

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der
Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Burkhard Göke**

**Rolle und Wirkmechanismen von endogenem GLP-1 in der Regulation
der Magenentleerung und der Glukosehomöostase**

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

**Vorgelegt von
Julia Stephanie Brödl
aus
München**

2012

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. Jörg Schirra

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Jochen Seißler
Priv. Doz. Dr. Christine Meisinger

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. M. Nicolaus

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

Tag der mündlichen Prüfung: 21.06.2012

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Jörg Schirra, sowie meinem Betreuer, Herrn Dr. Mathias Nicolaus, für die investierte Zeit, für Rat und Tat und für die hilfreiche und konstruktive Kritik. Ohne ihre Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Frau Rita Schinkmann, Frau Silke Herrmann und Herrn Gerald Spöttl für die tatkräftige und immer hilfreiche Mitarbeit in und um das Labor.

Herrn PD Dr. Rainer Linke, ohne dessen Hilfe der nuklearmedizinische Teil nicht durchzuführen gewesen wäre.

Meiner Familie.

Danksagung

1 EINLEITUNG 9

1.1 GLP-1(7-36)amid 9

 1.1.1 Exogenes bzw. synthetisches GLP-1 9

 1.1.2 Endogenes GLP-1 10

1.2 Der GLP-1 Rezeptor Antagonist Exendin(9-36)amid 10

1.3 Gastroduodenale Motilität 12

 1.3.1 Interdigestive Motilität: Migrating Motor Complex (MMC) 12

 1.3.2 Postprandiale Motilität 13

 1.3.3 GLP-1 und die gastroduodenale Motilität 16

2 ZIELE DER ARBEIT 18

3 MATERIAL UND METHODEN 20

3.1 Probanden 20

3.2 Barostat 20

3.3 Antro-pyloro-duodenale Motilität 23

 3.3.1 Messung der antroduodenalen transmukosalen.....
Potentialdifferenz (TMPD) 24

3.4 Szintigraphie und Magenentleerung 24

3.5 Experimentelles Design 26

 3.5.1 Versuchsaufbau 26

 3.5.2 Positionieren des Barostatballons 29

 3.5.3 Minimaler Dehnungsdruck (MDP) 29

 3.5.4 Messung des Fundustonus 29

3.6 Statistik.....	31
4 ERGEBNISSE.....	32
4.1 Glykämie und Hormone.....	32
4.1.1 Blutglukose	32
4.1.2 Insulin	36
4.1.3 Glukagon	40
4.1.4 GLP-1	45
4.2 Magenentleerung und Motilität	51
4.2.1 Magenentleerung und proximal gastrale Motilität.....	51
4.2.2 Antroduodenale Motilität.....	57
5 DISKUSSION	64
6 ZUSAMMENFASSUNG	68
7 PUBLIKATION und FINANZIELLE UNTERSTÜTZUNG.....	71
8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	73
9 LITERATURVERZEICHNIS.....	75

1 EINLEITUNG

1.1 GLP-1(7-36)amid

Es ist fast 30 Jahre her, dass GLP-1(7-36)amid (GLP-1) erstmals in der cDNA eines Anglerfisches als eine dem Glukagon ähnliche Sequenz beschrieben wurde (Lund et al, 1982). Beim Menschen wird GLP-1 in den L-Zellen der Dünndarmmukosa, den A-Zellen des endokrinen Pankreas und in einzelnen Neuronen des Hirnstammes exprimiert (Flamez et al, 1999; Ritzel et al, 1995; Lim et al, 2009). Es bewirkt über verschiedene Mechanismen eine Reduktion des Blutglukosespiegels. GLP-1 ist bekannt als ein potentes glukoseabhängiges insulinotropes Hormon (Baggio et al, 2000; Cryer, 1992; Gutniak et al, 1992; Nathan et al, 1992; de Heer et al, 2007). Es hat außerdem einen wichtigen Einfluss auf die Magen-Darm-Motilität, auf den Plasmaglukagonspiegel und auf die Vermittlung des Sättigungsgefühls (Hellström et al, 2001; Schirra et al, 2006). Des Weiteren wird, unabhängig von seiner Wirkung auf die Insulinausschüttung, eine Stimulation der Glukoseverwertung in peripheren Geweben diskutiert. Auf Grund dieser komplexen Wirkmechanismen wurde während der letzten Jahre untersucht, ob GLP-1 ein potentieller Wirkstoff für die Therapie des Diabetes mellitus ist, was durch die Einführung von GLP-1-Analoga und Dipeptidylpeptidase 4-Inhibitoren bestätigt wurde. Dies erklärt auch das weiterhin große wissenschaftliche Interesse an GLP-1 (Struckmeier, 2003).

1.1.1 Exogenes bzw. synthetisches GLP-1

Synthetisches GLP-1 senkt den Blutzucker in zahlreichen experimentellen Modellen des Diabetes mellitus. In gesunden Menschen und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 reduziert GLP-1 die Glykämie durch glukoseabhängige Stimulation von Insulin, Hemmung von Glukagon und durch Verzögerung der Magenentleerung (Dupre et al, 1995; Meier et al, 2003; Nauck et al, 1993a; Nauck et al, 1993b; Nauck et al, 1996; Nauck et al, 1997; Schirra et al, 2000; Schirra et al,

2002). Da GLP-1 darüber hinaus die Proliferation von pankreatischen B-Zellen anregt (Hansotia et al, 2005), ist sein therapeutischer Einsatz beim Diabetes mellitus von großem Interesse. Neuere Studien legen weiterhin eine Rolle von GLP-1 in der Regulation der gastralen Viszerosensibilität nahe. Während unter synthetischem GLP-1 höhere gastrale Volumina toleriert werden, nimmt die Perzeption isobarer Ballondistensionen des Magenfundus unter einem GLP-1-Antagonisten deutlich zu (Schirra et al, 2002).

Alle bislang dagewesenen Erhebungen wurden mit Hilfe von exogenem, also synthetischem GLP-1 durchgeführt. In unserer Studie war es das Ziel, die Wirkung von endogenem GLP-1 zu untersuchen.

1.1.2 Endogenes GLP-1

Endogenes GLP-1 wurde bislang nur in wenigen experimentellen Modellen getestet (Tang-Christensen et al, 1996; Turton et al, 1996; Salehi et al, 2008; Schirra et al, 1998a). Hierbei konnte demonstriert werden, dass endogenes GLP-1 ein wichtiger Verstärker der postprandialen Insulinausschüttung ist und damit in dieser Spezies als echtes Inkretinhormon wirkt (Kolligs et al, 1995; Wang et al, 1995). Nach Glucose dependent insulinotropic polypeptide (GIP) in den 1970er Jahren wurde erstmals 1985 GLP-1 als Inkretinhormon beschrieben, und es konnte nachgewiesen werden, dass GLP-1 die Insulinausschüttung nach oraler Glukoseaufnahme deutlich beeinflusst (Schmidt et al, 1985; Mojsov et al, 1987; Kreymann et al, 1987; Schirra et al, 2005; Hansotia et al, 2005; Deacon, 2005).

1.2 Der GLP-1 Rezeptor Antagonist Exendin(9-36)amid

Es ist eine akzeptierte Praxis, die Wirkungen eines endogenen Hormons durch die Gabe seines spezifischen Antagonisten nachzuweisen, wodurch dessen physiologische Relevanz besser zu beurteilen ist als durch externe Applikation des Hormons, da diese mit vielen Fehlerquellen belastet ist. So wäre beispielsweise nicht zu unterscheiden, zu welchen Teilen die Ergebnisse der Untersuchungen auf das exogen zugeführte oder das endogene Hormon zurückzuführen sind. In

unserer Studie benutzten wir Exendin(9-39)amid (Ex(9-39)) als Rezeptorantagonist von GLP-1 (Struckmeier, 2003).

Exendin(9-39)amid ist seit einigen Jahren als ein spezifischer und kompetitiver Antagonist von GLP-1 bekannt (Raufman et al, 1992; Göke et al, 1993; Rai et al, 1993; Thorens et al, 1993). Es handelt sich um ein Derivat des non-Mammalier Peptid Exendin-4. Exendin-4 ist ein aus dem Gift der Eidechse *Heloderma Suspectum* stammendes Peptid mit einer 53%igen Sequenzhomologie zu GLP-1(7-36)amid (Raufman et al, 1992). Seine trunkierte Form Exendin(9-39)amid wirkt als spezifischer kompetitiver Rezeptorantagonist ohne jegliche agonistische Eigenschaften am GLP-1 Rezeptor. Exendin(9-39)amid wurde bereits in Human- und Tierexperimenten eingesetzt (Schirra et al, 1998b; Edwards et al, 1999).

In Tierexperimenten mit Ratten hat eine intracerebroventriculäre Injektion von Exendin(9-39)amid die Vermutung nahe gelegt, dass endogenes GLP-1 eine Rolle in der zentralen Regulation von Sättigung und auch der Wasser- und Salzhomöostase spielt (Tang-Christensen et al, 1996; Turton et al, 1996). Durch die intravenöse Applikation von Exendin(9-39)amid bei Ratten konnte demonstriert werden, dass endogenes GLP-1 ein wichtiger Verstärker der postprandialen Insulinausschüttung ist und damit in dieser Spezies als echtes Inkretinhormon wirkt (Kolligs et al, 1995; Wang et al, 1995). Auch beim Pavian führte die Antagonisierung von GLP-1 mit Exendin(9-39)amid zu einer beeinträchtigten Verwertung von intragastraler Glukose, was auch bei der Immunneutralisation von GLP-1 auftritt. Dies konnte teilweise auf eine reduzierte Insulinausschüttung während der frühen postprandialen Phase zurückgeführt werden (D'Alessio et al, 1996; Struckmeier, 2003).

Beim Menschen wurde gezeigt, dass Exendin(9-39)amid ein potenter Antagonist des GLP-1 Rezeptors ohne jegliche agonistische Eigenschaften ist. Es reduziert den Inkretineffekt und stimuliert die Glukagonfreisetzung (Schirra et al, 1998b; Edwards et al, 1999). In vorangegangenen Studien konnte eine 100%ige Antagonisierung von GLP-1 durch die Infusion von Exendin(9-39)amid in einer Dosierung von $900 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ nachgewiesen werden (Ayachi et al, 2005; Göke et al, 1993).

1.3 Gastroduodenale Motilität

Für die geregelte, beschwerdefreie Nahrungsaufnahme und Verdauung ist ein reibungslos funktionierendes Zusammenspiel der beteiligten Regionen, proximaler Magen, gastroduodenaler Übergang und Duodenum, Grundvoraussetzung. Prinzipiell muss bei der gastroduodenalen Motilität die interdigestive Motoraktivität, deren Charakteristikum der ‚Migrating Motor Complex‘ (MMC) ist, von der postprandialen Motoraktivität unterschieden werden (Nicolaus, 2003).

1.3.1 Interdigestive Motilität: Migrating Motor Complex (MMC)

In der Nüchternperiode durchläuft der Magen-Darm-Trakt ein immer wiederkehrendes Motilitätsmuster, den sogenannten Migrating-Motor-Complex. Die myoelektrische Komponente dieses Aktivitätsmusters wurde erstmals 1969 durch Szurszewski et al beim Hund beschrieben.

Der Migrating-Motor-Complex besteht aus drei zyklisch wiederkehrenden Phasen, die im gesamten Gastrointestinaltrakt vom unteren Ösophagussphinkter bis zum terminalen Ileum (Kellow et al, 1986) angetroffen werden können. Es wechseln sich dabei Phasen relativer Ruhe mit Phasen kontraktiler Aktivität ab. Die Ruhephase wird als Phase I bezeichnet, in der kaum Kontraktionen stattfinden. Dieser Ruhephase schließt sich Phase II mit sporadischen Kontraktionen im Antrum und Duodenum an. Der Phase II folgt eine Periode mit maximaler kontraktiler Frequenz, die als Phase III bezeichnet wird (Quigley et al, 1996). In der Phase III des MMC wird jede Kontraktion nach distal fortgeleitet. Der Phase III folgt immer eine Phase I, womit der Zyklus erneut beginnt (Nicolaus, 2003).

Die Motilität des proximalen Magens besteht aus zwei verschiedenen Kontraktionstypen: langsame, tonisch-anhaltende und schnellere phasische Kontraktionen. Die langsamen Kontraktionen führen zu Veränderungen des intragastrischen Druckes. Sie dauern 1-3 Minuten und haben Amplituden von 10-50 cm H₂O. Die schnellen phasischen Kontraktionen haben eine Amplitude von 5-15 cm H₂O und dauern 10-15 Sekunden (Kelly et al, 1981).

Die elektrischen und mechanischen Aktivitäten des distalen Magens unterscheiden sich grundlegend von denen des proximalen Magens. Im distalen Magen gibt es langsame Fluktuationen von elektrischer Aktivität, die auch als langsame Wellen oder Schrittmacherpotentiale bezeichnet werden. Diese Schrittmacherpotentiale gehen von der Schrittmacherregion des Magens aus, die sich in den glatten Muskelzellen des oberen Magenkörpers, an der großen Kurvatur befindet. Zur Auslösung einer Kontraktion ist ein Aktionspotential nötig, welches der eigentliche Initiator der Kontraktion ist.

Die myoelektrische Kontrolle des Duodenums gleicht dem des distalen Magens, wobei die langsamen Wellen jedoch eine höhere Frequenz (12/min) haben. Das Duodenum besitzt ein eigenes Schrittmacherzentrum, das sich im oberen Duodenum befindet. Der Pylorus bildet dabei eine Barriere für die Weiterleitung der langsamen Wellen (Malagelada et al, 1993). Trotz der unterschiedlichen Schrittmacherzentren, die nicht miteinander verbunden sind, konnten myoelektrische Aufzeichnungen zeigen, dass eine antro-pyloro-duodenale Koordination besteht. Diese Koordination ist von einem intakten intrinsischen Nervensystem abhängig (Richter et al, 1988; Nicolaus, 2003).

1.3.2 Postprandiale Motilität

Durch die Nahrungsaufnahme wird das zyklische Muster des MMC unterbrochen und durch eine irreguläre Kontraktilität abgelöst. Für die Magenentleerung sind beide Motorregionen von Bedeutung. Der proximale Magen ist sowohl an der Nahrungsaufnahme, der Nahrungsspeicherung, als auch an der Magenentleerung beteiligt. Die Motoraktivität des proximalen Magens kann daher in zwei verschiedene Phasen unterteilt werden. Die erste Phase besteht in einer Fundusrelaxation, die hauptsächlich für die Nahrungsaufnahme und Reservoirfunktion des Magens von Bedeutung ist. Die zweite Phase besteht aus einer längeren Periode mit zunehmender tonischer Kontraktion, die für den gastroduodenalen Transport sowie für die intragastrale Umverteilung der Nahrung zuständig ist (Richter et al, 1988; Nicolaus, 2003).

Der Phase der Relaxation liegen drei unterschiedliche Reflexe zugrunde. Bereits durch den Schluckvorgang wird die sogenannte „receptive relaxation“ (receptive = aufnahmefähig, empfänglich) ausgelöst. Es handelt sich dabei um einen vagal gesteuerten Reflex (Abrahamsson et al, 1973), der den Magen darauf vorbereitet, eine geschluckte Nahrungsmenge (Bolus) vom Ösophagus aufzunehmen. Darauf folgt der zweite relaxierende Reflex, die „adaptive relaxation“. Dieser ebenfalls vagal vermittelte Reflex wird durch den Distensionsreiz des sich im Magen befindlichen Speisebolus ausgelöst und ermöglicht größere Volumina ohne ausgeprägte Drucksteigerung aufzunehmen (Richter et al, 1988).

In der zweiten Phase der postprandialen Motilität kontrahiert sich der Magen zunehmend, bis am Ende der postprandialen Phase wieder der Ruhetonus des Magens erreicht wird. Durch die Zunahme des Magentonus wird die Kapazität des Magens graduell reduziert und Flüssigkeiten aus dem Magen entleert. Feste Nahrungsbestandteile gelangen so in das Antrum, wo sie weiter verarbeitet werden.

Die Aufgabe des distalen Magens bei der Magenentleerung sind die Zerkleinerung der Nahrung und deren Vermischung mit den Verdauungssäften, als auch deren Filterung und kontrollierte Abgabe ins Duodenum. Während die Entleerung von Flüssigkeiten recht frühzeitig beginnt, ist die Entleerung von festen Nahrungsbestandteilen durch eine Lag-Periode gekennzeichnet, in der keine festen Bestandteile den Magen verlassen. Die Geschwindigkeit und das Muster der Magenentleerung wird von vielen Faktoren wie dem Volumen, dem Kaloriengehalt, der Viskosität, der Dichte und der Partikelgröße des Mageninhalts moduliert (Horowitz et al, 1994; Nicolaus, 2003).

Bei der Zerkleinerung, Vermischung und Filterung der Nahrung sind primär das Antrum und der Pylorus beteiligt. Hochamplitudige koordinierte Wellen beginnen im proximalen Antrum und werden bis zum Pylorus fortgeleitet. Wenn diese Wellen das mittlere Antrum erreichen, ist der Pylorus offen und das Duodenum erschlafft, so dass für Flüssigkeiten und in ihnen gelöste Substanzen ein transpylorischer Fluss möglich ist. Wenn diese peristaltische Welle das distale

Antrum erreicht verschließt sich der Pylorus, was zu einem Mahlen aller Partikel führt, die für eine Passage des Pylorus zu groß sind. Gleichzeitig werden die Partikel ins Antrum zurückgeschleudert, was zu einer weiteren Zerkleinerung der Nahrung beiträgt (Quigley et al, 1996). Dieser Vorgang wiederholt sich, bis die Partikel klein genug sind, um durch den Pylorus zu entweichen. Meyer et al konnte 1981 zeigen, dass der Durchmesser der Partikel, die den Magen verlassen, kleiner als 1 mm ist.

Die Motilität des Pylorus besteht aus zwei Komponenten, der tonischen Kontraktion und der phasischen Aktivität, den isolierten pylorischen Druckwellen (isolated pyloric pressure waves = IPPW). Die IPPWs sind nach der Einnahme einer nährstoffreichen Nahrung oder auch bei duodenaler Perfusion mit einer Lipidlösung zu beobachten. Sie sind gekennzeichnet durch pylorische Kontraktionen mit einer Frequenz von bis zu 3 pro Minute, bei gleichzeitiger antraler und duodenaler Hemmung. Die Interaktion von Lipid, Aminosäuren oder hyperosmolaren Lösungen mit duodenalen Rezeptoren induziert IPPWs bzw. hemmt eine antroduodenale Koordination (Hedde et al, 1988a). IPPWs verlangsamen die Magenentleerung durch einen intermittierenden Verschluss des Pylorus.

Der transpylorische Fluss wird entscheidend von der tonischen Aktivität des Pylorus bestimmt. Beim Menschen können antrale und vor allem antro-pyloro-duodenal fortgeleitete Kontraktionen mit der Magenentleerungsrate von Flüssigkeiten (Camilleri et al, 1985; Houghton et al, 1988a; Schirra et al, 1996) und fester Nahrung (Fraser et al, 1993a) korreliert werden. Vermindert wird die Nahrungsabgabe in das Duodenum durch einen Bremsmechanismus des Pylorus, der hierzu seine phasische und tonische Aktivität steigert (Hedde et al, 1988b u. 1993; Tougas et al, 1992; Anvari et al, 1995). Der Pylorus ist damit eine wesentliche Determinante des transpylorischen Flusses.

Letztendlich ist die Magenentleerung abhängig von dem Zusammenspiel der propulsiven Kraft der tonischen und phasischen Kontraktionen des proximalen Magens und den fördernden Wirkungen der antralen und fortgeleiteten Kontraktionen sowie dem durch den Pylorus generierten Widerstand (Heading et al, 1994; Nicolaus, 2003).

1.3.3 GLP-1 und die gastroduodenale Motilität

Die Magenentleerung wird kontrolliert durch die Motilität der antro-pyloro-duodenalen Region und den Tonus des proximalen Magens. Synthetisches GLP-1 verlangsamt die Magenentleerung durch Hemmung der antroduodenalen Kontraktilität, Steigerung des Pylorustonos und Relaxation des Fundus (Schirra et al, 2000; Schirra et al, 2002). Die Mechanismen, über die GLP-1 Magenentleerung und Motilität beeinflusst, sind jedoch weitgehend unbekannt. Es existieren keine GLP-1-Rezeptoren auf der gastroduodenalen Muskulatur. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass das pankreatische Polypeptid (PP), ein Hormon des endokrinen Pankreas, das unter starker vagal cholinergem Kontrolle steht, durch exogenes subcutan oder intravenös appliziertes GLP-1 dosisabhängig gehemmt wird, sowohl interdigestiv, als auch unter duodenaler Lipid-Perfusion (Dupre et al, 1995; Schirra et al, 1997a, b und 1998). Dies spricht dafür, dass die Effekte von GLP-1 auf die gastroduodenale Motilität über eine Hemmung des cholinergen Inputs vermittelt wird.

