüber Placebo konnte nicht erreicht werden (110). Verglichen mit Thiazolidindionen weist Vildagliptin ein günstigeres Gewichtsprofil auf (111). Bei allen mit Vildagliptin behandelten Patienten trat keine schwerwiegende Hypoglykämie auf (110), was die Glukoseabhängigkeit der Wirkung bestätigt. Auch das sonstige Nebenwirkungsspektrum von Vildagliptin war gering, vor allem traten keine gastrointestinalen Beschwerden auf (109). Eine erhöhte Infektrate, vor allem für Harnwegsinfekte, sowie eine erhöhte Kopfschmerzrate wird in 2 Meta-Analysen beschrieben (109,110). Langzeitdaten für Vildagliptin-Wirkungen, vor allem hinsichtlich kardiovaskulärer Ereignisse und Einfluss



auf das Immunsystem, liegen nicht vor. Ebenso ist der genaue Wirkmechanismus von DPP-4-Hemmern bisher noch nicht vollständig geklärt.

Abbildung 6 zeigt grafisch die Inhibition der Dipeptidylpeptidase 4 durch einen DPP-4-Inhibitor.

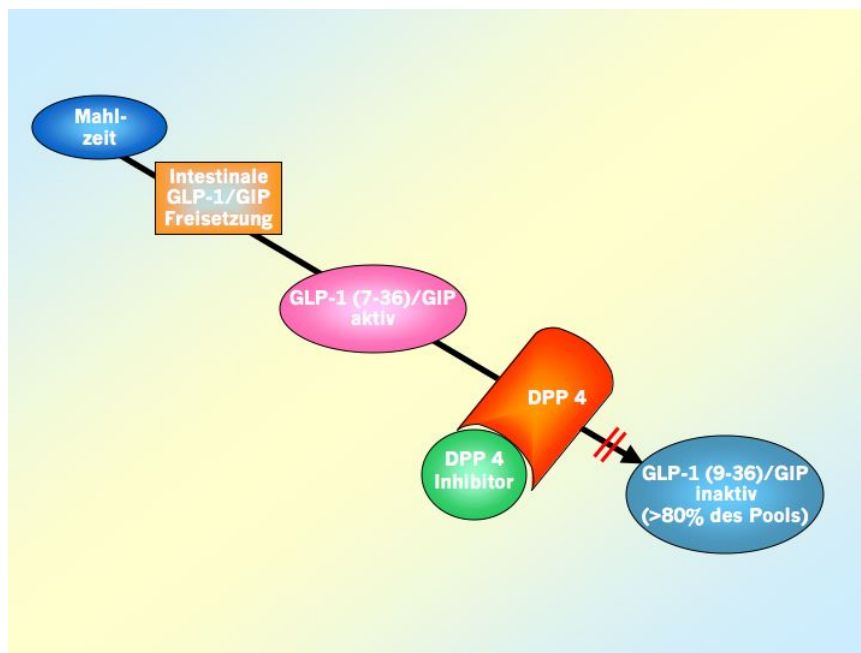


Abbildung 6: Inhibition der Dipeptidylpeptidase 4 durch einen DPP-4-Inhibitor

## 1.3 Physiologie der Magenentleerung

### 1.3.1 Funktionelle Anatomie des Magens

Funktionell wird der Magen in zwei Abschnitte unterteilt. Man unterscheidet den proximalen vom distalen Magen. Der proximale Magen umfasst Kardial, Fundus und proximales Korpusdrittel, der distale Magen besteht aus dem übrigen Korpus mit Antrum und Pylorus. Die Hauptaufgabe des proximalen Magens besteht in einer Reservoirfunktion für feste Nahrungsbestandteile und der Entwicklung tonischer Druckwellen zur Entleerung von flüssigen Nahrungsbestandteilen. Der distale Magen ist für die Zersetzung von Feststoffen in der Nahrung und den Transport des Speisebreis Richtung Duodenum zuständig. Physiologisch ist eine strenge Unterscheidung jedoch kaum möglich, da beide Abschnitte zusammen die Hauptfunktionen des Magens, nämlich Speicherung und

Zerkleinerung der Nahrung sowie die kontrollierte Entleerung des Mageninhalts in das Duodenum, übernehmen (113,114).

### **1.3.2 Myogene Steuerung der Magenentleerung**

Die motorische Aktivität des Gastrointestinaltrakts weist Unterschiede vom Nüchternzustand zu postprandialen Phasen auf. Der proximale Magen reagiert auf Nahrungsaufnahme am Beginn der digestiven Phase mit einer Tonusabnahme der Muskulatur (114,115). Durch diese Relaxation ist eine Volumenzunahme von bis zu zwei Litern möglich, ohne, dass es zu einer Erhöhung des intragastralen Drucks mit gastrointestinalem Unwohlsein kommt (114,116). Der proximale Magen kann so seiner Reservoirfunktion nachkommen. Der beschriebene Reflex wird über den Nervus Vagus vermittelt (114). Durch Einsetzen tonischer Kontraktionen wird die Nahrung in Richtung distaler Magen geschoben (117). Im Antrum wird über zunehmende phasische Kontraktionen die Nahrung Richtung des verschlossenen Pylorus gedrückt und zurückgeworfen. Durch die entstehenden Scherkräfte wird die Nahrung zermahlen. Ab einer Größe von circa 2 Millimeter können verwertbare Nahrungsbestandteile in das Duodenum entleert werden (117,118).

Flüssigkeiten werden schneller entleert als feste Nahrungsbestandteile, je höher das Volumen, desto schneller ist die Entleerungsrate (119). Die Entleerungsgeschwindigkeit von flüssigen Stoffen ist vom Nährstoffgehalt abhängig. Niedrig-kalorische Flüssigkeiten entleeren nach einem exponentiellen Muster (116,120). Mit höherem Nährstoffgehalt kommt es zu einer Verzögerung der Magenentleerung, die Magenentleerungskurve nimmt eine mehr lineare Form an (121). Maximal werden circa 200 kcal in der Stunde in das Duodenum abgegeben (122). Feste Nahrungsbestandteile werden nach Zerkleinerung in der Antrummühle zeitverzögert entleert. Die Entleerung fester Nahrungsbestandteile ist somit ein 2-Phasen-Prozess, nach einer initialen Verzögerungsphase („lag-period“) folgt ein lineares Entleerungsmuster (116,123). Feste Nahrungsbestandteile werden in etwa 3–4 Stunden aus dem Magen entleert. Allerdings wird die Entleerungszeit von verschiedenen Faktoren, insbesondere Volumen, Zusammensetzung und Fettgehalt der Nahrung beeinflusst.

Die Nüchternperiode ist durch die interdigestive Phase III gekennzeichnet. Diese Phase besteht aus hochfrequenten Kontraktionen mit einer Durchschnittsdauer von etwa 7

Minuten, die sich beim Menschen ungefähr alle 90 Minuten wiederholen (124). Die Kontraktionsfront beginnt im Magen und breitet sich nach distal über den gesamten Dünndarm bis zum Ileum aus (124). Diese zyklische Kontraktionsfront wird als „migrating motor complex (MMC)“ oder „migrierender myoelektrischer Komplex“ bezeichnet. Die Nüchternmotilität besteht aus 3 Hauptphasen. Nach einer Ruhephase (Phase I) erhöht sich die Frequenz der unregelmäßigen Kontraktionen (Phase II), um dann in einer kurzen Phase regelmäßiger Kontraktionen (Phase III, MMC) unverdauliche Nahrungsbestandteile in das Duodenum und weiter nach distal zu transportieren (125). Eine zusätzliche kurze Phase IV stellt den Übergang in eine erneute Inaktivitätsphase dar. Durch Nahrungsaufnahme wird das Kontraktionsmuster durchbrochen und die unregelmäßigen Kontraktionswellen der digestiven Phase setzen ein (124).

### **1.3.3 Neurogene Steuerung der Magenentleerung**

Die Magenmotilität wird neurogen über das extrinsische Nervensystem (ZNS und Autonomes Nervensystem) sowie das enterale Nervensystem (Plexus myentericus Auerbach und Plexus submucosus Meissner) gesteuert. Die extrinsische Kontrolle im Gastrointestinaltrakt erfolgt über das parasympathische Nervensystem und das thorakolumbale sympathische Nervensystem (T5–T10). Die sympathischen Impulse werden über den Truncus coeliacus geleitet, die parasympathische Innervation erfolgt über den Nervus vagus und seine Äste. Während der Parasympathikus Motorik und Sekretion im Gastrointestinaltrakt fördert, wirkt der Sympathikus hemmend auf diese Eigenschaften. Über paravertebrale Ganglien werden afferente Impulse vom Gastrointestinaltrakt zum ZNS geleitet, zugleich besteht über diese Ganglien ein intestinaler Rückkopplungsmechanismus auf das Enterische Nervensystem.

Das Enterische Nervensystem ist ein unabhängiges Nervensystem, dessen Neuronen in speziellen ganglionären Plexus gebündelt werden. Der Plexus myentericus Auerbach liegt zwischen der longitudinalen und zirkulären Schicht der Muscularis propria und ist an der Regulation der gastrointestinalen Motilität beteiligt. Über den kleineren Plexus submucosus Meissner, gelegen in der Tela submucosa, erfolgt eine Kontrolle der Sekretion sowie des mukosalen Blutflusses. Über beide Plexus besteht eine Verbindung zwischen dem Autonomen und dem Enterischen Nervensystem (126). Das Enterische Nervensystem wirkt jedoch auch unabhängig vom Autonomen Nervensystem auf Peristaltik und Sekretion.

Als Vermittler zwischen Enterischem Nervensystem und der glatten Muskulatur des Gastrointestinaltrakts dienen die interstitiellen Cajal-Zellen (127). Sie liegen zwischen den zirkulären und longitudinalen Muskelschichten im Gastrointestinaltrakt und wirken als nicht-neurale Schrittmacher. Von ihnen gehen etwa drei Mal in der Minute die elektrischen Kontraktionswellen aus, die über erregende (Acetylcholin, Substanz P) und inhibierende Transmitter (NO, Somatostatin) getriggert werden (127).

#### **1.3.4 Hormonelle Steuerung der Magenentleerung**

Der Prozess der Magenentleerung wird zusätzlich über eine Vielzahl von Hormonen reguliert. Cholecystokin (CCK), Vasoaktives Intestinales Polypeptid (VIP), Ghrelin, Pancreatic Polypeptide (PP) sowie Glukoseregulierende Hormone (Glukagon, GLP-1) führen zu einer Verzögerung der Magenentleerung (128,129). Motilin hingegen fördert die Magenentleerung (130). Die genaue Funktion vieler dieser Botenstoffe ist jedoch bisher unklar.

#### **1.3.5 Magenentleerung und Diabetes mellitus**

Patienten mit lange bestehendem und schlecht eingestelltem Diabetes mellitus entwickeln unterschiedliche gastrointestinale Beschwerdesymptome, die teilweise auf das Vorliegen einer Magenentleerungsstörung (diabetische Gastropathie) zurückgeführt werden können. Die Inzidenz der diabetischen Gastroparese ist unklar, es scheint jedoch bei circa 30% der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 eine durch Hyperglykämie verursachte gestörte Magenentleerung vorzuliegen (131,132). Erhöhte HbA1c-Werte korrelieren mit dem vermehrten Auftreten von gastrointestinalen Symptomen bei Diabetikern (133). Zwischen der motorischen Aktivität im Gastrointestinaltrakt und akuten Blutzuckeränderungen besteht ein enger Zusammenhang. So führen experimentell erzeugte akute Hyperglykämien zu verlängerten Magenentleerungshalbwertszeiten sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Diabetikern (134,135). Pathophysiologisch wird dies auf eine vagal vermittelte Hemmung der phasischen Kontraktionen im Antrum, eine Hemmung des Fundustonius (136) sowie eine Erhöhung der phasischen und tonischen Kontraktionen im Pylorus (136,137) durch die Hyperglykämie zurückgeführt. Dagegen führen akute Hypoglykämien zu einer Beschleunigung der Magenentleerung (138).

Die Pathologie der diabetischen Magenentleerungsstörung ist bis heute nicht endgültig geklärt. Es wird eine neuropathische Schädigung des Nervus vagus ebenso diskutiert wie ein entstandener Mangel an den für die motorische Aktivität im Gastrointestinaltrakt wichtigen intrinsischen Nerven (139,140). Auch wird eine ausgeprägte Apoptose enterischer Neurone unter andauernder Hyperglykämie beschrieben (141,142). Ebenso wurde ein Mangel an interstitiellen Cajal-Zellen festgestellt, die eine wichtige Funktion im Rahmen der gastrointestinalen Motilität innehaben (139,143). Auch eine Dysfunktion der glatten Muskelzellen im Gastrointestinaltrakt ist beschrieben worden (144). Hormonelle Faktoren wie erhöhte Glukagonspiegel könnten eine Rolle in der Pathogenese der diabetischen Magenentleerungsstörung spielen. Einige dieser Veränderungen sind jedoch bisher nur im Tiermodell beschrieben, eine Bestätigung beim Menschen steht noch aus.

Hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Glykämie und Magenentleerung ist der pharmakologische Eingriff im Rahmen einer Magenentleerungsverzögerung zur Senkung postprandialer Blutzuckerwerte eine vielversprechende Therapiemöglichkeit. Eine verzögerte Magenentleerung hat direkten Einfluss auf den Glukosestoffwechsel (145). Das im Jahr 2005 in den USA zugelassene Amylin-Analogon Pramlintide (Symlin®, Amylin Pharmaceuticals) nutzt diesen Wirkungsmechanismus zur Blutzuckerkontrolle (146). Potentielle gastrointestinale Beschwerden im Rahmen einer irreversiblen autonomen Neuropathie bei Diabetikern dürfen hierbei jedoch nicht außer Acht gelassen werden, obwohl diese Ursache einer Magenentleerungsstörung selten ist.

## **2 Ziele der Arbeit**

Wie beschrieben hat GLP-1 verschiedene Wirkungen am oberen Gastrointestinaltrakt. GLP-1 wirkt hemmend auf die Magenentleerung. Zudem wirkt GLP-1 appetithemmend und verstärkt das Sättigungsgefühl. Am endokrinen Pankreas bewirkt GLP-1 eine Erhöhung der Insulinfreisetzung sowie eine Hemmung der Glukagonsekretion. Sezerniertes GLP-1 wird rasch durch das Enzym DPP 4 in seine inaktive Form abgebaut. Eine Hemmung der DPP 4 durch orale Hemmstoffe bewirkt deutlich höhere Spiegel an bioaktivem GLP-1. Vildagliptin ist ein von Novartis entwickelter oraler DPP-4-Hemmer, dessen Einsatz zu erhöhten Spiegeln von bioaktiven GLP-1 und zu erniedrigten postprandialen Blutzuckerspiegeln führt. Unklar ist jedoch, über welche GLP-1-Wirkung die blutzuckersenkende Wirkung von Vildagliptin zustande kommt. Eine Hemmung der Magenentleerung und/oder eine Wirkung auf das endokrine Pankreas in Form einer Erhöhung der Insulinsekretion und/oder einer Hemmung der Glukagonfreisetzung kommen hierfür in Betracht.

In dieser Studie sollte primär die akute Wirkung von 100 mg Vildagliptin oral als Einmalgabe auf die Magenentleerung, die Magenperistaltik und die postprandialen Blutzuckerspiegel untersucht werden. Magenentleerung und Magenperistaltik wurden mit Hilfe einer hochauflösenden Magenentleerungsszintigraphie nach Einnahme einer <sup>99m</sup>Tc-radiomarkierten Mahlzeit bestimmt. Neben Plasmaglukosebestimmungen wurden die Spiegel der Inkretinhormone GLP-1(7-36)amid und GIP (bioaktiv) sowie Insulin, C-Peptid und Glukagon parallel zu den Magenentleerungszeiten bestimmt, um die physiologische Relevanz der Auswirkungen von Vildagliptin auf die Magenentleerung zu untersuchen. Um eine Wirkung von Vildagliptin auf das endokrine Pankreas (Insulinsekretion/C-Peptidsekretion/Glukagonsekretion), die postprandialen Blutzuckerspiegel und die Sekretion der Inkretinhormone GLP-1(7-36)amid und GIP (bioaktiv) unabhängig von der Magenentleerung zu beurteilen, wurde eine duodenale Perfusion einer Mahlzeit im Vergleich zu einer entsprechenden oralen Gabe einer Mahlzeit durchgeführt. Zudem sollte der Effekt von Vildagliptin auf Hunger und Sättigung untersucht werden. Daher wurden folgende Ziele der Arbeit formuliert:

### **2.1 Hauptziel**

- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral, Einmalgabe) auf die Magenentleerung

## 2.2 Nebenziele

- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral, Einmalgabe) auf die postprandialen Blutzuckerspiegel
- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral, Einmalgabe) auf die Plasmaspiegel der Inkretinhormone GLP-1(7-36)amid und GIP (bioaktiv)
- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral Einmalgabe) auf die Insulin-, C-Peptid und Glukagonsekretion
- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral, Einmalgabe) auf den postprandialen Glukosestoffwechsel (endogene Glukoseproduktion, Gesamtglukoseerscheinerate, Mahlzeitglukoseerscheinerate)
- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral, Einmalgabe) auf die Magenperistaltik anhand von hochauflösenden Szintigraphien mittels Fast-Fourier-Analyse
- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral, Einmalgabe) auf das endokrine Pankreas (Insulinsekretion/C-Peptidsekretion/Glukagonsekretion), die postprandialen Blutzuckerspiegel und die Sekretion der Inkretinhormone GLP-1(7-36)amid, GIP (bioaktiv) sowie PYY unter Umgehung der Magenentleerung in Form einer duodenalen Perfusion der Mahlzeit im Vergleich zur entsprechenden oralen Gabe der Mahlzeit
- Die Wirkung von Vildagliptin (100 mg oral, Einmalgabe) auf Hunger und Sättigung anhand Visueller Analog Skalen und auf die postprandialen Plasmaspiegel von PYY (1-36) und PYY (3-36)

## **3 Material und Methoden**

### ***3.1 Genehmigungsverfahren und Einverständniserklärung***

Die Studie wurde unter der EudraCT Nr. 2005-000254-79 bei der Europäischen Arzneimittelagentur EMA angezeigt. Das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte genehmigte die Studie unter der Vorlage-Nummer 4030828. Die Studie wurde vom Bundesamt für Strahlenschutz unter der Nummer Z 5 – 22461/2 – 2005-029 zur Anwendung radioaktiver Stoffe oder ionisierender Strahlung am Menschen in der medizinischen Forschung und unter der Nummer Z 5 – 22462/2 – 2005-050 zur Anwendung von Röntgenstrahlung am Menschen in der medizinischen Forschung genehmigt. Das Studienprotokoll wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der Projektnummer 193-05 bewilligt. Die Studie ist unter der Clinical Trial Number: NCT00380380 unter [www.ClinicalTrials.gov](http://www.ClinicalTrials.gov) registriert und abrufbar. Es handelt sich um eine randomisierte, einfach-blinde, unizentrische, plazebo-kontrollierte, single-dose Studie im Crossover Design, die 3 Versuchstage für die Patienten beinhaltet. Jeder Studienteilnehmer gab nach ausführlicher ärztlicher Aufklärung seine schriftliche Einverständniserklärung ab.

### ***3.2 Fallzahlanalyse***

Die Teilnehmerzahl wurde anhand eines einseitig gepaarten t-test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% bestimmt. Es wurde eine Magenentleerungshalbwertszeit von durchschnittlich 120–140 Minuten zugrunde gelegt. Ausgehend von einer angenommenen intrapersonellen Variabilität des Variationskoeffizienten nicht größer als 0,25 für die Entleerung von Feststoffen, gewährleistet eine Teilnehmerzahl von 18 Probanden eine mindestens 81%ige Aussagekraft, um mindestens eine 22%ige Änderung der Magenentleerungshalbwertszeit respektive eine Änderung von 26 zu 31 Minuten zu erkennen. Der Variationskoeffizient von 0,25 ist ein Näherungswert, von der Tatsache ausgehend, dass der intrapersonelle Variationskoeffizient kleiner als der interpersonelle Variationskoeffizient ist. Der interpersonelle Variationskoeffizient für die Magenentleerungshalbwertszeit liegt bei etwa 0,32 (147,148).



### **3.3 Probanden**

Nach Erfüllung aller Einschluss- und Ausschlusskriterien wurden 18 Patientinnen und Patienten mit nicht-insulinpflichtigem Diabetes mellitus Typ 2, die alle ihre schriftliche Einverständniserklärung abgaben, in die Studie eingeschlossen: 11 Männer und 7 Frauen. Das Durchschnittsalter lag bei  $58 \pm 2$  Jahren. Der HbA1c-Wert lag bei  $6,6 \pm 0,2\%$ , der Body-Mass-Index bei  $28,7 \pm 0,7 \text{ kg/m}^2$  und das Gewicht bei  $83,1 \pm 3,0 \text{ kg}$ . Die durchschnittliche Diabetesdauer der Probanden betrug  $3,8 \pm 0,9$  Jahren. Die antidiabetische Therapie bestand aus alleiniger Diät ( $n = 3$ ), einer festen Dosis Metformin ( $n = 11$ ), einer festen Dosis Acarbose ( $n = 2$ ) sowie einer Kombination aus Metformin und einem Sulfonylharnstoff ( $n = 2$ ). Kein Proband nahm eine zusätzliche Medikation ein, durch die Blutglukosespiegel oder Magenentleerung beeinflusst werden. Alle Probanden befanden sich nach Anamnese, körperlicher Untersuchung, Ruhe-EKG und Laboruntersuchungen (Blut/Urin) in einem guten gesundheitlichen Zustand.

Alle Untersuchungen wurden in der Clinical Research Unit (CRU) der Medizinischen Klinik II und in der Abteilung für Nuklearmedizin des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

#### **3.3.1 Screening**

Das Screening umfasste die Aufklärung des Patienten durch den Prüfarzt, eine vollständige Anamnese, eine körperliche Untersuchung durch den Prüfarzt, ein Ruhe-EKG, die Messung von Körpergewicht und Körpergröße, arteriellem Blutdruck, Pulsfrequenz sowie der Körpertemperatur. Es wurden 15 ml Blut für klinische Chemie (Albumin, Amylase, AP, Bilirubin, Calcium, Chlorid, Cholesterin, CK, GGT, Glukose, GOT, GPT, Harnstoff, Harnsäure, Kalium, Kreatinin, LDH, Lipase, Natrium, Totalprotein, Triglyceride) und Hämatologie (Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) abgenommen. Zudem wurde der HbA1c-Wert bestimmt. Als Hepatitis-Screening wurden HBs-Ag und HCV-Ak bestimmt, der ELISA-Test wurde als HIV-Screening verwendet. Der Alkoholspiegel im Blut wurde bestimmt. Jeder Patient gab eine Mittelstrahlurinprobe ab (pH-Wert, Glukose, Protein, Bilirubin, Ketonkörper, Leukozyten, Erythrozyten), zudem wurde eine mikroskopische Urinuntersuchung durchgeführt. Die Urinprobe wurde außerdem zum Drogen-Screening angewandt (Amphetamine, Barbiturate, Benzodiazepine,

Cannabinoide, Kokain, Opiate). Ein Schwangerschaftstest ( $\beta$ -HCG) im Urin wurde am Screening-Tag sowie vor jedem Versuchstag bei den weiblichen Probanden durchgeführt.

Folgende Einschlusskriterien mussten von jedem Probanden erfüllt werden:

- Männliche oder weibliche (postmenopausal, chirurgisch sterilisiert oder 2-fach-Kontrazeption) Patienten mit nicht-insulinpflichtigem Diabetes mellitus Typ 2
- Die Patienten mussten in der Lage sein, ihre orale antidiabetische Medikation 1 Woche vor Studienbeginn zu pausieren (einwöchige wash-out-phase) und den häuslichen Blutzuckerspiegel selbständig zu kontrollieren
- Keine Einnahme von Medikamenten, die die Magenmotilität beeinträchtigten (z. B. Erythromycin, Acetaminophen), außer einer festen kardialen Medikation
- Body-Mass-Index  $< 40 \text{ kg/m}^2$
- Der Nüchternblutzuckerwert am Tag des Screenings sowie am ersten Versuchstag musste bei  $< 240 \text{ mg/dl}$  liegen
- Alter: 30–65 Jahre
- HbA1c  $< 10\%$  am Screening-Tag
- Der Proband musste in der Lage sein, selbstbestimmt seine schriftliche Zustimmung zur Studienteilnahme zu geben
- Der Proband musste in der Lage sein, problemlos mit den Untersuchern zu kommunizieren und die Anforderungen der Studie zu befolgen

Folgende Ausschlusskriterien bestanden:

- Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1, Diabetes mellitus Typ 3 (z. B. pankreopriv) oder sekundären Formen des Diabetes wie Cushing-Syndrom und Akromegalie
- Behandlung mit Insulin innerhalb der letzten 3 Monate
- Behandlung mit Thiazolidindionen innerhalb der letzten 6 Wochen
- signifikante Begleiterkrankungen oder Komplikationen des Diabetes mellitus wie diabetische Nephropathie oder Autonome Dysfunktion
- Nüchterntriglyceride  $> 450 \text{ mg/dl}$  innerhalb der letzten 4 Wochen
- Behandlung mit systemischen Kortikosteroiden oder unregelmäßige Einnahme von Schilddrüsenhormonen

- Zustand nach Operationen am Gastrointestinaltrakt, insbesondere Magen- oder Darmteilresektionen, außer Appendektomie/Cholezystektomie
- bestehende gastrointestinale Beschwerdesymptomatik wie Blähungen, Übelkeit, Aufstoßen
- Teilnahme an klinischen Studien innerhalb der letzten 4 Wochen
- Blutverlust von 400 ml oder mehr innerhalb der letzten 8 Wochen (z. B. Blutspende)
- signifikante Erkrankung in den letzten 2 Wochen vor Studienbeginn
- klinisch signifikante Ruhe-EKG-Veränderungen oder Familienanamnese eines verlängerten QT-Syndroms
- klinisch signifikante Medikamentenallergien, bekanntes allergisches Asthma bronchiale oder eine bekannte Überempfindlichkeit gegenüber der Studienmedikation oder ähnlicher Substanzen
- jeder bestehende Zustand (chirurgisch/medizinisch) der die Aufnahme, die Verteilung, den Metabolismus oder die Ausscheidung von Medikamenten signifikant beeinträchtigt und den Gesundheitszustand von Studienteilnehmern gefährden könnte, dazu zählten:
  - chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Gastritis, gastrale Ulcera, gastrointestinale Blutungen
  - wesentliche gastrointestinale Operationen wie Gastrektomie, Gastroenterostomie oder Darmresektionen
  - Erkrankungen des Pankreas wie Pankreatitis, Zustand nach pankreaschirurgischem Eingriff oder Pankreastraumata
  - eingeschränkte Nierenfunktion, angezeigt durch pathologische Kreatinin- oder Harnstoffwerte oder pathologische Harnbestandteile (z. B. Albuminurie)
  - Obstruktionen in der Harnableitung oder Miktionsprobleme beim Screening
- Thrombozyten < 100.000 beim Screening
- bekannte Immunschwäche, einschließlich ein positiver HIV-Test (ELISA + Western Blot)
- Lebererkrankung oder Leberinsuffizienz, angezeigt durch pathologische Leberwerte wie erhöhter GOT, GPT, GGT, AP oder Bilirubin. Die GPT musste streng innerhalb des Normwertes sein, GGT und AP durften nicht mehr als das Doppelte des Normwertes betragen, Bilirubin sollte 1,6 mg/dl nicht überschreiten
- ein positiver HBs-Ag-Nachweis oder ein positiver HCV-Ak-Nachweis

- Drogen- oder Alkoholabusus innerhalb der letzten 12 Wochen oder eine Laborkonstellation beim Screening, die darauf hinweist

Abweichungen von Einschluss- und/oder Ausschlusskriterien, die trotzdem zur Aufnahme von Patienten in die Studie führten, wurden schriftlich begründet.

### **3.3.2 Screening failure**

Insgesamt wurden 35 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 den Screening-Untersuchungen unterzogen, bis die 18 Studienteilnehmer feststanden. 17 Screening-Teilnehmer konnten aus folgenden Gründen nicht in die Studie aufgenommen werden:

- pathologisch erhöhte Leberwerte (GPT, GOT, GGT) (n = 8)
- Nüchternblutzuckerwert > 240 mg/dl zum Zeitpunkt des Screenings (n = 2)
- bekannte Koronare Herzerkrankung mit signifikanten Ruhe-EKG-Veränderungen (n = 2)
- Triglyceridwerte > 450 mg/dl (n = 1)
- BMI > 40 kg/m<sup>2</sup> (n = 1)
- bekannte Tumorerkrankung (n = 1)
- Niereninsuffizienz DD bei diabetischer Nephropathie (n = 1)
- Einverständniserklärung zurückgezogen (n = 1)

Bei neu entdeckten Pathologien wurden die Patienten in der entsprechenden fachärztlichen Ambulanz des Klinikums Großhadern vorgestellt.