Der cholinerge Input und Stickstoffmonoxid (NO), letzteres generiert durch die neuronale NO-Synthase, sind bedeutende Regulatoren der intestinalen Motilität, die sowohl über die extrinsische vagale Innervation als auch innerhalb des enterischen Nervensystems agieren. Allgemein wirkt Acetylcholin als Stimulator, NO hingegen übt überwiegend einen hemmenden Effekt auf die intestinale Motilität aus (Sun et al, 1996). Im Gegensatz zu NO hat die physiologische cholinerge Aktivität im Nüchternzustand keine relevanten Wirkungen auf die tonische Motilität von Pylorus und Fundus (Schirra et al, 2002). Eine Hemmung des cholinergen Nervensystems ist allerdings bei der postprandialen Reduktion des Fundustonos durch GLP-1 involviert. Da GLP-1 aber auch interdigestiv zu einer deutlichen Fundusrelaxation und sogar zu einer Pylorusstimulation führt, müssen weitere Mechanismen, unter anderem auch non-cholinerge, involviert sein (Struckmeier, 2003).

Zusammengefasst steht die gastrale Motilität überwiegend unter einer neuronalen Kontrolle, wobei aber postprandiale gastrointestinale Hormone wie beispielsweise GLP-1 Einfluss zu haben scheinen.

GLP-1 ist ein Darmhormon, das - exogen gegeben - in postprandial supraphysiologischen Plasmaspiegeln die Magenentleerung hemmt, dabei den Fundus relaxiert, den Pylorus stimuliert und die antrale und duodenale Kontraktilität hemmt (Schirra et al, 2000; Schirra et al, 2002). Da synthetisches GLP-1 dosisabhängig die Freisetzung von pankreatischem Polypeptid (PP), einem hormonalen Marker des cholinergen Input, hemmt und keine GLP-1-Rezeptoren an der gastroduodenalen Muskulatur existieren, wird vermutet, dass eine Hemmung des exzitatorischen cholinergen Inputs die Wirkungen von GLP-1 auf die Motilität vermittelt. Die physiologischen Effekte des endogen freigesetzten GLP-1 sind unbekannt (Struckmeier, 2003).

Die Wirkmechanismen dieses Peptidhormons sind nicht nur aus physiologischer Sicht interessant. GLP-1 hat großes therapeutisches Potential bei der Behandlung des Diabetes mellitus und darüber hinaus kommt ein GLP-1-Antagonist theoretisch als Prokinetikum in Frage.

2 ZIELE DER ARBEIT

Das medizinische Interesse am Hormon GLP-1 ist seit seiner Entdeckung stetig gestiegen und viele Untersuchungen vermuten ein großes Potential dieses Peptids als Medikament in der Diabetestherapie. Seine blutzuckersenkende Wirkung beruht nicht allein auf einer Veränderung der Insulin- und Glukagonplasmaspiegel, sondern vermutlich auch auf einer Verzögerung der Magenentleerung. Die bisherigen Studien untersuchten allein die Auswirkungen von synthetischem GLP-1. Um die physiologische Rolle dieses Peptids besser beurteilen zu können, ist es von besonderem Interesse, die Wirkungen des vom Körper freigesetzten endogenen GLP-1 zu verstehen. Bisherige Studien mit synthetischem GLP-1 lassen vermuten, dass dieses Peptid eine bedeutende Rolle in der Regulation postprandialer gastrointestinaler Funktionen spielt.

Mit Exendin(9-39)amid steht ein beim Menschen einsetzbarer, spezifischer GLP-1-Antagonist zur Verfügung (Schirra et al, 1998b; Edwards et al, 1999). Der Einfluss von endogenem GLP-1 auf die gastroduodenale Motilität, den Tonus des proximalen Magens und die Magenentleerung ist weitgehend unbekannt. Neuere Studien lassen vermuten, dass GLP-1 die Wahrnehmung von Sättigung und Appetit verändert und die Sensibilität des proximalen Magens reduziert.

Daher sind die Ziele dieser Arbeit:

1. die Untersuchung der Wirkung einer Antagonisierung von endogenem GLP-1 auf den Blutzuckerspiegel und die postprandiale Sekretion von Insulin und Glukagon nach einer oralen Mahlzeit
2. die Untersuchung der Wirkung einer Antagonisierung von endogenem GLP-1 auf die gastroduodenale Motilität und Magenentleerung nach einer oralen Mahlzeit.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Probanden

An der Studie nahmen zwölf gesunde Probanden (fünf weiblich, sieben männlich) im Alter von 22 bis 41 Jahren teil. Der durchschnittliche Body-Mass-Index betrug 23,3 mit einem maximalen Wert von 25,4, sowie einem Minimum von 20,5. Keiner der Probanden nahm zum Zeitpunkt der Studie Medikamente ein, litt an gastrointestinalen Symptomen oder anderen systemischen Erkrankungen. Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der Ludwig-Maximilians-Universität München (Projekt Nr. 086/02), sowie des Bundesamts für Strahlenschutz (Gz. Z5-22461/2-2003-041) und des Bundesamts für Arzneimittel und Medizinprodukte (Gz. VP2-3900-4022388) geprüft und genehmigt, und alle Probanden erteilten nach ausführlicher Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Bei allen weiblichen Teilnehmern war ein negativer Schwangerschaftstest Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie.

3.2 Barostat

Ein elektronischer Barostat (Distenser Series II, G&J Electronics, Toronto, Kanada) wurde verwendet, um die Volumenänderungen des proximalen Magens bei konstantem Druck aufzuzeichnen. Ein Ballon aus Polyethylen mit einer maximalen Kapazität von 1100 ml wurde am Ende einer doppelumigen Sonde (innerer Durchmesser 4 mm, äußerer Durchmesser 5 mm) fixiert. Der Ballon hatte in Bezug auf die in dieser Studie beobachteten Volumina eine unendliche Compliance.

Der Barostat hat die Fähigkeit, einen bestimmten Druck im Magenballon aufrechtzuerhalten, welcher über einen elektronischen Rückkopplungsmechanismus mit Hilfe von Volumenänderungen konstant gehalten wird. Dies wurde genutzt, um die Eigenbewegungen der Magenwand aufzuzeichnen. Kontrolliert und gesteuert wurde der Barostat durch einen Computer, der auch

Druck- und Volumenkurven aufgezeichnete (Protokoll Plus, G&J Electronics, Toronto, Kanada) (Struckmeier, 2003; Nicolaus, 2003).

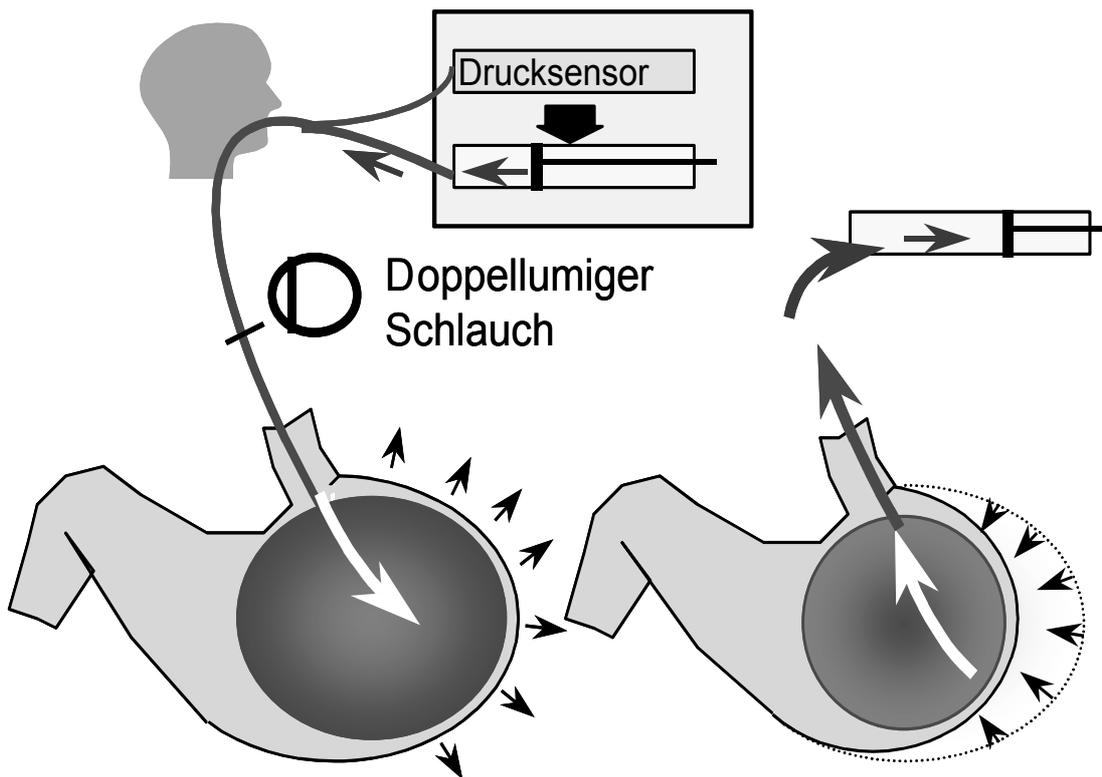


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Funktion des elektronischen Barostaten.

Der Barostat hat die Fähigkeit, einen bestimmten Druck im Magenballon aufrechtzuerhalten, welcher über einen elektronischen Rückkopplungsmechanismus mit Hilfe von Volumenänderungen konstant gehalten wird. Dies wurde genutzt, um die Eigenbewegungen der Magenwand aufzuzeichnen.

3.3 Antro-pyloro-duodenale Motilität

Die interdigestive und postprandiale Motilität des antro-pyloro-duodenalen Segments wurde mit Hilfe einer Antro-pyloro-duodenal-Sonde perfusionsmanometrisch gemessen. Die Sonde ist mit 9 Perfusions-Kanälen ausgestattet: 7 Kanäle münden als Seitlöcher und dienen der punktuellen Perfusionsmanometrie und ein Kanal endet in einem Sleeve-Sensor, der die kontinuierliche Registrierung der phasischen und tonischen Motilität des Pylorus ermöglicht. Der Sleeve-Sensor ist eine dünne Membran, die die Sonde auf einer Seite über eine Strecke von 4,5 cm überzieht. Durch die Sleeve ist es möglich, Druckveränderungen nicht nur punktuell zu erfassen, sondern den jeweils maximalen Druck auf der gesamten Länge zu messen. Liegt die Sleeve transpylorisch, so komprimiert jede Kontraktion des Pylorus die Sleeve-Membran. Entlang des Sleeve-Sensors münden 2 Seitlöcher. Die Sonde wird so positioniert, dass die Sleeve transpylorisch liegt und mit dem proximalen Seitloch im Antrum und dem distalen Seitloch im Duodenum zu liegen kommt. Insgesamt münden 3 Messkanäle im Antrum und 4 Messkanäle im Duodenum, jeweils im Abstand von 2 cm. Die korrekte Position der Duodenalsonde wurde durch das kontinuierliche Monitoring der transmukosalen Potentialdifferenz (transmucosal potential difference = TMPD) zwischen distalem Antrum und proximalem Duodenum überprüft.

Die Motilitätskanäle wurden mit einer Rate von 0,3 ml/min perfundiert, wofür eine pneumohydraulische Pumpe (Arndorfer Medical Specialists, Greendale, Wisconsin) verwendet wurde. Die Drücke wurden von externen Drucksensoren gemessen. Die Daten wurden auf dem Bildschirm eines Multichannel Chart System (Medical Measurement System, Enschede, Niederlande) aufgezeichnet und auf einem PC gespeichert (Struckmeier, 2003; Nicolaus, 2003).

3.3.1 Messung der antroduodenalen transmukosalen

Potentialdifferenz (TMPD)

Die transmukosale Potentialdifferenz wurde zwischen dem distalen antralen und dem proximalsten duodenalen Kanal gemessen. Beide Kanäle wurden mit elektrisch leitender NaCl-Lösung perfundiert. Eine elektrische Brücke aus 1M KCl mit 3% Agar Agar wurde im Nebenschluss mit einem Drei-Wege-Hahn an den mit NaCl 0,9% perfundierten Manometriekanal angeschlossen. Das andere Ende der Brücke war mit einer Kalomel-Elektrode verbunden. Dadurch konnte die Potentialdifferenz gemessen werden, ohne dass es zu Druckverlusten kam. Als gemeine Referenzelektrode wurde eine Hautelektrode am rechten Unterbauch angebracht. Eine Potentialdifferenz von mindestens -15 mV zeigte die korrekte Sondenlage an. Das Elektrometer hielt die Spannungsasymmetrie unter 2 mV. Die TMPD wurde visuell überwacht und die Ergebnisse regelmäßig protokolliert. Für die Auswertung der antro-pyloro-duodenalen Motilität wurden nur Zeiten verwendet, in denen die Potentialdifferenz eine korrekte Sondenlage anzeigte (Struckmeier, 2003; Nicolaus, 2003).

3.4 Szintigraphie und Magenentleerung

Die Magenfunktionsszintigraphie gilt immer noch als ‚Goldstandard‘ für die nicht-invasive, quantitative Bestimmung der Magenentleerung (Fisher et al, 1986; Fraser et al, 1993b; Hausmann et al, 1995; McCallum et al, 1990). Alle Szintigraphien vorliegender Arbeit wurden unter Anleitung und Kontrolle durch Herrn PD Dr. Rainer Linke in der Klinik für Nuklearmedizin der LMU, Campus Großhadern, durchgeführt.

Bei unseren Versuchen verwendeten wir eine Einkopfkamera (Diacam, Siemens, Erlangen, Germany), wobei die Aufnahmen in links anterior-obliquer (LAO) Projektion aufgezeichnet wurden. Dadurch waren keine mathematischen Schwächungskorrekturen notwendig. Die Kamera selbst war mit einem low-energy all-purpose (LEAP) collimator ausgestattet und mit einem handelsüblichen Computer verbunden (MaxDELTA, Siemens, Erlangen, Germany).

Die szintigraphische Messung begann mit Beendigung der Mahlzeitaufnahme. Im Gegensatz zu Flüssigkeiten, denen der Pylorus nur wenig Widerstand bietet (Kelly, 1980), verlassen Festspeisen den Magen viel langsamer und linear im Verhältnis zur Zeit (Heading et al, 1976; Fisher et al, 1986; Ruppin 1990). Für die Entleerung einer soliden Speise ist die Funktion des Antrums unentbehrlich, da die Mahlzeit zerkleinert und zermahlen werden muss. Erst dann kann der pylorische Widerstand überwunden werden (Kelly, 1980). Für die Dauer dieser Zerkleinerungsarbeit wurde der Ausdruck der sogenannten 'lag-phase' geprägt (Camilleri et al, 1985; Collins et al, 1988). Die 'lag-phase' beschreibt eine variable Zeitspanne, während der sich das Antrum bereits kraftvoll kontrahiert, aber noch kein Speisebrei ins Duodenum entleert wird (Houghton et al, 1988a; Malagelada, 1990). In dieser Studie wurde die 'lag period' als die Zeit definiert, in der 10% des Mageninhaltes in das Duodenum weitertransportiert wurden. Als szintigraphisch definierten Mageninhalt wurde eine ROI (region of interest) im ersten gemessenen Bild markiert. Auf diese Weise konnten im Vorfeld unerwünschte Bereiche wie z.B. Ösophagus oder Dünndarm ausgeschlossen werden (Tatsch, 1994; Kleinhans, 1990).

Eine Messung dauerte 45 Minuten, die akquirierte Einzelbilddauer wurde auf 3 Sekunden/Bild festgesetzt, um nicht nur Aussagen zur Magenentleerung, sondern auch zur Magenperistaltik machen zu können (Camilleri et al, 1986; Linke et al, 2000; Malagelada, 1990; Stacher et al, 1992). Pro Proband wurden so viele szintigraphische Messungen gestartet, bis entweder manometrisch eine Phase III oder auf der Gammakamera kein Mageninhalt mehr zu erkennen war, was maximal fünf und minimal zwei Messungen waren.

3.5 Experimentelles Design

3.5.1 Versuchsaufbau

Alle Experimente wurden nach einer Nüchternperiode von mindestens 12 Stunden durchgeführt und am Morgen des jeweiligen Versuchstags gestartet. Zwischen den Versuchstagen lag ein Abstand von mindestens einer Woche. Die Experimente wurden randomisiert und die Probanden bezüglich der zu infundierenden Substanzen verblindet.

In einer Interimsanalyse der szintigraphischen und manometrischen Ergebnisse zeigte sich bereits, dass Exendin(9-39)amid keinen relevanten Effekt auf die Motilität und Entleerung des Magens hat. Um auszuschließen, dass der Barostat-Ballon im Magenfundus einen wesentlichen Einfluss auf die Magenentleerung und somit auf die Hormonfreisetzung im Pankreas hat führten wir bei 6 der 12 Probanden die Messungen ohne Barostatballon und Manometriesonden durch. Vor Versuchsbeginn schluckten die Probanden die intragastrale Ballonsonde. Während der Versuche befanden sich die Probanden in einer bequemen halbsitzenden Position (30° - 45°) unterhalb der Gammakamera, die zu den jeweiligen Versuchsabschnitten jeweils möglichst nah über dem Abdomen des Probanden platziert wurde. Zur intravenösen Infusion wurde eine Verweilkanüle anterograd in einer antecubitalen Vene platziert. Am anderen Arm wurde eine retrograde Verweilkanüle intravenös im Bereich des Handrückens gelegt, um wiederholte Blutentnahmen zu ermöglichen. Nach einer kurzen Ruhepause wurde mit dem Barostaten über die Ballonsonde der minimale gastrale Distensionsdruck (MDP = minimal distension pressure), der dem intraabdominellen Druck entspricht, bestimmt und mit der Messung begonnen. Während der gesamten Messperiode wurde – abgesehen von der Distension – der intragastrale Ballondruck zur Messung des Fundustonus durch den Barostat bei MDP + 1 mmHg gehalten.

Abbildung 2 zeigt das Studiendesign. An die basale Periode schloss sich eine Phase für die Aufsättigung der intravenösen Prüfsubstanzen an, die nach 20 Minuten abgeschlossen war. Während dieser 60 Minuten wurde interdigestiv die Nüchtern-Motilität gemessen (intragastraler Ballondruck MDP + 1 mmHg).

Anschliessend bekamen die Probanden eine semisoliden Mahlzeit (Nutridrink Schoko 300 ml, angerührt mit 30 g Kölln®-Schmelzflocken (25% Fett, 22% Protein, 53% KH, 412 kcal), die sie innerhalb von drei bis vier Minuten oral zu sich nehmen sollten. Die radioaktive Markierung der Mahlzeit mit 75 MBq ^{99m}Tc-Zinnkolloid war kurz zuvor von staatlich geprüften Radiologisch-Technischen-Assistenten durchgeführt worden.

Es wurden insgesamt zwei Versuchstage pro Proband durchgeführt. Als Hintergrundinfusion wurde an einem Versuchstag Exendin(9-39)amid, gelöst in 1% Humanalbumin, mit 900 pmol·kg⁻¹·h⁻¹ und am anderen Versuchstag 0,154 M NaCl (Placebo) intravenös infundiert. Sowohl Exendin(9-39)amid als auch NaCl wurden 20 Minuten vor Mahlzeiteinnahme aufgesättigt (siehe Abbildung 2). Während des Versuches wurden Blutdruck, Puls, Sauerstoffsättigung und Wohlbefinden der Probanden kontinuierlich überwacht und protokolliert.

In jedem Experiment wurden Blutentnahmen über die retrograde Venenverweilkanüle durchgeführt. Die entsprechende Hand und der Unterarm wurden während der Gesamtdauer des Experiments unter Verwendung einer Infrarotlampe, die durch einen temperatursensor-gesteuerten Biothermostaten kontrolliert wurde, kontinuierlich auf 40°C erwärmt, um das venöse Blut zu arterialisieren, das heißt dem arteriellen Blut anzugleichen (Prinzip der „heated hand“, Öffnen der arteriovenösen Shunts). An jedem Versuchstag wurden insgesamt 16 Blutproben á 10 ml entnommen: eine Blutentnahme zu Messbeginn, eine unmittelbar vor der Aufsättigung der Hintergrundinfusionen und eine weitere unmittelbar vor der Mahlzeiteinnahme. Danach folgten sechs Blutentnahmen während der 60 minütigen postprandialen Messperiode in 10 minütigen Abständen (t= 10, 20, 30, 40, 50, 60) und sieben weitere Blutentnahmen in 20 minütigen Abständen (t= 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200). Das Blut wurde in 10ml-EDTA-Röhrchen, die 500 µl Trasyolol enthielten, auf Eis gelegt und sofort zentrifugiert (15 min bei 5000 Upm). Das Plasma wurde abpipettiert und bei -30°C bis zur Hormonbestimmung eingefroren. Die Blutentnahmen dienten zum einen der sofortigen Bestimmung der Blutglukosekonzentration, zum anderen dem Nachweis der Immunreaktivitäten der Peptidhormone GLP-1, Insulin und Glukagon.