### **3.4 Studiendesign**

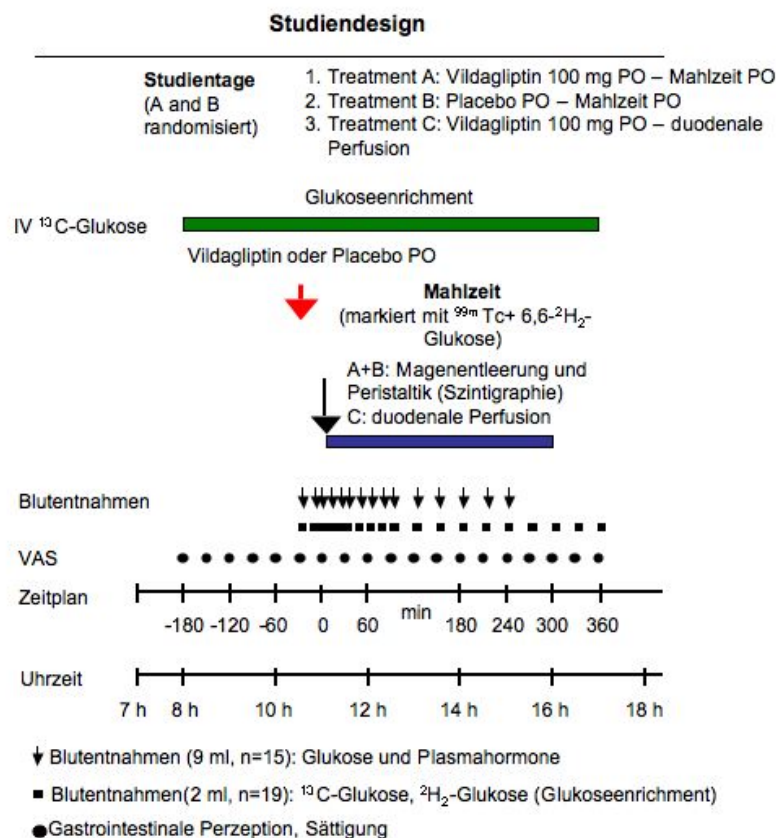
Es wurden 18 Typ-2-Diabetiker in die Studie eingeschlossen. Probanden, die die Studie abbrachen, wurden ersetzt. Vorzeitige Studienabbrecher mussten sich den Abschlussuntersuchungen unterziehen. Für jeden Studienteilnehmer bestand eine 21-tägige Screening-Periode. Jeder Proband unterzog sich einer einwöchigen Auswaschphase seiner antidiabetischen Medikation, bevor der erste Studientag begann. Dafür wurde jeder Proband mit einem Blutzuckermessgerät für häusliche Blutzuckermessungen ausgestattet. Die Patienten wurden angewiesen, bei Nüchternblutzuckerwerten > 240 mg/dl in der Auswaschphase den Prüfarzt umgehend telefonisch zu unterrichten.

### 3.4.1 Versuchsablauf

Jeder Studienteilnehmer nahm an drei Studientagen in randomisierter Reihenfolge teil. Zwischen den einzelnen Studientagen mußten 2 Tage Pause bestehen. Die Probanden erhielten an den verschiedenen Studientagen folgende Behandlungen:

- Treatment A: 100 mg ( 2 x 50 mg ) Vildagliptin oral – orale Mahlzeit
- Treatment B: Placebo oral – orale Mahlzeit
- Treatment C: 100 mg ( 2 x 50 mg ) Vildagliptin oral – duodenale Perfusion

Abbildung 7 gibt das Studiendesign grafisch wider.



**Abbildung 7: Studiendesign**

Nach einer nächtlichen Nüchternphase ab 22.00 Uhr des Vorabends erschienen die Probanden gegen 07.30 Uhr in der CRU. Eine Venenverweilkanüle zur Gabe von kontinuierlichen intravenösen Infusionen von [1-<sup>13</sup>C] Glukose (25 µmol) und begleitend NaCl 0,9% wurde gelegt, die Infusionen begannen um 8.00 Uhr. Eine zweite Venenverweilkanüle wurde retrograd in eine Handrückenvene des kontralateralen Arms

gelegt und diente der Entnahme von Blutproben. Hand und Unterarm wurden kontinuierlich durch eine sensor kontrollierte und mit Biothermostat gesteuerte Infrarotlampe auf 40°C erwärmt, um das venöse Blut zu arterialisieren. Während der Baseline-Phase (10.00–11.00 Uhr) wurden jeweils drei Blutentnahmen zur Ermittlung von Nüchternblutzucker und Nüchternplasmahormonkonzentrationen genommen.

Um 11.00 Uhr, 30 Minuten vor der Mahlzeiteinnahme, nahmen die Probanden die orale Studienmedikation 2 x 50 mg Vildagliptin oder Placebo mit 240 ml Wasser ein (Treatment A + Vildagliptin, Treatment B + Placebo). Um 11.30 Uhr, Zeitpunkt 0, nahmen die Probanden eine gemischte Mahlzeit innerhalb von 10 Minuten ein (472 kcal, 45% Kohlenhydrate, 40 % Fett, 16% Protein, markiert mit 75 MBq 99mTc-Zinnkolloid und 3 g [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] Glukose. Die Mahlzeit bestand aus einem Ei-Omelette, Götterspeise und 200 ml Wasser. Das Omelette war nahezu kohlenhydratfrei (56% der Gesamtkalorien, 18 g Protein, 19,4 g Fett). Die Götterspeise bestand aus Gelantine (3g, zuckerfrei, Zitronengeschmack, < 1g Protein, 0 g Kohlenhydrate, 0 g Fett), beinhaltete 47 g Glukose (200 kcal) und war mit 3 g [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] Glukose markiert. Götterspeise und Ei-Omelette waren mit insgesamt 75 mBq 99mTc-Zinnkolloid markiert. Die Magenentleerung wurde durch hochauflösende Szintigraphie (20 Bilder in der Minute) über einen Zeitraum von 5 Stunden gemessen.

Am 3. Versuchstag (Treatment C, Vildagliptin + duodenale Perfusion) schluckten die Probanden gegen 8.00 Uhr eine nasoduodenale Sonde, deren Spitze im Duodenum positioniert wurde. Die korrekte Lage der Sonde wurde mit einer kurzen Röntgendurchleuchtungsuntersuchung kontrolliert. Um 11.30 Uhr begann eine direkte Perfusion der Mahlzeit in flüssiger Form direkt in das Duodenum. Die flüssige Mahlzeit war hinsichtlich Kohlenhydratanteil, Glukoseanteil und Fettanteil identisch mit der oralen Mahlzeit. Die Perfusionsraten waren den szintigrafischen Magenentleerungsraten des Placeboversuchstages (Treatment B) mit oraler Mahlzeitgabe nachgeahmt.

Blutentnahmen (9 ml) zur Bestimmung von Blutglukose und Plasmahormonen erfolgten in EDTA-Röhrchen zu folgenden Zeitpunkten: -30, -10, 0, 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240 Minuten nach Mahlzeiteinnahme.

Blutentnahmen (2 ml) zur Bestimmung von [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] Glukose-Enrichments erfolgten in Oxalat-Fluorid-Röhrchen zu folgenden Zeitpunkten: -30, -10, 0, 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360 Minuten nach Mahlzeiteinnahme.

Visuelle Analog Skalen (VAS) wurden zur Bewertung von Hunger/Sättigung im Rahmen der gastrointestinalen Perzeption angewendet.

### **3.4.2 Studienmedikation**

Die Studienmedikation Vildagliptin (2 x 50 mg) und das Placebomedikament wurden in Tablettenform von der Firma Novartis Pharmaceutical Corporation, East Hanover, New Jersey, USA zur Verfügung gestellt. Die Ausgabe an die Probanden erfolgte entsprechend der Randomisierung der Patienten zu den einzelnen Studientagen. Die Bestimmungen des Arzneimittelgesetzes wurden eingehalten.

### **3.4.3 Magenentleerungsszintigraphie**

Die Magenentleerung wurde durch eine Magenentleerungsszintigraphie unter Verwendung einer Einkopfgammakamera (Orbiter, Siemens, Erlangen, Deutschland) bestimmt. Die Bestimmung der Magenentleerungsgeschwindigkeit durch eine Szintigraphie ist derzeitiger „Goldstandard“. Andere Verfahren zur Messung der Magenentleerung wie transabdominaler Ultraschall, <sup>13</sup>C-Atemtest, Kernspintomographie, antroduodenale Manometrie oder Kapseltelemetrie haben sich bisher nicht in diesem Maße in der Routinediagnostik durchgesetzt.

Die Untersuchung ist physiologisch und nicht-invasiv. Die Magenentleerung wurde dynamisch hochauflösend exakt mit einer Bildfrequenz von 20/Minute durch die Gammakamera gemessen. Neben der Magenentleerung ist daher die Bestimmung der phasischen Magenperistaltik (Kontraktionsamplitude, Kontraktionsfrequenz) möglich (149).

Die Szintigraphie wurde an nüchternen Patienten in halb liegender Position mit dem Gesicht zur Gammakamera durchgeführt. Die Probanden durften ihre Position während der Untersuchung nicht ändern. Nach Erstellung einer region of interest (ROI) über dem Magen (unter Ausschluss des Darms) wurde aus zerfallskorrigierten Zeit-Aktivitätskurven der Zeitverlauf der Magenentleerung abgeleitet und aus den Rohdaten ein kondensiertes

Bild erstellt. Durch derartige Zeit-Aktivitätskurven können quantitative Parameter wie lag-period, 50%-Entleerungszeit, prozentuale Entleerung zu bestimmten Zeitpunkten, die Entleerungsrate und die getrennte Entleerung proximaler-distaler Magen abgeleitet werden (149). Durch Anwendung einer Fast-Fourier-Transformation auf jede Zeile des kondensierten Bildes erhält man Amplitudenkoeffizienten für einen Frequenzbereich von 0–10/Minute als Funktion der Frequenz zur Messung der gastralen Motilität. Vom Amplitudenbild ausgehend, wurden charakteristische Histogramme mit einem typischen Peak bei einer Frequenz von etwa 2–3/Minute erstellt. Die Peaks resultierten aus den Kontraktionen des Magens. Die Kontraktionsfrequenz wurde aus der Lage des Peaks, die Kontraktionsamplitude aus der Fläche des Peaks bestimmt (149).

Über die Fast-Fourier-Transformation wurden somit folgende Parameter zur Beurteilung der phasischen Magenperistaltik abgeleitet:

- gastrale Kontraktionsfrequenz
- gastrale Kontraktionsamplitude

Die Markierung der semisoliden Testspeise erfolgte mit 75 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -Zinnkolloid. Es wurde sichergestellt, dass die Zubereitungsart und die Konsistenz der Nahrung sich auch an verschiedenen Untersuchungstagen nicht unterschieden. Technetium-markierte Kolloide werden nicht aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert und nicht an der Magenwand adsorbiert. Pro Magenentleerungsmessung lag die Strahlenbelastung bei etwa 1,8 mSv. Die Strahlenbelastung durch die Magenentleerungsszintigraphien lag mit 3,6 mSv bei 2 Untersuchungstagen damit deutlich unter der gesetzlich tolerierbaren Jahresdosis von 20 mSv. Eine Gesundheitsgefährdung der Probanden war somit nicht zu erwarten. Die Durchführung der Szintigraphien erfolgte in der Klinik für Nuklearmedizin des Klinikums Großhadern.

#### **3.4.4 Duodenale Perfusion**

Am 3. Untersuchungstag schluckten die Patienten eine nasoduodenale Sonde, deren Spitze im Duodenum zum Liegen kam. Es handelte sich um eine weiche Plastiksonde, die über ein Nasenloch eingeführt wurde. Vor Anlage der Sonde wurde ein Lokalanästhetikum in Salbenform in das betreffende Nasenloch eingebracht. Die korrekte Lage der Sonde wurde



durch eine kurze Röntgendurchleuchtung kontrolliert (< 15 Sekunden). Die dadurch entstandene Strahlenbelastung betrug weniger als 1 mSv.

Die flüssige Mahlzeit war hinsichtlich Kohlenhydratanteil, Glukoseanteil und Fettanteil identisch mit der oralen Mahlzeit und bestand aus folgenden Zutaten:

- 500 ml Wasser
- 6 g Aspikpulver
- 4 x Zitronensaft à 4,9 ml
- 51,7 g Glukosemonohydrat (= 47 g Glukose)
- 3 Eier

Die Perfusionsraten waren den szintigrafischen Magenentleerungsdaten des Placeboversuchtages (Treatment B) mit oraler Mahlzeitgabe nachgeahmt. Die Mahlzeitgabe erfolgte über Ernährungspumpen. Die Perfusionsraten wurden über eine Dekonvolution der szintigrafischen Gesamtmagenentleerung in die Entleerung der festen und flüssigen Phase nach einer Doppelisotopenstudie abgeleitet. In der Doppelisotopenstudie nahmen 6 Mitglieder der CRU (Silke Herrmann, Thilo Lindenberger, Mathias Nikolaus, Rita Schinkmann, Jörg Schirra, Hans-Jürgen Wörle) die beschriebene Testmahlzeit (Ei-Omelette, Götterspeise) ein und unterzogen sich einer Magenentleerungsszintigraphie. Ei-Omelette und Götterspeise waren unterschiedlich radioaktiv markiert. Das Ei-Omelette wurde mit  $^{99m}\text{Tc}$ -Zinnkolloid, die Götterspeise mit Indium markiert. In der Doppelisotopenstudie zeigte sich eine unterschiedliche Entleerung von Götterspeise und Ei: innerhalb der ersten 10 Minuten entleerte sich zu 76% Götterspeise (Indium) und zu 24% Ei (Tc). Während der „Ei-lag-phase“ entleerte sich überwiegend Götterspeise (Indium), ab Beginn der linearen Entleerung entleerten sich Ei und Götterspeise in etwa gleich. Ab dem Zeitpunkt einer 30%igen Retention entleerte sich nur noch wenig Indium. Die Glukoseentleerung (Indium) wurde nach einer nicht-linearen Regression geschätzt und das erhaltene Polynom  $y = 0,0001 x^3 - 0,0101 x^2 + 1,0186 x$   $R^2 = 0,9971$  bei den Teilnehmern der eigentlichen Studie zur Abschätzung der Glukoseentleerungsraten eingesetzt. Nach visueller Bestimmung der Dauer der initial raschen Entleerung (76% Götterspeise) und des Zeitpunkts der ersten stärkeren Radioaktivitätsabnahme (stärkere Entleerung von Ei), wurden die Perfusionsraten unter Berücksichtigung des Volumens der Perfusionslösung abgeleitet. Durch die Durchführung

der Doppelisotopenstudie wurde eine Einsparung von Radioaktivität bei den Teilnehmern der eigentlichen Studie erreicht.

Abbildung 8 zeigt die szintigrafische Gesamtmagenentleerung in der Doppelisotopenstudie, unterteilt in die Entleerung der festen ( $^{99m}\text{Tc}$ -Zinnkolloid) und der flüssigen (Indium) Phase.

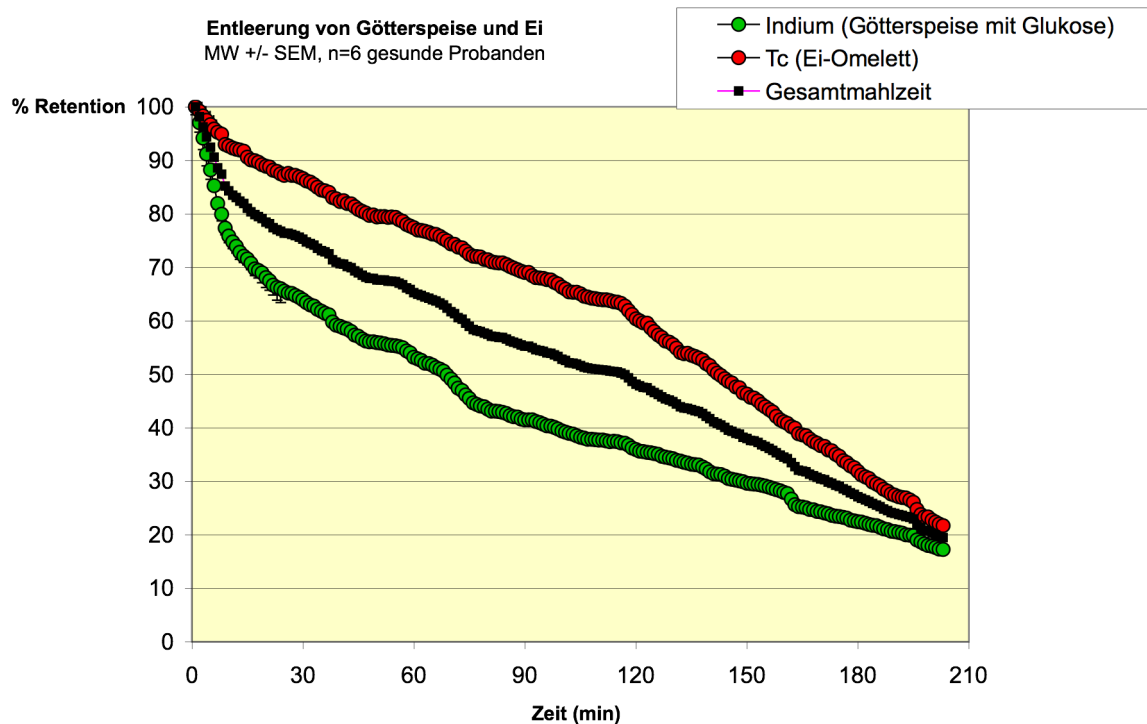


Abbildung 8: Szintigrafische Gesamtmagenentleerung in der Doppelisotopenstudie unterteilt in die Entleerung der festen ( $^{99m}\text{Tc}$ -Zinnkolloid) und der flüssigen (Indium) Phase

### 3.4.5 Strahlenbelastung

Wie bereits oben beschrieben, wurden die Probanden im Rahmen der Magenentleerungsszintigraphie sowie der Röntgendurchleuchtung bei Anlage der Duodenalsonde einer Strahlenbelastung ausgesetzt.

In Tabelle 1 wird die mittlere Strahlenbelastung der Probanden bei den jeweiligen Untersuchungen gezeigt.

1. Tag Szintigraphie		2. Tag Szintigraphie		Szintigraphie Gesamt	Oberbauchdurchleuchtung
Aktivität A1 (MBq)		Aktivität A2 (MBq)		Gesamt-Aktivität (MBq)	Effektive Dosis Abdomen
genehmigt max. 75 MBq		genehmigt max. 75 MBq		genehmigt max. 150 MBq	Konversionsfaktor Abdomen = 0.323 mSv / (Gy x qcm)
1	74,1		75,3	149,5	0,174
2	74,1		72,1	146,2	0,142
3	75,1		74,2	149,2	0,071
4	73,3		73,9	147,2	0,074
5	74,5		75,6	150,1	0,074
6	73,5		72,7	146,3	0,203
7	73,0		75,2	148,2	0,200
8	75,2		74,1	149,3	0,061
9	75,1		67,4	142,5	0,165
10	72,5		73,3	145,8	0,329
11	75,5		74,1	149,6	0,090
12	73,3		74,4	147,7	0,162
13	70,8		73,5	144,3	0,087
14	75,4		73,4	148,8	0,123
15	75,4		73,0	148,5	Keine Durchleuchtung
16	75,7		73,6	149,4	0,032
17	75,2		72,7	147,9	0,023
18	72,7		73,9	146,6	0,401
MW	74,1		73,5	147,6	0,14
SEM	1,3		1,8	2,0	0,10
Min	70,8		67,4	142,5	0,02
Max	75,7		75,6	150,1	0,40

**Tabelle 1: Mittlere Strahlenbelastung der Studienteilnehmer im Rahmen der Magen-entleerungsszintigraphien (MBq) und der Oberbauchdurchleuchtung (mSv). MW +/- SEM.**

Bei Proband 15 wurde keine duodenale Perfusion durchgeführt, da der Patient die naso-duodenale Sonde nach Anlage nicht akzeptiert hat.

### ***3.5 Pharmakodynamische Parameter***

#### **3.5.1 Magenentleerung und Magenperistaltik**

Als Parameter der Magenentleerungskinetik wurden aus den Ergebnissen der gastralen Retentionsdaten (Retention = verbliebener Mageninhalt zu einem bestimmten Zeitpunkt) bestimmt:

- Entleerungsrate (%/min)
- lag-period  
Die lag-period gibt den Zeitpunkt an, an dem 10% des Mageninhalts entleert sind. Dies entspricht dem Zeitpunkt einer 90%igen Retention.
- Halbwertszeit  
Die Halbwertszeit gibt den Zeitpunkt an, an dem 50% des Mageninhalts entleert sind. Dies entspricht dem Zeitpunkt einer 50%igen Retention.
- kumulative Magenentleerung  
Die kumulative Magenentleerung gibt den Zeitpunkt an, an dem 10% bis 90% des Mageninhalts entleert sind. Dies entspricht den Zeitpunkten einer 10%igen bis 90%igen Retention.
- Entleerung proximaler und distaler Magen

Die gastrale Peristaltik wurde durch eine Fast-Fourier-Transformation (FFT) aus den Daten der Magenentleerungskinetik abgeleitet. Es wurde die gastrale Kontraktionsamplitude sowie die gastrale Kontraktionsfrequenz bestimmt (siehe Punkt 3.4.3)

#### **3.5.2 Plasmahormone und Glukose**

Plasmahormone und Glukose wurden aus EDTA-Blutentnahmen bestimmt. Die EDTA-Monovetten enthielten 400 µl (= 500 KIE/ml Blut) des Proteaseinhibitors Aprotinin (Trasylol®, Bayer) und 400 µl des Dipeptidylpeptidase-Inhibitors 3mM Diprotin A. Die Blutproben wurden in eisgekühlten Monovetten gesammelt und nach Entnahme 15 Minuten bei 5000 Upm in der Kühlzentrifuge zur Abtrennung des Plasmas zentrifugiert. Die Plasmaproben wurden sofort bei -20°C eingefroren. An jedem Versuchstag wurden 15 Blutproben à 9 ml entnommen.

Plasmahormone und Plasmaglukose wurden mit folgenden Methoden gemessen:

- **Plasmaglukose:** modifizierte Glukose-Dehydrogenase-Methode (Hemocue®, Hemocue AB, Ängelholm, Schweden), Ort der Messung: CRU Med II, Klinikum Großhadern
- **Insulin:** RIA, Human Insulin-Specific RIA Kit, Linco Research, Inc., St. Charles, Missouri, USA, Ort der Messung: CRU Med II, Klinikum Großhadern, München
- **C-Peptid:** RIA, Human C-Peptide RIA Kit, Linco Research, Inc., St. Charles, Missouri, USA, Ort der Messung: CRU Med II, Klinikum Großhadern, München
- **Glukagon:** RIA, Human Glucagon RIA Kit, Linco Research, Inc., Missouri, USA, Ort der Messung: CRU Med II, Klinikum Großhadern, München
- **GIP (bioaktiv):** RIA, Prof. Jens Juul Holst, Department of Biomedical Sciences, University of Copenhagen, the Panum Institute, Dänemark
- **GLP-1 (bioaktiv):** RIA, Prof. Jens Juul Holst, Department of Biomedical Sciences, University of Copenhagen, the Panum Institute, Dänemark
- **PYY (1-36):** RIA, Prof. Dr. Christoph Beglinger, Department Gastroenterologie, Universitätsspital Basel, Schweiz
- **PYY (3-36):** RIA, Prof. Dr. Christoph Beglinger, Department Gastroenterologie, Universitätsspital Basel, Schweiz

### 3.5.3 Glukoseenrichment

Die Glukoseflüsse (Gesamtglukoseerscheinerate, Mahlzeitglukoseerscheinerate, endogene Glukoseproduktion) wurden unter Einsatz nicht-radioaktiver Tracer (stabile Glukoseisotope) zur Markierung der oralen Glukose ( $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$  Glukose) und des systemischen Glukosepools ( $[1\text{-}^{13}\text{C}]$  Glukose) kalkuliert (150-152). Beide stabile Glukoseisotope sind nicht toxisch und werden nach dem gleichen Metabolismus abgebaut wie natürliche Glukose. Nebenwirkungen bei der Verabreichung sind nicht bekannt. Die Anreicherungen von  $[1\text{-}^{13}\text{C}]$  Glukose und  $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$  Glukose im Plasma wurden mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie bestimmt (153), analysiert durch Prof. J. Gerich, University of Rochester, General Clinical Research Center, NY, USA. Die systemische Freisetzung und Aufnahme von Glukose wurde in der präprandialen Phase mittels der Steady-State-Gleichung  $R_a = R_d = I / (E \times B_w)$  berechnet, wobei  $R_a$  (Rate of Appearance) der Erscheinerate von Glukose im Plasma in  $\mu\text{mol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ ,  $R_d$  (Rate of Disappearance) der Rate der peripheren Aufnahme von Glukose aus dem Plasma in  $\mu\text{mol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ ,  $I$  der Infusionsrate des Tracers  $[1\text{-}^{13}\text{C}]$  Glukose in

$\mu\text{mol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ , E der Anreicherung des Tracers im Plasma und Bw (Body Weight) dem Körpergewicht in kg entspricht (150). In der postprandialen Phase wurden Non-Steady-State-Gleichungen verwendet (151), wobei eine Pool Fraktion von 0,65 und ein Verteilungsvolumen von 200 ml / kg vorausgesetzt wurden:

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

$$Rd = Ra - 130 \times (G_2 - G_1) / t.$$

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

Die Erscheinerate der oral zugeführten Glukose in der systemischen Zirkulation wurde mittels der Anreicherung von [6,6- $^2\text{H}_2$ ] Glukose im Plasma unter Verwendung der Gleichung von Chiasson et al kalkuliert (152,154):

$$((0,25 \times (Rd_1 + Rd_2) \times (G_1 + G_2) + 130 / t \times (E_2 \times G_2 - E_1 \times G_1)) / E_{\text{meal}}.$$

$E_{\text{meal}}$  steht hierbei für die Anreicherung des Tracers [6,6- $^2\text{H}_2$ ] Glukose in der gegebenen Götterspeise. Die Erscheinerate endogener Glukose im Plasma wurde kalkuliert als die Differenz von Gesamtglukoseerscheinerate und Erscheinerate exogener Glukose (154,155).

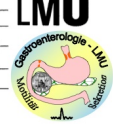
### **3.5.4 Gastrointestinale Perzeption**

Die gastrointestinale Perzeption (subjektive gastrointestinale Empfindungen) in Bezug auf Hunger und Sättigung wurde anhand von VAS bestimmt. Die VAS-Scores wurden an jedem Untersuchungstag alle 30 Minuten von den Probanden ausgefüllt. Die Studienteilnehmer dokumentierten auf einer 10 cm langen Skala ihre subjektiven Empfindungen von 0 cm (keine Empfindung) bis 10 cm (sehr unangenehme Empfindung).

Abbildung 9 zeigt eine Visuelle Analog Skala (VAS).

Clinical Research Unit (CRU)  
Gastrointestinal and Endocrine Physiology  
Department of Internal Medicine II – Großhadern  
University of Munich

\_\_\_\_\_ **LMU**  
Ludwig \_\_\_\_\_  
Maximilians \_\_\_\_\_  
Universität \_\_\_\_\_  
München \_\_\_\_\_



**Study CLAF237A2378**

---

Date \_\_\_\_\_

Subject No.<sup>1</sup> \_\_\_\_\_ Code of experiment<sup>2</sup> \_\_\_\_\_

Treatment: ① ② ③ (tick)      Number of VAS sheet \_\_\_\_\_

---

**Intensität der Empfindungen?**

Bitte Markierung setzen (senkrechter Strich).