Versuchsaufbau

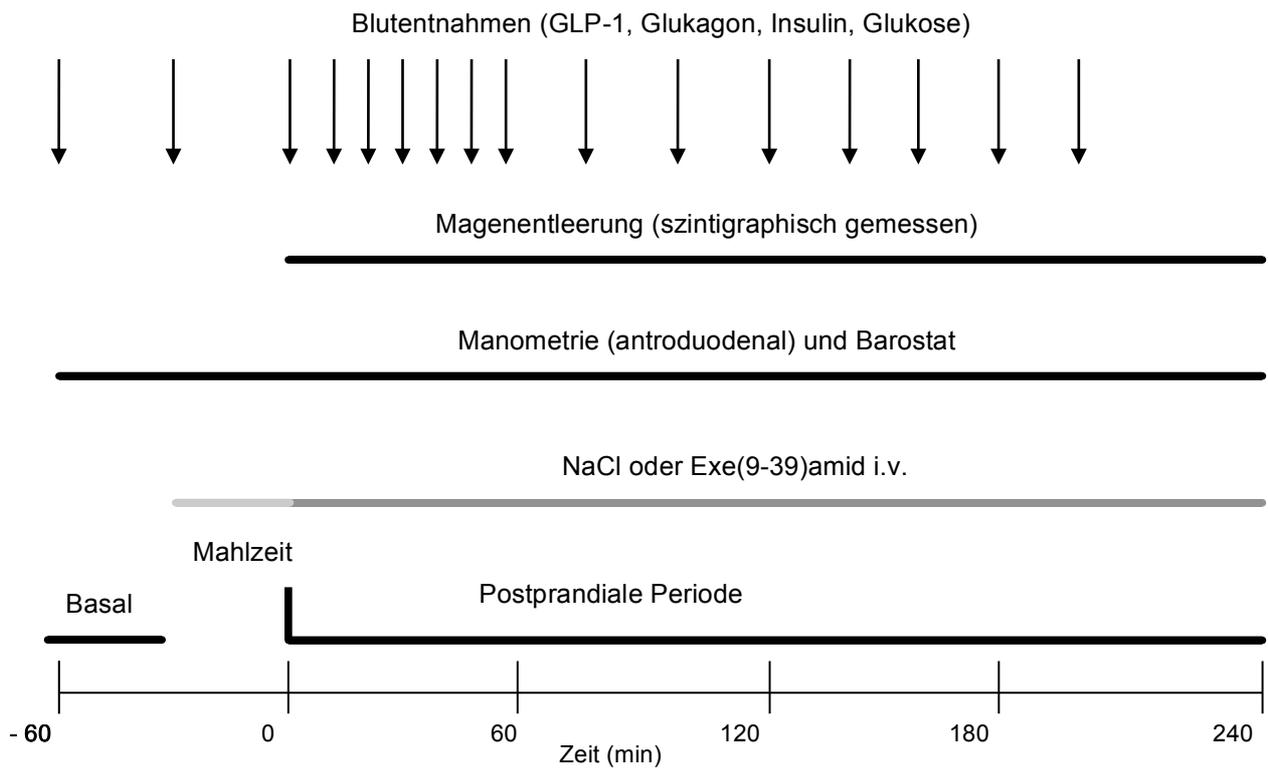


Abbildung 2: Studiendesign (Erklärungen siehe Text).

3.5.2 Positionieren des Barostatballons

Der sorgfältig gefaltete und luftleere Ballon wurde durch den Mund in den Magen eingeführt. Um den Ballon zu entfalten, wurde er mit 300 ml Luft gefüllt und dann vorsichtig zurückgezogen, bis ein weiteres Zurückziehen durch den unteren Ösophagussphinkter verhindert wurde. Die richtige Lage konnte durch atemsynchrone Bewegungen der Sonde verifiziert werden. Nun wurde die Sonde zwei Zentimeter vorgeschoben, sodass der obere Rand des Ballons zwei Zentimeter unter dem unteren Ösophagussphinkter zu liegen kam. Danach wurde die Luft wieder abgesaugt und der Ballon mit dem elektronischen Barostaten verbunden (Struckmeier, 2003; Nicolaus, 2003).

3.5.3 Minimaler Dehnungsdruck (MDP)

Der minimale Dehnungsdruck (Minimal Distension Pressure = MDP) ist der Druck, der nötig ist, um den intraabdominellen Druck aufzuheben. Ausgehend von einem Ballondruck von 0 mmHg (atmosphärischer Druck), wurde der Barostatdruck um 1 mmHg pro Minute gesteigert, bis ein Ballonvolumen ≥ 30 ml erreicht wurde und über mindestens 2 Minuten bestehen blieb. Dieser Ballondruck entspricht dem MDP. Die Tonusmessung wurde dann bei einem konstanten intragastrischen Druck von $\text{MDP} + 1$ mmHg durchgeführt (Moragas et al, 1993). Durch dieses Vorgehen erreichten wir die Einstellung eines konstanten intragastrischen Drucks, der für die interindividuelle Variabilität des intraabdominellen Drucks korrigiert war (Struckmeier, 2003; Nicolaus, 2003).

3.5.4 Messung des Fundustonus

Der Barostat wurde auf einen Druck von $\text{MDP} + 1$ mmHg eingestellt. Der Fundustonus wurde kontinuierlich während der Basalperiode, der Aufsättigungsphase, der interdigestiven Messperiode und der Mahlzeitperfusion gemessen. Dabei wurde das jeweilige Ballonvolumen kontinuierlich computergestützt aufgezeichnet. Das Ballonvolumen ist dabei ein Maß für den Magentonus und diesem umgekehrt proportional, d.h. je höher das Volumen, umso

niedriger der Tonus.

Druck und Volumen des Barostatballons wurden als digitale Signale mit einer Frequenz von 1 Hz aufgezeichnet. Die Volumendaten wurden automatisch durch die Software des Barostaten für die Komprimierbarkeit von Luft korrigiert. Mit Hilfe eines Computeralgorithmus wurden Bewegungs- und Atmungsartefakte eliminiert und Volumenkontraktionen identifiziert. Volumenkontraktionen wurden definiert als phasische Volumenabnahmen ≥ 30 ml, die innerhalb von 2 Minuten wieder mindestens 50 % ihres Ausgangsvolumens erreichten (Azpiroz et al, 1987). Zum primären computergestützten Erkennen einer Volumenkontraktion wurde als deren Beginn und Ende das Überschreiten einer Steigung von 1,9 ml/Sekunde festgelegt. Nach Elimination der so erkannten Volumenkontraktionen wurde die Basislinie als minütlicher Mittelwert (running average) bestimmt. Nach Definition der Basislinie wurde dann der Schnittpunkt der vorher erkannten Volumenkontraktion mit der Basislinie als Anfang und Ende der Kontraktion bestimmt. Die Amplitude der Volumenkontraktionen wurde als Differenz zwischen der Basislinie und dem Volumenminimum der Kontraktion gemessen. Das durch die Volumenkontraktion verdrängte Volumen wurde als Fläche (Integral) zwischen dem tatsächlichen Volumen und der entsprechenden Basislinie der Volumenkontraktion ermittelt. Dieser computergestützte Algorithmus wurde von unserer Arbeitsgruppe entsprechend validiert (Schirra et al, 2002). Die computergestützte Auswertung jeder Messung wurde visuell kontrolliert und ggf. manuell korrigiert. Die Fläche unter den Volumenkontraktionen, d.h. das durch die Kontraktion verdrängte Ballonvolumen während eines Zeitabschnitts t , wurde als „Volumenindex“ definiert (ml·min/t).

Der Fundustonus wurde durch die Basislinie des Ballonvolumens, nach Elimination der oben beschriebenen Volumenkontraktionen, repräsentiert. Das basale Ballonvolumen war dabei dem Tonus umgekehrt proportional (Struckmeier, 2003; Nicolaus, 2003).

3.6 Statistik

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

Alle Messwerte wurden mit dem Kolmogoroff-Smirnoff Test auf Normalverteilung überprüft. Postprandiale Veränderungen von Hormonen und Glukose während der ersten 60 Minuten nach Mahlzeiteinnahme wurden als mittlere Abweichung von den präprandialen Werten (t=0 min) berechnet (Mittelwert über basal). Effekte von Exendin(9-39)amid während der Nüchternperiode wurden anhand eines gepaarten t-Tests analysiert. Unterschiede zwischen den Studientagen für jeden einzelnen postprandialen Parameter wurden einer zweifaktoriellen Varianzanalyse für wiederholte Messungen (TwoWay repeated measures ANOVA) unterzogen mit der intravenösen Infusion (NaCl 0,9% oder Exendin(9-39)amid) und der Präsenz des Magenballons (ja oder nein) als Faktoren. Wenn diese Analyse einen signifikanten Unterschied zeigte, wurde ein post-hoc-Tukey-multicomparison-Test durchgeführt. Signifikante Einflüsse der Parameter der Magenentleerung, der Plasmaspiegel von Insulin und Glukagon auf die Glukoseantwort während der ersten 60 postprandialen Minuten wurden mit einer multiplen linearen Regression untersucht. $P < 0.05$ war statistisch signifikant.

Für die Auswertung der szintigraphischen Daten wurden im Wesentlichen drei Programme eingesetzt: das Programm GASEMP (**G**astric **E**mptying) erstellte eine Zeit-Aktivitätskurve einer ‚region of interest‘ (ROI) über dem Magen. Das Programm ECICRE (**E**sophageal **C**ondensed **I**mage **C**reation) – ursprünglich für die Ösophagusszintigraphie entwickelt – erstellte aus den Rohdaten der dynamischen Magenstudie ein kondensiertes Bild. Das in Fortran auf einer Microvax 3400 implementierte Programm GASFFT (**G**astric **F**ast **F**ourier **T**ransformation) analysierte die kondensierten Bilder. Die für die Programme notwendigen Eingaben und die graphische Ausgabe der Ergebnisse erfolgten über ein Micro-DELTA-Terminal mit angeschlossenem Drucker.

4 ERGEBNISSE

Die Infusion von Exendin(9-39)amid wurde von allen Probanden gut und nebenwirkungsfrei vertragen. Da sich im Rahmen einer Interimsanalyse nach den ersten 6 Probanden überraschenderweise kein Effekt von Exendin(9-39)amid auf die szintigraphische Magenentleerung zeigte, wurden die nächsten 6 Probanden ohne gastrale Barostat-Ballonsonde und ohne antroduodenale Manometriesonde untersucht, um einen etwaigen störenden Einfluss dieser Sonden auf die Magenentleerung und auch auf etwaige Effekte von Exendin(9-39)amid auf die Magenentleerung auszuschließen.

4.1 Glykämie und Hormone

4.1.1 Blutglukose

Die Blutglukosewerte haben wir für die verschiedenen Versuchstage mit 0,154 M NaCl und Exendin(9-39)amid ausgewertet. Dabei betrachteten wir die basale und postprandiale Phase gesondert. Während der basalen Phase gab es im Blutglukosespiegel keine signifikanten Unterschiede zwischen Placebo- und Exendin(9-39)amid-Versuch. Während der ersten 60 postprandialen Minuten jedoch war unter Exendin(9-39)amid der Blutglukosespiegel signifikant erhöht ($P=0,008$; siehe Abbildung 3-5, Tabelle 1). Daraus folgt, dass endogenes GLP-1 nach oraler Mahlzeiteinnahme den Blutzuckerspiegel signifikant reduziert. Interessanterweise waren die Blutglukosewerte bei den Versuchen mit Barostat insgesamt höher als bei den Versuchen ohne Barostat (siehe Abbildung 5). Es ist also anzunehmen, dass der Barostat-Ballon die Höhe der postprandialen Blutzuckerwerte beeinflusst.

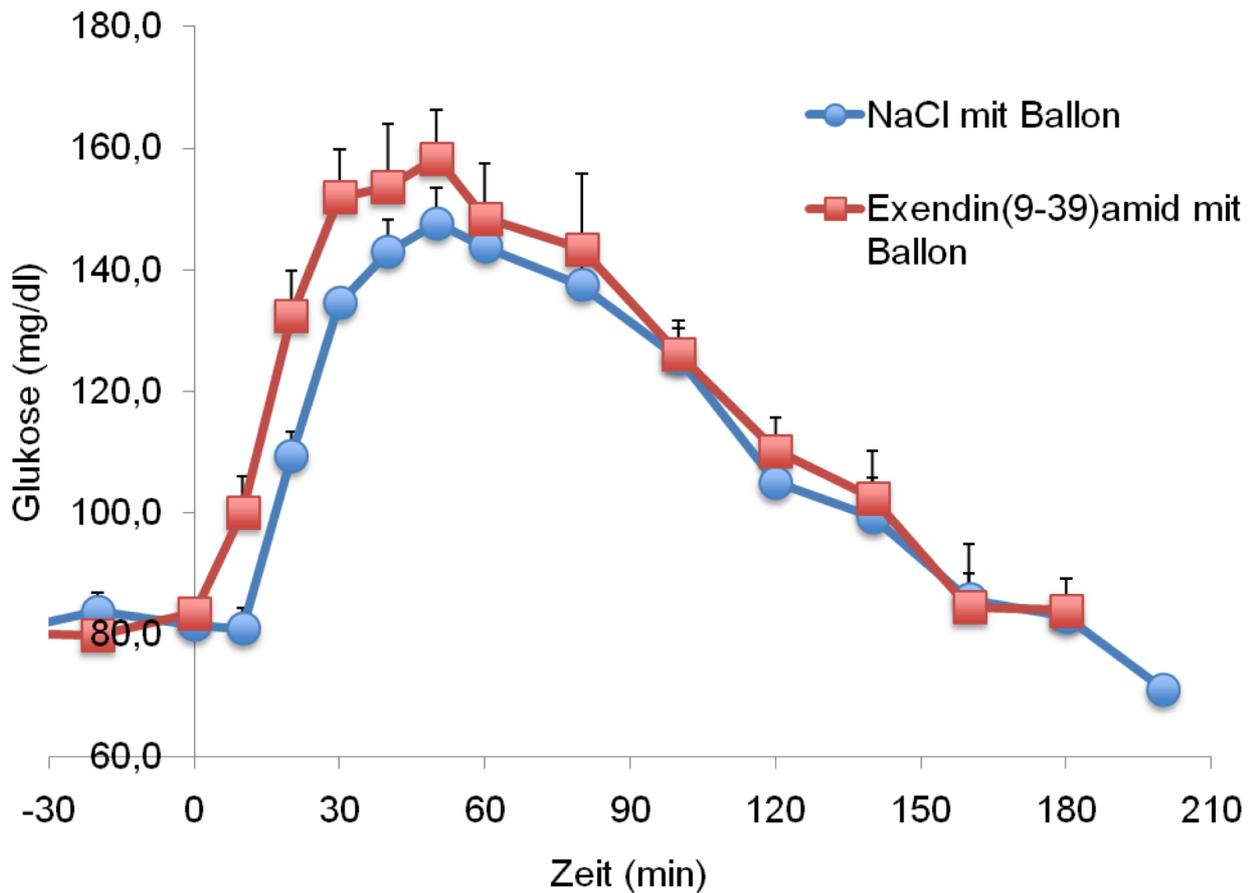


Abbildung 3: Blutzuckerwertveränderungen bei Versuchen mit Ballon.

Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Blutzucker nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

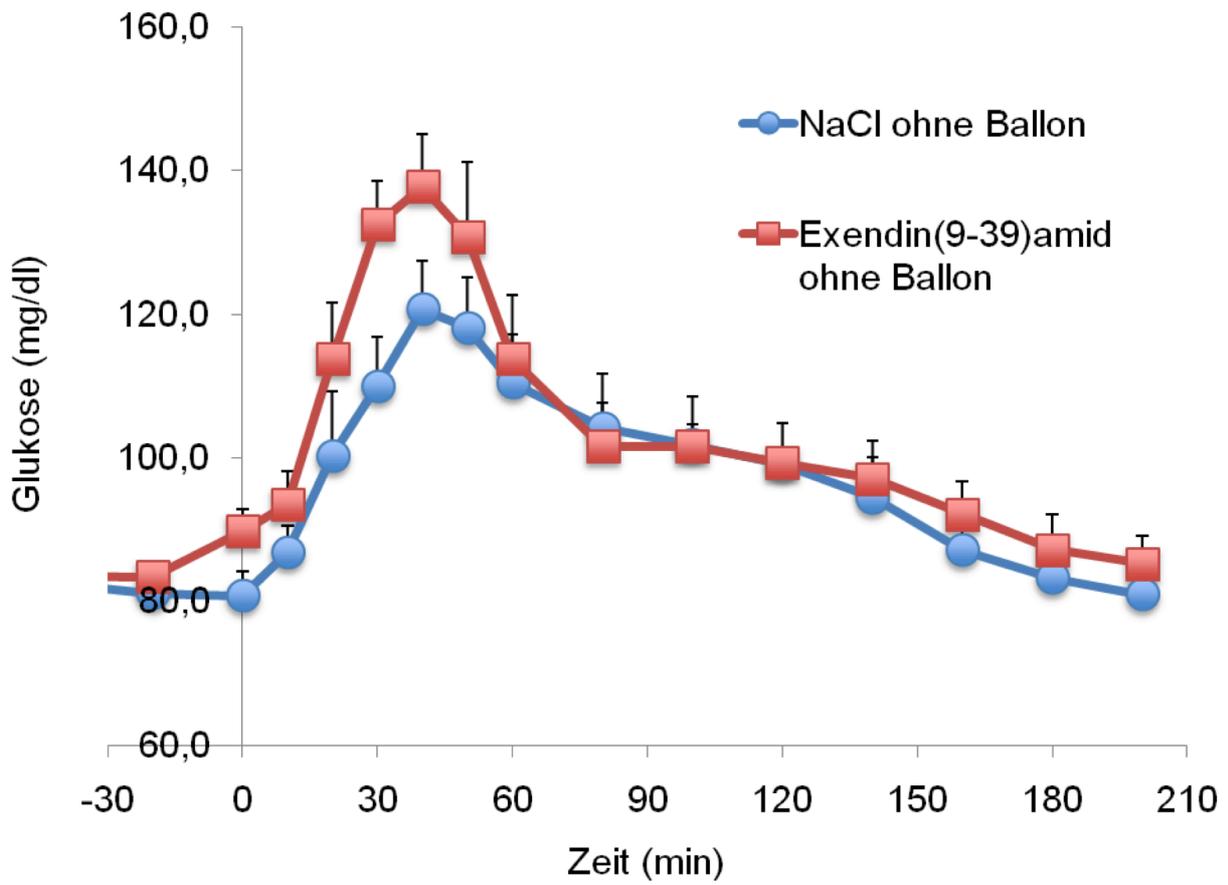


Abbildung 4: Blutzuckeränderungen bei Versuchen ohne Ballon.

Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Blutzucker nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

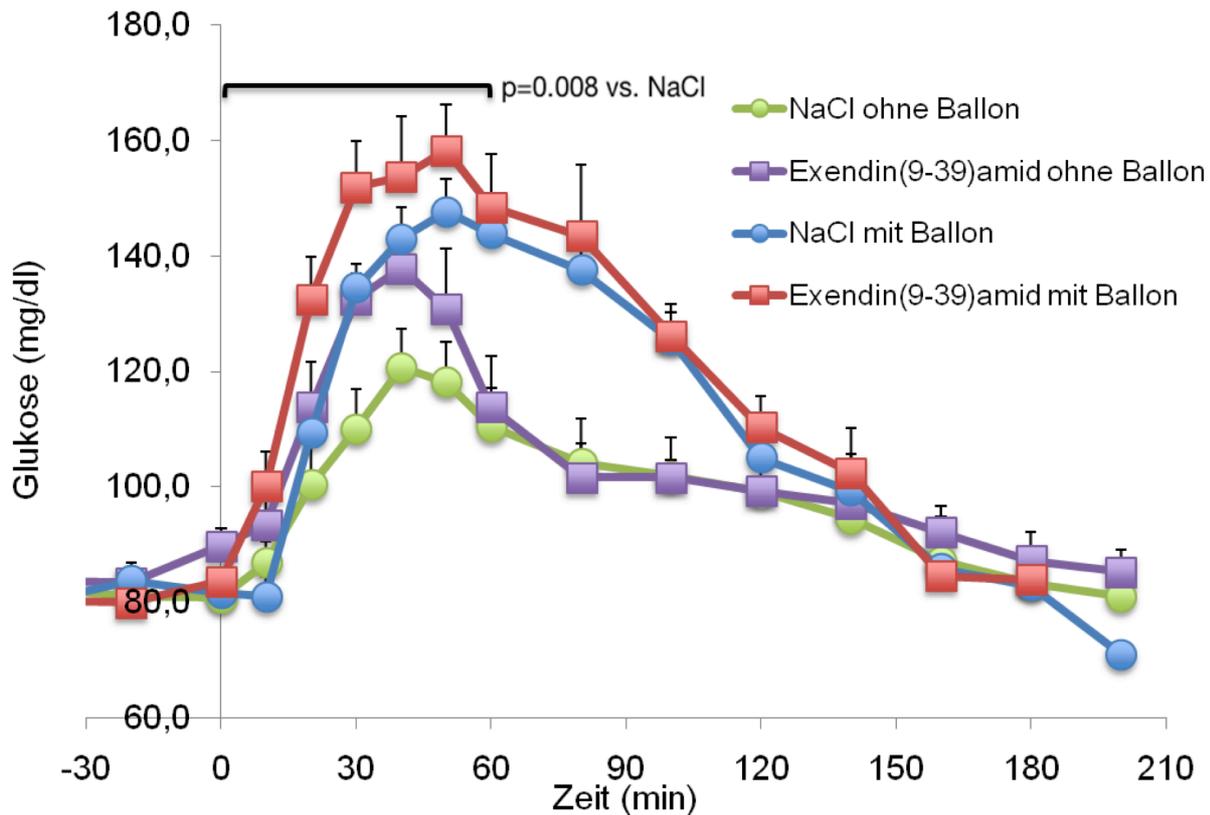


Abbildung 5: Blutzuckeränderungen mit und ohne Ballon.

Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Blutzucker nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). Während der ersten 60 postprandialen Minuten unter Ex(9-39) signifikanter Unterschied ($P=0,008$) im Vergleich zu den Placebo-Versuchen. Barostatballon beeinflusst postprandiale Blutzuckerwerte. $N=12$; davon 6 ohne und 6 mit gastralem Barostat-Ballon, Mittelwerte \pm SEM.

4.1.2 Insulin

Während der basalen Phase hatte weder Exendin(9-39)amid noch NaCl Einfluß auf den Insulinspiegel. Postprandial war während der ersten 60 Minuten unter Exendin(9-39)amid der Insulinspiegel bei allen Versuchen leicht erhöht, jedoch im Mittel nicht signifikant ($P=0,067$; siehe Abbildungen 6-8, Tabelle 1). Daraus folgt, dass endogenes GLP-1 nach oraler Mahlzeiteinnahme den Plasmainsulinspiegel nicht signifikant beeinflusst, ja ihn sogar leicht senkt.

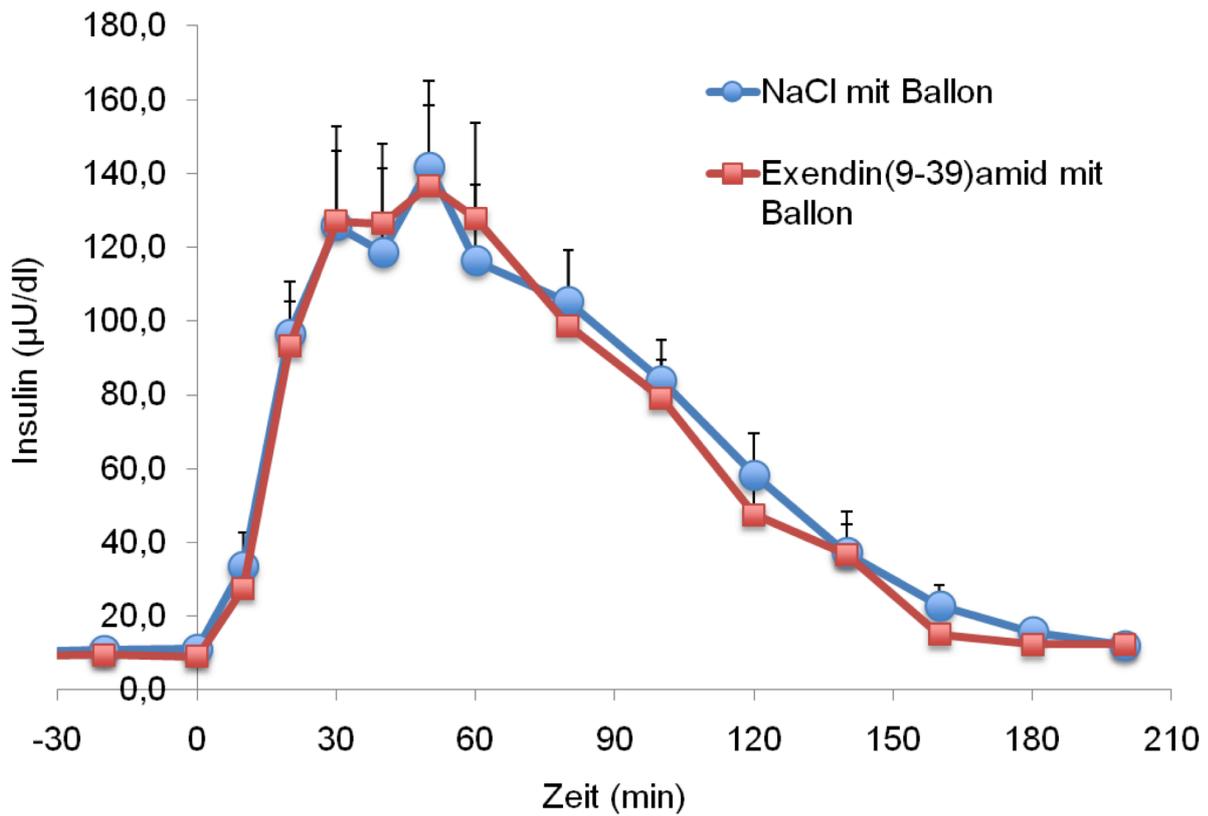


Abbildung 6: Veränderungen des Plasmainsulinspiegels bei Versuchen mit Ballon. Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Plasmainsulin nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

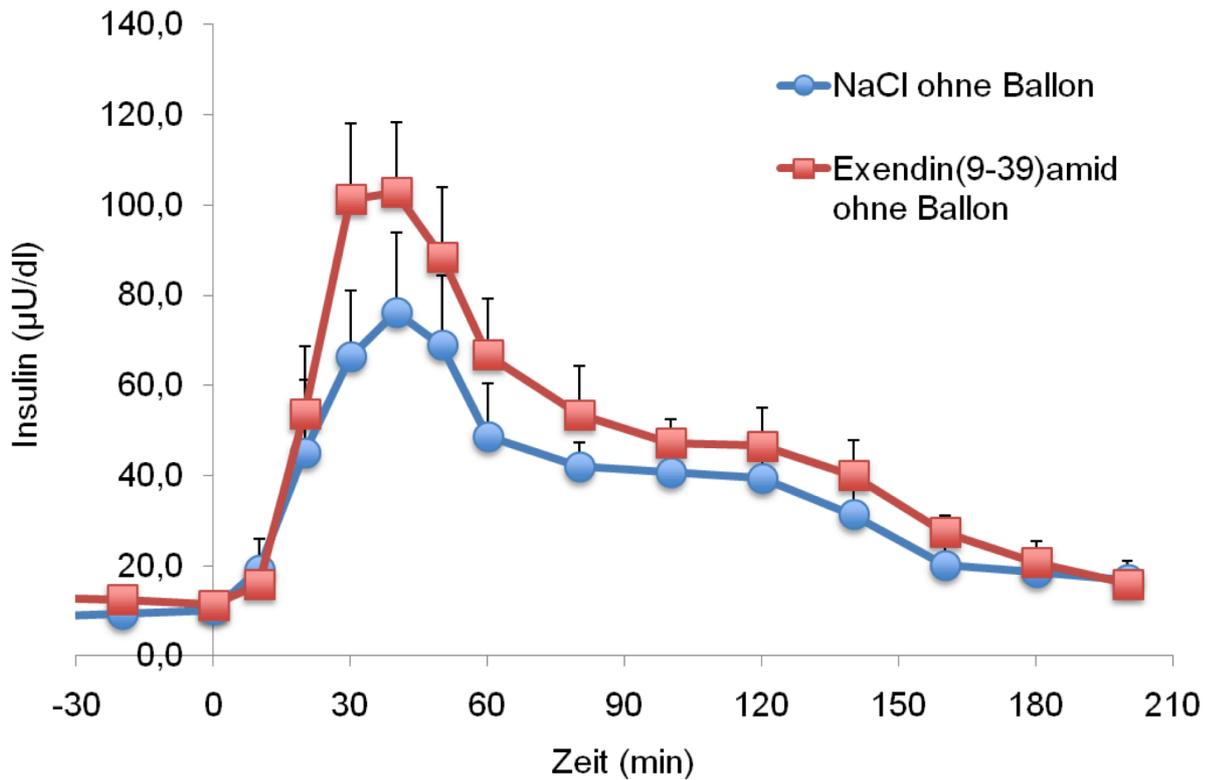


Abbildung 7: Veränderungen des Plasmainsulinspiegels bei Versuchen ohne Ballon.

Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Plasmainsulin nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

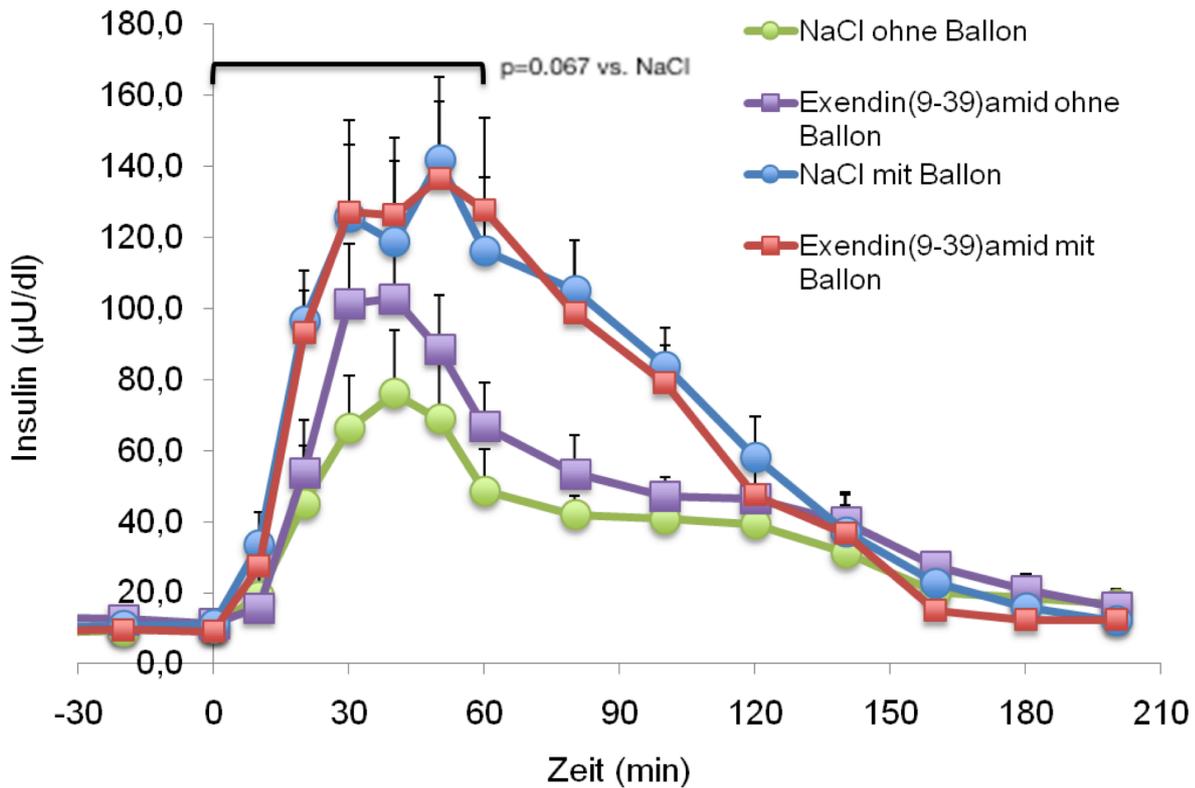


Abbildung 8: Veränderungen des Plasmainsulinspiegels mit und ohne Ballon.

Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Plasmainsulin nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). Während der ersten 60 postprandialen Minuten unter Ex(9-39) kein signifikanter Unterschied ($P=0,067$) im Vergleich zu den Placebo-Versuchen, Plasmainsulinspiegel wird sogar leicht erhöht. $N=12$; davon 6 ohne und 6 mit gastralem Barostat-Ballon, Mittelwerte \pm SEM.

4.1.3 Glukagon

In einer multiplen linearen Regressionsanalyse wurden Parameter untersucht, die die postprandiale Blutzuckersteigerung unter Exendin(9-39)amid während der ersten 60 Minuten nach Mahlzeitaufnahme wesentlich steigerten.

Der postprandiale Blutzuckeranstieg unter Exendin(9-39)amid wurde mit $R=0,681$ vorhergesagt. Es zeigte sich jedoch, dass der Blutzuckeranstieg unter Exendin(9-39)amid lediglich signifikant durch die Änderungen im pp Plasmaglukagon ($P=0,037$) und nicht im pp Plasmainsulin ($P=0,909$) oder die Menge des Mageninhaltes, der sich in den ersten 60 Minuten postprandial entleert hatte ($P=0,895$), beeinflusst wird.

Die multivariate Korrelationsanalyse belegte also, dass allein die postprandiale Glukagonexkursion signifikanter Prädiktor der frühpostprandialen Blutglukosesteigerung war ($R=0,678$; $P=0,015$; siehe Abbildung 12).

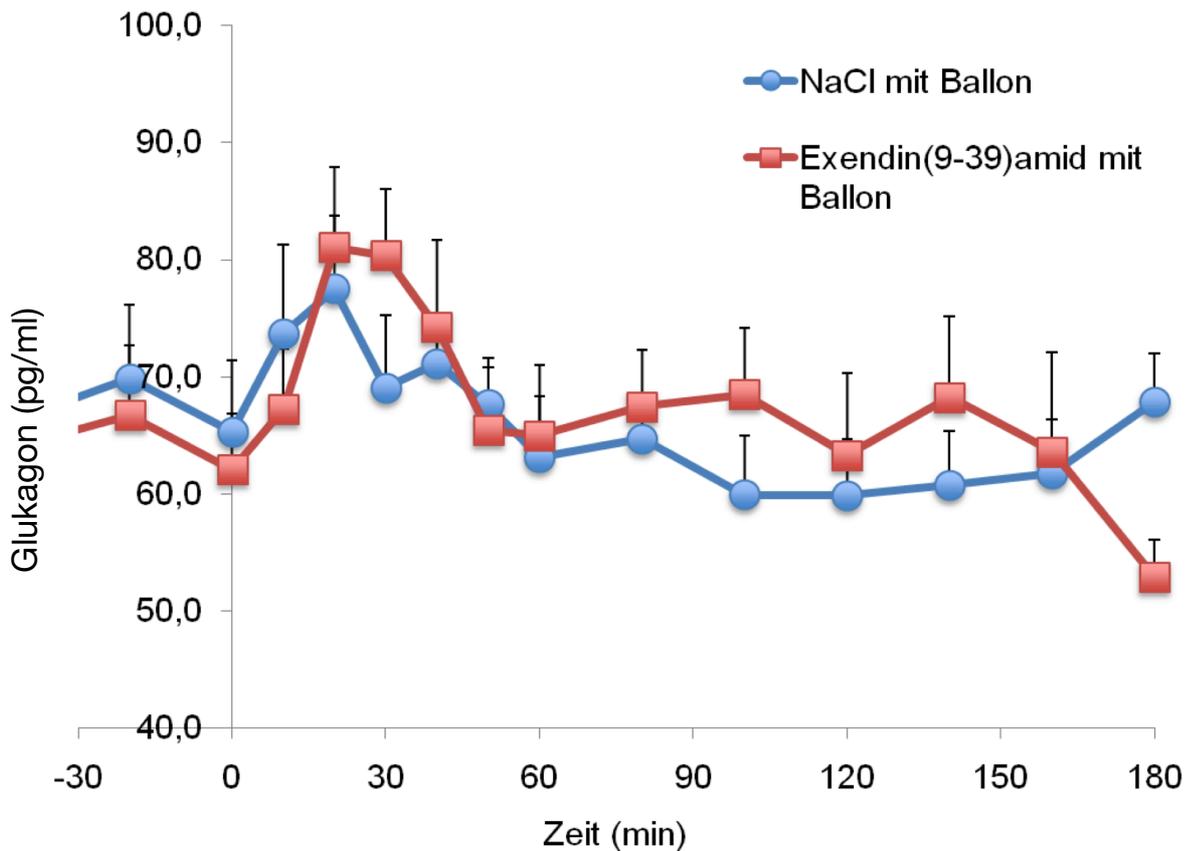


Abbildung 9: Veränderungen des Glukagonspiegels bei Versuchen mit Ballon. Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Glukagon nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

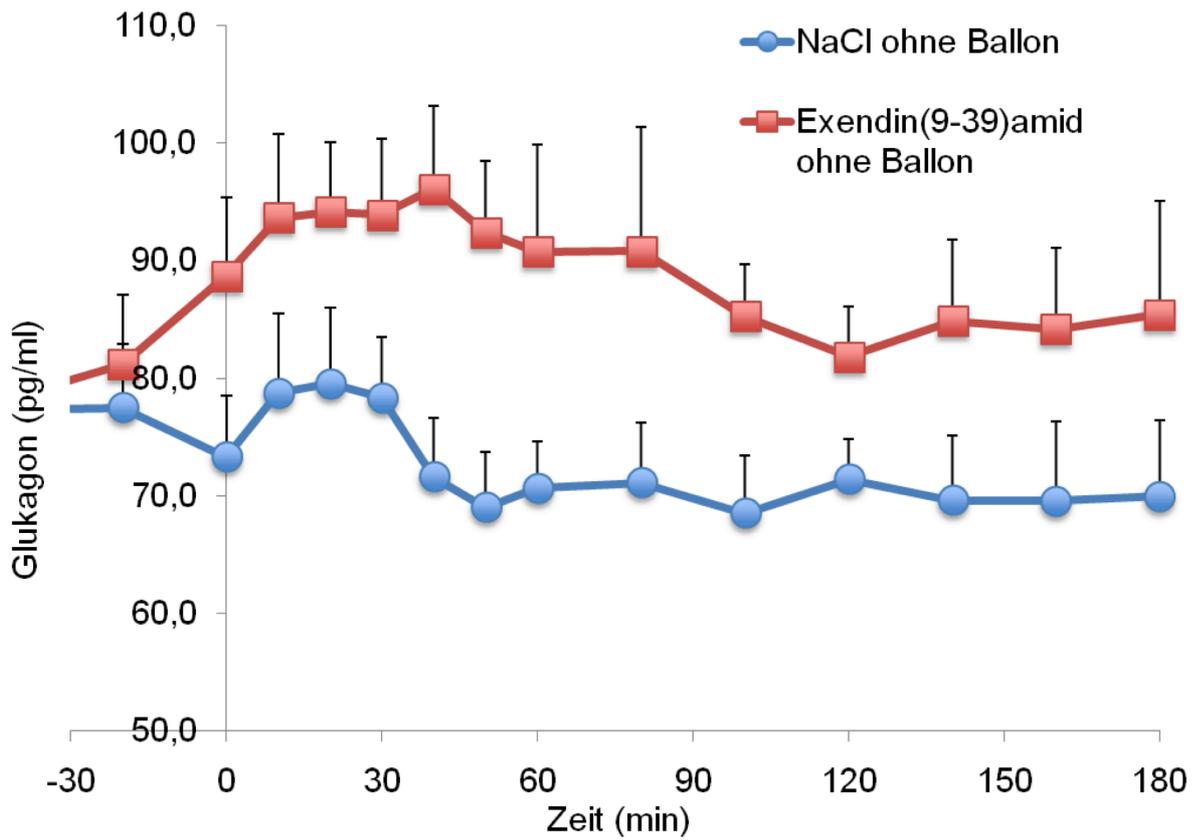


Abbildung 10: Veränderungen des Glukagonspiegels bei Versuchen ohne Ballon. Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Glukagon nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

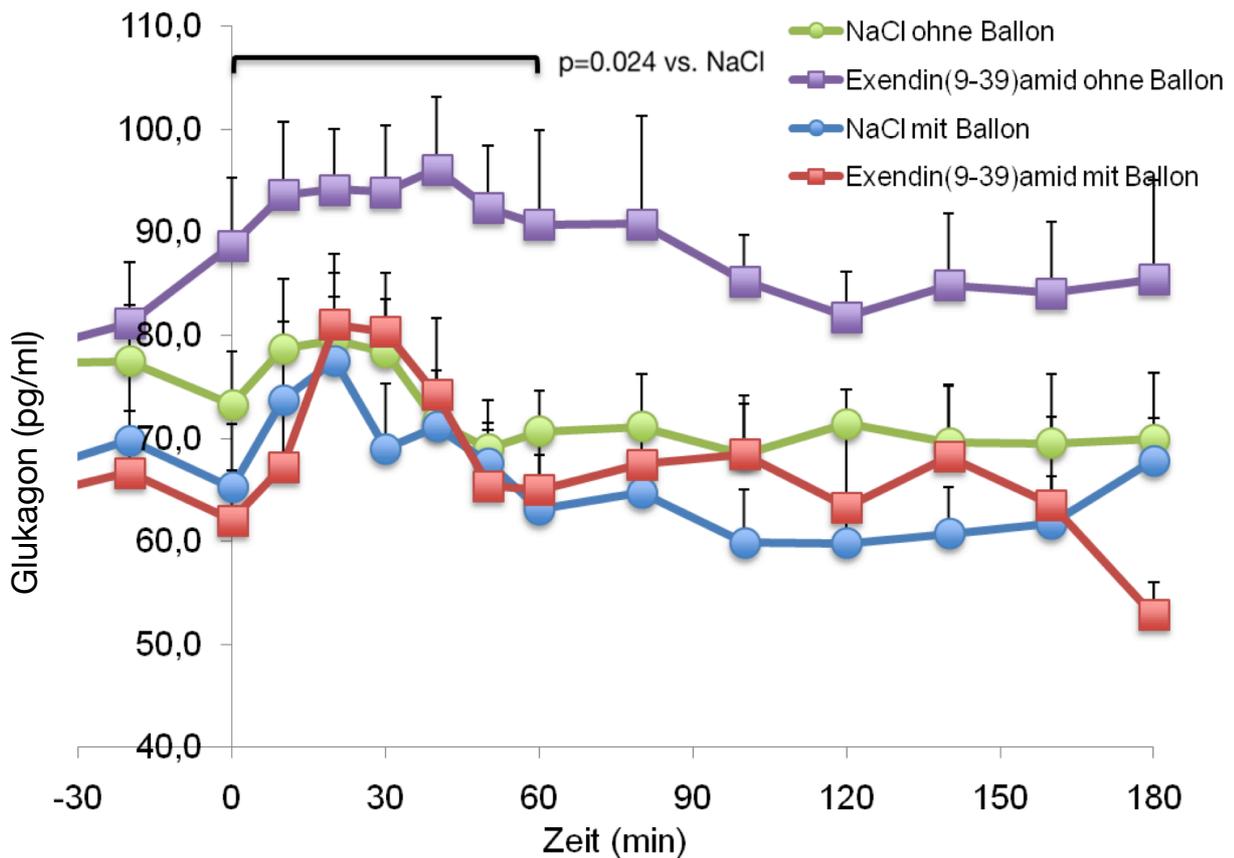


Abbildung 11: Veränderungen des Glukagonspiegels mit und ohne Ballon. Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von Glukagon nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). Während der ersten 60 postprandialen Minuten unter Ex(9-39) signifikanter Unterschied (P=0,024) im Vergleich zu den Placebo-Versuchen. N=12; davon 6 ohne und 6 mit gastralem Barostat-Ballon, Mittelwerte \pm SEM.

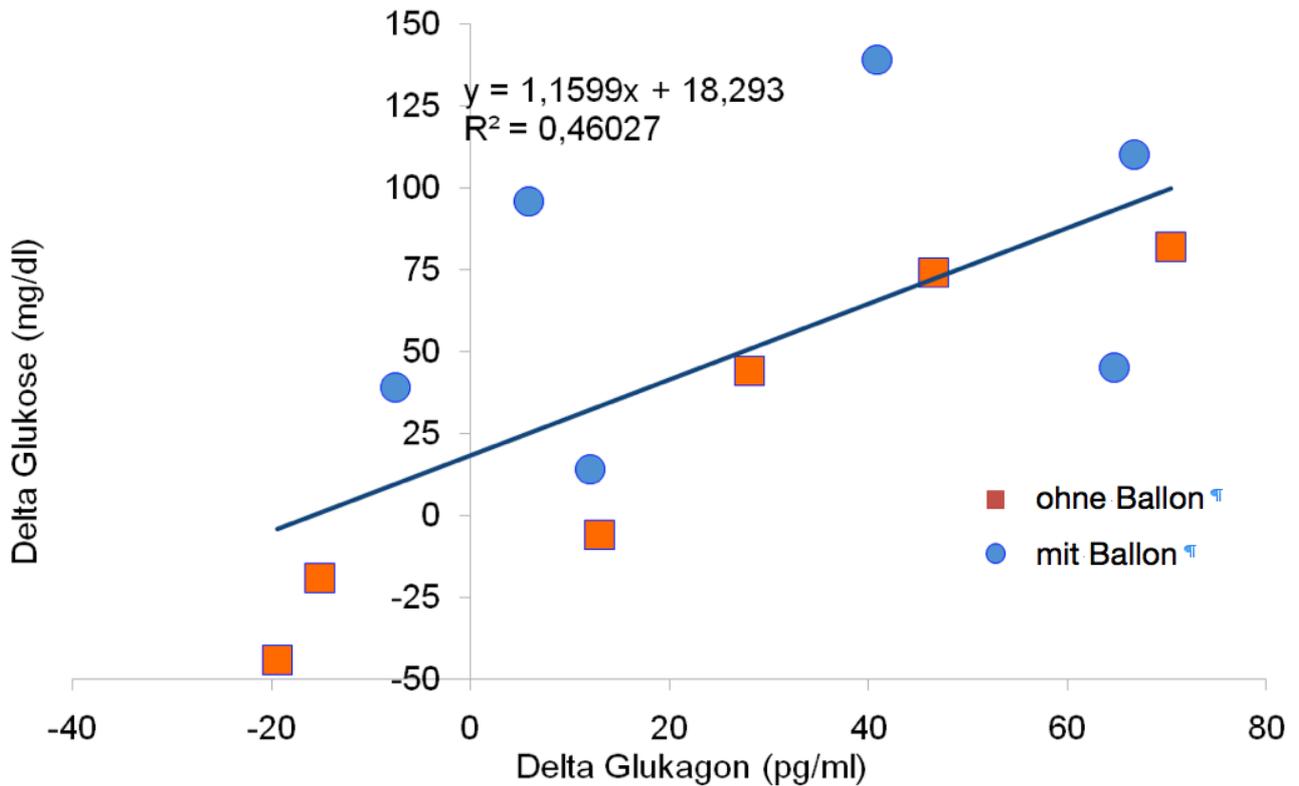


Abbildung 12: Lineare Regression zwischen den postprandialen Veränderungen von Blutzucker- und Glukagonspiegeln unter Versuchen mit Ex(9-39) während der ersten 60 min nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). Lediglich der postprandiale Blutzuckerspiegel ist mit der Hemmung von Glukagon nach Mahlzeiteinnahme signifikant assoziiert ($y=1,1599x + 18,293$; $R^2=0,4603$, $R=0,6784$; $P=0,015$).

4.1.4 GLP-1

Erwartungsgemäß zeigte sich ein deutlicher, physiologischer GLP-1-Anstieg 30 Minuten postprandial (siehe Abbildungen 13-15, Tabelle 1). Dieser Effekt trat unabhängig vom Vorhandensein des Barostat-Ballons auf.

In vorangegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass durch die Verwendung von Exendin(9-39)amid in einer Dosis von 900 nmol/l eine ca. 99%ige Antagonisierung von GLP-1 nach Ausschüttung desselben stattfindet.

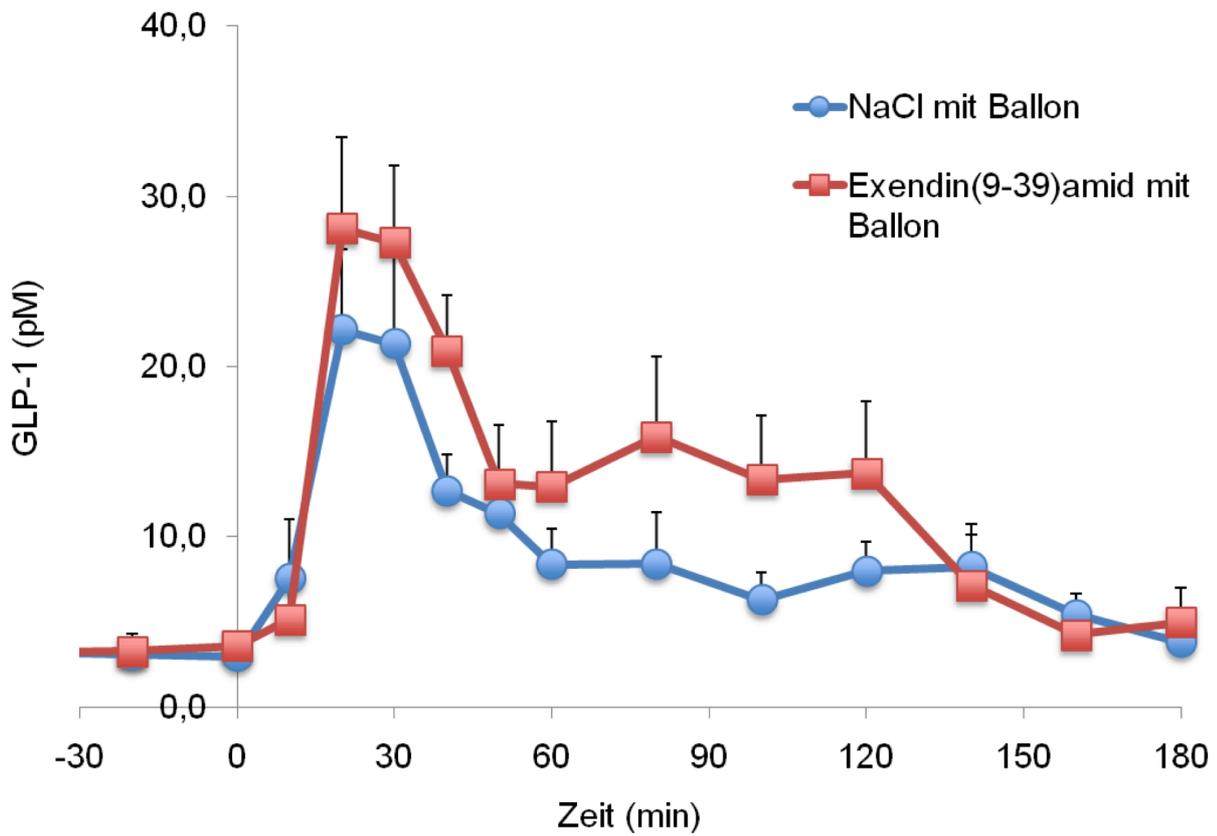


Abbildung 13: Veränderungen von GLP-1 bei Versuchen mit Ballon.

Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von GLP-1 nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

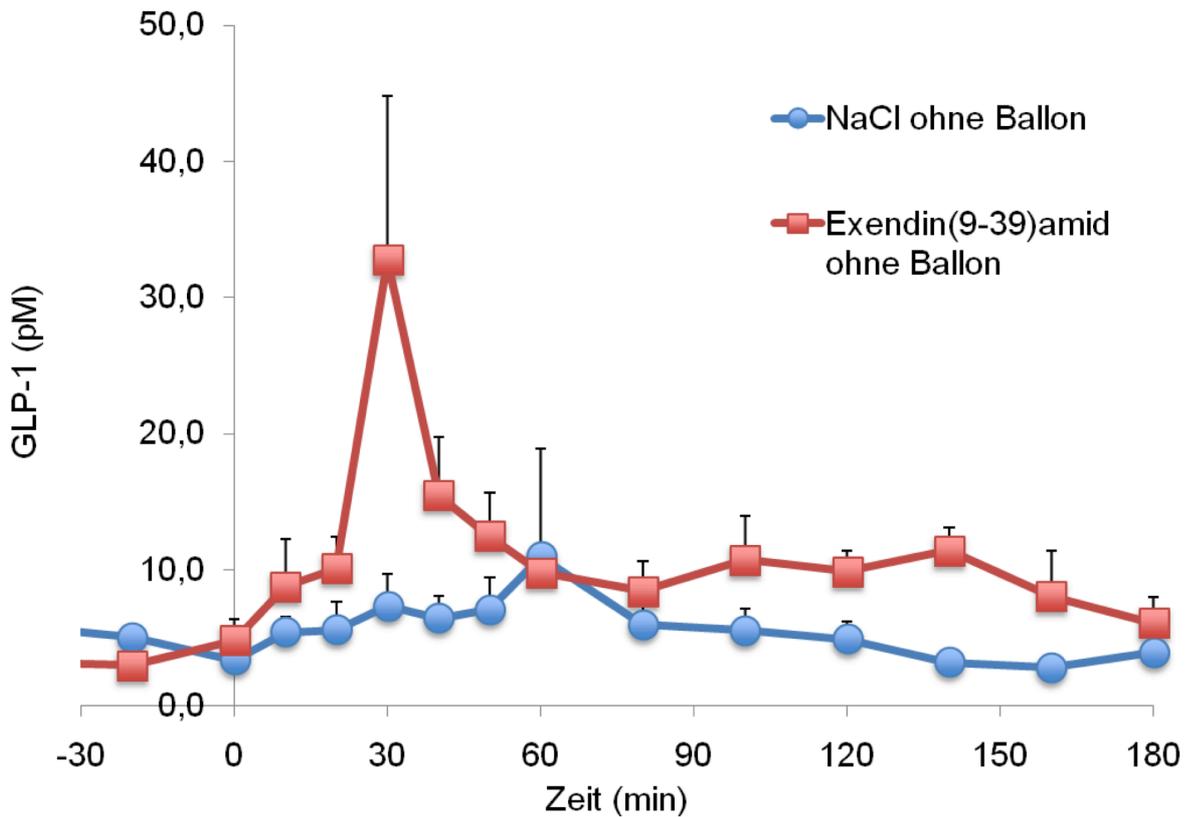


Abbildung 14: Veränderungen von GLP-1 bei Versuchen ohne Ballon.

Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von GLP-1 nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). N=6; Mittelwerte \pm SEM.

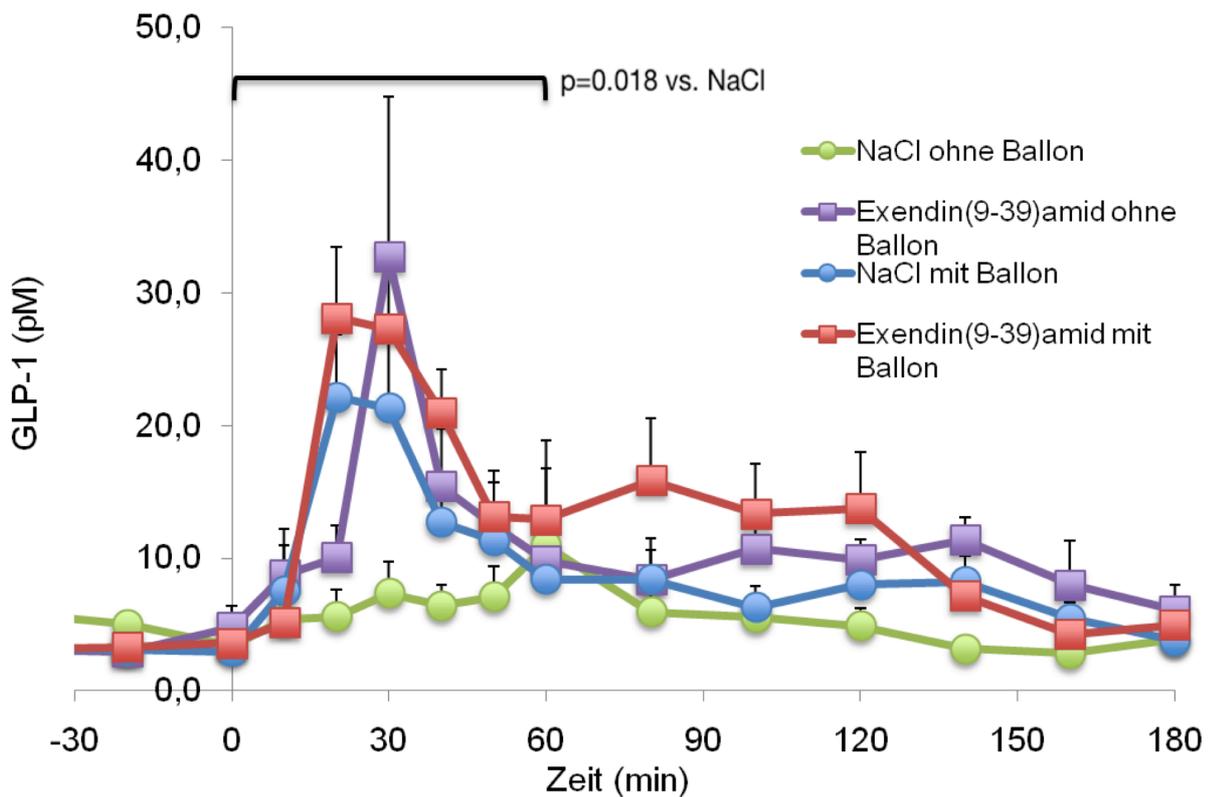


Abbildung 15: Veränderungen von GLP-1 bei Versuchen mit und ohne Ballon. Auswirkung der Blockade von GLP-1 durch Ex(9-39) mit 900 pmol/kg*min auf den postprandialen Anstieg von GLP-1 nach Aufnahme einer semisoliden Mahlzeit (412 kcal). Während der ersten 60 postprandialen Minuten unter Ex(9-39) signifikanter Unterschied ($P=0,018$) im Vergleich zu den Placebo-Versuchen. $N=12$, davon 6 mit und 6 ohne gastralen Barostat-Ballon; Mittelwerte \pm SEM.

Tabelle 1: Effekte von intravenösem Ex(9-39) auf Blutzuckerkonzentration und Immunreaktivität von Hormonen im Plasma nach einer oralen Mahlzeit.

	<i>mit Barostat-Ballon</i>		<i>ohne Barostat-Ballon</i>		<i>P (Infusion) ANOVA</i>
	<i>Saline</i>	<i>Ex(9-39)</i>	<i>Saline</i>	<i>Ex(9-39)</i>	
<i>Blutzucker</i> (mg*dl ⁻¹)	44.9 (4.0)	57.2 (6.8)	26.9 (2.7)	30.6 (3.2)	P=0.008
Cmax (mg*dl ⁻¹)	152.5 (4.9)	162.8 (8.6)	130.0 (4.6)	145.3 (5.2)	P=0.009
Tmax (min)	53.3 (1.9)	38.3 (4.0)	41.7 (6.0)	38.3 (4.0)	P=0.072
<i>Insulin</i> (μU*ml ⁻¹)	94.3 (12.2)	97.4 (16.8)	43.8 (10.0)	60.2 (8.0)	P=0.171
Cmax (μU*ml ⁻¹)	148.2 (19.9)	151.8 (28.1)	81.2 (13.9)	109.3 (11.8)	P=0.199
Tmax (min)	50.0 (4.5)	41.7 (4.8)	43.3 (7.6)	40.0 (3.7)	P=0.240
<i>Insulin/Glukose</i> (μU*mg ⁻¹)	67.1 (9.2)	62.8 (12.1)	34.0 (7.6)	43.6 (6.9)	P=0.525
<i>Glukagon</i> (pg*ml ⁻¹)	5.1 (2.4)	10.2 (2.8)	1.3 (3.4)	4.8 (3.6)	P=0.024
<i>GLP-1</i> (pmol*l ⁻¹)	10.9 (2.6)	14.3 (2.8)	3.8 (2.1)	10.7 (2.7)	P=0.018

Tabelle 1: Postprandialer Anstieg während der ersten 60 Minuten. Mittelwerte (SEM). Cmax: maximale Konzentration. Tmax: Zeit bis zur postprandialen Spitze. N=6 mit Magenballon und N=6 ohne Magenballon. Die Unterschiede wurden mittels TwoWay repeated measures ANOVA verglichen, wobei die intravenöse Infusion und der Magenballon als Faktoren verwendet wurden. P(infusion): Signifikanz der Effekte der Infusion unter Berücksichtigung der Beeinflussung durch den Magenballon.

4.2 Magenentleerung und Motilität

4.2.1 Magenentleerung und proximal gastrale Motilität

(Tabelle 2, Abbildungen 16-18, 21-24)

Die Magenentleerung folgt wie für die Entleerung von festen Mahlzeiten bekannt einem allgemeinen linearen Muster mit einer initialen kurzen lag period. Wie bereits im Kapitel 4.1.1 (Abbildung 5) erwähnt beeinflusst der Barostat-Ballon die Magenentleerung. Bei den Versuchen mit Barostat war die Magenentleerung im Vergleich zu den Versuchen ohne Barostat innerhalb der ersten 90 Minuten postprandial beschleunigt (siehe Abbildungen 16-18 und Tabelle 2). Probanden mit Barostat-Ballon hatten eine tendentiell kürzere lag period ($P=0,099$) und Halbwertszeit ($P=0,148$). Dies war bei $N=6$ statistisch nicht signifikant, beeinflusste aber signifikant die postprandialen Plasmahormonexkursionen (siehe 4.1). Unabhängig von der Präsenz des Barostat-Ballons hatte Exendin(9-39)amid keinen signifikanten Einfluss auf die Parameter der Magenentleerung. Ebenso beeinflusste Exendin(9-39)amid nicht die intragastrale Mahlzeitverteilung zwischen proximalem und distalem Magen.