— **Druck/Völlegefühl**      min \_\_\_\_\_ max

\_\_\_\_\_

min \_\_\_\_\_ max

**Hunger**      \_\_\_\_\_

— **Übelkeit**      min \_\_\_\_\_ max

\_\_\_\_\_

min \_\_\_\_\_ max

**Sättigung**      \_\_\_\_\_

---

<sup>1</sup> subject number in screening order      <sup>2</sup> 1, 2, ... : subject number / 1, 2, or 3: treatment number

**Abbildung 9: Visuelle Analog Skala (VAS)**

### ***3.6 Patientenmonitoring***

Alle unerwünschten Ereignisse wurden von den Studienärzten gesammelt und dokumentiert. Ein unerwünschtes Ereignis konnte vom Studienteilnehmer angegeben werden, mittels Fragen von den Studienärzten aufgedeckt werden oder durch körperliche Untersuchung, laborchemische Untersuchungen oder andere Untersuchungsmethoden erkannt werden. Unter einem unerwünschten Ereignis verstand man das Auftreten oder die

Verschlechterung jeglicher unerwünschter Symptome oder des Gesundheitszustandes des Studienteilnehmers nach dem erstmaligen Einnehmen der Studienmedikation, auch dann, wenn der Vorfall nicht mit der Studienmedikation in Verbindung gebracht wurde. Beschwerden oder Krankheiten, die bereits vor Studienbeginn bestanden hatten, wurden nur dann als unerwünschte Ereignisse interpretiert, wenn eine Verschlechterung nach erstmaliger Einnahme der Studienmedikation auftrat. Anomale Laborwerte wurden nur dann als unerwünschte Ereignisse gewertet, wenn sie eine klinische Symptomatik hervorriefen, als klinisch relevant angesehen wurden oder eine medizinische Intervention erforderten. Der Sponsor wurde zeitnah über das Auftreten unerwünschter Ereignisse informiert. Für jedes unerwünschte Ereignis sollten folgende Kriterien bestimmt werden:

- der Schweregrad (leicht, mittelschwer, schwer)
- die Beziehung zur Studienmedikation
- die Dauer
- die durchgeführten Maßnahmen
- ob es sich um ein schweres unerwünschtes Ereignis handelt

Um ein schweres unerwünschtes Ereignis handelte es sich dann, wenn das Ereignis tödlich oder lebensbedrohlich war, eine andauernde oder schwerwiegende Behinderung zur Folge hatte, zu einer Missbildung führte oder einen Krankenhausaufenthalt des Studienteilnehmers zur Folge hatte. Jedes unerwünschte Ereignis musste zeitnah und adäquat behandelt und bis zur Klärung seiner genauen Ursache zurückverfolgt werden. Jedes schwere unerwünschte Ereignis musste innerhalb von 24 Stunden dem Sponsor gemeldet werden.

### ***3.7 Statistik***

Die Ergebnisse wurden als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standard Error of the Mean (SEM) angegeben. Die gastrale Retention wurde zu einem Zeitpunkt  $t = 100$  min, die mittlere Entleerungsrate im Zeitraum 0–240 Minuten, die lag-period, die 50%-Halbwertszeit sowie die Magenperistaltikdaten mit einem gepaarten t-Test untersucht. Plasmahormone, Plasmaglukose und VAS-Scores wurden als Werte über basal ab einem Zeitpunkt 0–240 Minuten grafisch dargestellt und als Fläche unter der Kurve (Area under the Curve/AUC) unter Verwendung einer einfaktoriellen ANOVA für Messwiederholungen analysiert. Bei



einem signifikanten Gruppenunterschied wurde der Student-Newman-Keuls-Test für die Subgruppenanalyse eingesetzt. Die Glukoseenrichmentdaten wurden als Werte über basal ab einem Zeitpunkt 0 grafisch dargestellt und als Fläche unter der Kurve (AUC) mit einem gepaarten t-Test innerhalb der ersten 60 Minuten analysiert. Die Enrichmentdaten der duodenalen Perfusion wurden nicht verwendet, da keine absolute Simulation der Magenentleerungskinetik erreicht wurde. Die Normalverteilung der Daten wurde jeweils mit einem Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft. Unterschiede wurden bei  $p < 0,05$  als signifikant angesehen.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Magenentleerung und Magenperistaltik

#### 4.1.1 Entleerungsrate, lag-period, Halbwertszeit, kumulative Magenentleerung

Die Daten (MW +/- SEM) zu Entleerungsrate (mittlere Entleerungsrate 0–240 min), lag-period (10%-Entleerungszeit), Halbwertszeit (50%-Entleerungszeit) und kumulativer Magenentleerung (Gastrale Retention in 100 min) sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Die grafische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 10–12.

	<b>Placebo</b> <b>MW +/- SEM</b>	<b>Verum</b> <b>MW +/- SEM</b>	<b>p</b>
<b>mittlere Entleerungsrate</b> <b>0–240 min (%/min)</b>	0,032 +/- 0,02	0,028 +/- 0,02	p = 0,0037
<b>lag-period</b> <b>(10%-Entleerungszeit, min)</b>	27,1 +/- 4,6	58,8 +/- 13,8	p = 0,0029
<b>Halbwertszeit</b> <b>(50%-Entleerungszeit, min)</b>	178,6 +/- 7,3	203,8 +/- 11,2	p = 0,0048
<b>Gastrale Retention</b> <b>nach 100 min (%)</b>	76,7 +/- 2,4	81,0 +/- 2,3	p = 0,0065

**Tabelle 2: mittlere Entleerungsrate 0–240 min, lag-period, Halbwertszeit, Gastrale Retention nach 100 min nach Einnahme von Placebo oder Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

Die mittlere Entleerungsrate innerhalb der ersten 240 Minuten nach Einnahme der Testmahlzeit liegt nach oraler Gabe des Placebos bei  $0,032 \pm 0,02\%/min$ . Dagegen resultiert nach oraler Gabe des Verums Vildagliptin eine signifikant niedrigere Entleerungsrate innerhalb dieses Zeitrahmens ( $0,028 \pm 0,02\%/min$ ,  $p = 0,0037$ ).

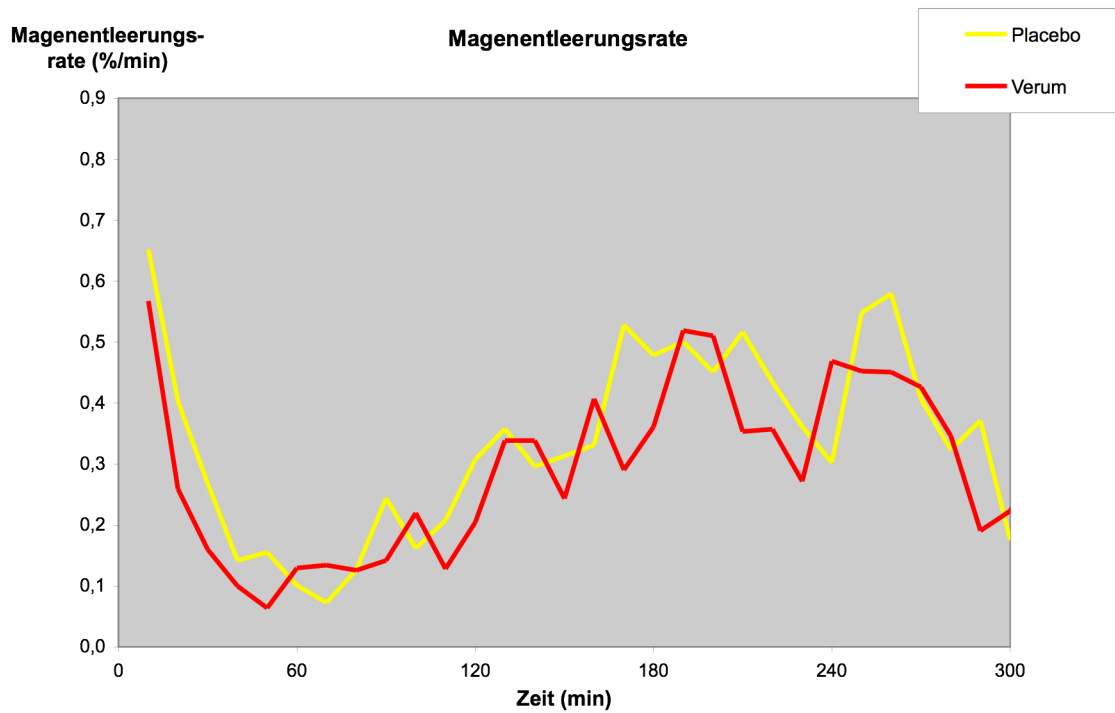
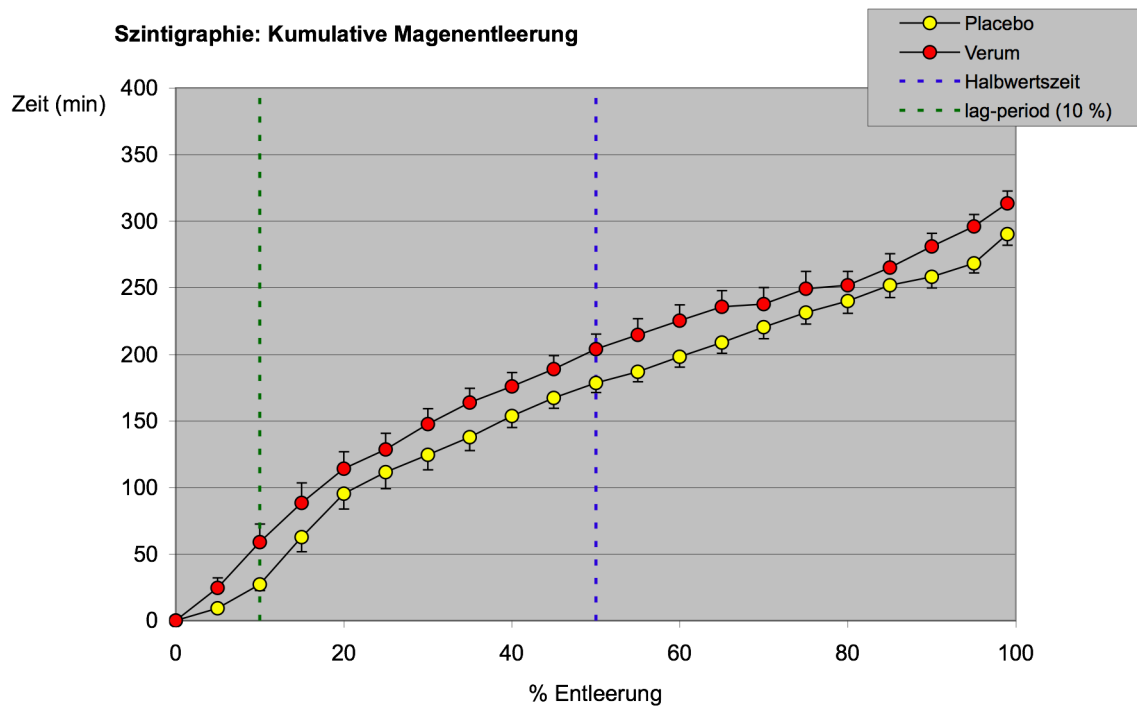


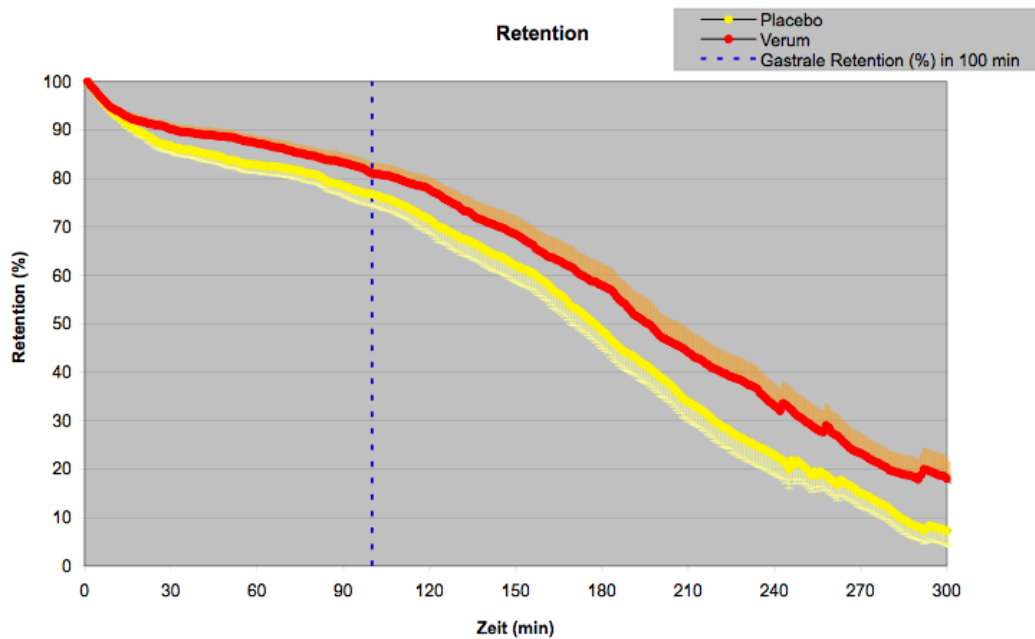
Abbildung 10: mittlere Entleerungsrate 0-240 min (%/min) nach Einnahme von Placebo oder Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.

Vildagliptin verlängert die lag-period (58,8 +/- 13,8 vs. 27,1 +/- 4,6 min, p = 0,0029) gegenüber der Placebogabe. Die lag-period gibt den Zeitraum an, in dem 10% des Mageninhalts entleert werden. Ebenso zeigt sich eine signifikante Verzögerung der 50%-Entleerungszeit (Halbwertszeit) unter Verumgabe im Gegensatz zu Placebogabe (203,8 +/- 11,2 vs. 178,6 +/- 7,3 min, p = 0,0048).



**Abbildung 11: Kumulative Magenentleerung, lag-period (min), Halbwertszeit (min) nach Einnahme von Placebo oder Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

Nach Einnahme von Vildagliptin zu der Testmahlzeit sind nach 100 min noch 81,0 +/- 2,3% der Mahlzeit bei 18 Probanden im Magen verblieben. Dagegen sind im Placeboversuch nur noch 76,7 +/- 2,4% der Testmahlzeit szintigrafisch im Magen zu diesem Zeitpunkt nachweisbar ( $p = 0,0065$ ).



**Abbildung 12: Gesamt-Retention (%), Gastrale Retention in 100 min (%) nach Einnahme von Placebo oder Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

#### 4.1.2 Magenentleerung proximaler und distaler Magen

In Abbildung 13 ist die getrennte Magenentleerung proximaler Magen und distaler Magen dargestellt. Aus der Graphik ist ersichtlich, dass hauptsächlich der proximale Magen sowohl für die Gesamtmagenentleerung als auch für die Magenentleerungsverzögerung nach Gabe von Vildagliptin verantwortlich ist ( $p < 0,05$ ).

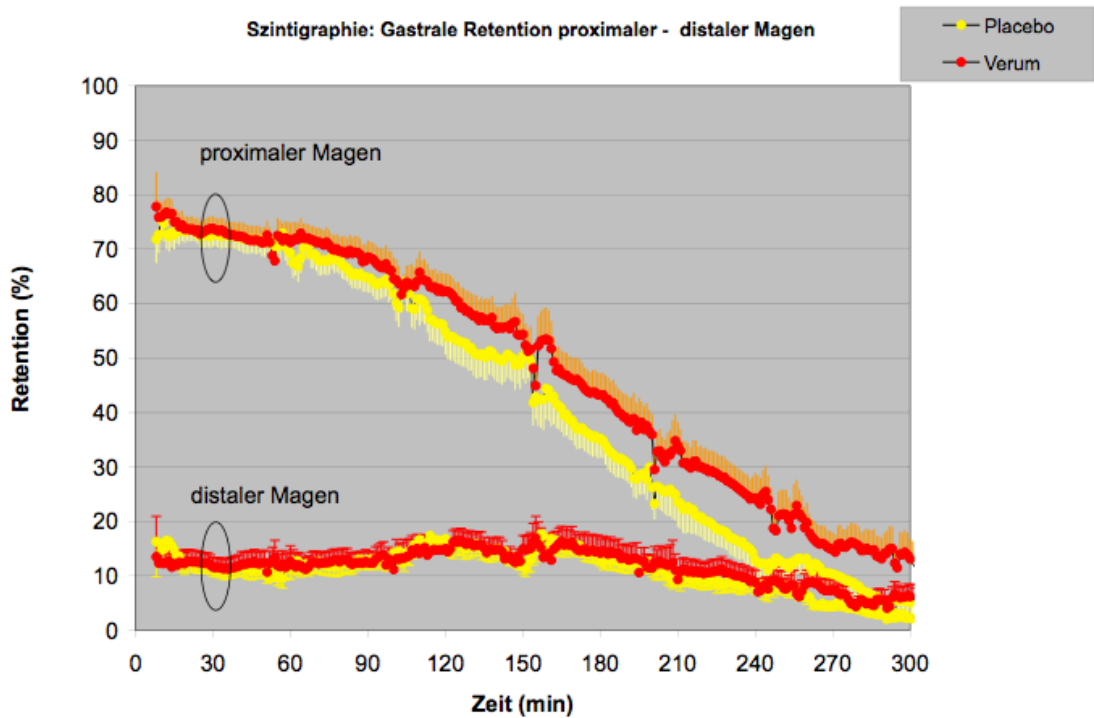


Abbildung 13: Kumulative Gastrale Retention (%) unterschieden in proximalen und distalen Magen nach Einnahme von Placebo oder Verum, n = 18, MW +/- SEM.

### 4.1.3 Kontraktionsfrequenz, Kontraktionsamplitude

Die Magenperistaltikdaten (MW +/- SEM) zu Kontraktionsfrequenz (/min) und Kontraktionsamplitude (%) innerhalb der ersten 240 Minuten werden in Abbildung 14 dargestellt. Nach Einnahme von Vildagliptin zur Testmahlzeit kommt es zu einer signifikant verzögerten gastralen Kontraktionsamplitude im Vergleich zum Placeboversuch (4,35 +/- 0,27 vs. 5,12 +/- 0,35%, p = 0,005). Die Kontraktionsfrequenz bleibt bei Einnahme von Verum und Placebo unverändert (2,91 +/- 0,04 vs. 2,91 +/- 0,04 /min).

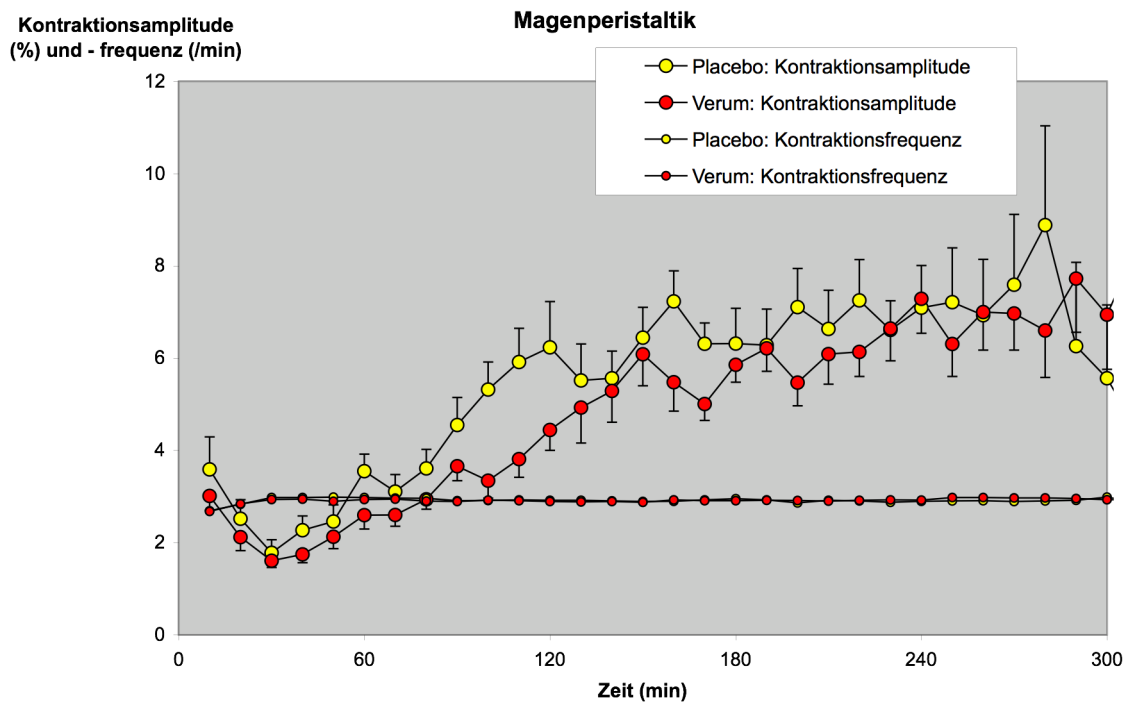


Abbildung 14: Kontraktionsamplitude (%), Kontraktionsfrequenz (/min) nach Einnahme von Placebo oder Verum, n = 18, MW +/- SEM.

## 4.2 Plasmahormone und Glukose

Die Daten (MW +/- SEM, AUC über basal, 240 min) für Plasmaglukose, Insulin, C-Peptid, Glukagon, GLP-1 (bioaktiv), GIP (bioaktiv), PYY (1-36) sowie PYY (3-36) sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Die grafische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 15–30.

	orale Mahlzeit		duodenale Perfusion	p Placebo oral vs. Verum oral	p Verum oral vs. Verum duodenal	p Placebo oral vs. Verum duodenal
	Placebo MW +/- SEM	Verum MW +/- SEM	Verum MW +/- SEM			
Plasmaglukose (mg/dl, AUC über basal, 240 min)	598,8 +/- 50,1	398,3 +/- 35,5	325,5 +/- 60,9	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Insulin (µU/ml, AUC über basal, 240 min)	286,4 +/- 29,3	248,4 +/- 28,1	218,0 +/- 30,7	ns	ns	ns
C-Peptid (ng/ml, AUC über basal, 240 min)	38,5 +/- 3,1	35,9 +/- 3,1	32,9 +/- 3,4	ns	ns	ns
Glukagon (pg/ml, AUC über basal, 240 min)	81,2 +/- 19,6	-4,6 +/- 21,0	-4,9 +/- 22,7	p < 0,05	ns	p < 0,05
GLP-1 (bioaktiv) (pg/ml, AUC über basal, 240 min)	2,9 +/- 1,7	21,7 +/- 3,3	24,9 +/- 3,8	p < 0,05	p = 0,42 (ns)	p < 0,05
GIP (bioaktiv) (pg/ml, AUC über basal, 240 min)	149,0 +/- 23,1	298,5 +/- 25,3	346,2 +/- 29,3	p < 0,05	p = 0,097 (ns)	p < 0,05
PYY (1-36) (pg/ml, AUC über basal, 240 min)	213,0 +/- 39,1	73,6 +/- 15,4	109,9 +/- 33,6	p < 0,05	ns	p < 0,05
PYY (3-36) (pg/ml, AUC über basal, 240 min)	83,5 +/- 35,0	-70,6 +/- 26,0	-17,8 +/- 24,7	p < 0,05	ns	p < 0,05

**Tabelle 3: Plasmaglukose, Insulin, C-Peptid, Glukagon, GLP-1 (bioaktiv), GIP (bioaktiv), PYY (1-36), PYY (3-36) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.**



### 4.2.1 Plasmaglukose

Die Plasmaglukosdaten werden in den Abbildungen 15 und 16 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasmaglukose liegt im Verum-oral-Versuch deutlich niedriger als im Placebo-oral-Versuch (398,3 +/- 35,5 vs. 598,8 +/- 50,1 mg/dl,  $p < 0,05$ ). Vildagliptin senkt somit die Plasmaglukosespiegel nach oraler Einnahme gegenüber Placebo signifikant. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasmaglukose im Vergleich zu Verum oral (325,5 +/- 60,9 vs. 398,3 +/- 35,5 mg/dl,  $p < 0,05$ ) als auch zu Placebo oral (325,5 +/- 60,9 vs. 598,8 +/- 50,1 mg/dl,  $p < 0,05$ ) signifikant verringert. Der Vergleich Verum duodenal zu Placebo oral zeigt die magenentleerungsunabhängige Wirkung von Vildagliptin auf die Plasmaglukosekonzentrationen.

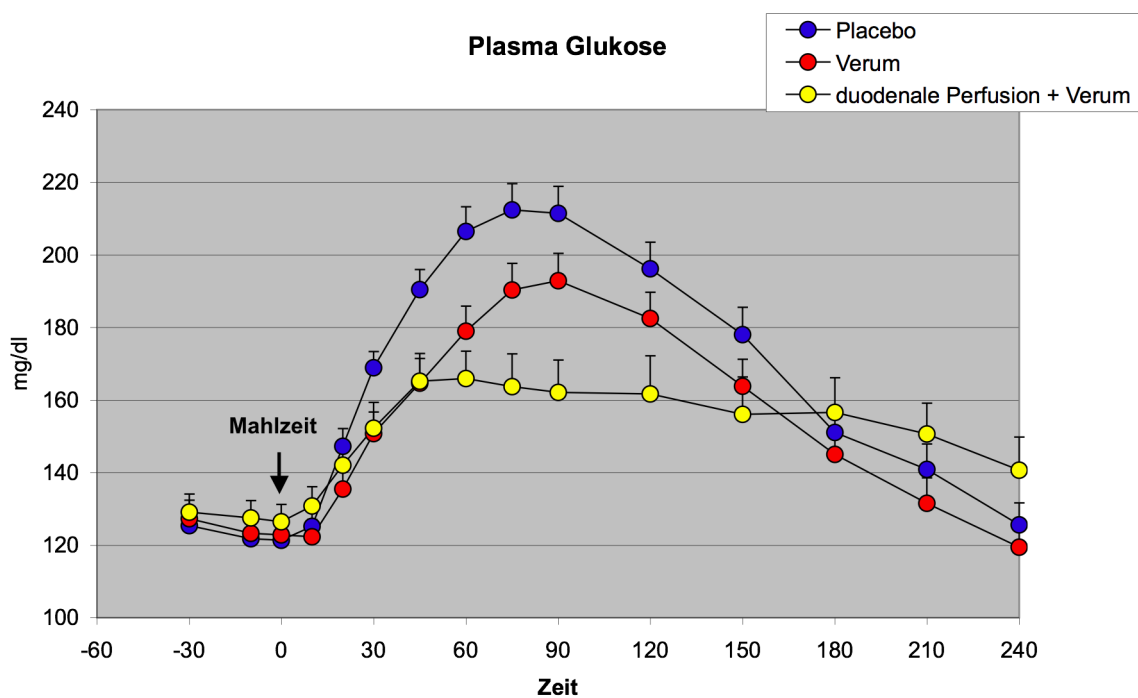
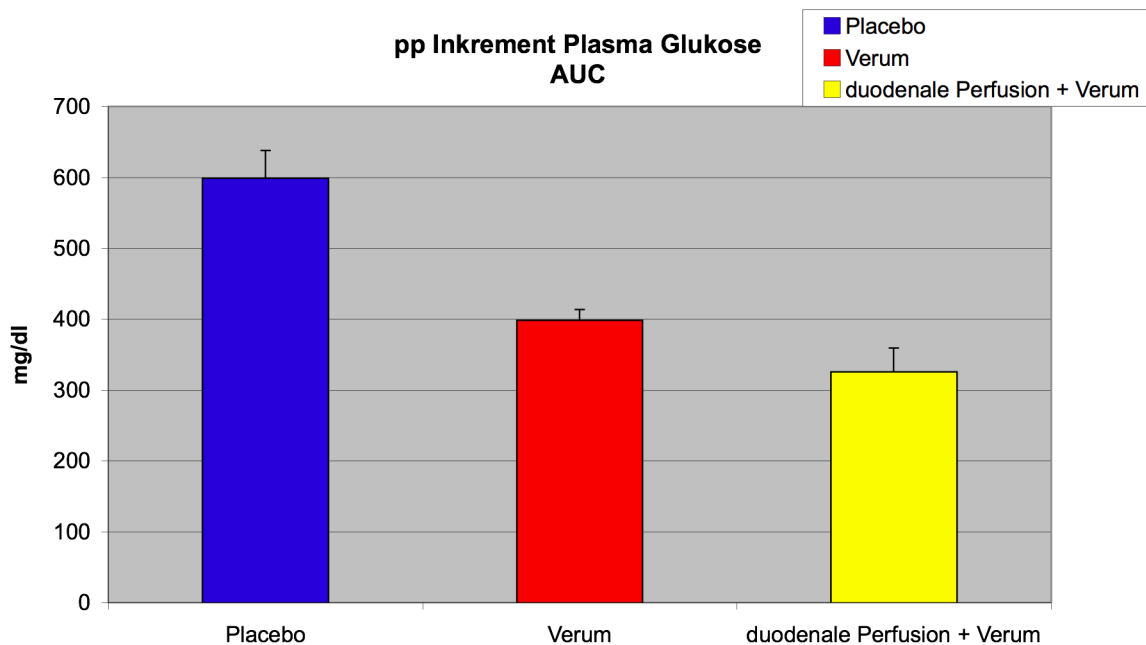


Abbildung 15: Plasmaglukose (mg/dl) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.



**Abbildung 16: Plasmaglukose (mg/dl, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

#### 4.2.2 Insulin

Die Insulindaten werden in den Abbildungen 17 und 18 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasmainsulin liegt im Verum-oral-Versuch etwas niedriger als im Placebo-oral-Versuch (248,4 +/- 28,1 vs. 286,4 +/- 29,3  $\mu$ U/ml, ns). Nach Gabe von Vildagliptin oral kann jedoch keine signifikante Änderung der Plasmainsulinspiegel im Vergleich zu oraler Placebogabe gesehen werden. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasmainsulin im Vergleich zu Verum oral (218,0 +/- 30,7 vs. 248,4 +/- 28,1  $\mu$ U/ml, ns) als auch im Vergleich zu Placebo oral (218,0 +/- 30,7 vs 286,4 +/- 28,1  $\mu$ U/ml, ns) leicht, aber nicht signifikant verringert. Die Kinetik der Insulinplasmakonzentrationen unter duodenaler Perfusion zeigt jedoch, dass die duodenale Mahlzeitperfusion initial zu niedrig und im späteren Verlauf zu hoch war.

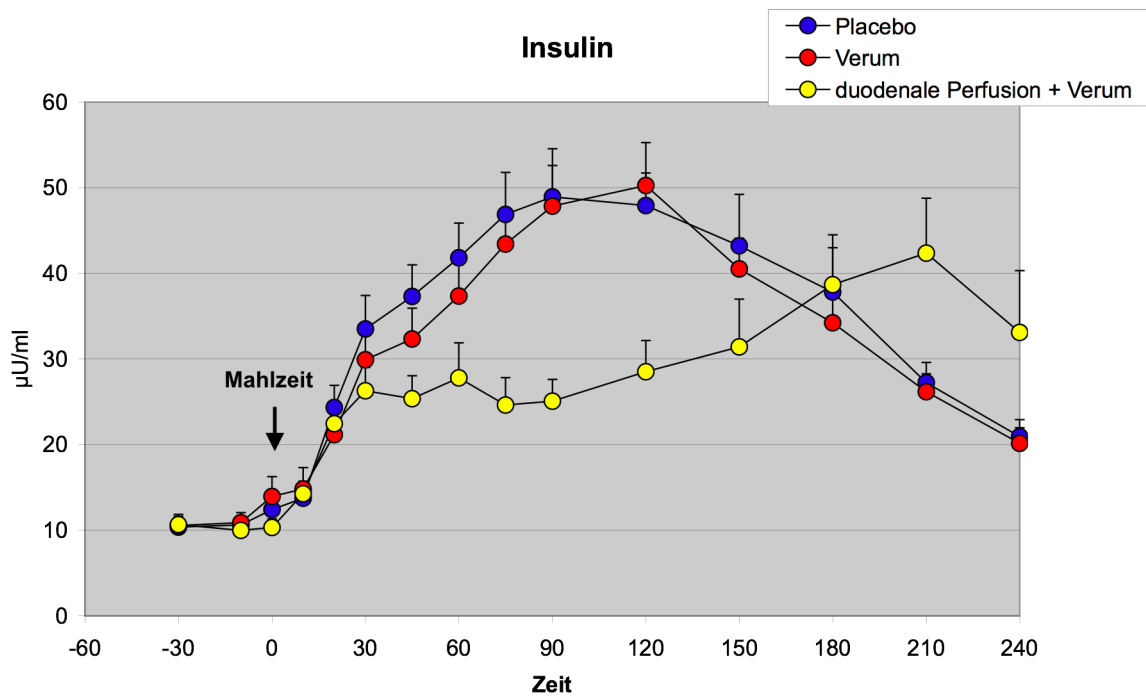


Abbildung 17: Plasmainsulin ( $\mu\text{U}/\text{ml}$ ) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.

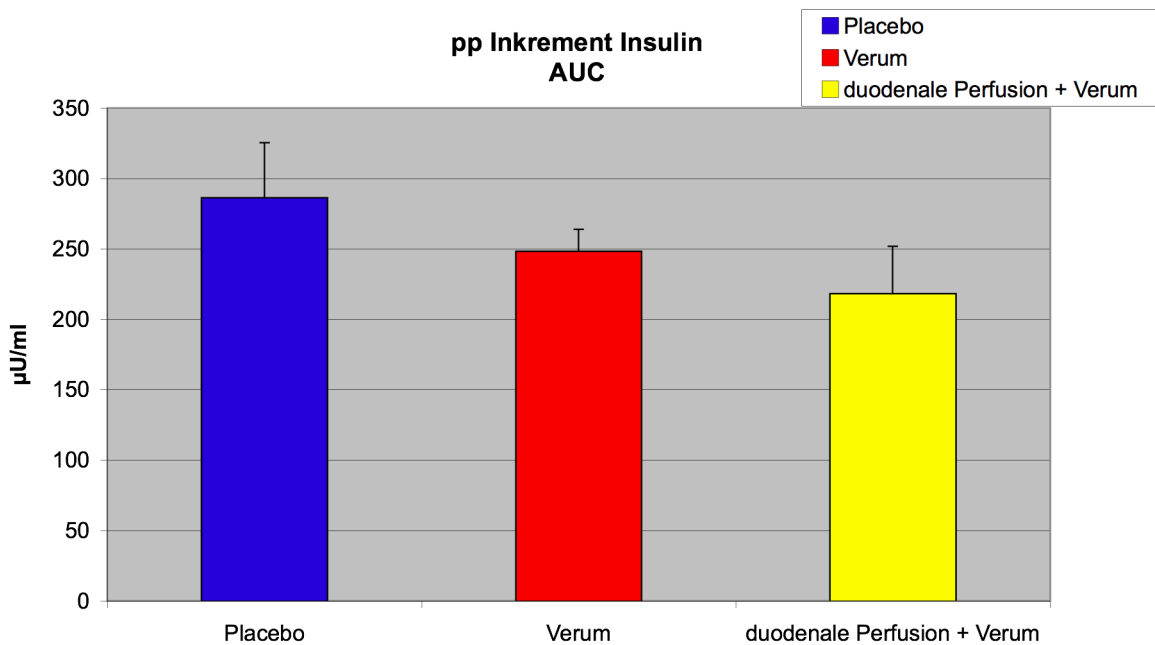


Abbildung 18: Plasmainsulin ( $\mu\text{U}/\text{ml}$ , AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.

### 4.2.3 C-Peptid

Die C-Peptid-Daten werden in den Abbildungen 19 und 20 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-C-Peptid liegt im Verum-oral-Versuch etwas niedriger als im Placebo-oral-Versuch (35,9 +/- 3,1 vs. 38,5 +/- 3,1 ng/ml, ns). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit nicht zu einer signifikanten Änderung der Plasma-C-Peptid-Sekretion im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-C-Peptid im Vergleich zu Verum oral (32,9 +/- 3,4 vs. 35,9 +/- 3,1 ng/ml, ns) als auch im Vergleich zu Placebo (32,9 +/- 3,4 vs. 38,5 +/- 3,1 ng/ml, ns) leicht, aber nicht signifikant verringert. Auch an den C-Peptid-Plasma-Konzentrationen zeigt sich, dass die initialen Mahlzeitperfusionen im Rahmen der duodenalen Perfusion zu niedrig und im späteren Verlauf zu hoch lagen.

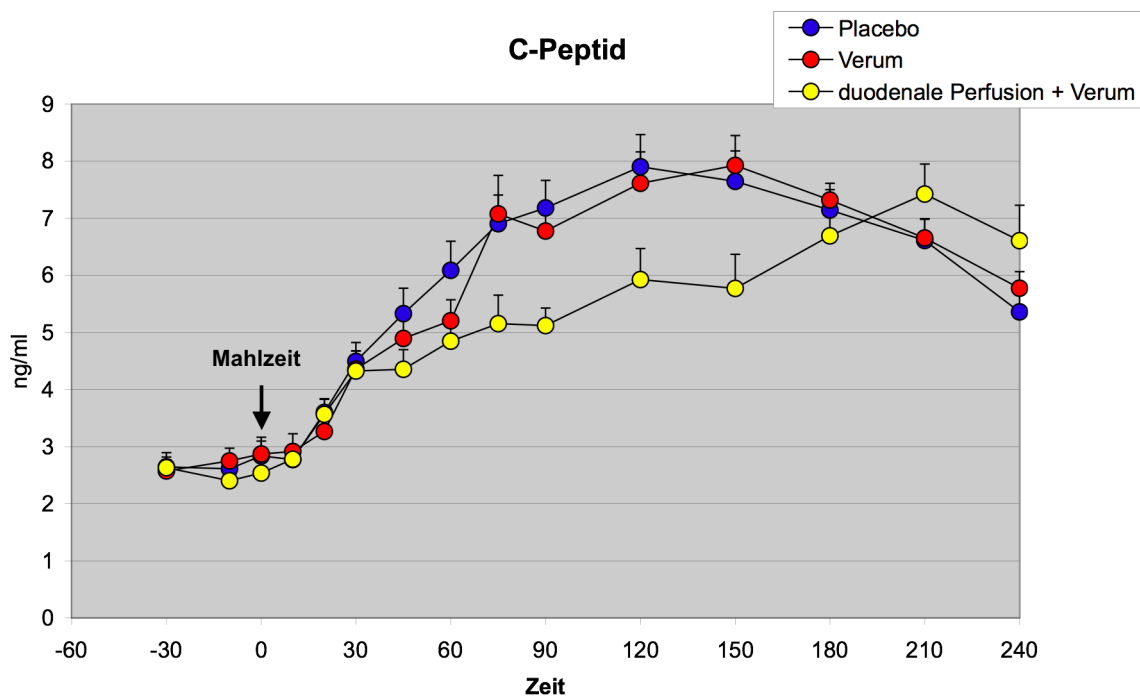
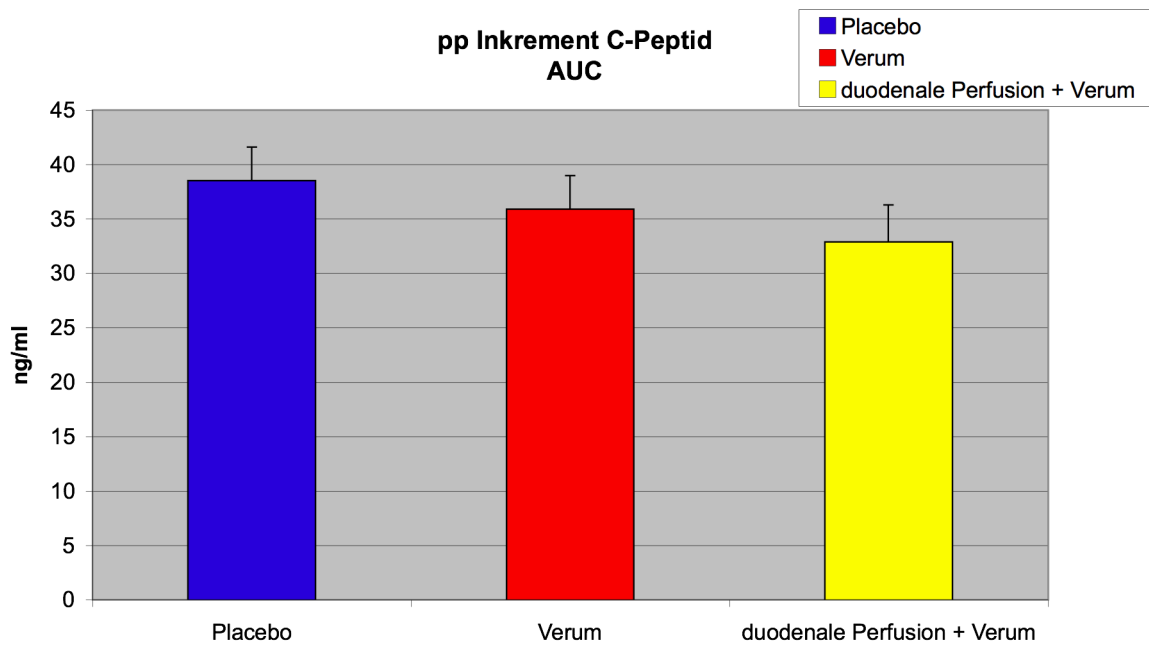


Abbildung 19: Plasma-C-Peptid (ng/ml) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.



**Abbildung 20: Plasma-C-Peptid (ng/ml, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM**

#### 4.2.4 Glukagon

Die Glukagondaten werden in den Abbildungen 21 und 22 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasmaglukagon liegt im Verum-oral-Versuch deutlich niedriger als im Placebo-oral-Versuch (-4,6 +/- 21,0 vs. 81,2 +/- 19,6 pg/ml,  $p < 0,05$ ). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit zu einer signifikanten Hemmung der Plasmaglukagonsekretion im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasmaglukagon im Vergleich zu Placebo stark erniedrigt (-4,9 +/- 22,7 vs. 81,2 +/- 19,6 pg/ml,  $p < 0,05$ ). Im Vergleich zu der oralen Verumgabe findet sich kaum eine Änderung der Plasmaglukagonsekretion bei duodенaler Perfusion der Testmahlzeit (-4,9 +/- 22,7 vs. -4,6 +/- 21,0 pg/ml, ns). Der Vergleich Verum duodenal zu Placebo oral zeigt die magenentleerungsunabhängige Wirkung von Vildagliptin auf die Plasmaglukagonspiegel.

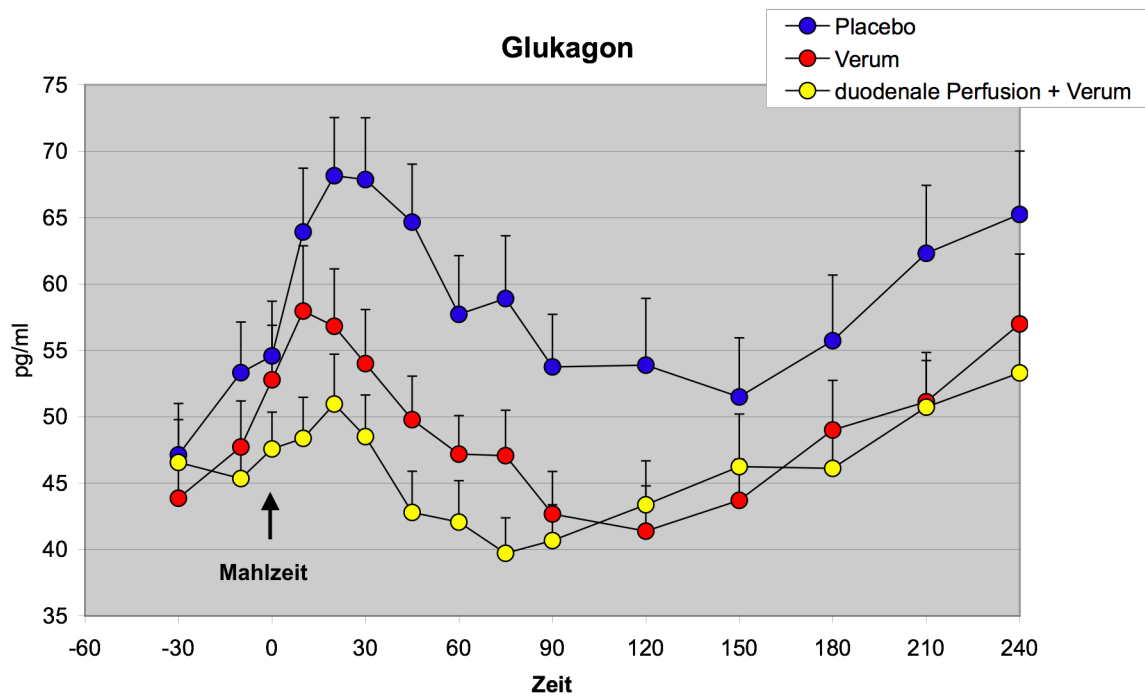


Abbildung 21: Plasmaglukagon (pg/ml) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.

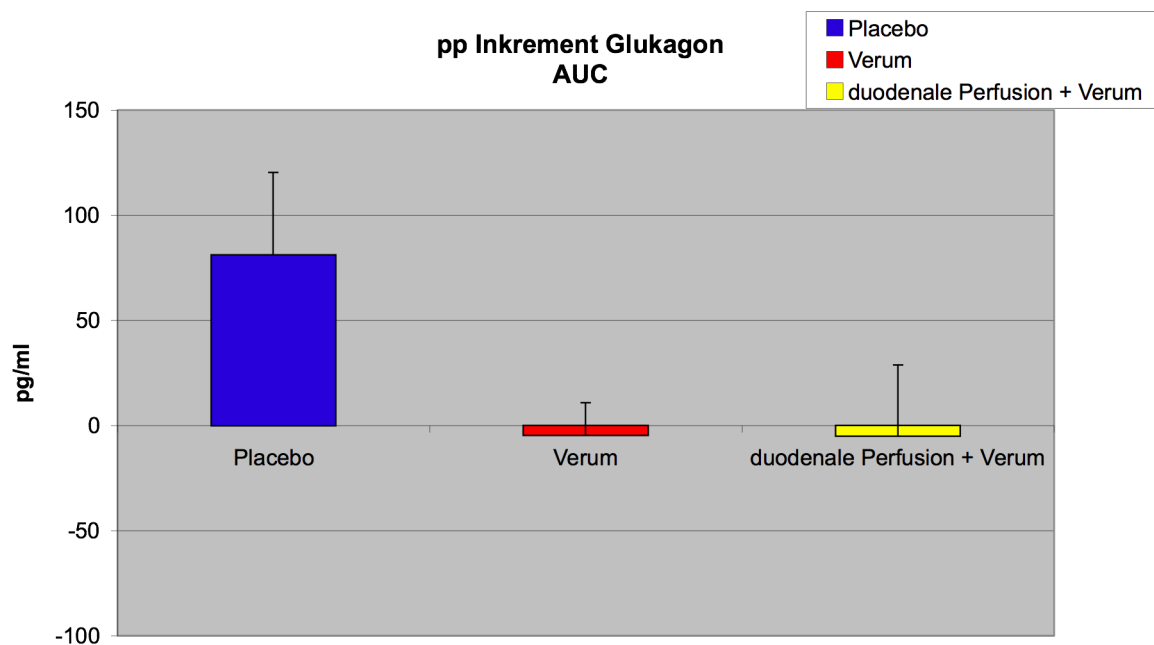


Abbildung 22: Plasmaglukagon (pg/ml, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.

#### 4.2.5 GLP-1 (bioaktiv)

Die GLP-1-(bioaktiv)-Daten werden in Abbildung 23 und 24 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-GLP-1 (bioaktiv) liegt im Verum-oral-Versuch deutlich höher als im Placebo-oral-Versuch ( $21,7 \pm 3,3$  vs.  $2,9 \pm 1,7$  pg/ml,  $p < 0,05$ ). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit zu einer signifikanten Erhöhung der Plasma-GLP-1-Sekretion im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-GLP-1 (bioaktiv) im Vergleich zu Placebo oral stark erhöht ( $24,9 \pm 3,8$  vs.  $2,9 \pm 1,7$  pg/ml,  $p < 0,05$ ). Im Vergleich zu der oralen Verumgabe findet sich eine leichte, jedoch nicht signifikante Steigerung der Plasma-GLP-1-Sekretion ( $24,9 \pm 3,8$  vs.  $21,7 \pm 3,3$  pg/ml,  $p = 0,42$ ). Der Vergleich Verum duodenal zu Placebo oral zeigt die magenentleerungsunabhängige Wirkung von Vildagliptin auf die Plasmaspiegel von bioaktivem GLP-1.

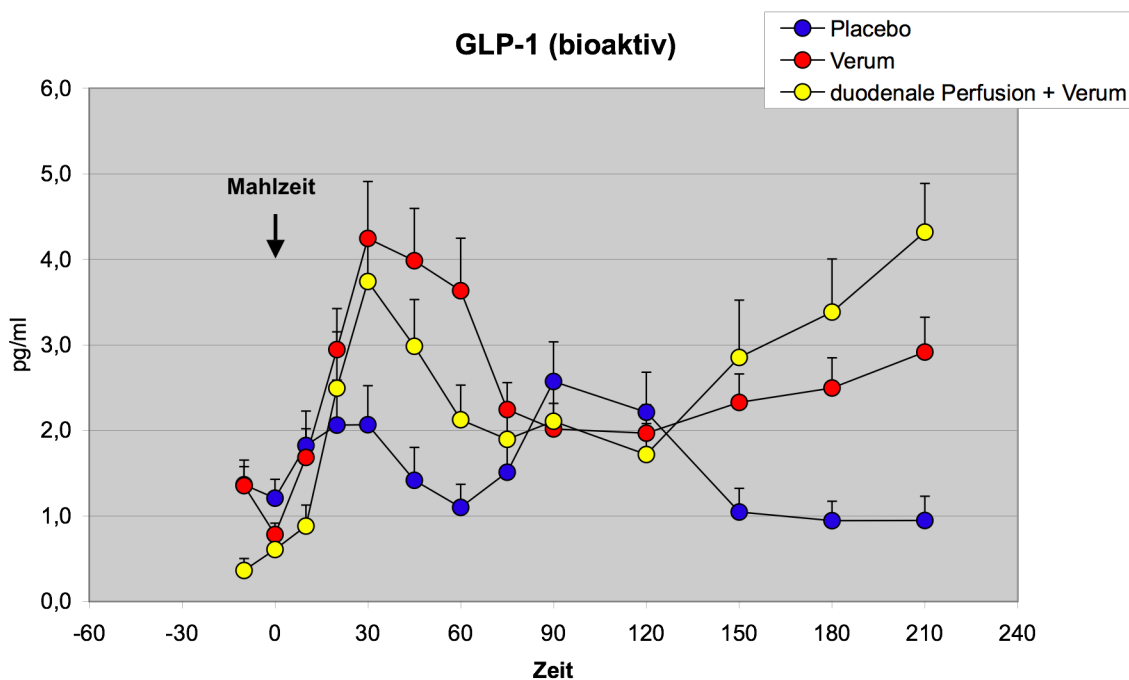
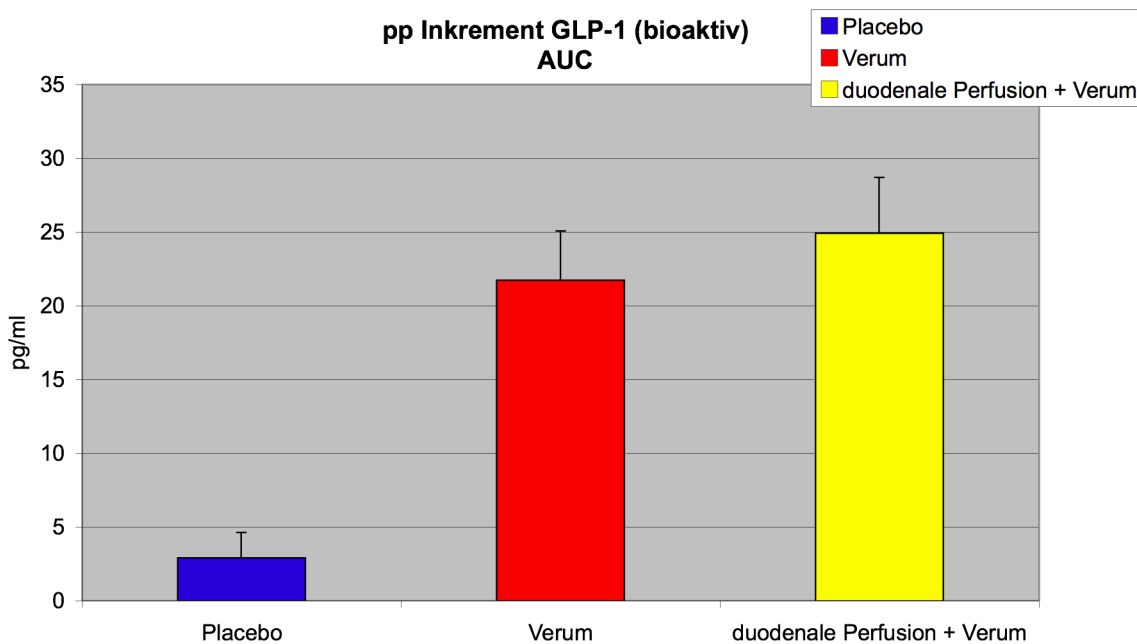


Abbildung 23: Plasma-GLP-1 (bioaktiv) (pg/ml) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW  $\pm$  SEM.



**Abbildung 24: Plasma-GLP-1 (bioaktiv) (pg/ml, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

#### 4.2.6 GIP (bioaktiv)

Die GIP-Daten (GIP bioaktiv) werden in den Abbildungen 25 und 26 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-GIP (bioaktiv) liegt im Verum-oral-Versuch deutlich höher als im Placebo-oral-Versuch (298,5 +/- 25,3 vs. 149,0 +/- 23,1 pg/ml,  $p < 0,05$ ). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit zu einer signifikanten Steigerung der Plasma-GIP (bioaktiv) - Sekretion im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-GIP (bioaktiv) im Vergleich zu Placebo oral signifikant erhöht (346,2 +/- 29,3 vs. 149,0 +/- 23,1 pg/ml,  $p < 0,05$ ). Im Vergleich zu der oralen Verumgabe findet sich eine leichte, jedoch nicht signifikante Steigerung der Plasma-GIP (bioaktiv) - Sekretion bei duodенaler Perfusion der Testmahlzeit (346,2 +/- 29,3 vs. 298,5 +/- 25,3 pg/ml,  $p = 0,097$ ). Der Vergleich Verum duodenal zu Placebo oral zeigt die magenentleerungsunabhängige Wirkung von Vildagliptin auf die Plasmaspiegel von bioaktivem GIP.



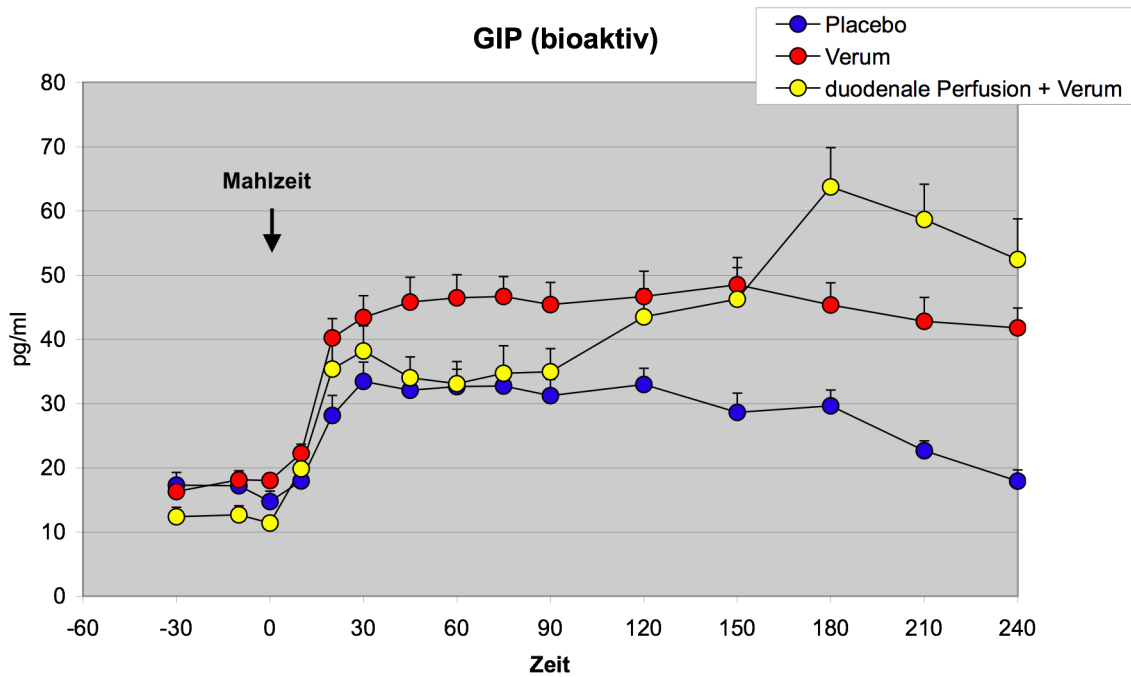


Abbildung 25: Plasma-GIP (bioaktiv) (pg/ml) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.