Bei den 6 Probanden mit gastralem Barostat-Ballon beeinflusste Exendin(9-39)amid weder die Fundusakkommodation noch die Frequenz der phasischen Volumenkontraktionen des proximalen Magens. Die Parameter der szintigraphisch gemessenen Peristaltik (Kontraktionsfrequenz, Kontraktionsamplitude) blieben unter Exendin(9-39)amid ebenso unverändert.

Zusammenfassend beeinflusste der GLP-1-Antagonist somit keinen Parameter der Magenentleerung und der postprandialen gastralen Motilität.

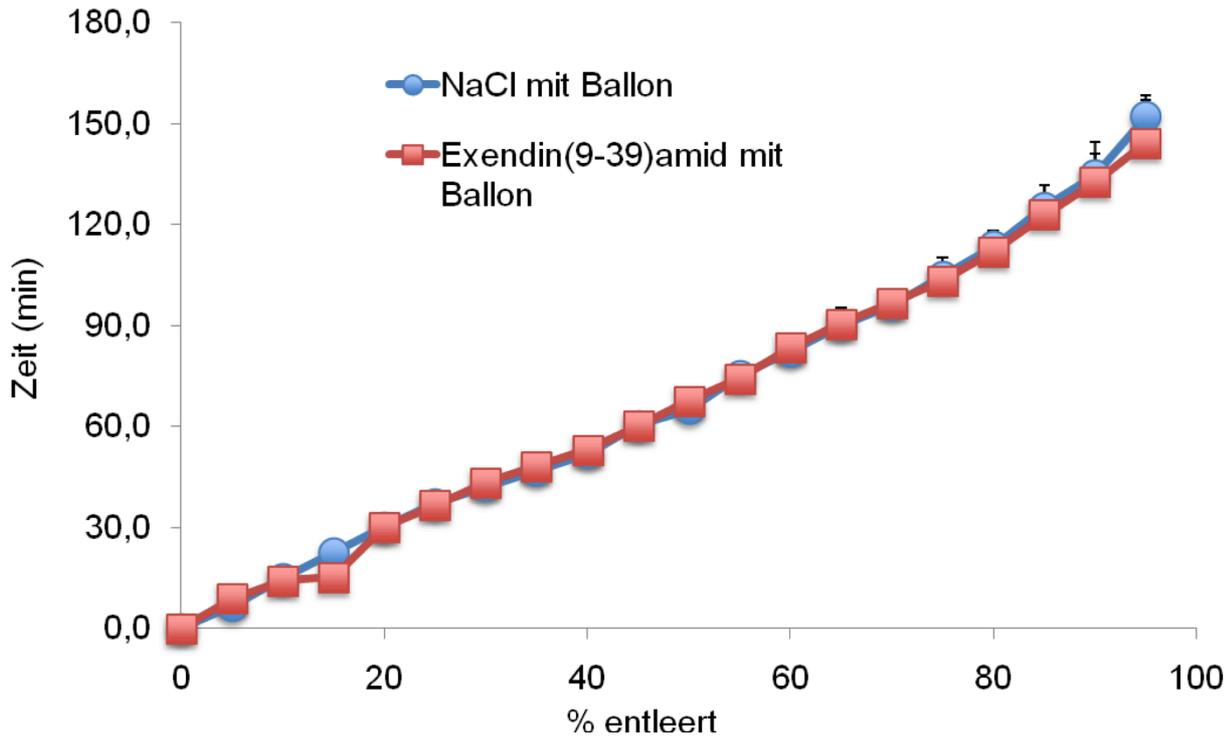


Abbildung 16: Szintigraphische Magenentleerung mit Ballon.

Es besteht kein wesentlicher Unterschied in der Magenentleerungsgeschwindigkeit zwischen Placebo und Ex(9-39)-Versuchen. N=6, Mittelwerte \pm SEM.

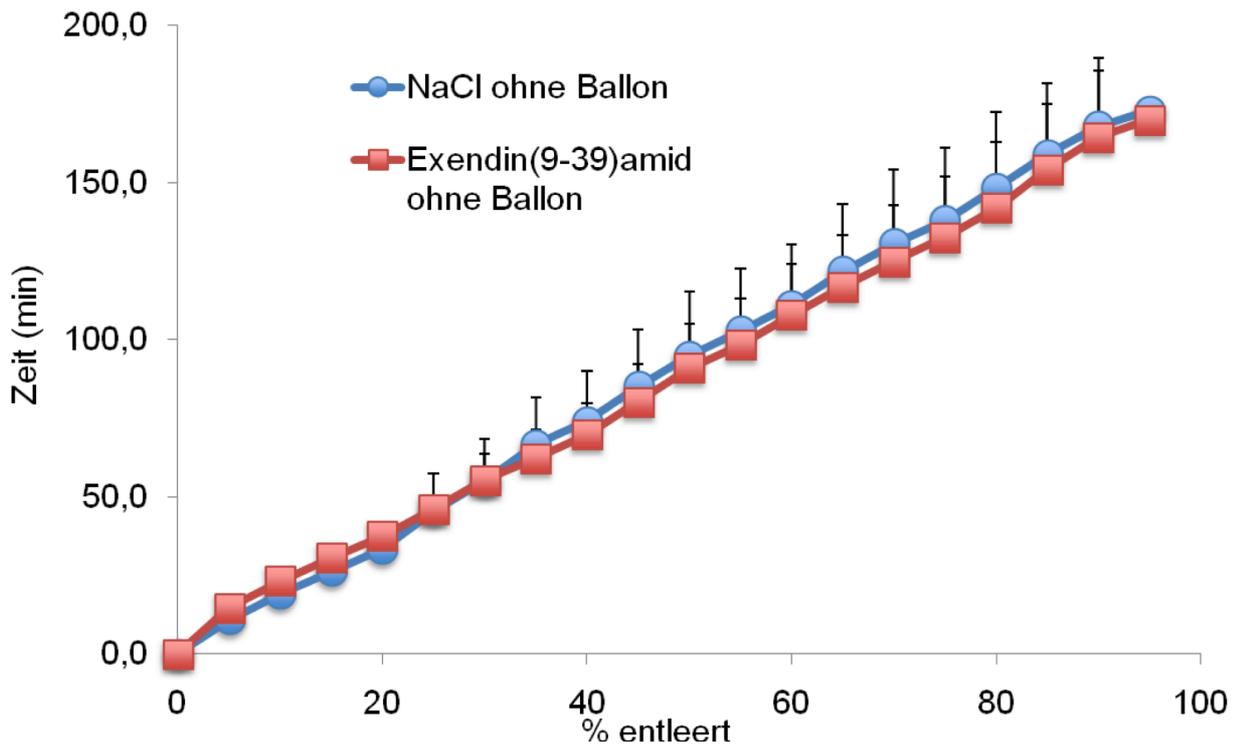


Abbildung 17: Szintigraphische Magenentleerung ohne Ballon.

Es besteht kein wesentlicher Unterschied in der Magenentleerungsgeschwindigkeit zwischen Placebo und Ex(9-39)-Versuchen. N=6, Mittelwerte \pm SEM.

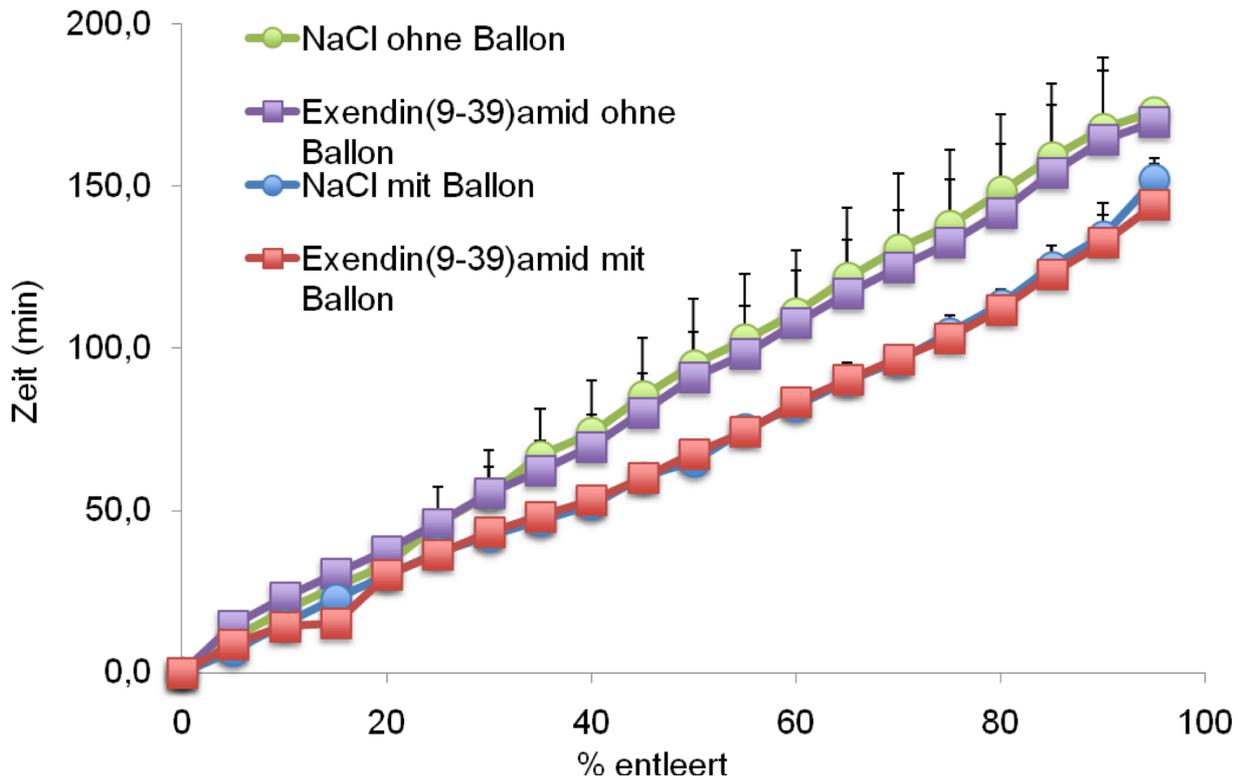


Abbildung 18: Szintigraphische Magenentleerung mit und ohne Ballon.

Es besteht kein wesentlicher Unterschied in der Magenentleerungsgeschwindigkeit zwischen Placebo und Ex(9-39)-Versuchen unabhängig davon, ob ein Barostat-Ballon verwendet wurde (N=6) oder nicht (N=6). Bei Versuchen mit Ballon zeigte sich eine beschleunigte Magenentleerung im Vergleich zu den Versuchen ohne Ballon. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Mittelwerte \pm SEM.

Tabelle 2: Effekte von Ex(9-39) auf Magenentleerung und gastroduodenale Motilität nach einer oralen Mahlzeit.

	<i>mit Barostat-Ballon</i>		<i>ohne Barostat-Ballon</i>	
	<i>Saline</i>	<i>Ex(9-39)</i>	<i>Saline</i>	<i>Ex(9-39)</i>
Magenentleerung				
'Lag period' (10% entleert) (min)	15.0 (2.2)	14.3 (1.8)	19.2 (4.9)	23.3 (2.0)
'Half emptying time' (min)	65.0 (3.5)	67.7 (3.5)	95.0 (20.0)	91.2 (13.8)
Entleerung des proximalen Magens				
'Half emptying time' (min)	64.2 (4.1)	71.2 (4.7)	92.7 (20.8)	87.7 (15.3)
Proximale Magenmotilität				
'Volume accommodation', während der ersten 30 min (ml/ 10 min)	153.9 (67.4)	87.6 (47.3)		
'Volume waves', postprandiale Abnahme während der ersten 30 min (#/ 10 minutes)	-7.2 (1.2)	-7.7 (1.2)		
Motilität im Antrum				
'Pressure waves', während der ersten 60 min (#/ 10 minutes)	3.0 (1.0)	4.0 (2.0)		
Motilität im Duodenum				
'Pressure waves', während der ersten 60 min (#/ 10 minutes)	19.0 (5.0)	32.0 (7.0) *		
Magenperistaltik (szintigraphisch, n=12)				
Kontraktionshäufigkeit in den ersten 60 min (pro min)	2.90 (0.03)	2.95 (0.04)	2.90 (0.04)	2.91 (0.03)
Kontraktionsamplitude in den ersten 60 min (%)	8.4 (2.2)	7.7 (1.8)	9.6 (0.7)	12.0 (0.6)

Tabelle 2: Mittelwerte (SEM). N=6 mit und N=6 ohne Barostat-Ballon. Nach der ANOVA Analyse haben Probanden mit Magenballon tendenziell eine kürzere 'lag period' (P=0,099) und 'half emptying time' (P=0,148). Ex(9-39) veränderte weder die 'lag period' (P=0,452) noch die 'half emptying time' (P=0,903). Blockieren des GLP-1 Rezeptors beeinflusste die Magenmotilität nicht, steigerte jedoch die Motilität im Duodenum (*P=0,048 nach paired t-test).

4.2.2 Antroduodenale Motilität

Die Mahlzeit führte zu einer signifikanten Reduktion der frühpostprandialen Kontraktibilität des Antrums und des Duodenums. Lediglich die Frequenz der Kontraktionen im Duodenum wurde durch Exendin(9-39)amid während der ersten 60 Minuten postprandial signifikant ($P=0,048$) erhöht. Exendin(9-39)amid hatte keinen Einfluss auf die postprandiale antrale Motilität (siehe Abbildungen 19, 20 und Tabelle 2).

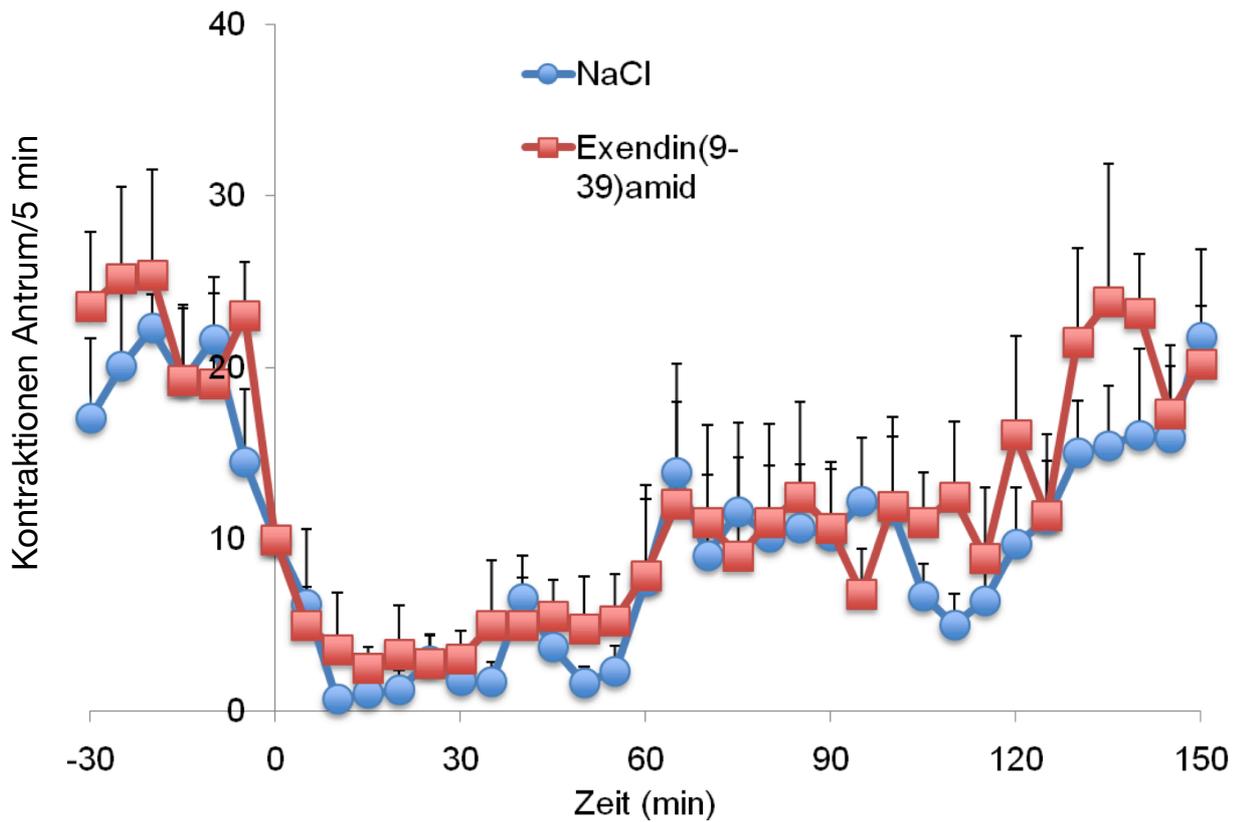


Abbildung 19: Kontraktionen im Antrum im zeitlichen Verlauf.

Kein wesentlicher Unterschied in der Frequenz der Kontraktionen im Antrum während Placebo- im Vergleich zu Ex(9-39)-Versuchen. N=6, Mittelwerte \pm SEM.

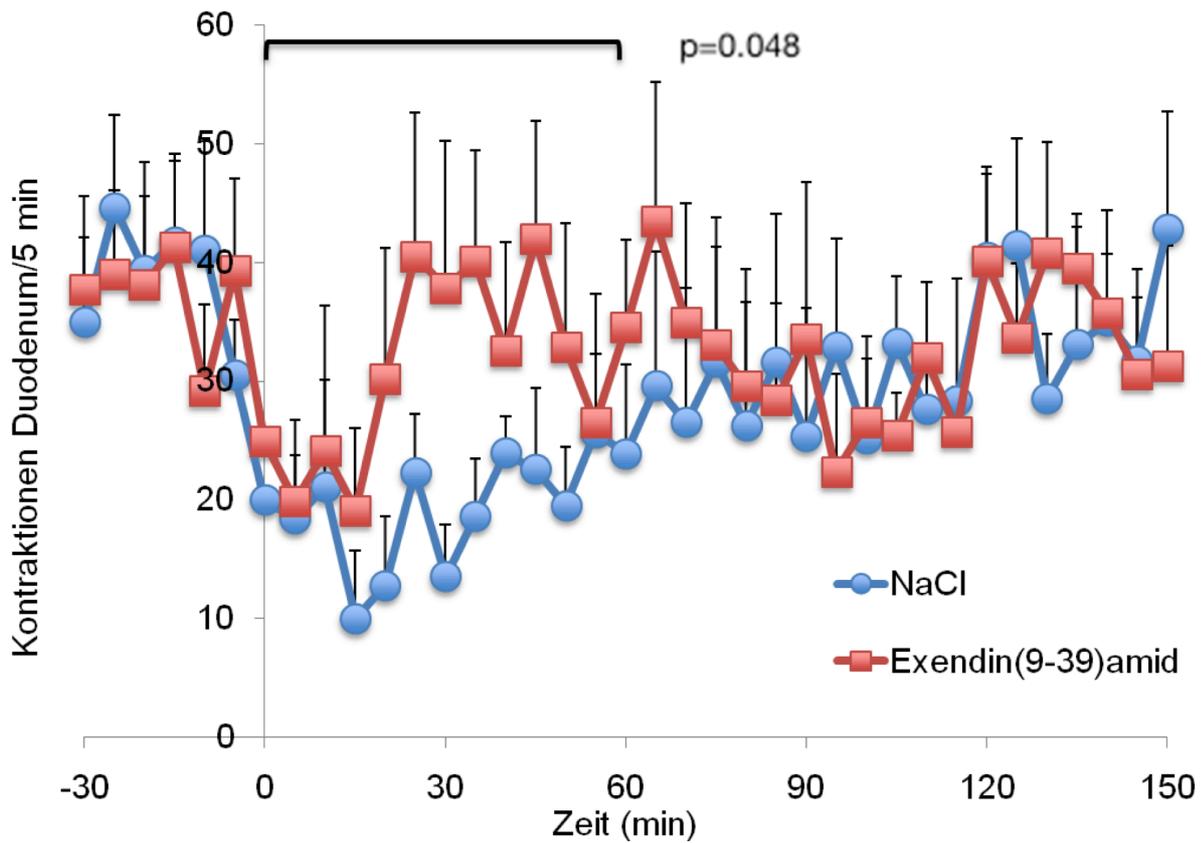


Abbildung 20: Kontraktionen im Duodenum im zeitlichen Verlauf.

Während der ersten 60 postprandialen Minuten zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Frequenz der Kontraktionen im Duodenum während des Ex(9-39)-Versuchs ($P=0,048$) im Vergleich zum Placeboversuch, jedoch ohne weiterführenden Effekt. $N=6$, Mittelwerte \pm SEM.

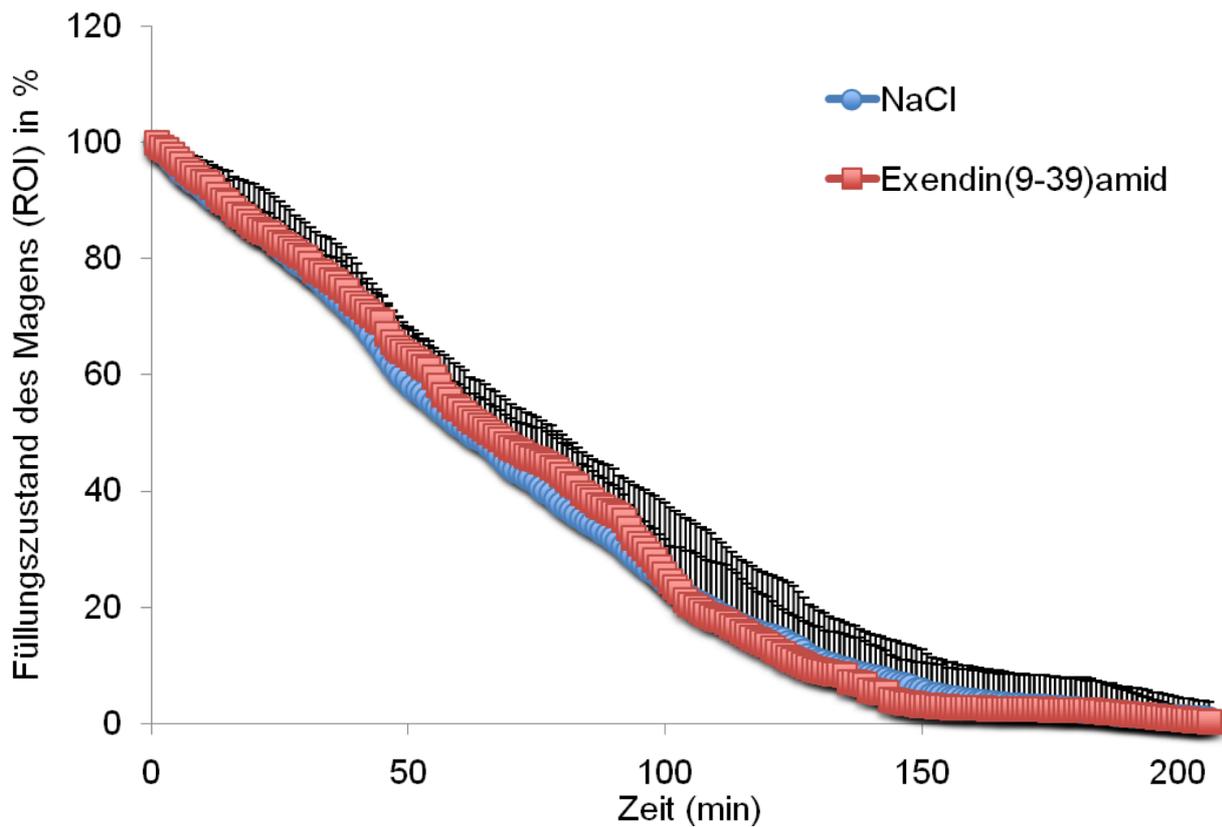


Abbildung 21: Magenentleerung im zeitlichen Verlauf (Szintigraphie).

In der szintigraphischen Messung ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Magenentleerungsgeschwindigkeit zwischen den Placeboversuchen und den Versuchen mit Ex(9-39). N=12, davon 6 mit und 6 ohne gastralen Barostat-Ballon, Mittelwerte \pm SEM.

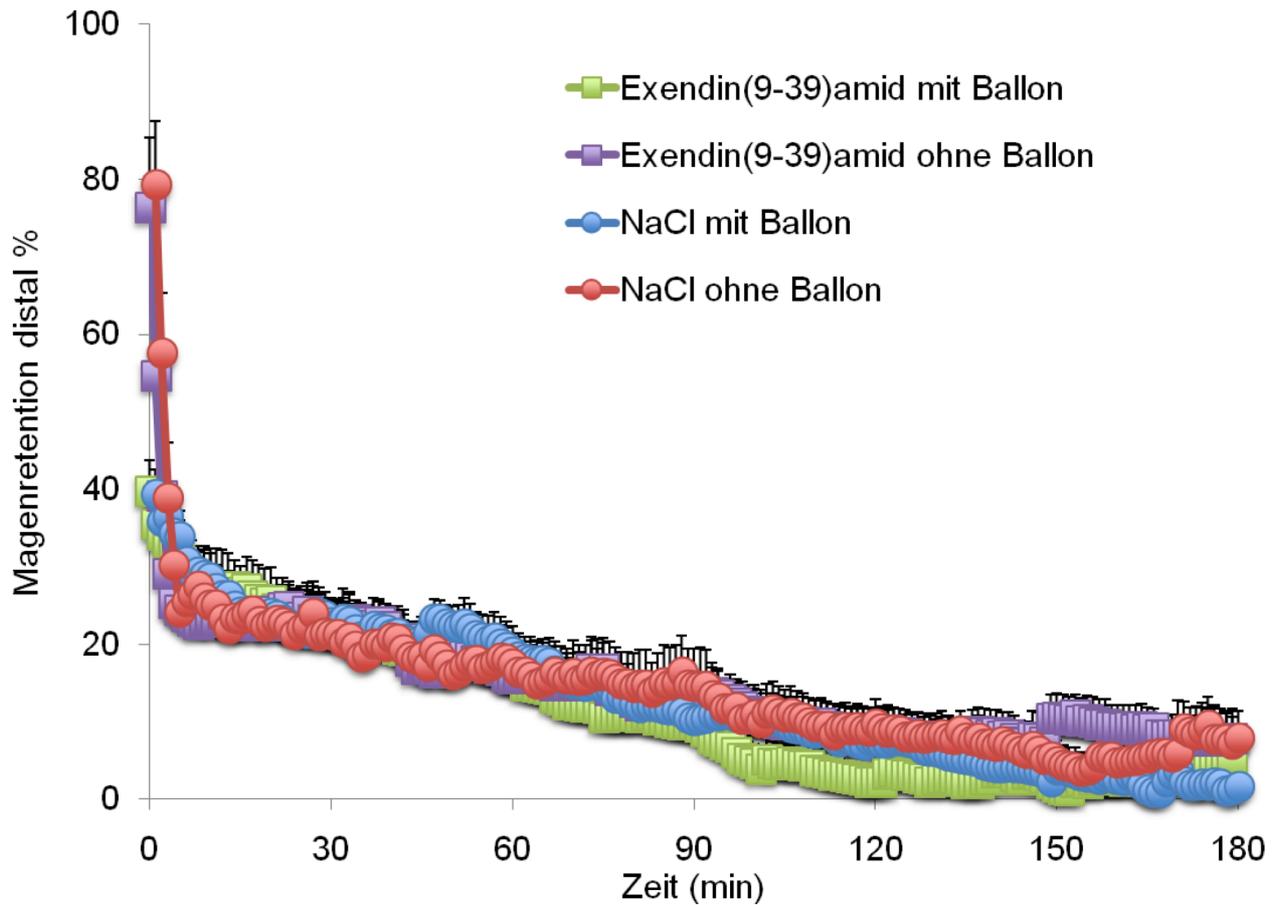


Abbildung 22: Szintigraphische Retention distaler Magen mit und ohne Ballon.

Die Magenretention im distalen Magen ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchen mit Placebo und Ex(9-39). Auch der Barostat-Ballon beeinflusste die Retention nicht wesentlich. N=12, davon 6 mit und 6 ohne gastralen Barostat-Ballon, Mittelwerte \pm SEM.

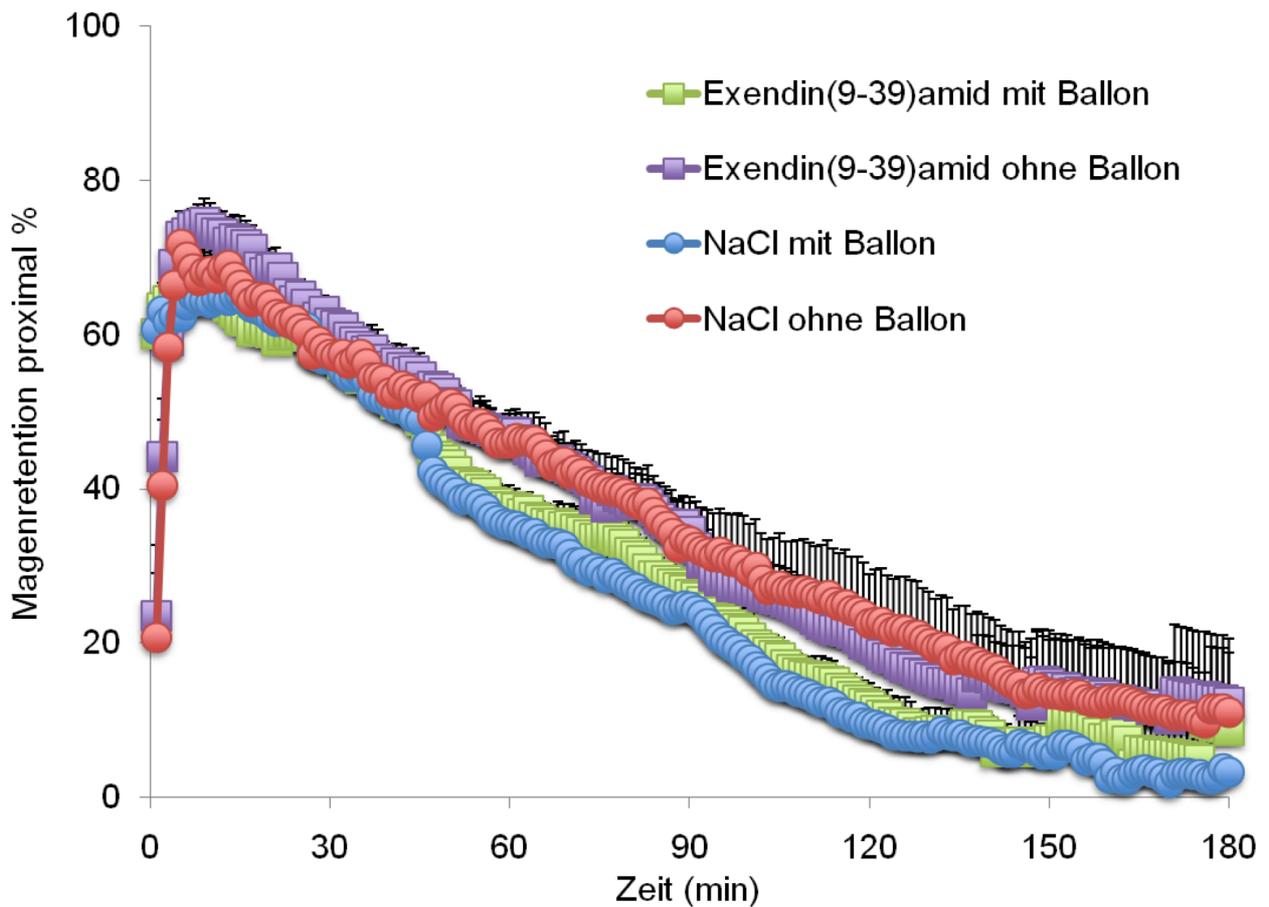


Abbildung 23: Szintigraphische Retention proximaler Magen mit und ohne Ballon. Die Magenretention im proximalen Magen ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchen mit Placebo und Ex(9-39). Auch der Barostat-Ballon beeinflusste die Retention nicht wesentlich. N=12, davon 6 mit und 6 ohne gastralen Barostat-Ballon, Mittelwerte \pm SEM.

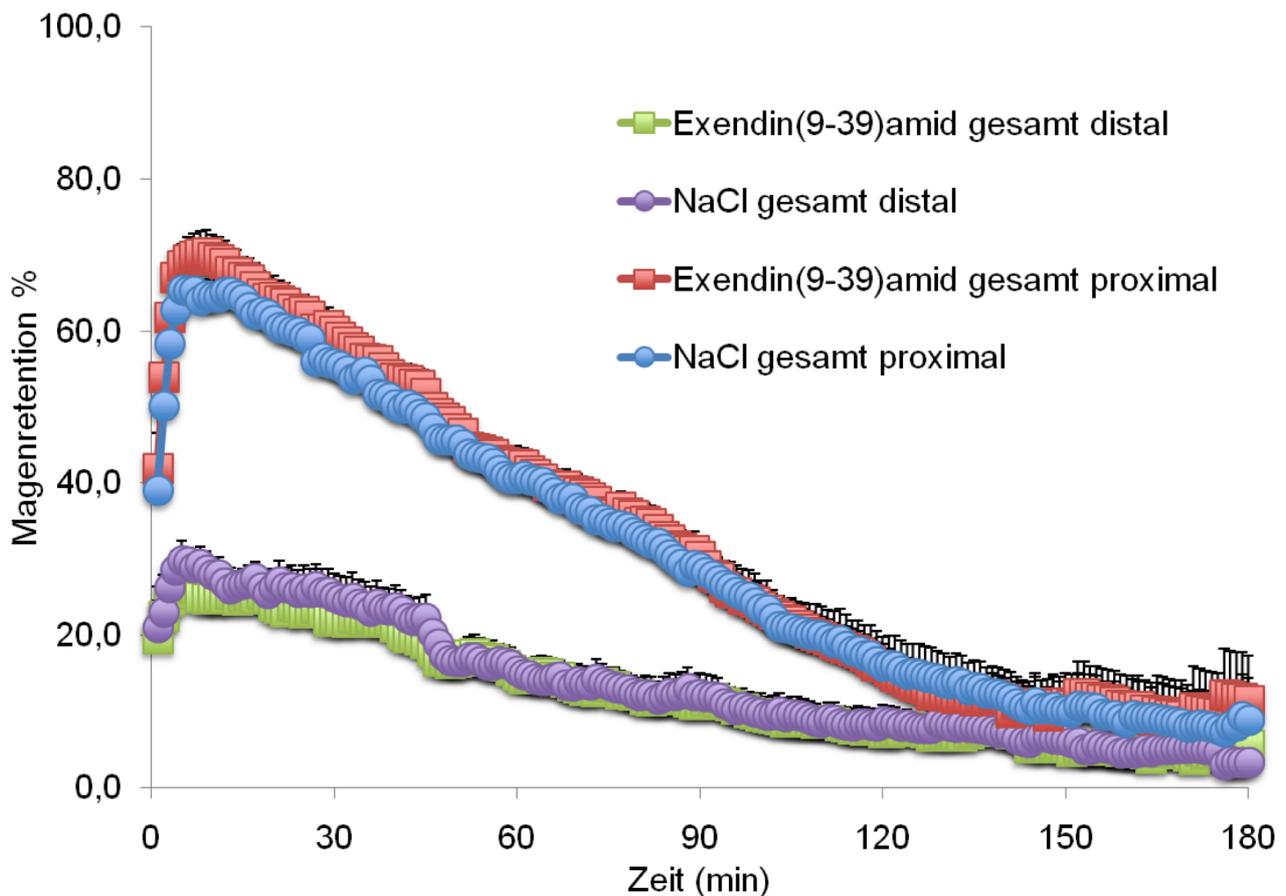


Abbildung 24: Szintigraphische Magenretention im proximalen und distalen Magen.

Bezüglich der Magenretention (Mittelwerte der Messungen mit und ohne Ballon) ergab sich keine signifikanter Unterschied zwischen den Versuchen mit Placebo und Ex(9-39). N=12 davon 6 mit und 6 ohne gastralen Barostat-Ballon, Mittelwerte \pm SEM.

5 DISKUSSION

DPP-4 Antagonisten und Medikamente, die die Wirkung von GLP-1 nachahmen werden derzeit vielfach in der Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 eingesetzt. Sie wirken entweder durch im Vergleich zum physiologischen Vorkommen deutlich erhöhte, exogen zugeführte Plasmaspiegel bzw. durch Erhöhung des endogen freigesetzten Peptids.

Ziel dieser Studie war die physiologische Rolle des endogenen GLP-1 weiter zu erforschen. Mit der Hilfe des GLP-1 Rezeptorantagonisten Exendin(9-39)amid wollten wir die Effekte von GLP-1 auf die Funktion der pankreatischen Inselzellen, sowie auf die Magenentleerung bei gesunden Probanden nach einer oralen Mahlzeit untersuchen. Das Hauptanliegen dieser Studie war herauszufinden, welche Eigenschaft von GLP-1 die Blutzucker-Homöostase beim gesunden Menschen besonders beeinflusst.

In früheren Studien konnte bereits gezeigt werden, dass exogen zugeführtes GLP-1 gastrointestinale Funktionen wie Säuresekretion, Motilität oder Entleerung stark hemmt (Wettergren et al, 1993; Willms et al, 1991; Willms et al, 1996; Wishart et al, 1998). Diese Effekte verstärken die Annahme, dass GLP-1 ein Mediator der ‚Ileal brake‘ ist (Wen et al, 1995; Keller et al, 1997; Layer et al, 1990). Hierbei verlangsamt GLP-1 die Nährstoffaufnahme in den Körperkreislauf, was wiederum den Blutzucker-Stoffwechsel beeinflusst. In früheren Studien wurde nachgewiesen, dass bereits bei beinahe in physiologischer Menge zugeführtem exogenem GLP-1 die Magenentleerung sowohl beim gesunden, als auch an Diabetes Typ 1 und 2 erkrankten Probanden signifikant verlangsamt ist (Wishart et al, 1998; Willms et al, 1996; Dupre et al, 1995; Meier et al, 2003; Nauck et al, 1997).

Kürzlich verglichen wir in einer anderen Studie den Inkretin-Effekt beim Gesunden, indem wir die Insulin-Ausschüttung während intraduodener und isoglykämischer Glukoseinfusion mit und ohne Exendin(9-39)amid gemessen haben. Dabei konnte gezeigt werden, dass nach intestinaler Glukoseaufnahme durch Exendin(9-39)amid nicht nur die Betazell-Sekretion verringert und die

Glukagon-Freisetzung gesteigert wurden, sondern zudem die antrale Motilität abgeschwächt und der Pyloruston erhöht wurden, was beides Mechanismen zur Verzögerung der Magenentleerung sind (Schirra et al, 2006). Derzeit gibt es nach unserem Wissen keine Studie am Menschen, die den direkten Effekt von Exendin(9-39)amid auf die Magenentleerung nach semisolider Mahlzeit szintigraphisch gemessen hat.

In einer kürzlich durchgeführten Studie, die die Rolle von endogenem GLP-1 auf Inselzellfunktion und Magenentleerung – unabhängig vom Blutzucker – untersuchen sollte, wurde eine konstante Glukoseinfusion vor und während einer flüssigen Glukoseaufnahme (1200 kJ) mit und ohne Exendin(9-39)amid benutzt. Es stellte sich heraus, dass sich der Plasmaspiegel von D-xylose mit Exendin(9-39)amid nicht veränderte. D-xylose ist ein Marker für gastrointestinalen Transit und kann somit als indirekter Nachweis für die Magenentleerung gewertet werden. Die Magenentleerung selbst wurde nicht direkt gemessen. Bislang wurde in keiner Studie D-xylose mit der Magenfunktionsszintigraphie verglichen, die immer noch als ‚Goldstandard‘ für die nicht-invasive, quantitative Bestimmung der Magenentleerung gilt (Fisher et al, 1986; Fraser et al, 1993b; Hausmann et al, 1995; McCallum, 1990).

Entgegen unseren Erwartungen konnte in unserer Studie jedoch auch kein signifikanter Effekt von Exendin(9-39)amid auf die Magenentleerung nach einer semisoliden Mahlzeit nachgewiesen werden. Zusätzlich zur Magenentleerung zeichneten wir die gastroduodenale Motilität auf. Auch hier zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied der proximalen und antralen Motilität, mit oder ohne Exendin(9-39)amid. Eine mögliche Erklärung für den fehlenden Effekt von Exendin(9-39)amid ist der erhöhte Blutglukosespiegel, der unter Exendin(9-39)amid erreicht wird. Es ist bekannt, dass postprandial erhöhte Blutzuckerspiegel beim Gesunden mit einer verzögerten Magenentleerung assoziiert sind. In diesem Zusammenhang könnte der beschleunigende Effekt von Exendin(9-39)amid durch die durch den erhöhten Blutzuckerspiegel bewirkte Verzögerung aufgehoben werden. Eine andere Erklärung könnte die Magendehnung bzw. -anpassung nach Aufnahme einer oralen Mahlzeit darstellen. Demnach könnten auch andere

regulatorische Mechanismen durch beispielsweise Dehnungsrezeptoren zur Kontrolle der Magenentleerung beitragen und somit den beschleunigenden Effekt von Exendin(9-39)amid abschwächen. Um einen Einfluß der die Motilität aufzeichnenden Geräte im Magen auf die Magenentleerung auszuschließen, führten wir die Versuche bei 6 Probanden ohne Magensonden durch. In diesem Zusammenhang konnte nachgewiesen werden, dass der Barostat-Ballon die Magenentleerung beschleunigt und somit auch einen schnelleren und stärkeren Anstieg der Plasmaglukose und entsprechende Veränderungen der übrigen gemessenen Hormone bewirkte. Die beschleunigte Magenentleerung ist am ehesten durch eine raschere Nahrungsumverteilung in den distalen Magen zu erklären. Auch mit Ballon hatte Exendin(9-39)amid jedoch keinen Einfluß auf die Magenentleerung.