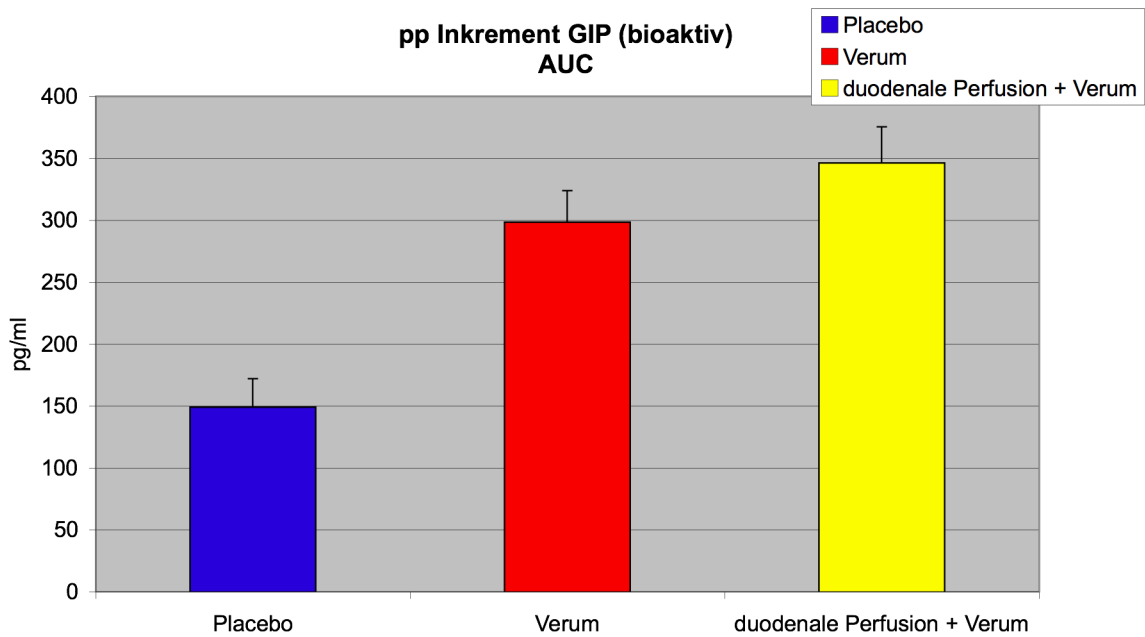


Abbildung 26: Plasma-GIP (bioaktiv) (pg/ml, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.

#### 4.2.7 PYY (1-36), PYY (3-36)

Die Daten für PYY (1-36) und PYY (3-36) werden in den Abbildungen 27, 28, 29 und 30 gezeigt.

Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-PYY (1-36) liegt im Verum-oral-Versuch deutlich niedriger als im Placebo-oral-Versuch ( $73,6 \pm 15,4$  vs.  $213,0 \pm 39,1$   $p < 0,05$ ). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit zu einer signifikanten Hemmung der Plasma-PYY (1-36) - Sekretion im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-PYY (1-36) im Vergleich zu Placebo oral signifikant erniedrigt ( $109,9 \pm 33,6$  vs.  $213,0 \pm 39,1$   $\text{pg/ml}$ ,  $p < 0,05$ ). Im Vergleich zu der oralen Verumgabe findet sich eine leichte, jedoch nicht signifikante Steigerung der Plasma-PYY (1-36) - Sekretion bei duodенaler Perfusion der Testmahlzeit ( $109,9 \pm 33,6$  vs.  $73,6 \pm 15,4$   $\text{pg/ml}$ , ns). Der Vergleich Verum duodenal zu Placebo oral zeigt die magentleerungsunabhängige Wirkung von Vildagliptin auf die Plasmaspiegel von PYY (1-36).

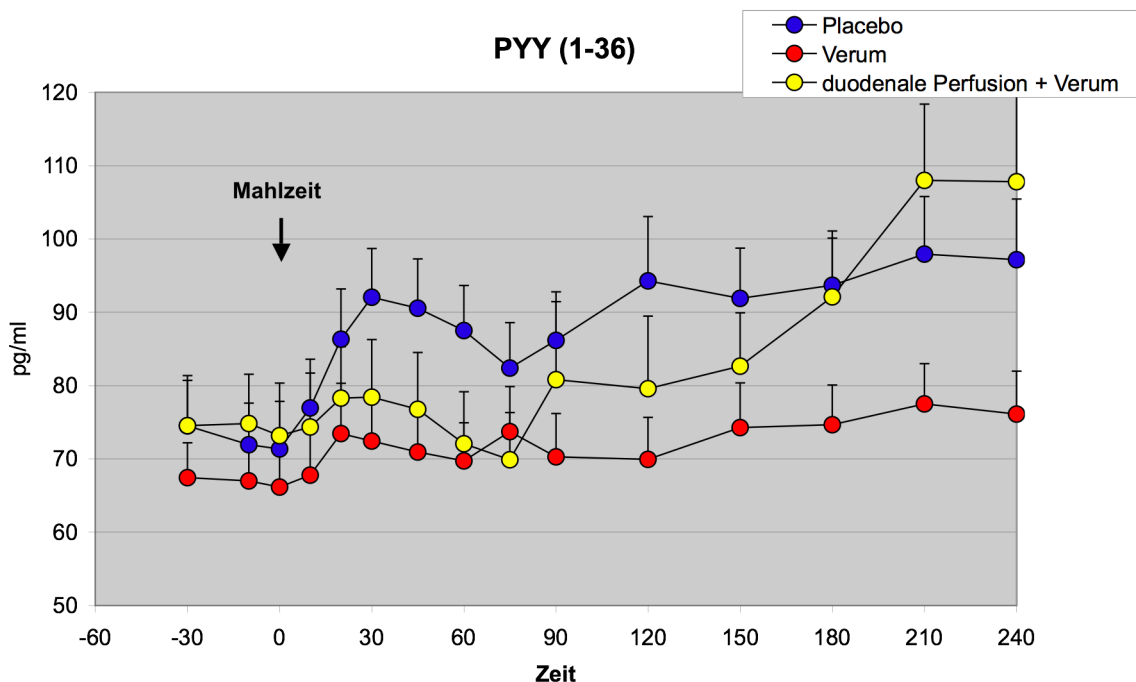
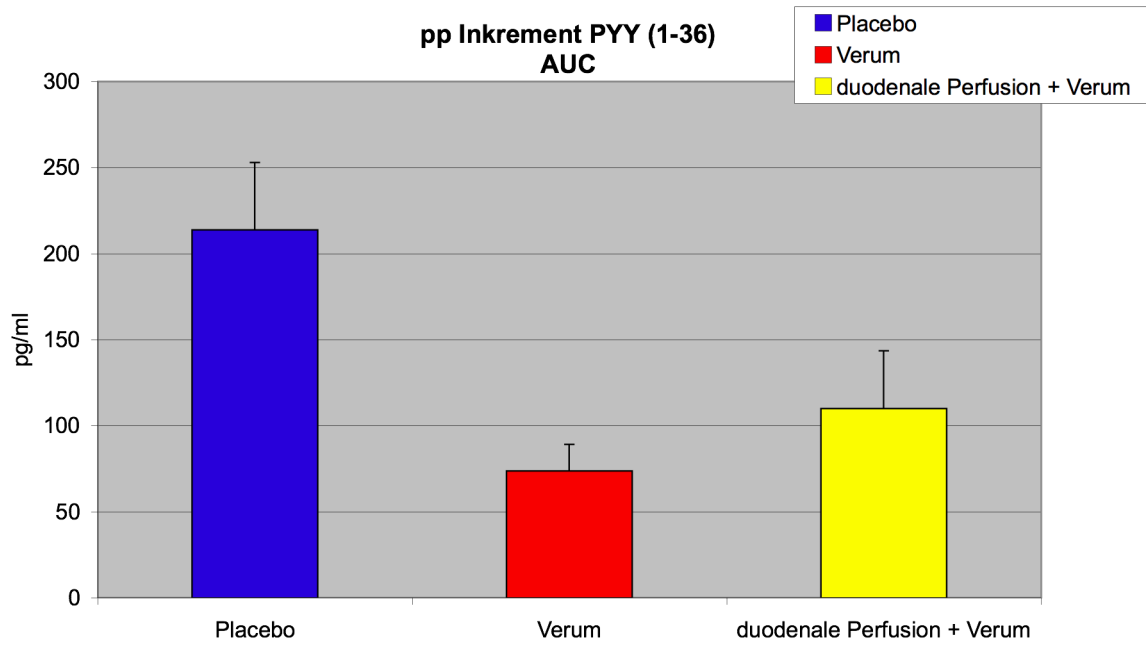
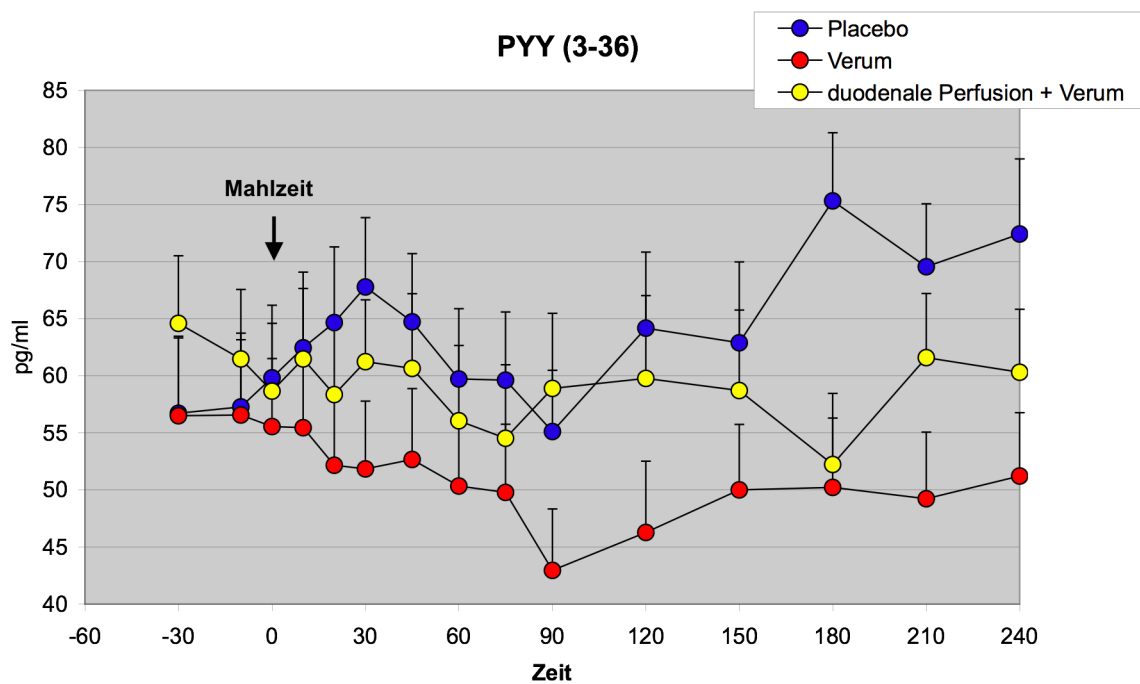


Abbildung 27: Plasma-PYY (1-36) (pg/ml) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW  $\pm$  SEM.



**Abbildung 28: Plasma-PYY (1-36) (pg/ml, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-PYY (3-36) liegt im Verum-oral-Versuch deutlich niedriger als im Placebo-oral-Versuch (-70,6 +/- 26,0 vs. 83,5 +/- 35,0 pg/ml,  $p < 0,05$ ). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit zu einer kompletten Hemmung der Plasma-PYY (3-36) - Sekretion im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Plasma-PYY (3-36) im Vergleich zu der oralen Verumgabe erniedrigt, jedoch nicht signifikant (-17,6 +/- 24,7 vs. -70,6 +/- 26,0 pg/ml, ns).



**Abbildung 29: Plasma-PYY (3-36) (pg/ml) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

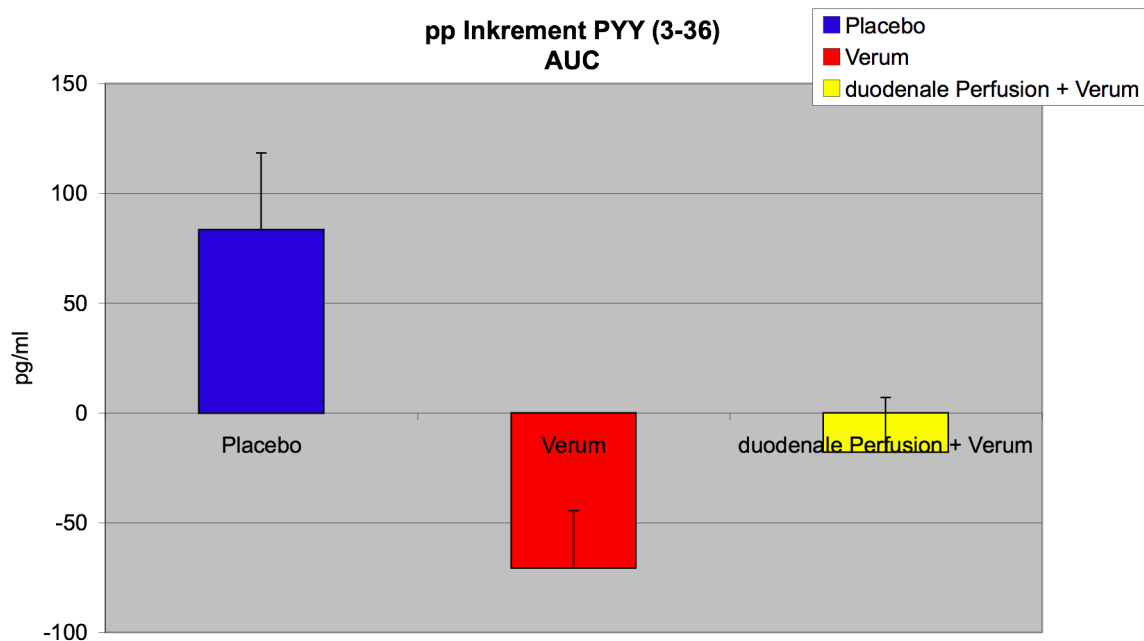


Abbildung 30: Plasma-PYY (3-36) (pg/ml, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.

#### 4.2.8 Glukoseenrichments

Die Daten (MW +/- SEM, AUC über basal, 60 min) für Gesamtglukoseerscheinerate, Mahlzeitglukoseerscheinerate und endogene Glukoseproduktion sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die grafische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 31–36.

	Placebo MW +/- SEM	Verum MW +/- SEM	p
<b>Gesamtglukoseerscheinerate</b> ( $\mu\text{mol/kg/min}$ , AUC über basal, 60 min)	9,6 +/- 3,2	7,1 +/- 3,2	p < 0,05
<b>Mahlzeitglukoseerscheinerate</b> ( $\mu\text{mol/kg/min}$ , AUC über basal, 60 min)	13,9 +/- 3,2	11,5 +/- 3,3	p < 0,05
<b>Endogene Glukoseproduktion</b> ( $\mu\text{mol/kg/min}$ , AUC über basal, 60 min)	-4,3 +/- 3,1	-4,4 +/- 1,8	ns

Tabelle 4: Gesamtglukoseerscheinerate, Mahlzeitglukoseerscheinerate, endogene Glukoseproduktion nach Einnahme von Placebo oder Verum, n = 18, MW +/- SEM.

#### 4.2.8.1 Gesamtglukoseerscheinerate

Die Daten für die Gesamtglukoseerscheinerate werden in den Abbildungen 31 und 32 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für die Gesamtglukoseerscheinerate liegt im Verum-oral-Versuch deutlich niedriger als im Placebo-oral-Versuch ( $7,1 \pm 3,2$  vs.  $9,6 \pm 3,2 \mu\text{mol/kg/min}$ ,  $p = 0,02$ ). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit zu einer signifikanten Erniedrigung der Gesamtglukoseerscheinerate im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos während der ersten 60 min nach Mahlzeiteinnahme.

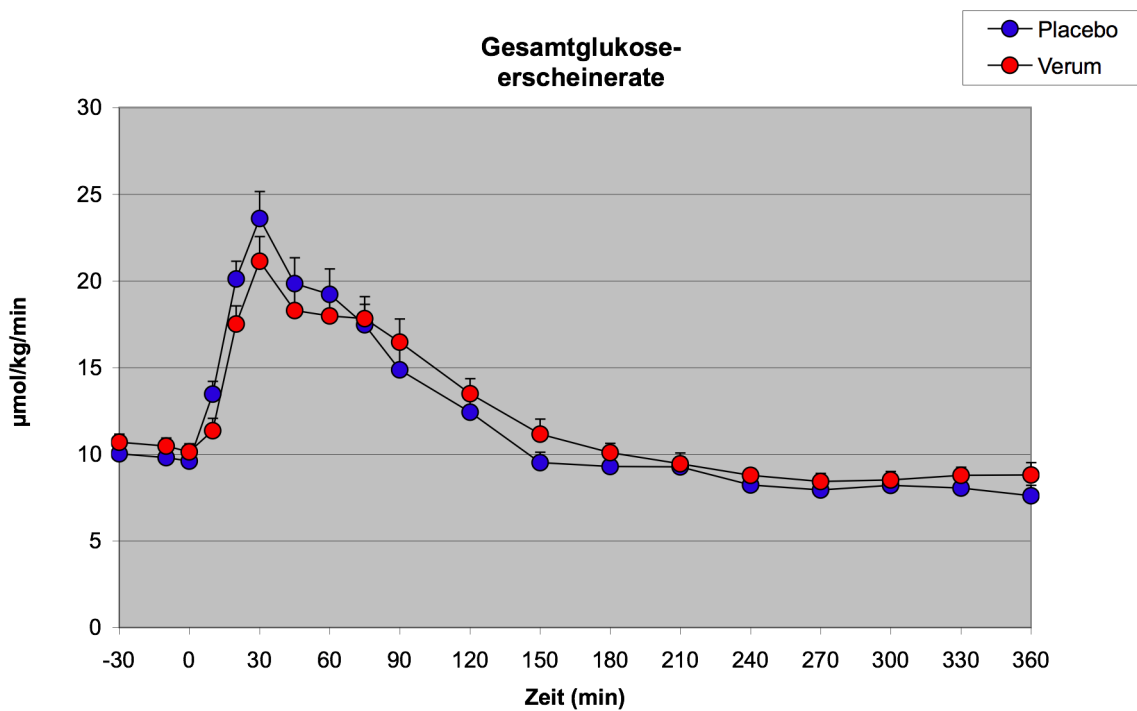
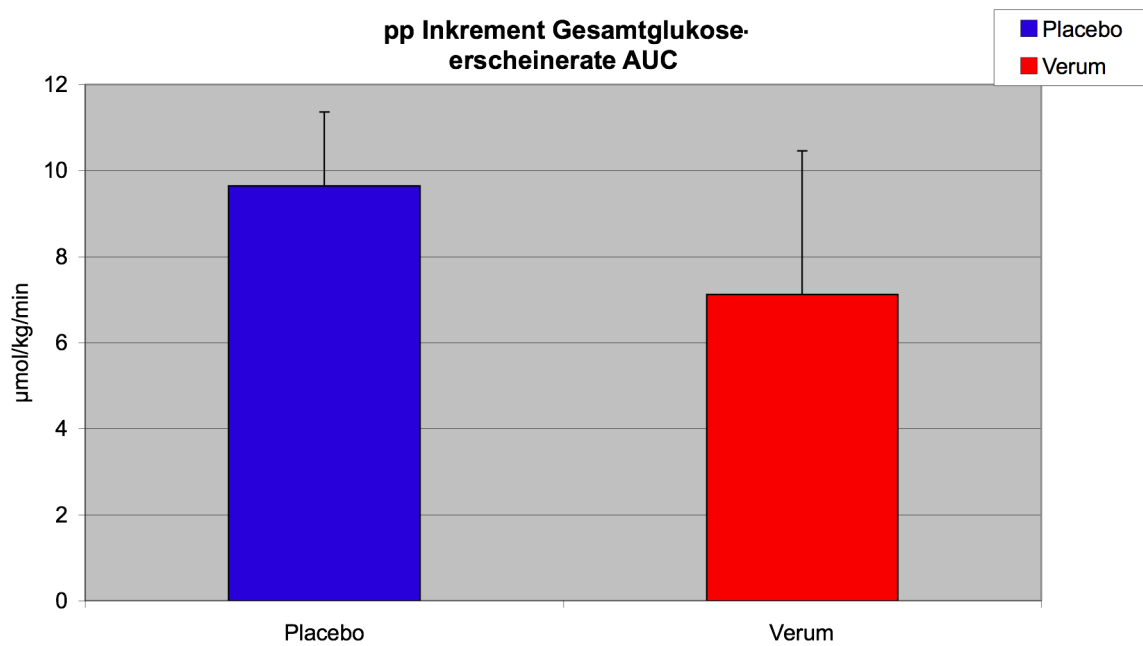


Abbildung 31: Gesamtglukoseerscheinerate ( $\mu\text{mol/kg/min}$ ) nach Einnahme von Placebo oder Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.



**Abbildung 32: Gesamtglukoseerscheinerate ( $\mu\text{mol/kg/min}$ , AUC über basal, 60 min) nach Einnahme von Placebo oder Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.**

#### 4.2.8.2 Mahlzeitglukoseerscheinerate

Die Daten für die Mahlzeitglukoseerscheinerate werden in den Abbildungen 33 und 34 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für die Mahlzeitglukoseerscheinerate liegt im Verum-oral-Versuch deutlich niedriger als im Placebo-oral-Versuch ( $11,5 \pm 3,3$  vs.  $13,9 \pm 3,2 \mu\text{mol/kg/min}$ ,  $p = 0,02$ ). Die orale Gabe von Vildagliptin führt somit zu einer signifikanten Erniedrigung der Mahlzeitglukoseerscheinerate im Vergleich zu oraler Gabe eines Placebos während der ersten 60 min nach Mahlzeiteinnahme.

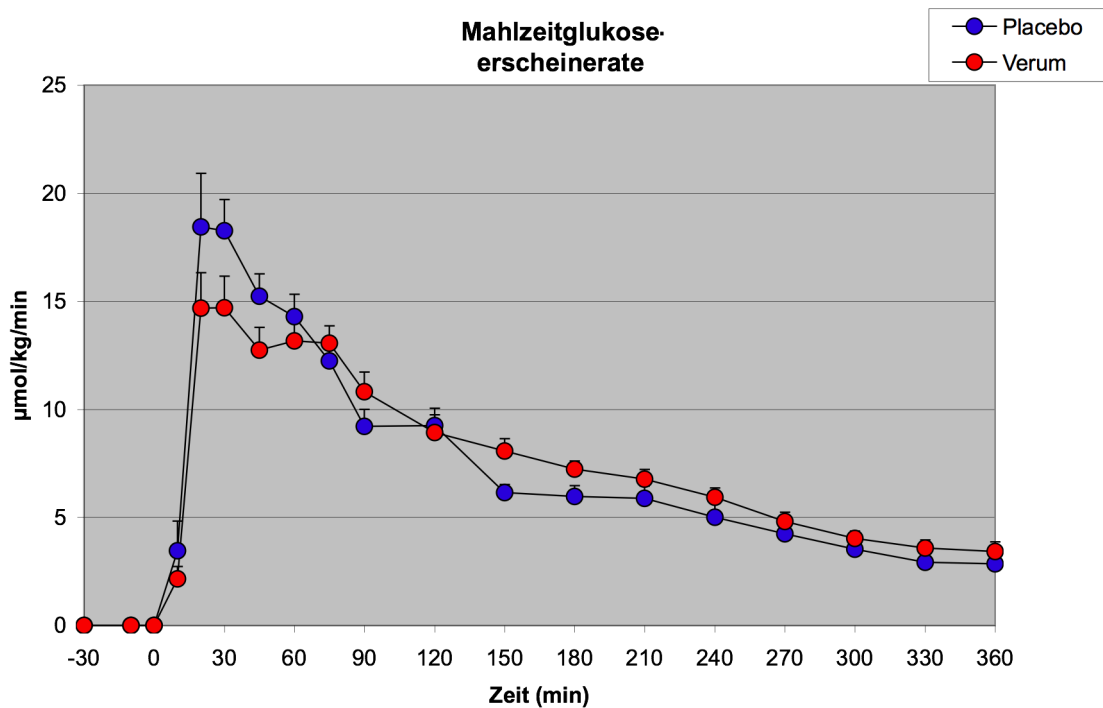
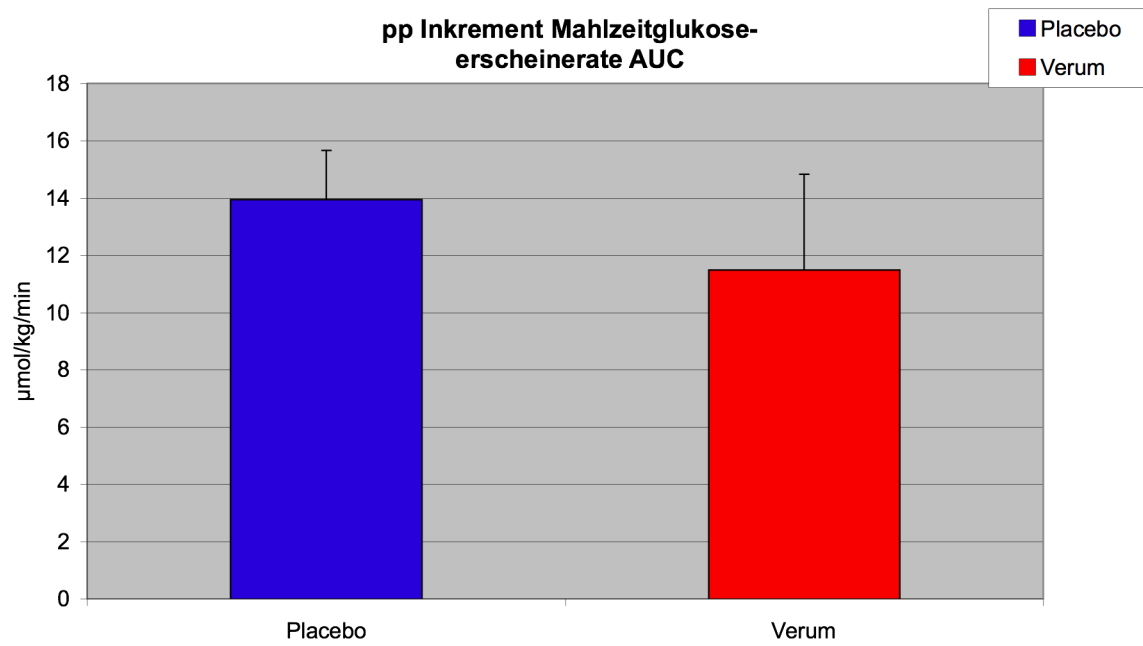


Abbildung 33: Mahlzeitglukoseerscheinerate ( $\mu\text{mol/kg/min}$ ) nach Einnahme von Placebo oder Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.





**Abbildung 34: Mahlzeitglukoseerscheinerate ( $\mu\text{mol/kg/min}$ , AUC über basal, 60 min) nach Einnahme von Placebo oder Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

#### 4.2.8.3 endogene Glukoseproduktion

Die Daten für die endogene Glukoseproduktion werden in den Abbildungen 35 und 36 gezeigt. Nach Mahlzeiteinnahme sinkt die endogene Glukoseproduktion in allen Versuchen drastisch. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für die endogene Glukoseproduktion liegt im Verum-oral-Versuch in etwa im Bereich des Placebo-oral-Versuchs (-4,4 +/- 1,8 vs. -4,3 +/- 3,1  $\mu\text{mol/kg/min}$ , ns). Nach oraler Gabe des Verums Vildagliptin kann somit keine signifikante Hemmung der endogenen Glukoseproduktion gegenüber der Gabe eines oralen Placebos gesehen werden. Nach Einnahme einer oralen Testmahlzeit kommt es sowohl nach Verumgabe als auch nach Placebogabe zu einer vergleichbaren Hemmung der endogenen Glukoseproduktion.

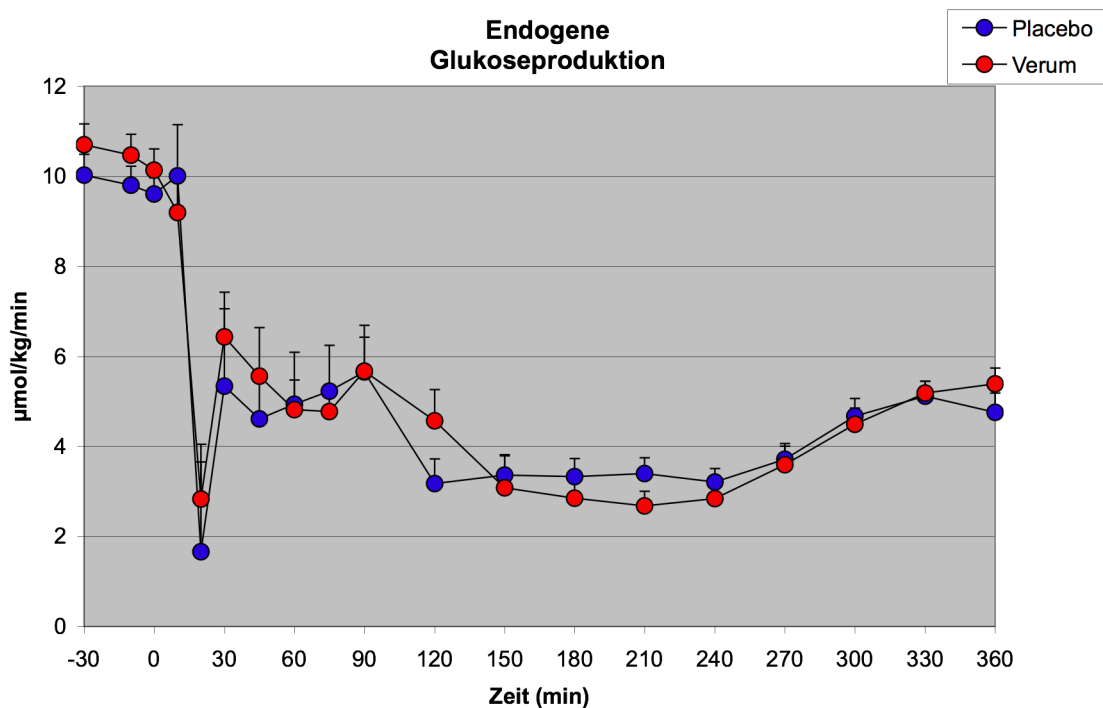


Abbildung 35: Endogene Glukoseproduktion ( $\mu\text{mol/kg/min}$ ) nach Einnahme von Placebo oder Verum,  $n = 18$ , MW +/- SEM.

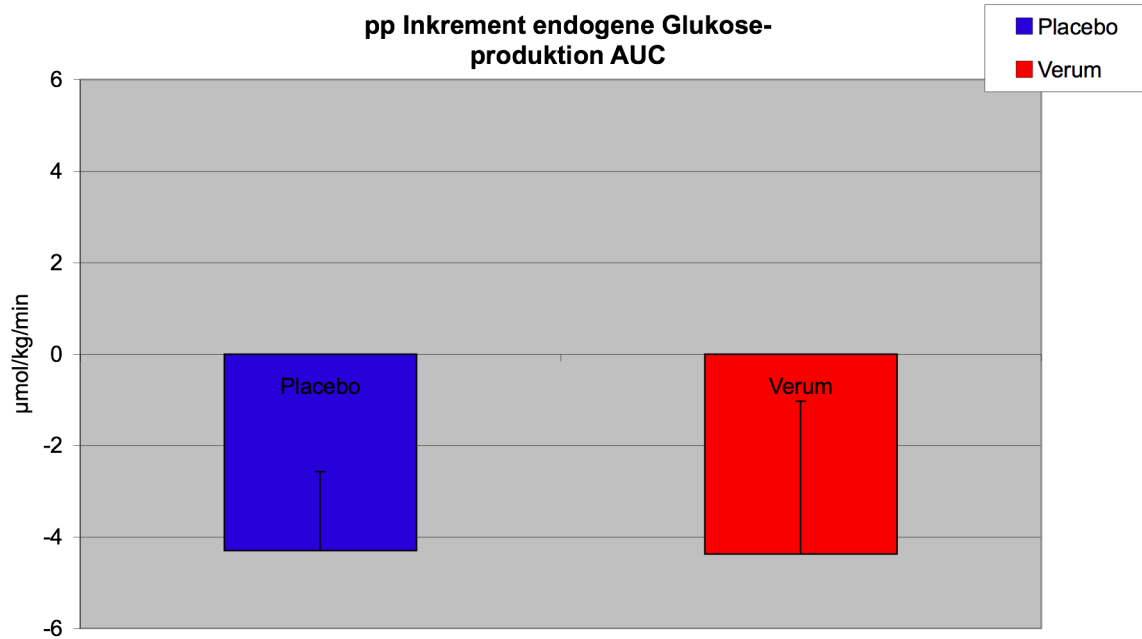


Abbildung 36: Endogene Glukoseproduktion ( $\mu\text{mol/kg/min}$ , AUC über basal, 60 min) nach Einnahme von Placebo oder Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.

### 4.3 Gastrointestinale Perzeption (VAS)

Die Daten (MW  $\pm$  SEM, AUC über basal, 240 min) zu den VAS-Scores Hunger und Sättigung werden in Tabelle 5 gezeigt. Die grafische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 37 – 40.

	orale Mahlzeit		duodenale Perfusion	p Placebo oral vs. Verum oral	p Verum oral vs. Verum duodenal
	Placebo MW $\pm$ SEM	Verum MW $\pm$ SEM	Verum MW $\pm$ SEM		
VAS-Score Hunger (mm, AUC über basal, 240 min)	-102,4 $\pm$ 32,2	-109,7 $\pm$ 30,0	-23,4 $\pm$ 20,9	ns	$p < 0,05$
VAS-Score Sättigung (mm, AUC über basal, 240 min)	344,8 $\pm$ 57,5	366,4 $\pm$ 55,5	16,2 $\pm$ 12,4	ns	$p < 0,05$

Tabelle 5: VAS-Scores Hunger und Sättigung nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum,  $n = 18$ , MW  $\pm$  SEM.

### 4.3.1 Hunger

Die Daten für den VAS-Score Hunger werden in den Abbildungen 37 und 38 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Hungergefühl liegt im Verum-oral-Versuch in etwa gleich dem Hungergefühl im Placebo-oral-Versuch (-109,7 +/- 30,0 vs. -102,4 +/- 32,2 mm, ns). Die Einnahme von Vildagliptin zu einer oralen Testmahlzeit senkt somit nicht das subjektive Hungergefühl im Vergleich zur Gabe eines oralen Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Hungergefühl im Vergleich zu Verum oral (-23,4 +/- 20,9 vs. -109,7 +/- 30,0 mm,  $p < 0,05$ ) signifikant geringer erniedrigt. Unter duodener Perfusion bleibt somit das Hungergefühl im Vergleich zur einer oralen Testmahlzeit unverändert.

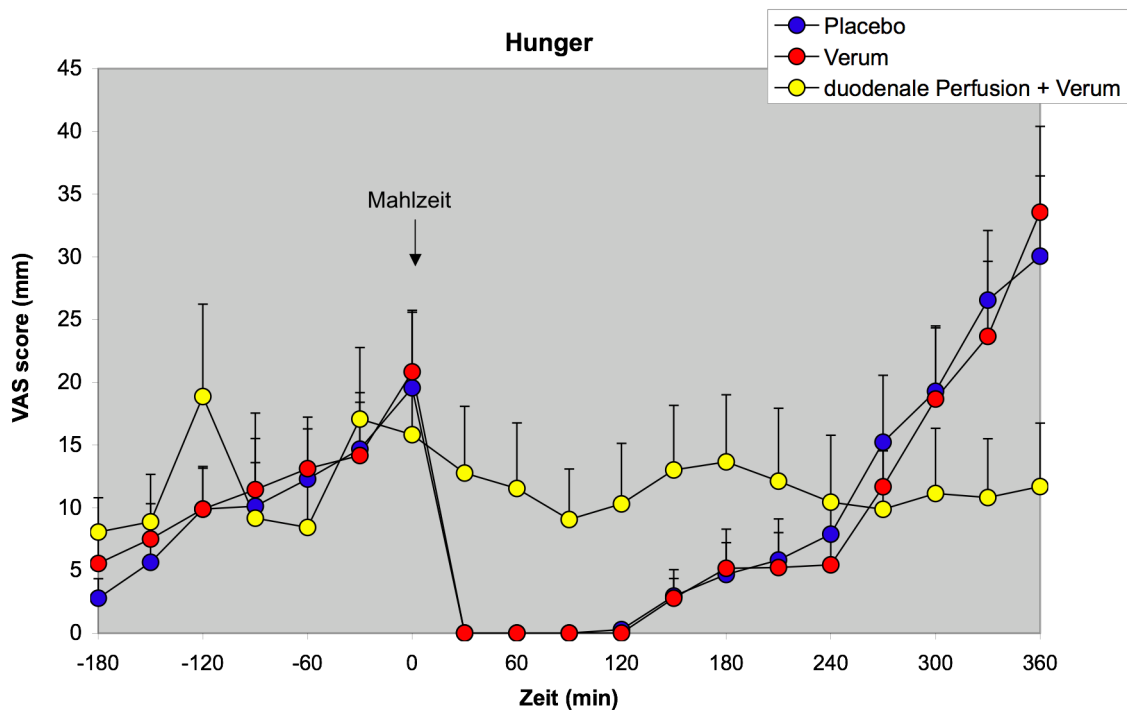
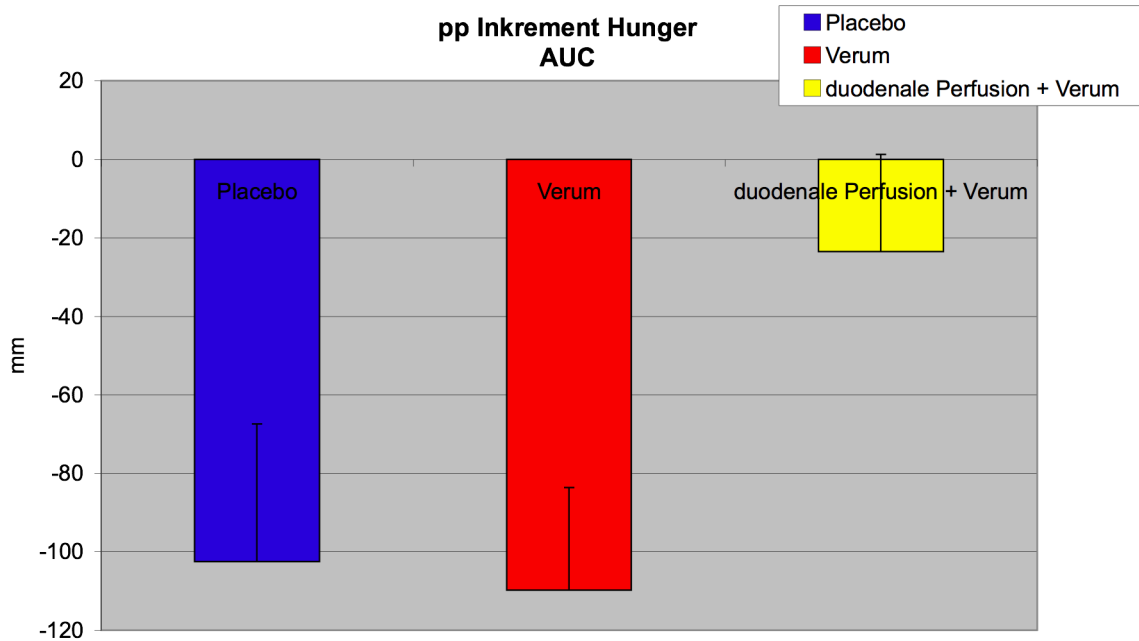


Abbildung 37: VAS-Score Hunger (mm) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM).



**Abbildung 38: VAS-Score Hunger (mm, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.**

#### 4.3.2 Sättigung

Die Daten für den VAS-Score Sättigung werden in den Abbildungen 39 und 40 gezeigt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Sättigungsgefühl liegt im Verum-oral-Versuch in etwa gleich dem Hungergefühl im Placebo-oral-Versuch (366,4 +/- 55,5 vs. 344,8 +/- 57,5 mm, ns). Die Einnahme von Vildagliptin zu einer oralen Testmahlzeit erhöht somit nicht das subjektive Sättigungsgefühl im Vergleich zur Gabe eines oralen Placebos. Im Rahmen der duodenalen Perfusion ist nach Verumgabe die Fläche unter der Kurve (AUC) für Sättigungsgefühl im Vergleich zu Verum oral signifikant erniedrigt (16,2 +/- 12,4 vs. 366,4 +/- 55,5 mm,  $p < 0,05$ ). Unter duodенaler Perfusion tritt somit ein deutlich reduziertes Sättigungsgefühl im Vergleich zur einer oralen Testmahlzeit auf.

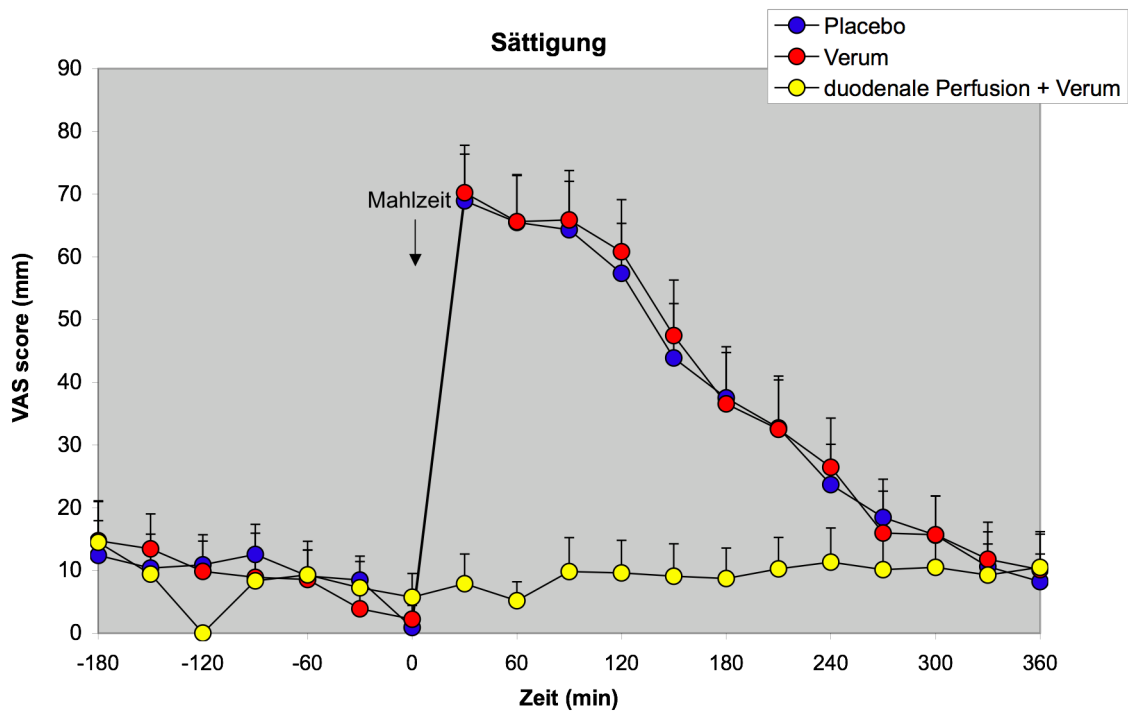


Abbildung 39: VAS-Score Sättigung (mm) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.

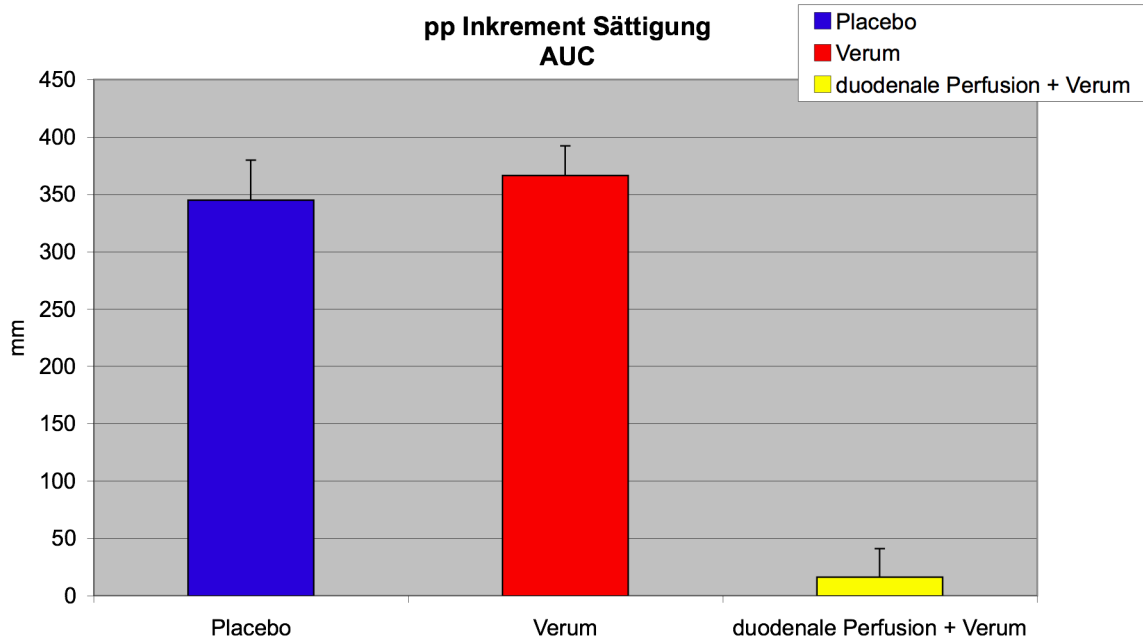


Abbildung 40: VAS-Score Sättigung (mm, AUC über basal, 240 min) nach Einnahme von Placebo, Verum oder duodenale Perfusion + Verum, n = 18, MW +/- SEM.

## 5 Diskussion

Die vorgestellte Studie wurde durchgeführt, um die relevanten blutzuckersenkenden Mechanismen von Vildagliptin, einem Hemmer der DPP 4, insbesondere im Hinblick auf die Magenentleerung, zu untersuchen. In multiplen randomisiert kontrollierten Studien wurden die möglichen pankreatogenen Wirkmechanismen von Vildagliptin zur Blutzuckersenkung bereits eingehend untersucht. GLP-1 hemmt jedoch auch die Magenentleerung. Eine Magenentleerungsreduktion trägt per se zu einer postprandialen Glykämie bei (156,157).

DPP-4-Hemmer verbessern die Glykämie bei Typ-2-Diabetikern über erhöhte GLP-1-Werte, eine Verminderung der hepatischen Glukoseproduktion durch eine deutlich verringerte Glukagonfreisetzung aus den pankreatischen Alphazellen in Folge einer erhöhten Ansprechbarkeit der Alphazelle auf Glukose sowie einer Steigerung der Insulinsekretion und einer Verstärkung der frühen Insulinantwort auf Glukose (103,158,159). Vorher konnte bereits in insulinresistenten Tiermodellen nach Gabe von Vildagliptin eine verbesserte Glukosetoleranz sowie eine erhöhte Rate an bioaktivem GLP-1 beobachtet werden. In diesen präklinischen Studien konnte eine glukoseabhängige Stimulation der Insulinsekretion, eine Verminderung der Glukagonsekretion, eine Steigerung der Insulinsensitivität sowie eine Verbesserung der Betazellproliferation, der Inselzellfunktion, der Inselzellneogenese und der Betazellüberlebensrate als charakteristische Wirkung von DPP-4-Hemmern wie Vildagliptin gesehen werden (105,160,161).

Durch Hemmung der DPP 4 konnte bei Typ-2-Diabetikern nach Gabe von 100 mg Vildagliptin oral eine signifikante postprandiale Steigerung des bioaktiven GLP-1 im Gegensatz zu Placebo in vivo beschrieben werden (159). Die Wirkung der DPP-4-Hemmer scheint auf einer Wirkungsverlängerung von endogenem GLP-1 und dessen Mechanismen zu beruhen (162). Extrapankreatisch scheint Vildagliptin die Insulinresistenz im peripheren Gewebe zu senken und die periphere Glukoseverwertung zu steigern (163).

Trotz der erwiesenen magenentleerungsverzögernden Wirkung von GLP-1 (164), konnte eine Magenentleerungshemmung als mögliche wichtige pharmakologische Wirkung zur Blutzuckersenkung unter Vildagliptin bisher nicht gesehen werden. In einer ähnlich

angelegten Studie von Vella et al (165) konnte eine Magenentleerungshemmung durch Vildagliptin, trotz signifikant erhöhter postprandialer bioaktiver GLP-1-Werte, nicht festgestellt werden.

Die Wirksamkeit des DPP-4-Hemmers Vildagliptin hinsichtlich einer Senkung von postprandialen Plasmaglukosewerten und damit einer Verbesserung der Glykämie ist bei Typ-2-Diabetikern seit längerem hinlänglich belegt (103,166). Auch in unserer Arbeit konnte unter Vildagliptineinnahme eine signifikante Verminderung der postprandialen Blutzuckerexkursionen im Vergleich zur Placeboeinnahme gesehen werden, was zu einer deutlich verbesserten glykämischen Kontrolle bei Typ-2-Diabetikern und einer Reduzierung Diabetes-bedingter Komplikationen führt.

In der vorgestellten Studie wurden die postprandialen Insulin- und C-Peptid-Konzentrationen nach Gabe eines DPP-4-Hemmers untersucht. Bei beiden Beta-Zell-Produkten kam es nach Einnahme einer Testmahlzeit unter Vildagliptin-Gabe zu keiner signifikanten Änderung im Vergleich zur Placebogruppe, insbesondere zu keiner Erhöhung der postprandialen Spiegel. Diese Ergebnisse decken sich mit den in mehreren Studien gewonnenen Ergebnissen, dass die postprandialen Plasmakonzentrationen von Insulin und C-Peptid durch die Gabe eines DPP-4-Hemmers nicht gesteigert werden (103,163). Im Rahmen unserer Studie wurden keine model-basierenden Untersuchungen hinsichtlich Insulinsekretionsrate oder der frühen Insulinantwort auf Glukose durchgeführt, so dass eine Aussage zur Betazellfunktion nicht getroffen werden kann. Jedoch waren auch bei uns die Insulin- und C-Peptid-Plasmakonzentrationen unter Vildagliptin relativ zu den deutlich erniedrigten Glukosespiegeln gesteigert.

In unserer Studie fand sich eine signifikante Verminderung der postprandialen Glukagonplasmakonzentrationen nach Vildagliptingabe im Vergleich zur Placebogabe. Auch dieses Ergebnis entspricht den Vorstudien zur Wirkungsweise von DPP-4-Hemmern, bei denen unisono eine deutliche Verminderung der Glukagonkonzentrationen beschrieben wurde (103,163). In der Verminderung der hepatischen Glukoseproduktion durch eine deutlich verringerte Glukagonfreisetzung aus den pankreatischen Alphazellen sehen wir eine Hauptfunktion der DPP-4-Hemmer im Rahmen der Glykämieverbesserung bei Typ-2-Diabetikern.



In unserer Studie konnten die in Vorstudien beschriebenen deutlich erhöhten postprandialen Spiegel von bioaktiven GLP-1 nach Vildagliptingabe bestätigt werden (103,158,163). Von der Annahme ausgehend, dass die entscheidenden Wirkungen der DPP-4-Hemmung über erhöhte postprandiale Konzentrationen von bioaktivem GLP-1 zustande kommen, konnte hier eine Grundvoraussetzung für die blutzuckersenkende Wirkung von DPP-4-Hemmern nachvollzogen werden (162).

Unter Vildagliptin 100 mg oral fand sich eine signifikant erhöhte postprandiale Konzentration von bioaktivem GIP. Daten zu postprandialen Konzentrationen von bioaktivem GIP unter Vildagliptin bestätigen diese Feststellung (163). In der vorliegenden Studie wurde eine Verdoppelung der bioaktiven GIP-Werte gemessen. Es existieren zudem Daten hinsichtlich bioaktivem GIP in einer Studie mit dem DPP-4-Hemmer Sitagliptin, welche ebenso eine Steigerung von bioaktivem GIP postprandial nach Gabe dieses DPP-4-Hemmers beschreibt (167). Neben der beschriebenen Wirkungsverlängerung von endogenem GLP-1 scheint daher auch eine Konzentrationssteigerung von bioaktivem GIP die Verbesserung der Glykämie unter Gabe von DPP-4-Hemmern zu bewirken.

In unserer Studie wurden sowohl die postprandialen Spiegel des Sättigungshormons PYY in seiner totalen Form (PYY 1-36) als auch in seiner bioaktiven Form (PYY 3-36) nach Gabe eines DPP-4-Hemmers und einer Testmahlzeit gemessen. PYY (3-36) wird eine wichtige Rolle als Sättigungshormon zugeschrieben (44,45). Nach Gabe von Vildagliptin kam es zu einer deutlichen Verminderung von totalem PYY (1-36). Diese Beobachtung deckt sich mit früheren Ergebnissen (165). Ebenso fand sich eine komplette Hemmung der Freisetzung von bioaktivem PYY (3-36) nach Einnahme einer Testmahlzeit und Vildagliptin. Dies ist ein neuer Befund, der bisher noch nicht in Studien gezeigt wurde. Vildagliptin hemmt somit die Sekretion von Gesamt-PYY (1-36) und unterdrückt komplett dessen Umwandlung in PYY (3-36). Mit diesem Ergebnis wird gezeigt, dass durch DPP-4-Inhibition beim Menschen noch andere gastrointestinale Hormone als die Inkretine beeinflusst werden. Der wahrscheinlichste Grund für die Hemmung der Sekretion von PYY (1-36) liegt in einer Feedback-Hemmung der gastrointestinalen L-Zelle durch erhöhte Spiegel an bioaktivem GLP-1. GLP-1 und PYY werden an der L-Zelle kolokalisiert produziert und sezerniert (48). Eine negative Feedback-Hemmung an der L-Zelle durch persistierend erhöhte Plasmaspiegel von bioaktivem GLP-1 ist bereits gezeigt worden (168). Die darüber hinaus gehende komplette Hemmung der Bildung von bioaktivem

PYY (3-36) ist eine spezifische Wirkung der DPP-4-Hemmung, da die DPP 4 diese Aktivierung vermittelt. PYY (3-36) hat eine Funktion als Sättigungshormon. Das kann ein Grund dafür sein, dass DPP-4-Hemmer im Gegensatz zu GLP-1-Analoga wie Exenatide nicht zu einer Gewichtsreduktion führen (169), trotz erhöhter Konzentrationen an bioaktivem GLP-1, was bei exogener Gabe zu einer Reduktion der Nahrungsaufnahme führt (170). Der fehlende Gewichtsverlust unter Therapie mit einem DPP-4-Hemmer wurde bereits in Vorstudien beschrieben (171). Es ist bekannt, dass peripher zugeführtes PYY die Magenentleerung im Tierversuch hemmt (172). Unklar ist, ob die Sekretionshemmung von PYY (3-36) als mögliches Sättigungshormon zu der vergleichsweise geringen Rate an gastrointestinalen Symptomen unter DPP-4-Hemmern beiträgt. Entsprechend konnten wir zeigen, dass die DPP-4-Hemmung durch Vildagliptin nicht die VAS-Scores für Sättigung und Hungergefühl beeinflusst.

Unter exogenen GLP-1-Gaben konnte unter anderem anhand von VAS gezeigt werden, dass GLP-1 zu einer Verminderung von Appetit sowie zu einer Zunahme von Sättigungsgefühl und Völlegefühl führt (77,80,81). Im Rahmen der Gabe von GLP-1-Analoga konnte ein verstärktes Sättigungsgefühl nachgewiesen werden (169). In unserer Studie wurden Hunger und Sättigungsgefühl ebenfalls mit VAS gemessen, die der Patient selbst ausfüllte. Unter Vildagliptin-Gabe konnte hierbei trotz deutlich erhöhter Spiegel von bioaktivem GLP-1 keine signifikante Änderung in Bezug auf das Hunger- und Sättigungsgefühl der Probanden gesehen werden. Es ist möglich, dass die oben beschriebene Vildagliptin-Wirkung auf das Sättigungshormon PYY (3-36) zu diesen Ergebnissen beiträgt.

Auch in dieser Studie wurde das Auftreten von möglichen gastrointestinalen Nebenwirkungen unter DPP-4-Hemmung untersucht. Die Behandlung mit Vildagliptin wurde durchgehend gut vertragen. Es traten keine behandlungsbedingten Änderungen hinsichtlich Vitalzeichen, körperlichen Untersuchungsergebnissen oder Laborparametern auf. In Bezug auf die Wirkung von DPP-4-Hemmern auf gastrointestinale Hormone wie GLP-1 und GIP, waren gastrointestinale Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen von besonderem Interesse. Hierbei traten in beiden Studienarmen, Vildagliptin und Placebo, keine gehäuften Ereignisse auf. Dies steht im Gegensatz zu der Gabe von GLP-1-Analoga, bei denen Übelkeit und Erbrechen beschrieben worden sind (173). Ein schweres unerwünschtes Ereignis trat unter Vildagliptingabe nicht auf. Hypoglykämien wurden im

Verlauf unserer Studie nicht beobachtet. Dies war aufgrund der glukoseabhängigen Wirkung von Inkretinhormonen auch nicht zu erwarten gewesen. Ein wahrscheinlicher Grund für das Ausbleiben von gastrointestinalen Nebenwirkungen unter DPP-4-Hemmung sind die deutlich erniedrigten GLP-1-Spiegel im Vergleich zu der pharmakologischen GLP-1-Rezeptorstimulation unter GLP-1-Analoga.

GLP-1 bewirkt eine Hemmung der Magenentleerung sowohl bei Nicht-Diabetikern als auch bei Typ-2-Diabetikern (68,164). Die Magenentleerung spielt physiologisch eine wichtige Rolle in der postprandialen Glukosehomöostase, da der Transport von Nährstoffen vom Magen in den Dünndarm entscheidend zur Erhöhung postprandialer Blutzuckerspiegel beiträgt (174). Über die Hemmung der Magenentleerung gelangen Nahrungsbestandteile langsamer in den Dünndarm, die Resorption der Nährstoffe ist verzögert und die hepatische Glukoseaufnahme ist gesteigert, so dass der Blutzuckerspiegel nach Nahrungsaufnahme langsamer ansteigt (70,71,156). Die Verzögerung der Magenentleerung zur Senkung postprandialer Blutzuckerspiegel ist wahrscheinlich ein wichtiger Mechanismus bei GLP-1-Analoga wie Exenatide (175).

In unserer Arbeit wurden bei Typ-2-Diabetikern die Magenentleerung sowie der Glukose-turnover nach Gabe von Vildagliptin und nach Einnahme einer radioaktiv markierten Testmahlzeit simultan gemessen. Die Magenentleerung wurde kontinuierlich durch eine hochauflösende Szintigraphie (20 Bilder/Minute) unmittelbar nach Einnahme einer Testmahlzeit erfasst. Dazu wurde die Testmahlzeit in Form eines Ei-Omeletts und einer Götterspeise radioaktiv mit 75 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -Zinnkolloid markiert. Die Glukose-turnover-Raten wurden über die Bestimmung der Gesamtglukoseerscheinerate, der Mahlzeitglukoseerscheinerate sowie der endogenen Glukoseproduktion bestimmt. Die oral aufgenommene Glukose, die in die Götterspeise eingebracht war, wurde dazu mit  $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$  Glukose markiert, über einen zweiten Tracer ( $[1\text{-}^{13}\text{C}]$  Glukose) wurde die Glukoseerscheinerate in der Zirkulation gemessen.

Nach Gabe von 100 mg Vildagliptin als Einzeldosis zeigte sich eine signifikante Hemmung der Magenentleerung im Gegensatz zu Placebo. Sowohl die lag-period, definiert als Zeitpunkt, an dem 10% des Mageninhalts entleert sind, als auch die Halbwertszeit (50%-Entleerungszeit) der Magenentleerung waren klar verzögert. Die prozentuale Entleerungsrate in der Zeit 0–240 Minuten war ebenso verzögert wie die

gastrale Retention zu einem Zeitpunkt 100 Minuten, definiert als szintigrafisch messbarer verbliebener Mageninhalt zum Messzeitpunkt 100 Minuten. Die erhobenen Daten zeigen somit, dass eine Akut-Einmalgabe von 100 mg Vildagliptin die Magenentleerung signifikant hemmt.

Untermauert werden diese Ergebnisse durch die szintigrafisch messbare regionale Aufteilung des Gesamtmagens. Neben den Gesamtreentionsdaten wurde die regionale gastrale Retention mit getrennter Entleerung proximaler und distaler Magen bestimmt. Es zeigte sich, dass hauptsächlich der proximale Magen für die Magenentleerungsverzögerung nach Einmalgabe von Vildagliptin verantwortlich ist.

Über die Fast-Fourier-Transformation wurden die Komponenten der phasischen Magenperistaltik abgeleitet. Nach Einnahme von Vildagliptin zur Testmahlzeit kam es zu einer signifikant verzögerten gastralen Kontraktionsamplitude im Vergleich zur Placebogabe. Die Kontraktionsfrequenz blieb bei Einnahme von Verum und Placebo unverändert. Durch die Abnahme der Kontraktionsamplitude kann die Magenentleerungsverzögerung unter DPP-4-Hemmung, die insbesondere in den proximalen Magenabschnitten stattfindet, hinreichend erklärt werden.

Die aus der Mahlzeit aufgenommene markierte Glukose wird aus dem Magen entleert, im Dünndarm resorbiert und passiert die Leber über die Portalvene. Die Erscheinerate der Mahlzeitglukose ist daher prädestiniert, um eine Aussage über den Glukosemetabolismus unter Gabe von Vildagliptin zu treffen. Die Glukoseenrichment-Daten innerhalb der ersten 60 Minuten postprandial zeigten eine signifikante Reduktion sowohl der Mahlzeitglukoseerscheinerate als auch der Gesamtglukoseerscheinerate. Demgegenüber war die endogene Glukoseproduktion unter DPP-4-Hemmung im Vergleich zu Placebo, trotz einer Hemmung von Glukagon, unverändert. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass sich die Erniedrigung der endogenen Glukoseproduktion unter Glukagonhemmung und eine mögliche Erhöhung der endogenen Glukoseproduktion durch eine Magenentleerungsverzögerung gegenseitig aufheben. Eine Erhöhung der endogenen Glukoseproduktion unter Hemmung der Magenentleerung war bereits durch die Gabe von GLP-1-Analoga gezeigt worden (156).

Eine Reduktion der postprandialen Mahlzeitglukoserate ist am ehesten durch eine Verzögerung der Magenentleerung zu erklären (70,71). Die direkte Messung der Magenentleerung unter Vildagliptin zeigte eine Verzögerung der Magenentleerung unter DPP-4-Hemmung. Die Glukoseenrichment-Daten unterstützen somit die Ergebnisse zur Hemmung der Magenentleerung.

Die Gesamtdaten hinsichtlich Magenentleerung und Glukoseenrichment belegen, dass die Hemmung der Magenentleerung als auch eine damit einhergehende Reduktion der Mahlzeitglukoseraten ein wichtiger Mechanismus zur Senkung postprandialer Glukosekonzentrationen nach einer Akutgabe von 100 mg Vildagliptin darstellen.

In der vergleichbaren Studie von Vella et al wurde die Magenentleerung bei Typ-2-Diabetikern unter Gabe von Vildagliptin ebenso szintigrafisch gemessen. In dieser Studie ergab sich unter DPP-4-Hemmung keine Änderung der Magenentleerung für feste Nahrungsbestandteile (165). Auch Vella et al markierten die Testmahlzeit mit stabilen Isotopen und konnten unter Vildagliptin keine signifikante Änderung der Verwertung von oral aufgenommener Glukose feststellen (165).

Vella et al führten ihre Studie mit 50 mg Vildagliptin 2 Mal täglich nach 10-tägiger Einwaschphase durch. Wir gaben 100 mg Vildagliptin als Einmalgabe. Zudem markierten Vella et al nur die Festspeise radioaktiv, nicht aber die Götterspeise, die die Glukose enthielt. Die Entleerung der Festspeise war nicht verlängert. Nicht untersucht wurde jedoch die Entleerung der semisoliden/flüssigen Götterspeise, die für die postprandialen Blutzuckeranstiege verantwortlich war. Möglicherweise wurde unter der geringeren Vildagliptin-Dosis nur ein entleerungsverzögernder Effekt auf die nicht markierte Götterspeise ausgelöst. Das ist insofern bedeutsam, als dass wir in unseren Vorstudien zeigen konnten, dass Entleerungsmuster für die Götterspeise klar anders erfolgt als die Entleerung der simultan gegebenen Festspeise (siehe Seite 41 + 42): die Götterspeise entleert schneller. Auch eine Tachyphylaxie nach längerer Einnahme von Vildagliptin ist nicht ausgeschlossen, wurde bisher jedoch nicht beschrieben. Allerdings ist vor einigen Jahren gezeigt worden, dass nach 6 Wochen subcutaner GLP-1-Gabe die Wirkung auf die Magenentleerung anhielt, und somit keine Tachyphylaxie auftrat (77). Neben der fehlenden Markierung der Götterspeise sehen wir in der unterschiedlichen Vildagliptin-

Dosis den entscheidenden Grund dafür, dass Vella et al in ihrer Studie weder eine Verzögerung der Magenentleerung noch des Glukosemetabolismus messen konnten.

Um eine Wirkung von Vildagliptin auf das endokrine Pankreas (Insulinsekretion/C-Peptidsekretion/ Glukagonsekretion), die postprandialen Blutzuckerspiegel und die Sekretion der Inkretinhormone GLP-1(7-36)amid und GIP (bioaktiv) unabhängig von der Magenentleerung zu beurteilen, wurde eine duodenale Perfusion der Mahlzeit unter Vildagliptin-Gabe im Vergleich zu einer entsprechenden oralen Gabe der Mahlzeit durchgeführt. Auch im Rahmen der duodenalen Perfusion wurden Gesamt-PYY (1-36) sowie bioaktives PYY (3-36) bestimmt. Die flüssige Mahlzeit wurde hinsichtlich Kohlenhydratanteil, Glukoseanteil und Fettanteil identisch mit der oralen Mahlzeit zubereitet. Die Perfusionsraten waren den szintigrafischen Magenentleerungsraten des Placeboversuchstages (Treatment B) mit oraler Mahlzeitgabe nachgeahmt. Die Enrichmentdaten der duodenalen Perfusion wurden nicht verwendet, da keine absolute Simulation der Magenentleerungskinetik erreicht werden konnte. Insgesamt konnte über den Versuchszeitraum keine genaue Imitation der szintigrafischen Magenentleerungskinetik erreicht werden, es wurde jedoch immer dieselbe Gesamtkalorienmenge appliziert. Retrospektiv zeigte sich, dass die abgeleiteten Perfusionsraten am Beginn der duodenalen Nahrungspfusion etwas zu niedrig waren und zum Ende der Perfusionszeit etwas zu hoch lagen. Dies kann aus der Kinetik der Insulin- und C-Peptid-Plasmakonzentrationen abgeleitet werden, die sich unter DPP-4-Hemmung nicht ändern (Abb. 17 + 19).

Auf diese Problematik führen wir die leichte, jedoch signifikant stärkere Blutzuckersenkung unter Verumgabe und duodenaler Perfusion im Vergleich zur oralen Testmahlzeit und Verumgabe zurück. Bei allen anderen bestimmten Parametern (Insulin, C-Peptid, Glukagon, GLP-1 bioaktiv, GIP bioaktiv, PYY gesamt, PYY bioaktiv) zeigten sich im Rahmen der duodenalen Perfusion keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur oralen Einnahme der Testmahlzeit. Dies bedeutet, dass die Einnahme von Vildagliptin unter Umgehung der Magenentleerung hinsichtlich der Wirkungsweise auf das endokrine Pankreas, auf die Ausschüttung der Inkretinhormone GLP-1 und GIP sowie auf die Freisetzung von PYY (1-36) und PYY (3-36) auch magenentleerungsunabhängig zu einer Blutzuckersenkung führt. Neben der beschriebenen Hemmung der Magenentleerung, die einen wichtigen Mechanismus zur Senkung postprandialer Glukosekonzentrationen

darstellt, tritt somit parallel eine magenentleerungsunabhängige, den hormonellen Weg (insbesondere über Glukagonhemmung) folgende Blutzuckersenkung auf.

Der Versuchstag der duodenalen Perfusion war nicht placebokontrolliert, was einen Schwachpunkt in der Auswertung der erhobenen Daten unter Umgehung der Magenentleerung darstellt. Trotzdem entschlossen wir uns, keinen vierten Versuchstag durchzuführen, da dieser unserer Meinung nach, insbesondere eine erneute Anlage einer nasoduodenalen Sonde, von den Probanden nicht akzeptiert würde. Befragungen der Probanden nach Abschluss der Versuchstage bestätigten diesen Verdacht. Nur ein kleiner Teil der Versuchsteilnehmer hätte eine erneute Sondenanlage akzeptiert.

Es wird derzeit mehrheitlich davon ausgegangen, dass die Wirkungen von DPP-4-Hemmern GLP-1-vermittelt sind (162), zumal im Tiermodell GLP-1- und GIP-Knock-out-Mäuse unter DPP-4-Hemmung keine Änderung der postprandialen Glukosekonzentrationen erfahren (176). Unsere Gesamtdaten unterstützen die These, dass GLP-1-vermittelte Mechanismen für die Wirkung von Vildagliptin verantwortlich sind.

Eine selektive DPP-4-Hemmung ist für eine annehmbare Sicherheit und Verträglichkeit eines DPP-4-Hemmers unerlässlich. Mindestens zwei menschliche Dipeptidylpeptidasen, nämlich DPP 8 und DPP 9, sind strukturell eng mit DPP 4 verwandt. Die Funktion beider Peptide ist bisher nicht bekannt (177,178). In Tiermodellen ist eine toxische Wirkung einer dauerhaften Hemmung von DPP 8 und DPP 9 beschrieben worden (178). Allerdings weist Vildagliptin im Tierversuch eine hohe Selektivität für DPP 4 auf, während die Affinität zu DPP 8 und DPP 9 sehr gering ist (105,179). Ob es unter Gabe von Vildagliptin zu einer relevanten Hemmung von DPP 8 oder DPP 9 kommt, ist nicht bekannt. Ein Nebenwirkungsprofil von Vildagliptin fand sich in unserer Akut-Studie nicht. In der Literatur sind jedoch Nebenwirkungen wie Infektionen des oberen Respirationstrakts, Schnupfen, Schwindel und Kopfschmerzen beschrieben. Ebenso zeigten sich selten erhöhte Transaminasen, so dass die Leberwerte unter Vildagliptin-Gabe kontrolliert werden sollten (180,181).

**Zusammengefasst** konnten wir erstmals zeigen, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 die akute DPP-4-Hemmung durch Vildagliptin zu einer Verstärkung aller GLP-1-Wirkungen führt, die für die GLP-1 mediierte Senkung der postprandialen Blutzuckerexkursionen klinisch relevant sind: eine Hemmung der Magenentleerung spielt eine wichtige Rolle. Aber auch unabhängig davon trägt insbesondere die Reduktion des postprandialen Glukagon zu der niedrigeren postprandialen Glykämie bei. Durch Nachweis der fehlenden Konversion des PYY (1-36) in das sättigungsrelevante bioaktive Hormon PYY (3-36) unter DPP-4-Hemmung konnten wir erstmals einen potentiellen Mechanismus für den fehlenden Effekt der DPP-4-Hemmung auf Sättigungsgefühl und Körpergewicht nahe legen, der unter direkter pharmakologischer GLP-1-Rezeptorstimulation zu beobachten ist.



## 6 Zusammenfassung

Der Einsatz des Peptidhormons GLP-1 stellt derzeit eine der vielversprechendsten neuen Möglichkeiten zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 dar. GLP-1 wird nach Nahrungsaufnahme aus dem Darm in den Blutstrom abgegeben. Das Inkretinhormon GLP-1 stimuliert die postprandiale Insulinsekretion, hemmt die postprandiale Glukagonsekretion, verzögert die Magenentleerung und verbessert so die postprandiale Glukosehomöostase. GLP-1 wird durch das ubiquitär vorkommende Enzym DPP 4 inaktiviert. Der orale DPP-4-Inhibitor Vildagliptin steigert die postprandiale GLP-1-Plasmakonzentrationen um das 2–4fache. Dies ist verbunden mit einer verbesserten Pankreasinselfunktion und einer niedrigeren postprandialen Blutzuckerexkursion. Die vorgestellte randomisierte, einfach-blinde, plazebokontrollierte Cross-over-Studie wurde durchgeführt, um die blutzuckersenkenden Mechanismen von Vildagliptin genauer zu untersuchen. Insbesondere sollte die akute Wirkung einer DPP-4-Hemmung mit Vildagliptin auf die Magenentleerung, die postprandialen Blutzuckerspiegel und die postprandialen Glukoseflüsse bei 18 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 untersucht werden.

Die Magenentleerung wurde mit Hilfe einer zeitlich hochauflösenden Magenentleerungsszintigraphie nach Einnahme einer radioaktiv markierten Testmahlzeit bestimmt. Die Glukoseflüsse wurden unter Einsatz nicht-radioaktiver Tracer zur Markierung der oral aufgenommen Glukose und des systemischen Glukosepools berechnet. Neben Plasmaglukosebestimmungen wurden die Spiegel der Inkretinhormone GLP-1 (bioaktiv) und GIP (bioaktiv) sowie Insulin, C-Peptid und Glukagon parallel zu den Magenentleerungszeiten bestimmt, um die physiologische Bedeutung der Auswirkungen von Vildagliptin auf die Magenentleerung zu untersuchen. Um eine Wirkung von Vildagliptin auf das endokrine Pankreas (Insulinsekretion/C-Peptidsekretion/Glukagonsekretion), die postprandialen Blutzuckerspiegel und die Sekretion der Inkretinhormone GLP-1 (bioaktiv) und GIP (bioaktiv) unabhängig von der Magenentleerung zu beurteilen, wurde in einem weiteren Ansatz die duodenale Perfusion der Mahlzeit entsprechend der Entleerungskinetik der oralen Mahlzeit durchgeführt. Zudem sollte der Effekt von Vildagliptin auf Hunger und Sättigung, sowie auf die Wirkung des Sättigungshormons PYY untersucht werden.

Durch die Gabe von Vildagliptin kam es zu einer signifikanten Verzögerung der initialen Magenentleerung bei den untersuchten Typ-2-Diabetikern, was zu einer Reduktion der Mahlzeitglukoseerscheinerate im Plasma sowie zu einer Reduktion der postprandialen Blutzuckerkonzentrationen führte. Die Magenentleerungsverzögerung lässt sich durch eine Erhöhung von endogenem GLP-1 (bioaktiv) erklären, die durch die Hemmung der DPP 4 zustande kommt. In dieser Arbeit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass eine pharmakologische Hemmung der DPP 4, die zu einer noch physiologischen Steigerung von endogenem GLP-1 führt, mit einer Verzögerung der Magenentleerung einhergeht.

Die Hemmung der DPP 4 verbesserte die postprandiale Suppression der Glukagonausschüttung signifikant, während die Sekretion von Insulin und C-Peptid weitgehend unverändert blieb. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit früheren Daten hinsichtlich der Wirkungsweise von Hemmstoffen der DPP 4. Die Verminderung der hepatischen Glukoseproduktion durch eine verringerte pankreatische Glukagonfreisetzung und die initiale Magenentleerungsverzögerung sind somit die Hauptmechanismen der akuten blutzuckersenkenden Wirkung von Vildagliptin.

Unter Umgehung der Magenentleerung durch die duodenale Perfusion der Testmahlzeit blieb der Effekt auf die gemessenen Hormone – insbesondere Glukagon – quantitativ unverändert. Neben der Magenentleerungshemmung tritt unter Vildagliptin somit eine magenentleerungsunabhängige Blutzuckersenkung, insbesondere über eine Hemmung von Glukagon und somit der hepatischen Glukosefreisetzung, auf.

Unter der Gabe von Vildagliptin zeigte sich erstmals eine signifikante Hemmung der Sekretion des Sättigungshormons PYY in seiner totalen (PYY 1-36) und eine komplette Blockade der Konversion in seine bioaktive (PYY 3-36) Form. Wir sehen darin einen möglichen Grund, warum DPP-4-Hemmer im Gegensatz zu GLP-1-Analoga nicht zu einer Gewichtsreduktion führen. Entsprechend sahen wir trotz deutlich erhöhter GLP-1-Spiegel unter DPP-4-Hemmung keine Änderung des Sättigungs- und Hungergefühls. Somit konnte auch der Nachweis geführt werden, dass die Hemmung der DPP 4 sich nicht auf die Plasmakonzentrationen der Inkethormone beschränkt, sondern auch andere gastrointestinale Hormone betrifft. Es wird eine Aufgabe zukünftiger Studien sein, diese Wirkmechanismen weiter zu untersuchen.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 27:1047-1053, 2004
2. American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the U.S. in 2007. 31, 596-615. 2008. *Diabetes Care*.
3. International Diabetes Federation: Diabetes Atlas 2003. 2003. Brussels, International Diabetes Federation.
4. DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E: Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care*. 15:318-368, 1992
5. Reaven GM: Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev*. 75:473-486, 1995
6. Khaw KT, Wareham N, Bingham S, Luben R, Welch A, Day N: Association of hemoglobin A1c with cardiovascular disease and mortality in adults: the European prospective investigation into cancer in Norfolk. *Ann.Intern.Med*. 141:413-420, 2004
7. Kendall DM, Sobel BE, Coulston AM, Peters Harmel AL, McLean BK, Peragallo-Dittko V, Buse JB, Fonseca VA, Hill JO, Nesto RW, Sunyer FX: The insulin resistance syndrome and coronary artery disease. *Coron.Artery Dis*. 14:335-348, 2003
8. Inzucchi SE: Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. *JAMA*. 287:360-372, 2002
9. Simpson SH, Majumdar SR, Tsuyuki RT, Eurich DT, Johnson JA: Dose-response relation between sulfonylurea drugs and mortality in type 2 diabetes mellitus: a population-based cohort study. *CMAJ*. 174:169-174, 2006
10. American Diabetes Association. Implications of the United Kingdom Prospective Diabetes Study. 26 (suppl 1), 28-32. 2003. *Diabetes Care*.
11. Maedler K, Carr RD, Bosco D, Zuellig RA, Berney T, Donath MY: Sulfonylurea induced beta-cell apoptosis in cultured human islets. *J.Clin.Endocrinol.Metab*. 90:501-506, 2005
12. Ball AJ, Flatt PR, McClenaghan NH: Desensitization of sulphonylurea- and nutrient-induced insulin secretion following prolonged treatment with glibenclamide. *Eur.J.Pharmacol*. 408:327-333, 2000
13. Saenz A, Fernandez-Esteban I, Mataix A, Ausejo M, Roque M, Moher D: Metformin monotherapy for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane.Database.Syst.Rev*. %20;CD002966, 2005

14. Johnson JA, Simpson SH, Toth EL, Majumdar SR: Reduced cardiovascular morbidity and mortality associated with metformin use in subjects with Type 2 diabetes. *Diabet.Med.* 22:497-502, 2005
15. DeFronzo RA: Pathogenesis of type 2 diabetes: implications for metformin. *Drugs.* 58 Suppl 1:29-30; discussion 75-82.:29-30, 1999
16. Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR: Metformin: an update. *Ann.Intern.Med.* 137:25-33, 2002
17. DeFronzo RA: Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann.Intern.Med.* 131:281-303, 1999
18. Holman RR, Cull CA, Turner RC: A randomized double-blind trial of acarbose in type 2 diabetes shows improved glycemic control over 3 years (U.K. Prospective Diabetes Study 44). *Diabetes Care* 22:960-964, 1999
19. Kawasaki F, Matsuda M, Kanda Y, Inoue H, Kaku K: Structural and functional analysis of pancreatic islets preserved by pioglitazone in db/db mice. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab.* 288:E510-E518, 2005
20. Gastaldelli A, Ferrannini E, Miyazaki Y, Matsuda M, Mari A, DeFronzo RA: Thiazolidinediones improve beta-cell function in type 2 diabetic patients. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab.* 292:E871-E883, 2007
21. Parulkar AA, Pendergrass ML, Granda-Ayala R, Lee TR, Fonseca VA: Nonhypoglycemic effects of thiazolidinediones. *Ann.Intern.Med.* 134:61-71, 2001
22. Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJ, Erdmann E, Massi-Benedetti M, Moules IK, Skene AM, Tan MH, Lefebvre PJ, Murray GD, Standl E, Wilcox RG, Wilhelmsen L, Betteridge J, Birkeland K, Golay A, Heine RJ, Koranyi L, Laakso M, Mokan M, Norkus A, Pirags V, Podar T, Scheen A, Scherbaum W, Schernthaner G, Schmitz O, Skrha J, Smith U, Taton J: Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive Study (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events): a randomised controlled trial. *Lancet.* 366:1279-1289, 2005
23. Marcy TR, Britton ML, Blevins SM: Second-generation thiazolidinediones and hepatotoxicity. *Ann.Pharmacother.* 38:1419-1423, 2004
24. Phillips LS, Dunning BE: Nateglinide (Starlix): update on a new antidiabetic agent. *Int.J.Clin.Pract.* 57:535-541, 2003
25. BERSON SA, YALOW RS: Diverse applications of isotopically labeled insulin. *Trans.N.Y.Acad.Sci.* 24:487-495, 1962
26. Brown JC, Dryburgh JR: A gastric inhibitory polypeptide. II. The complete amino acid sequence. *Can.J.Biochem.* 49:867-872, 1971
27. Creutzfeldt W: The incretin concept today. *Diabetologia.* 16:75-85, 1979

28. Buchan AM, Polak JM, Capella C, Solcia E, Pearse AG: Electronimmunocytochemical evidence for the K cell localization of gastric inhibitory polypeptide (GIP) in man. *Histochemistry*. 56:37-44, 1978
29. Moens K, Heimberg H, Flamez D, Huypens P, Quartier E, Ling Z, Pipeleers D, Gremlich S, Thorens B, Schuit F: Expression and functional activity of glucagon, glucagon-like peptide I, and glucose-dependent insulinotropic peptide receptors in rat pancreatic islet cells. *Diabetes*. 45:257-261, 1996
30. Fehmman 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.* 16:390-410, 1995
31. Morgan LM: The metabolic role of GIP: physiology and pathology. *Biochem.Soc.Trans.* 24:585-591, 1996
32. Meier JJ, Nauck MA, Schmidt WE, Gallwitz B: Gastric inhibitory polypeptide: the neglected incretin revisited. *Regul.Pept.* 107:1-13, 2002
33. Holst JJ, Schmidt P: Gut hormones and intestinal function. *Baillieres Clin.Endocrinol.Metab* 8:137-164, 1994
34. Goke R, Fehmman HC, Goke B: Glucagon-like peptide-1(7-36) amide is a new incretin/enterogastrone candidate. *Eur.J.Clin.Invest.* 21:135-144, 1991
35. Kolligs F, Fehmman 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*. 44:16-19, 1995
36. Goke B, Fehmman HC, Schirra J, Hareter A, Goke R: [The intestinal hormone glucagon-like peptide 1 (GLP-1): from experiment to the clinic]. *Z.Gastroenterol.* 35:285-294, 1997
37. Bell GI, Sanchez-Pescador R, Laybourn PJ, Najarian RC: Exon duplication and divergence in the human proglucagon gene. *Nature*. 304:368-371, 1983
38. White JW, Saunders GF: Structure of the human glucagon gene. *Nucleic Acids Res.* 14:4719-4730, 1986
39. Orskov C, Holst JJ, Poulsen SS, Kirkegaard P: Pancreatic and intestinal processing of proglucagon in man. *Diabetologia*. 30:874-881, 1987
40. Kieffer TJ, Habener JF: The glucagon-like peptides. *Endocr.Rev.* 20:876-913, 1999
41. Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR: Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology*. 89:1070-1077, 1985
42. Grandt D, Schimiczek M, Beglinger C, Layer P, Goebell H, Eysselein VE, Reeve JR, Jr.: Two molecular forms of peptide YY (PYY) are abundant in human blood: characterization of a radioimmunoassay recognizing PYY 1-36 and PYY 3-36. *Regul.Pept.* 51:151-159, 1994

43. Adrian TE, Savage AP, Sagor GR, Allen JM, Bacarese-Hamilton AJ, Tatemoto K, Polak JM, Bloom SR: Effect of peptide YY on gastric, pancreatic, and biliary function in humans. *Gastroenterology*. 89:494-499, 1985
44. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, Bloom SR: Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*. 418:650-654, 2002
45. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR: Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N.Engl.J.Med.* 349:941-948, 2003
46. Tschöp M, Castaneda TR, Joost HG, Thone-Reineke C, Ortmann S, Klaus S, Hagan MM, Chandler PC, Oswald KD, Benoit SC, Seeley RJ, Kinzig KP, Moran TH, Beck-sickingner AG, Koglin N, Rodgers RJ, Blundell JE, Ishii Y, Beattie AH, Holch P, Allison DB, Raun K, Madsen K, Wulff BS, Stidsen CE, Birringer M, Kreuzer OJ, Schindler M, Arndt K, Rudolf K, Mark M, Deng XY, Whitcomb DC, Halem H, Taylor J, Dong J, Datta R, Culler M, Craney S, Flora D, Smiley D, Heiman ML: Physiology: does gut hormone PYY3-36 decrease food intake in rodents? *Nature*. 430:1, 2004
47. Wettergren A, Pridal L, Wojdemann M, Holst JJ: Amidated and non-amidated glucagon-like peptide-1 (GLP-1): non-pancreatic effects (cephalic phase acid secretion) and stability in plasma in humans. *Regul.Pept.* 77:83-87, 1998
48. Eissele R, Goke R, Willemer S, Harthus HP, Vermeer H, Arnold R, Goke B: Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. *Eur.J.Clin.Invest.* 22:283-291, 1992
49. Herrmann C, Goke R, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Goke B: Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. *Digestion* 56:117-126, 1995
50. Brubaker PL: Regulation of intestinal proglucagon-derived peptide secretion by intestinal regulatory peptides. *Endocrinology*. 128:3175-3182, 1991
51. Schirra J, Goke B: The physiological role of GLP-1 in human: incretin, ileal brake or more? *Regul.Pept.* 128:109-115, 2005
52. Thorens B: Expression cloning of the pancreatic beta cell receptor for the gluco-incretin hormone glucagon-like peptide 1. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 89:8641-8645, 1992
53. Stoffel M, Espinosa R, III, Le Beau MM, Bell GI: Human glucagon-like peptide-1 receptor gene. Localization to chromosome band 6p21 by fluorescence in situ hybridization and linkage of a highly polymorphic simple tandem repeat DNA polymorphism to other markers on chromosome 6. *Diabetes*. 42:1215-1218, 1993
54. Fehmann HC, Habener JF: Functional receptors for the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) on a somatostatin secreting cell line. *FEBS Lett.* 279:335-340, 1991

55. Heller RS, Kieffer TJ, Habener JF: Insulinotropic glucagon-like peptide I receptor expression in glucagon-producing alpha-cells of the rat endocrine pancreas. *Diabetes*. 46:785-791, 1997
56. Wei Y, Mojsov S: Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences. *FEBS Lett*. 358:219-224, 1995
57. Fehmann HC, Hering BJ, Wolf MJ, Brandhorst H, Brandhorst D, Bretzel RG, Federlin K, Goke B: The effects of glucagon-like peptide-I (GLP-I) on hormone secretion from isolated human pancreatic islets. *Pancreas*. 11:196-200, 1995
58. Goke R, Wagner B, Fehmann HC, Goke B: Glucose-dependency of the insulin stimulatory effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on the rat pancreas. *Res.Exp.Med.(Berl)*. 193:97-103, 1993
59. Nauck MA, Heimesaat MM, Behle K, Holst JJ, Nauck MS, Ritzel R, Hufner M, Schmiegel WH: Effects of glucagon-like peptide 1 on counterregulatory hormone responses, cognitive functions, and insulin secretion during hyperinsulinemic, stepped hypoglycemic clamp experiments in healthy volunteers. *J.Clin.Endocrinol.Metab*. 87:1239-1246, 2002
60. Fehmann HC, Habener JF: Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma beta TC-1 cells. *Endocrinology*. 130:159-166, 1992
61. Holz GG, Kuhlreiber WM, Habener JF: Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1(7-37). *Nature*. 361:362-365, 1993
62. Fehmann HC, Goke R, Goke B, Bachle R, Wagner B, Arnold R: Priming effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide, glucose-dependent insulinotropic polypeptide and cholecystokinin-8 at the isolated perfused rat pancreas. *Biochim.Biophys.Acta*. %19;1091:356-363, 1991
63. Farilla L, Hui H, Bertolotto C, Kang E, Bulotta A, Di Mario U, Perfetti R: Glucagon-like peptide-1 promotes islet cell growth and inhibits apoptosis in Zucker diabetic rats. *Endocrinology*. 143:4397-4408, 2002
64. Rolin B, Larsen MO, Gotfredsen CF, Deacon CF, Carr RD, Wilken M, Knudsen LB: The long-acting GLP-1 derivative NN2211 ameliorates glycemia and increases beta-cell mass in diabetic mice. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab*. 283:E745-E752, 2002
65. Creutzfeldt WO, Kleine N, Willms B, Orskov C, Holst JJ, Nauck MA: Glucagonostatic actions and reduction of fasting hyperglycemia by exogenous glucagon-like peptide I(7-36) amide in type I diabetic patients. *Diabetes Care*. 19:580-586, 1996
66. Orskov C, Holst JJ, Nielsen OV: Effect of truncated glucagon-like peptide-1 [proglucagon-(78-107) amide] on endocrine secretion from pig pancreas, antrum, and nonantral stomach. *Endocrinology*. 123:2009-2013, 1988

67. Fehmman HC, Hering BJ, Wolf MJ, Brandhorst H, Brandhorst D, Bretzel RG, Federlin K, Goke B: The effects of glucagon-like peptide-I (GLP-I) on hormone secretion from isolated human pancreatic islets. *Pancreas*. 11:196-200, 1995
68. Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE, Myhre J, Christiansen J, Holst JJ: Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Dig.Dis.Sci.* 38:665-673, 1993
69. Schirra J, Kuwert P, Wank U, Leicht P, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Differential effects of subcutaneous GLP-1 on gastric emptying, antroduodenal motility, and pancreatic function in men. *Proc.Assoc.Am.Physicians*. 109:84-97, 1997
70. Nauck MA, Niedereichholz U, Ettler R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, Schmiegel WH: Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am.J.Physiol.* 273:E981-E988, 1997
71. Horowitz M, Edelbroek MA, Wishart JM, Straathof JW: Relationship between oral glucose tolerance and gastric emptying in normal healthy subjects. *Diabetologia*. 36:857-862, 1993
72. Schirra J, Houck P, Wank U, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on antro-pyloro-duodenal motility in the interdigestive state and with duodenal lipid perfusion in humans. *Gut*. 46:622-631, 2000
73. Schirra J, Nicolaus M, Roggel R, Katschinski M, Storr M, Woerle HJ, Goke B: Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans. *Gut*. 55:243-251, 2006
74. Meier JJ, Gethmann A, Gotze O, Gallwitz B, Holst JJ, Schmidt WE, Nauck MA: Glucagon-like peptide 1 abolishes the postprandial rise in triglyceride concentrations and lowers levels of non-esterified fatty acids in humans. *Diabetologia* 49:452-458, 2006
75. Camilleri M: Clinical practice. Diabetic gastroparesis. *N.Engl.J.Med.* 356:820-829, 2007
76. Gutniak M, Orskov C, Holst JJ, Ahren B, Efendic S: Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7-36)amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N.Engl.J.Med.* 326:1316-1322, 1992
77. Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ: Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet*. 359:824-830, 2002
78. Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JP, Smith DM, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR: A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*. 379:69-72, 1996



79. Tang-Christensen M, Larsen PJ, Goke R, Fink-Jensen A, Jessop DS, Moller M, Sheikh SP: Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats. *Am.J.Physiol.* 271:R848-R856, 1996
80. Gutzwiller JP, Drewe J, Goke B, Schmidt H, Rohrer B, Lareida J, Beglinger C: Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type 2. *Am.J.Physiol.* 276:R1541-R1544, 1999
81. Flint A, Raben A, Astrup A, Holst JJ: Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J.Clin.Invest.* 101:515-520, 1998
82. Barragan JM, Rodriguez RE, Blazquez E: Changes in arterial blood pressure and heart rate induced by glucagon-like peptide-1-(7-36) amide in rats. *Am.J.Physiol.* 266:E459-E466, 1994
83. Richter G, Goke R, Goke B, Arnold R: Characterization of receptors for glucagon-like peptide-1(7-36)amide on rat lung membranes. *FEBS Lett.* 267:78-80, 1990
84. Richter G, Feddersen O, Wagner U, Barth P, Goke R, Goke B: GLP-1 stimulates secretion of macromolecules from airways and relaxes pulmonary artery. *Am.J.Physiol.* 265:L374-L381, 1993
85. Mentlein R, Gallwitz B, Schmidt WE: Dipeptidyl-peptidase IV hydrolyses gastric inhibitory polypeptide, glucagon-like peptide-1(7-36)amide, peptide histidine methionine and is responsible for their degradation in human serum. *Eur.J.Biochem.* 214:829-835, 1993
86. Knudsen LB, Pridal L: Glucagon-like peptide-1-(9-36) amide is a major metabolite of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide after in vivo administration to dogs, and it acts as an antagonist on the pancreatic receptor. *Eur.J.Pharmacol.* 318:429-435, 1996
87. Deacon CF, Pridal L, Klarskov L, Olesen M, Holst JJ: Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig. *Am.J.Physiol.* 271:E458-E464, 1996
88. Deacon CF, Johnsen AH, Holst JJ: Degradation of glucagon-like peptide-1 by human plasma in vitro yields an N-terminally truncated peptide that is a major endogenous metabolite in vivo. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 80:952-957, 1995
89. Hupe-Sodmann K, McGregor GP, Bridenbaugh R, Goke R, Goke B, Thole H, Zimmermann B, Voigt K: Characterisation of the processing by human neutral endopeptidase 24.11 of GLP-1(7-36) amide and comparison of the substrate specificity of the enzyme for other glucagon-like peptides. *Regul.Pept.* 58:149-156, 1995
90. Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, Holst JJ, Deacon CF, Gaeckler D, Schmidt WE, Gallwitz B: Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects. *Diabetes.* 53:654-662, 2004
91. Yaron A, Naider F: Proline-dependent structural and biological properties of peptides and proteins. *Crit Rev.Biochem.Mol.Biol.* 28:31-81, 1993

92. Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W: Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 29:46-52, 1986
93. Holst JJ, Deacon C, Toft-Nielsen MB, Bjerre-Knudsen L: On the treatment of diabetes mellitus with glucagon-like peptide-1. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 865:336-343, 1998
94. Creutzfeldt W: Entero-insular axis and diabetes mellitus. *Horm.Metab Res.Suppl* 26:13-18, 1992
95. Nathan DM, Schreiber E, Fogel H, Mojsov S, Habener JF: Insulinotropic action of glucagonlike peptide-I-(7-37) in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 15:270-276, 1992
96. Rachman J, Gribble FM, Barrow BA, Levy JC, Buchanan KD, Turner RC: Normalization of insulin responses to glucose by overnight infusion of glucagon-like peptide 1 (7-36) amide in patients with NIDDM. *Diabetes* 45:1524-1530, 1996
97. Nauck MA, Bartels E, Orskov C, Ebert R, Creutzfeldt W: Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic human gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide infused at near-physiological insulinotropic hormone and glucose concentrations. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 76:912-917, 1993
98. Orskov C, Wettergren A, Holst JJ: Biological effects and metabolic rates of glucagonlike peptide-1 7-36 amide and glucagonlike peptide-1 7-37 in healthy subjects are indistinguishable. *Diabetes.* 42:658-661, 1993
99. Vilsboll T, Krarup T, Madsbad S, Holst JJ: No reactive hypoglycaemia in Type 2 diabetic patients after subcutaneous administration of GLP-1 and intravenous glucose. *Diabet.Med.* 18:144-149, 2001
100. Kolterman OG, Kim DD, Shen L, Ruggles JA, Nielsen LL, Fineman MS, Baron AD: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of exenatide in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am.J.Health Syst.Pharm.* 62:173-181, 2005
101. Pederson RA, White HA, Schlentzig D, Pauly RP, McIntosh CH, Demuth HU: Improved glucose tolerance in Zucker fatty rats by oral administration of the dipeptidyl peptidase IV inhibitor isoleucine thiazolidide. *Diabetes* 47:1253-1258, 1998
102. Deacon CF, Hughes TE, Holst JJ: Dipeptidyl peptidase IV inhibition potentiates the insulinotropic effect of glucagon-like peptide 1 in the anesthetized pig. *Diabetes* 47:764-769, 1998
103. Ahren B, Landin-Olsson M, Jansson PA, Svensson M, Holmes D, Schweizer A: Inhibition of dipeptidyl peptidase-4 reduces glycemia, sustains insulin levels, and reduces glucagon levels in type 2 diabetes. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 89:2078-2084, 2004
104. He YL, Serra D, Wang Y, Campestrini J, Riviere GJ, Deacon CF, Holst JJ, Schwartz S, Nielsen JC, Ligueros-Saylan M: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of vildagliptin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin.Pharmacokinet.* 46:577-588, 2007

105. Villhauer EB, Brinkman JA, Naderi GB, Burkey BF, Dunning BE, Prasad K, Mangold BL, Russell ME, Hughes TE: 1-[[[3-hydroxy-1-adamantyl)amino]acetyl]-2-cyano-(S)-pyrrolidine: a potent, selective, and orally bioavailable dipeptidyl peptidase IV inhibitor with antihyperglycemic properties. *J.Med.Chem.* 46:2774-2789, 2003
106. Ristic S, Bates PC: Vildagliptin: a novel DPP-4 inhibitor with pancreatic islet enhancement activity for treatment of patients with type 2 diabetes. *Drugs Today (Barc.)* 42:519-531, 2006
107. He YL, Sabo R, Riviere GJ, Sunkara G, Leon S, Ligueros-Saylan M, Rosenberg M, Dole WP, Howard D: Effect of the novel oral dipeptidyl peptidase IV inhibitor vildagliptin on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in healthy subjects. *Curr.Med.Res.Opin.* 23:1131-1138, 2007
108. He YL, Flannery B, Campestrini J, Leon S, Zinny MA, Ligueros-Saylan M, Jarugula V: Effect of food on the pharmacokinetics of a vildagliptin/metformin (50/1000 mg) fixed-dose combination tablet in healthy volunteers. *Curr.Med.Res.Opin.* 24:1703-1709, 2008
109. Amori RE, Lau J, Pittas AG: Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 298:194-206, 2007
110. Richter B, Bandeira-Echtler E, Bergerhoff K, Lerch C: Emerging role of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the management of type 2 diabetes. *Vasc.Health Risk Manag.* 4:753-768, 2008
111. Rosenstock J, Baron MA, Dejager S, Mills D, Schweizer A: Comparison of vildagliptin and rosiglitazone monotherapy in patients with type 2 diabetes: a 24-week, double-blind, randomized trial. *Diabetes Care* 30:217-223, 2007
112. Khaw KT, Wareham N, Luben R, Bingham S, Oakes S, Welch A, Day N: Glycated haemoglobin, diabetes, and mortality in men in Norfolk cohort of european prospective investigation of cancer and nutrition (EPIC-Norfolk). *BMJ* 322:15-18, 2001
113. Ruppin H: [Physiology of gastric motility]. *Z.Gastroenterol.* 28 Suppl 1:3-5, discussion, 1990
114. Urbain JL, Charkes ND: Recent advances in gastric emptying scintigraphy. *Semin.Nucl.Med.* 25:318-325, 1995
115. Kelly KA: Gastric emptying of liquids and solids: roles of proximal and distal stomach. *Am.J.Physiol* 239:G71-G76, 1980
116. Houghton LA, Read NW, Heddle R, Horowitz M, Collins PJ, Chatterton B, Dent J: Relationship of the motor activity of the antrum, pylorus, and duodenum to gastric emptying of a solid-liquid mixed meal. *Gastroenterology* 94:1285-1291, 1988
117. Wegener M, Schaffstein J, Borsch G: [Physiology and pathophysiology of stomach emptying. Principles, methods of study and therapy]. *Med.Klin.(Munich)* 83:335-341, 1988

118. Meyer JH, Ohashi H, Jehn D, Thomson JB: Size of liver particles emptied from the human stomach. *Gastroenterology* 80:1489-1496, 1981
119. HUNT JN, MACDONALD I: The influence of volume on gastric emptying. *J.Physiol* 126:459-474, 1954
120. Elashoff JD, Reedy TJ, Meyer JH: Analysis of gastric emptying data. *Gastroenterology* 83:1306-1312, 1982
121. Collins PJ, Houghton LA, Read NW, Horowitz M, Chatterton BE, Heddle R, Dent J: Role of the proximal and distal stomach in mixed solid and liquid meal emptying. *Gut* 32:615-619, 1991
122. Brener W, Hendrix TR, McHugh PR: Regulation of the gastric emptying of glucose. *Gastroenterology* 85:76-82, 1983
123. Siegel JA, Urbain JL, Adler LP, Charkes ND, Maurer AH, Krevsky B, Knight LC, Fisher RS, Malmud LS: Biphasic nature of gastric emptying. *Gut* 29:85-89, 1988
124. Sarna SK: Cyclic motor activity; migrating motor complex: 1985. *Gastroenterology* 89:894-913, 1985
125. Vantrappen G, Janssens J, Hellemans J, Ghooos Y: The interdigestive motor complex of normal subjects and patients with bacterial overgrowth of the small intestine. *J.Clin.Invest* 59:1158-1166, 1977
126. Langton P, Ward SM, Carl A, Norell MA, Sanders KM: Spontaneous electrical activity of interstitial cells of Cajal isolated from canine proximal colon. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 86:7280-7284, 1989
127. Sanders KM: A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 111:492-515, 1996
128. Dockray G, Dimaline R, Varro A: Gastrin: old hormone, new functions. *Pflugers Arch.* 449:344-355, 2005
129. Beglinger C, Degen L: Fat in the intestine as a regulator of appetite--role of CCK. *Physiol Behav.* 83:617-621, 2004
130. Cuomo R, Vandaele P, Coulie B, Peeters T, Depoortere I, Janssens J, Tack J: Influence of motilin on gastric fundus tone and on meal-induced satiety in man: role of cholinergic pathways. *Am.J.Gastroenterol.* 101:804-811, 2006
131. Parkman HP, Hasler WL, Fisher RS: American Gastroenterological Association technical review on the diagnosis and treatment of gastroparesis. *Gastroenterology* 127:1592-1622, 2004
132. Horowitz M, Wishart JM, Jones KL, Hebbard GS: Gastric emptying in diabetes: an overview. *Diabet.Med.* 13:S16-S22, 1996

133. Bytzer P, Talley NJ, Hammer J, Young LJ, Jones MP, Horowitz M: GI symptoms in diabetes mellitus are associated with both poor glycemic control and diabetic complications. *Am.J.Gastroenterol.* 97:604-611, 2002
134. Fraser RJ, Horowitz M, Maddox AF, Harding PE, Chatterton BE, Dent J: Hyperglycaemia slows gastric emptying in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 33:675-680, 1990
135. Horowitz M, Harding PE, Maddox AF, Wishart JM, Akkermans LM, Chatterton BE, Shearman DJ: Gastric and oesophageal emptying in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 32:151-159, 1989
136. Fraser R, Horowitz M, Dent J: Hyperglycaemia stimulates pyloric motility in normal subjects. *Gut* 32:475-478, 1991
137. Mearin F, Camilleri M, Malagelada JR: Pyloric dysfunction in diabetics with recurrent nausea and vomiting. *Gastroenterology* 90:1919-1925, 1986
138. Schvarcz E, Palmer M, Aman J, Berne C: Hypoglycemia increases the gastric emptying rate in healthy subjects. *Diabetes Care* 18:674-676, 1995
139. Vittal H, Farrugia G, Gomez G, Pasricha PJ: Mechanisms of disease: the pathological basis of gastroparesis--a review of experimental and clinical studies. *Nat.Clin.Pract.Gastroenterol.Hepatol.* 4:336-346, 2007
140. Watkins CC, Sawa A, Jaffrey S, Blackshaw S, Barrow RK, Snyder SH, Ferris CD: Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression and function that is lost in diabetic gastropathy. *J.Clin.Invest* 106:373-384, 2000
141. Fregonesi CE, Miranda-Neto MH, Molinari SL, Zanoni JN: Quantitative study of the myenteric plexus of the stomach of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Arq Neuropsiquiatr.* 59:50-53, 2001
142. Anitha M, Gondha C, Sutliff R, Parsadonian A, Mwangi S, Sitaraman SV, Srinivasan S: GDNF rescues hyperglycemia-induced diabetic enteric neuropathy through activation of the PI3K/Akt pathway. *J.Clin.Invest* 116:344-356, 2006
143. He CL, Soffer EE, Ferris CD, Walsh RM, Szurszewski JH, Farrugia G: Loss of interstitial cells of cajal and inhibitory innervation in insulin-dependent diabetes. *Gastroenterology* 121:427-434, 2001
144. Korolkiewicz R, Rekowski P, Szyk A, Kato S, Yasuhiro T, Kubomi M, Tashima K, Takeuchi K: Effects of diabetes mellitus on the contractile activity of carbachol and galanin in isolated gastric fundus strips of rats. *Pharmacology* 57:65-78, 1998
145. Jones KL, Horowitz M, Wishart MJ, Maddox AF, Harding PE, Chatterton BE: Relationships between gastric emptying, intragastric meal distribution and blood glucose concentrations in diabetes mellitus. *J.Nucl.Med.* 36:2220-2228, 1995
146. Samsom M, Szarka LA, Camilleri M, Vella A, Zinsmeister AR, Rizza RA: Pramlintide, an amylin analog, selectively delays gastric emptying: potential role of vagal inhibition. *Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol* 278:G946-G951, 2000

147. Bouras EP, Delgado-Aros S, Camilleri M, Castillo EJ, Burton DD, Thomforde GM, Chial HJ: SPECT imaging of the stomach: comparison with barostat, and effects of sex, age, body mass index, and fundoplication. Single photon emission computed tomography. *Gut* 51:781-786, 2002
148. Cremonini F, Mullan BP, Camilleri M, Burton DD, Rank MR: Performance characteristics of scintigraphic transit measurements for studies of experimental therapies. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 16:1781-1790, 2002
149. Linke R, Muenzing W, Hahn K, Tatsch K: Evaluation of gastric motility by Fourier analysis of condensed images. *Eur.J.Nucl.Med.* 27:1531-1537, 2000
150. Wolfe R. Radioactive and stable isotope tracers in biomedicine: principles and practice of kinetic analysis. 1992. New York, Wiley-Liss.
151. DeBodo R, Steele R Dunn A Bishop J. On the hormonal regulation of carbohydrate metabolism: studies with <sup>14</sup>C glucose. 19, 445-448. 1963. *Rec Prog Horm Res.*
152. Chiasson JL, Liljenquist JE, Lacy WW, Jennings AS, Cherrington AD: Gluconeogenesis: methodological approaches in vivo. *Fed.Proc.* 36:229-235, 1977
153. Beylot M, Previs SF, David F, Brunengraber H: Determination of the <sup>13</sup>C-labeling pattern of glucose by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal.Biochem.* 212:526-531, 1993
154. Kelley D, Mitrakou A, Marsh H, Schwenk F, Benn J, Sonnenberg G, Arcangeli M, Aoki T, Sorensen J, Berger M, .: Skeletal muscle glycolysis, oxidation, and storage of an oral glucose load. *J.Clin.Invest* 81:1563-1571, 1988
155. Mitrakou A, Kelley D, Mookan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, Gerich J: Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *N.Engl.J.Med.* 326:22-29, 1992
156. Woerle HJ, Albrecht M, Linke R, Zschau S, Neumann C, Nicolaus M, Gerich J, Goke B, Schirra J: Importance of changes in gastric emptying for postprandial plasma glucose fluxes in healthy humans. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab* 294:E103-E109, 2008
157. Woerle HJ, Albrecht M, Linke R, Zschau S, Neumann C, Nicolaus M, Gerich JE, Goke B, Schirra J: Impaired hyperglycemia-induced delay in gastric emptying in patients with type 1 diabetes deficient for islet amyloid polypeptide. *Diabetes Care* 31:2325-2331, 2008
158. Mari A, Sallas WM, He YL, Watson C, Ligueros-Saylan M, Dunning BE, Deacon CF, Holst JJ, Foley JE: Vildagliptin, a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor, improves model-assessed beta-cell function in patients with type 2 diabetes. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 90:4888-4894, 2005
159. Balas B, Baig MR, Watson C, Dunning BE, Ligueros-Saylan M, Wang Y, He YL, Darland C, Holst JJ, Deacon CF, Cusi K, Mari A, Foley JE, DeFronzo RA: The dipeptidyl peptidase IV inhibitor vildagliptin suppresses endogenous glucose production and enhances islet function after single-dose administration in type 2 diabetic patients. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 92:1249-1255, 2007

160. Ahren B, Holst JJ, Martensson H, Balkan B: Improved glucose tolerance and insulin secretion by inhibition of dipeptidyl peptidase IV in mice. *Eur.J.Pharmacol.* 404:239-245, 2000
161. Balkan B, Kwasnik L, Miserendino R, Holst JJ, Li X: Inhibition of dipeptidyl peptidase IV with NVP-DPP728 increases plasma GLP-1 (7-36 amide) concentrations and improves oral glucose tolerance in obese Zucker rats. *Diabetologia* 42:1324-1331, 1999
162. Holst JJ, Deacon CF: Glucagon-like peptide-1 mediates the therapeutic actions of DPP-IV inhibitors. *Diabetologia* 48:612-615, 2005
163. Azuma K, Radikova Z, Mancino J, Toledo FG, Thomas E, Kangani C, Dalla MC, Cobelli C, Holst JJ, Deacon CF, He Y, Ligueros-Saylan M, Serra D, Foley JE, Kelley DE: Measurements of islet function and glucose metabolism with the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor vildagliptin in patients with type 2 diabetes. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 93:459-464, 2008
164. Schirra J, Wank U, Arnold R, Goke B, Katschinski M: Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on motility and sensation of the proximal stomach in humans. *Gut* 50:341-348, 2002
165. Vella A, Bock G, Giesler PD, Burton DB, Serra DB, Saylan ML, Dunning BE, Foley JE, Rizza RA, Camilleri M: Effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibition on gastrointestinal function, meal appearance, and glucose metabolism in type 2 diabetes. *Diabetes* 56:1475-1480, 2007
166. Ristic S, Byiers S, Foley J, Holmes D: Improved glycaemic control with dipeptidyl peptidase-4 inhibition in patients with type 2 diabetes: vildagliptin (LAF237) dose response. *Diabetes Obes.Metab* 7:692-698, 2005
167. Herman GA, Bergman A, Stevens C, Kotey P, Yi B, Zhao P, Dietrich B, Golor G, Schrodter A, Keymeulen B, Lasseter KC, Kipnes MS, Snyder K, Hilliard D, Tanen M, Cilissen C, De Smet M, de L, I, Van Dyck K, Wang AQ, Zeng W, Davies MJ, Tanaka W, Holst JJ, Deacon CF, Gottesdiener KM, Wagner JA: Effect of single oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on incretin and plasma glucose levels after an oral glucose tolerance test in patients with type 2 diabetes. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 91:4612-4619, 2006
168. Deacon CF, Wamberg S, Bie P, Hughes TE, Holst JJ: Preservation of active incretin hormones by inhibition of dipeptidyl peptidase IV suppresses meal-induced incretin secretion in dogs. *J.Endocrinol.* 172:355-362, 2002
169. Kendall DM, Riddle MC, Rosenstock J, Zhuang D, Kim DD, Fineman MS, Baron AD: Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in patients with type 2 diabetes treated with metformin and a sulfonylurea. *Diabetes Care* 28:1083-1091, 2005
170. Naslund E, Barkeling B, King N, Gutniak M, Blundell JE, Holst JJ, Rossner S, Hellstrom PM: Energy intake and appetite are suppressed by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in obese men. *Int.J.Obes.Relat Metab Disord.* 23:304-311, 1999

171. Schweizer A, Couturier A, Foley JE, Dejager S: Comparison between vildagliptin and metformin to sustain reductions in HbA(1c) over 1 year in drug-naive patients with Type 2 diabetes. *Diabet.Med.* 24:955-961, 2007
172. Chelikani PK, Haver AC, Reidelberger RD: Intravenous infusion of peptide YY(3-36) potently inhibits food intake in rats. *Endocrinology* 146:879-888, 2005
173. Heine RJ, Van Gaal LF, Johns D, Mihm MJ, Widel MH, Brodows RG: Exenatide versus insulin glargine in patients with suboptimally controlled type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann.Intern.Med.* 143:559-569, 2005
174. Rayner CK, Samsom M, Jones KL, Horowitz M: Relationships of upper gastrointestinal motor and sensory function with glycemic control. *Diabetes Care* 24:371-381, 2001
175. Kolterman OG, Buse JB, Fineman MS, Gaines E, Heintz S, Bicsak TA, Taylor K, Kim D, Aisporna M, Wang Y, Baron AD: Synthetic exendin-4 (exenatide) significantly reduces postprandial and fasting plasma glucose in subjects with type 2 diabetes. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 88:3082-3089, 2003
176. Hansotia T, Baggio LL, Delmeire D, Hinke SA, Yamada Y, Tsukiyama K, Seino Y, Holst JJ, Schuit F, Drucker DJ: Double incretin receptor knockout (DIRKO) mice reveal an essential role for the enteroinsular axis in transducing the glucoregulatory actions of DPP-IV inhibitors. *Diabetes* 53:1326-1335, 2004
177. Abbott CA, Yu DM, Woollatt E, Sutherland GR, McCaughan GW, Gorrell MD: Cloning, expression and chromosomal localization of a novel human dipeptidyl peptidase (DPP) IV homolog, DPP8. *Eur.J.Biochem.* 267:6140-6150, 2000
178. Olsen C, Wagtmann N: Identification and characterization of human DPP9, a novel homologue of dipeptidyl peptidase IV. *Gene* 299:185-193, 2002
179. Brandt I, Joossens J, Chen X, Maes MB, Scharpe S, De M, I, Lambeir AM: Inhibition of dipeptidyl-peptidase IV catalyzed peptide truncation by Vildagliptin ((2S)-{[(3-hydroxyadamantan-1-yl)amino]acetyl}-pyrrolidine-2-carbonitrile). *Biochem.Pharmacol.* 70:134-143, 2005
180. Bosi E, Camisasca RP, Collober C, Rochotte E, Garber AJ: Effects of vildagliptin on glucose control over 24 weeks in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin. *Diabetes Care* 30:890-895, 2007
181. Pi-Sunyer FX, Schweizer A, Mills D, Dejager S: Efficacy and tolerability of vildagliptin monotherapy in drug-naive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 76:132-138, 2007