Die in dieser Studie benutzte Exendin(9-39)amid-Dosis blockiert die Wirkung von GLP-1 nahezu vollständig, wie wir in einer früheren Studie nachweisen konnten. Somit ist ausgeschlossen, dass die Dosierung zu gering war. Es ist anzunehmen, dass der Magenentleerung verzögernde Effekt von endogenem GLP-1 am ehesten durch einen über dem physiologischen Plasmalevel liegenden Spiegel hervorgerufen wird und somit keine wesentliche Rolle im Blutzuckerhaushalt beim Gesunden spielt.

Der meist diskutierte und anerkannte blutzuckersenkende Mechanismus von GLP-1 ist sein insulinotroper Effekt (Kolligs et al, 1995; Kreymann et al, 1987; Nauck et al, 1993a; Nauck et al, 1993b; Nauck et al, 1996). Die Blockierung von GLP-1 durch Exendin(9-39)amid oder Immunoneutralisation bewirkt einen Anstieg von sowohl Nüchtern- als auch postprandialem Blutzucker und reduziert die durch Glukose angetriebene Insulinausschüttung sowohl beim Menschen als auch beim Tier (Baggio et al, 2000; D'Alessio et al, 1996; Edwards et al, 1999; Wang et al, 1995). Der Inkretin-Effekt wurde um 50-70% gesenkt (Kolligs et al, 1995; Flamez et al, 1999; Schirra et al, 1998a). In vorliegender Studie stieg das Plasmainsulin jedoch durch Blockieren des GPL-1 Rezeptors während der ersten 60 Minuten postprandial an. Dieses Ergebnis korrelierte mit Ergebnissen anderer Studien, die keine Blutzuckeränderungen gemessen haben. Eine Erklärung könnte sein, dass

die Insulinausschüttung durch die höheren postprandialen Blutzuckerwerte stärker als durch den hemmenden Effekt von Exendin(9-39)amid beeinflusst wird. Der insulinotrope Effekt von GLP-1 kann durch Einsetzen von konstanter Glukoseinfusion leicht nachgewiesen werden (Salehi et al, 2008).

Im Rahmen unserer Versuche zeigte sich, dass lediglich die Hemmung der Glukagonfreisetzung signifikant mit der durch GLP-1 vermittelten Blutzucker-Homöostase assoziiert ist. Frühere in vitro Experimente zeigten eine indirekte parakrine Hemmung von Glukagon durch Somatostatin, wobei die Somatostatinausschüttung in isolierten Inselzellen im Pankreas beim Menschen und der Ratte durch GLP-1 stimuliert wurde. Auch in der vorliegenden Studie konnten wir nachweisen, dass der Anstieg von Blutzucker im Plasma unter Exendin(9-39)amid während der Nüchternphase mit einem Glukagonanstieg einherging, während der Insulinspiegel im Plasma unverändert blieb (Schirra et al, 2006). Dieses Ergebnis bekräftigt die Hypothese, dass die Alphazelle des Pankreas unter konstanter Hemmung durch GLP-1 im Menschen steht. Während der oralen Mahlzeit konnte der durch GLP-1 vermittelte, hemmende Effekt auf die Glukagonausschüttung durch Infusion von Exendin(9-39)amid völlig unterdrückt werden. Dies zeigt, dass endogenes GLP-1 hauptsächlich für die postprandiale Hemmung der Glukagonausschüttung verantwortlich ist.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Vor fast 30 Jahren wurde GLP-1 erstmals als eine dem Glukagon ähnliche Substanz beschrieben (Lund et al, 1982). Mittlerweile konnte in einigen Studien gezeigt werden, dass exogen verabreichtes GLP-1 multiple Einflüsse auf die Blutzuckerhomöostase hat. So senkt es postprandial den Blutzucker, indem es die Insulinausschüttung stimuliert, die Glukagonausschüttung hemmt und die Magenentleerung verzögert. Aufgrund dieser Wirkmechanismen zeigt sich ein stetig wachsendes medizinisches und wirtschaftliches Interesse an GLP-1 als potentiellem Wirkstoff in der Therapie des Diabetes mellitus. Seit 2007 werden DPP-4-Antagonisten und GLP-1-Rezeptoragonisten in der Therapie des Diabetes mellitus eingesetzt. Sie wirken pharmakologisch entweder durch exogen zugeführte GLP-1-Analoga oder durch Stabilisierung des postprandial endogen freigesetzten Peptids.

Die Wirkung von endogenem GLP-1 ist bislang weitestgehend unbekannt. Grundsätzliche Partialwirkungen des endogenen GLP-1 mit Auswirkung auf die postprandiale Glukosehomöostase wie die Hemmung der gastroduodenalen Motilität, die Stimulation von Insulin und die Hemmung von Glukagon, wurden bis zu diesem Zeitpunkt lediglich unter methodisch artefiziellen Studienbedingungen charakterisiert (intestinale Nährstoffperfusion, intravenöser Glukoseclamp). Unser Ziel war es, die Effekte von endogenem GLP-1 auf die Blutzuckerhomöostase unter den realen Bedingungen nach oraler Mahlzeiteinnahme zu untersuchen, um die Relevanz der genannten Partialeffekte für die postprandiale Glukosehomöostase zu charakterisieren. Zur Blockade des GLP-1-Rezeptors verwendeten wir den spezifischen GLP-1-Rezeptor-Antagonisten Exendin(9-39)amid in einer Dosis, der die Wirkung von GLP-1 quantitativ blockiert.

Bei 12 gesunden Probanden untersuchten wir die postprandiale Magenentleerung, die gastroduodenale Motilität sowie die Plasmahormonspiegel von GLP-1, Glukagon und Insulin sowie die Blutglukosekonzentrationen mit und ohne intravenösem Exendin(9-39)amid. Die orale Mahlzeit war ein semisolider

Schokodrink (412 kcal), den die Probanden nach einer Basalperiode von 60 Minuten zu sich nahmen. Simultan wurden die Magenentleerung und gastrale Peristaltik mit hochauflösender Szintigraphie gemessen, die mechanische tonische und phasische Motilität des proximalen Magens mit einem gastralen Barostat und die antroduodenale Motilität mittels Perfusionsmanometrie. Um auszuschließen, dass die Präsenz der sondenbasierten Motilitätsmessinstrumente im Magen die Ergebnisse beeinflusste wurden 6 Probanden mit und 6 Probanden ohne diese Sonden untersucht.

Exendin(9-39)amid steigerte die frühpostprandialen Blutglukoseexkursionen während der ersten 60 postprandialen Minuten signifikant. Exendin(9-39)amid hatte in dieser Phase keinen Einfluss auf die postprandialen Plasmainsulinkonzentrationen, und beeinflusste weder die szintigraphische Magenentleerung noch irgendeinen der zahlreichen Parameter der gastroduodenalen Motilität. Die postprandialen Plasmaglukagonkonzentrationen waren hingegen unter Exendin(9-39)amid signifikant erhöht. Eine multivariate Korrelationsanalyse belegte, dass allein die postprandiale Glukagonexkursion signifikanter Prädiktor der frühpostprandialen Blutglukosesteigerung war. Nebenbefundlich beschleunigte der gastrale Barostat-Ballon die Magenentleerung und steigerte die Blut/Plasmakonzentrationen von Glukose bzw. Insulin. Dies weist auf die Bedeutung der Magenentleerungsgeschwindigkeit für die frühpostprandiale Glukosehomöostase hin.

In dieser Studie konnte erstmals unter den Bedingungen einer physiologischen oralen Mahlzeit gezeigt werden, dass endogenes GLP-1 die frühpostprandiale Blutglukoseexkursion reduziert. Unter den vielfältigen akuten Effekten von endogenem GLP-1 war lediglich die postprandiale Hemmung der Glukagonausschüttung signifikant mit der reduzierten Blutglukosekonzentration assoziiert. GLP-1 hemmt Glukagon und somit die hepatische Glukoneogenese. Effekte von endogenem GLP-1 auf die Insulinausschüttung und die Magenentleerung sind unter den Bedingungen vorliegender Studie von untergeordneter Bedeutung.

Eine mögliche Erklärung für die erwarteten, aber nicht nachweisbaren Effekte

von Exendin(9-39)amid auf Insulin (Hemmung) und Magenentleerung (Beschleunigung) ist der erhöhte Blutzuckerspiegel unter GLP-1-Rezeptorblockade, der gering ausgeprägte Effekte maskieren kann. Hyperglykämie stimuliert einerseits die Insulinsekretion und hemmt andererseits die Magenentleerung. Die Konstanz der Insulinplasmaspiegel trotz Hyperglykämie unter Exendin(9-39)amid ist somit durchaus ein strenger Hinweis auf die insulinotrope Wirkung von endogenem GLP-1 auch nach oraler Mahlzeit. Die Magenentleerung unterliegt darüberhinaus zahlreichen anderen regulatorischen Mechanismen nach oraler Mahlzeit, z.B. vagale Reflexe durch gastrale Dehnungsrezeptoren. Insofern schließt der hier fehlende Nachweis der bislang bekannten Wirkungen von endogenem GLP-1 auf Insulinsekretion und gastroduodenale Motilität diese nicht aus, sie sind aber im Konzert der postprandialen Regulationsmechanismen redundant. Im Gegensatz zu den hier beschriebenen Effekten von endogenem GLP-1 sind insulinotrope und magenentleerungshemmende Effekte von GLP-1-Rezeptoragonisten oder DPP-4-Inhibitoren eindeutig als pharmakologisch einzustufen.

Zusammenfassend senkt nach oraler Mahlzeit freigesetztes endogenes GLP-1 die postprandiale Glykämie beim Gesunden. Die postprandiale Hemmung der Glukagonsekretion ist eine wesentliche Determinante dieser antidiabetischen Wirkung von GLP-1. Im Gegensatz dazu spielt endogenes GLP-1 keine wesentliche Rolle in der Regulation der Magenentleerung.

7 PUBLIKATION und FINANZIELLE UNTERSTÜTZUNG

Diese Studie wurde unterstützt durch einen Grant der Deutschen Forschungsgemeinschaft DFG SCHI 527/5-2

Publikation:

Nicolaus M, Brödl J, Linke R, Wörle HJ, Göke B, Schirra J. Endogenous GLP-1 Regulates Postprandial Glycemia in Humans: Relative Contributions of Insulin, Glucagon, and Gastric Emptying. J Clin Endocrinol Metab 2011; 1:229-236

8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AUC	area under the curve
CCK	Cholezystokinin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
DPP-4	Dipeptidyl peptidase-4
GIP	Gastric inhibitory peptide
GLP-1	Glucagon-like-peptide-1(7-36)amid
IPPW	isolated pyloric pressure waves
Lag-Periode	Zeit, in der keine feste Nahrung den Magen verlässt
LAO	links anterior-oblique
LEAP	low-energy all-purpose
MDP	minimal distension pressure
MMC	migrating motor complex
NO	Stickstoffmonoxid
pp	postprandial
PP	pankreatisches Polypeptid
ROI	region of interest
TMPD	transmucosal potential difference

9 LITERATURVERZEICHNIS

Abrahamsson, H. (1973). "Studies on the inhibitory nervous control of gastric motility." Acta Physiol Scand Suppl 390: 1-38.

Anvari, M., J. Dent, et al. (1995). "Mechanics of pulsatile transpyloric flow in the pig." J Physiol 488 (Pt 1): 193-202.

Anvari, M., C. A. Paterson, et al. (1998). "Role of nitric oxide mechanisms in control of pyloric motility and transpyloric flow of liquids in conscious dogs." Dig Dis Sci 43(3): 506-512.

Ayachi, S. E., F. Borie, et al. (2005). "Contraction induced by glicentin on smooth muscle cells from the human colon is abolished by exendin (9-39)." Neurogastroenterol Motil 17(2): 302-309.

Azpiroz, F. and J. R. Malagelada (1984). "Pressure activity patterns in the canine proximal stomach: response to distension." Am J Physiol 247(3 Pt 1): G265-272.

Azpiroz, F. and J. R. Malagelada (1985). "Physiological variations in canine gastric tone measured by an electronic barostat." Am J Physiol 248(2 Pt 1): G229-237.

- Azpiroz, F. and J. R. Malagelada (1987). "Gastric tone measured by an electronic barostat in health and postsurgical gastroparesis." Gastroenterology 92(4): 934-943.
- Baggio, L., T. J. Kieffer, et al. (2000). "Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, regulates fasting glycemia and nonenteral glucose clearance in mice." Endocrinology 141(10): 3703-3709.
- Bradette, M., P. Pare, et al. (1991). "Visceral perception in health and functional dyspepsia. Crossover study of gastric distension with placebo and domperidone." Dig Dis Sci 36(1): 52-58.
- Camilleri, M., M. L. Brown, et al. (1986). "Relationship between impaired gastric emptying and abnormal gastrointestinal motility." Gastroenterology 91(1): 94-99.
- Camilleri, M., J. R. Malagelada, et al. (1985). "Relation between antral motility and gastric emptying of solids and liquids in humans." Am J Physiol 249(5 Pt 1): G580-585.
- Code, C. F. and Schlegel J. (1973). The gastrointestinal housekeeper: motor correlates of the interdigestive myoelectric complex of the dog.

- Collins, P. J., M. Horowitz, et al. (1988). "Proximal, distal and total stomach emptying of a digestible solid meal in normal subjects." Br J Radiol 61(721): 12-18.
- Cryer, P. E. (1992). Glucose homeostasis and hypoglycemia. William Textbook of Endocrinology. W. JD and F. DW. Philadelphia, PA, Saunders.
- D'Alessio, D. A., R. Vogel, et al. (1996). "Elimination of the action of glucagon-like peptide 1 causes an impairment of glucose tolerance after nutrient ingestion by healthy baboons." J Clin Invest 97(1): 133-138.
- de Heer, J. and J. J. Holst (2007). "Sulfonylurea compounds uncouple the glucose dependence of the insulinotropic effect of glucagon-like peptide 1." Diabetes 56(2): 438-443.
- de Zwart, I. M., J. J. Haans, et al. (2007). "Gastric accommodation and motility are influenced by the barostat device: Assessment with magnetic resonance imaging." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 292(1): G208-214.
- Deacon, C. F. (2005). "What do we know about the secretion and degradation of incretin hormones?" Regul Pept 128(2): 117-124.
- Desai, K. M., W. C. Sessa, et al. (1991). "Involvement of nitric oxide in the reflex relaxation of the stomach to accommodate food or fluid." Nature 351(6326): 477-479.

- Dupre, J., M. T. Behme, et al. (1995). "Glucagon-like peptide I reduces postprandial glycemic excursions in IDDM." Diabetes 44(6): 626-630.
- Edwards, C. M., J. F. Todd, et al. (1999). "Glucagon-like peptide 1 has a physiological role in the control of postprandial glucose in humans: studies with the antagonist exendin 9-39." Diabetes 48(1): 86-93.
- Feinle, C., M. D'Amato, et al. (1996). "Cholecystinin-A receptors modulate gastric sensory and motor responses to gastric distension and duodenal lipid." Gastroenterology 110(5): 1379-1385.
- Fisher, R. S. and L. S. Malmud (1986). "Scintigraphic techniques for the study of gastrointestinal motor function." Adv Intern Med 31: 395-418.
- Flamez, D., P. Gilon, et al. (1999). "Altered cAMP and Ca²⁺ signaling in mouse pancreatic islets with glucagon-like peptide-1 receptor null phenotype." Diabetes 48(10): 1979-1986.
- Fraser, R., M. Horowitz, et al. (1993a). "Dual effects of cisapride on gastric emptying and antropyloroduodenal motility." Am J Physiol 264(2 Pt 1): G195-201.
- Fraser, R., M. Fried, et al. (1993b). "[Assessment of gastric emptying]." Schweiz Med Wochenschr Suppl 54: 15-21.

- Göke, R., H. C. Fehmann, et al. (1993). "Exendin-4 is a high potency agonist and truncated exendin-(9-39)-amide an antagonist at the glucagon-like peptide 1-(7-36)-amide receptor of insulin-secreting beta-cells." J Biol Chem 268(26): 19650-19655.
- Gutniak, M., C. Orskov, et al. (1992). "Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7-36)amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus." N Engl J Med 326(20): 1316-1322.
- Hansotia, T. and D. J. Drucker (2005). "GIP and GLP-1 as incretin hormones: lessons from single and double incretin receptor knockout mice." Regul Pept 128(2): 125-134.
- Hausmann, T., W. Müller-Schauenburg, et al. (1995). "Scintigraphic test of emptying and motility: preliminary results in patients with chronic gastritis." European Radiology 5(3): 248-254.
- Heading, R. C., P. Tothill, et al. (1976). "Gastric emptying rate measurement in man. A double isotope scanning technique for simultaneous study of liquid and solid components of a meal." Gastroenterology 71(1): 45-50.
- Heading, R. C. (1994). "Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying." Digestive Diseases and Sciences 39(12 Suppl): 32S-34S.

- Hedde, R., D. Fone, et al. (1988a). "Stimulation of pyloric motility by intraduodenal dextrose in normal subjects." Gut 29(10): 1349-1357.
- Hedde, R., J. Dent, et al. (1988b). "Topography and measurement of pyloric pressure waves and tone in humans." Am J Physiol 255(4 Pt 1): G490-497.
- Hellstrom, P. M. and E. Naslund (2001). "Interactions between gastric emptying and satiety, with special reference to glucagon-like peptide-1." Physiol Behav 74(4-5): 735-741.
- Horowitz, M., J. Dent, et al. (1994). "Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying." Dig Dis Sci 39(12 Suppl): 7S-13S.
- Houghton, L. A., N. W. Read, et al. (1988a). "Motor activity of the gastric antrum, pylorus, and duodenum under fasted conditions and after a liquid meal." Gastroenterology 94(6): 1276-1284.
- Houghton, L. A., N. W. Read, et al. (1988b). "Relationship of the motor activity of the antrum, pylorus, and duodenum to gastric emptying of a solid-liquid mixed meal." Gastroenterology 94(6): 1285-1291.
- Imeryuz, N., B. C. Yegen, et al. (1997). "Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms." Am J Physiol 273(4 Pt 1): G920-927.

- Katschinski, M., J. Schirra, et al. (1996). "Intestinal phase of human antro-pyloro-duodenal motility: cholinergic and CCK-mediated regulation." Eur J Clin Invest 26(7): 574-583.
- Keller, J., M. Runzi, et al. (1997). "Duodenal and ileal nutrient deliveries regulate human intestinal motor and pancreatic responses to a meal." Am J Physiol 272(3 Pt 1): G632-637.
- Kellow, J. E., T. J. Borody, et al. (1986). "Human interdigestive motility: variations in patterns from esophagus to colon." Gastroenterology 91(2): 386-395.
- Kelly, K. A. (1980). "Gastric emptying of liquids and solids: roles of proximal and distal stomach." Am J Physiol 239(2): G71-76.
- Kelly, K.A. (1981). Motility of the Stomach and Fastroduodenal Junction. Physiology of the Gastrointestinal Tract. J. LR. New York, Ravens Press.
- Kleinhans, E. (1990). Prinzipien der Auswertung. Klinische Nuklearmedizin. B. U and H. G. Weinheim, Edition Medizin VCH Verlagsgesellschaft mbH. 2: 63-69.
- Layer, P., S. Peschel, et al. (1990). "Human pancreatic secretion and intestinal motility: effects of ileal nutrient perfusion." Am J Physiol 258(2 Pt 1): G196-201.

- Lim, G. E., G. J. Huang, et al. (2009). "Insulin regulates glucagon-like peptide-1 secretion from the enteroendocrine L cell." Endocrinology 150(2): 580-591.
- Linke, R., W. Muenzing, et al. (2000). "Evaluation of gastric motility by Fourier analysis of condensed images." Eur J Nucl Med 27(10): 1531-1537.
- Lund, P. K., R. H. Goodman, et al. (1982). "Pancreatic preproglucagon cDNA contains two glucagon-related coding sequences arranged in tandem." Proc Natl Acad Sci U S A 79(2): 345-349.
- Malagelada, J. R. (1990). "Where do we stand on gastric motility?" Scand J Gastroenterol Suppl 175: 42-51.
- Malagelada, J. R., F. Azpiroz, et al. (1993). Gastrointestinal motor function in health and disease. Gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management. S. a. Fordtran, Saunders Company. 1: 486-508.
- McCallum, R. W. (1990). Diagnosis of gastric motility disorders. Gastrointestinal motility disorders: diagnosis and treatment. M. RW and C. MC. Baltimore, Hong Kong, London, Sydney, Williams&Wilkins: 15-22.
- Meier, J. J., B. Gallwitz, et al. (2003). "Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes." J Clin Endocrinol Metab 88(6): 2719-2725.

- Meulemans, A. L., J. G. Eelen, et al. (1995). "NO mediates gastric relaxation after brief vagal stimulation in anesthetized dogs." Am J Physiol 269(2 Pt 1): G255-261.
- Meyer, J. H., H. Ohashi, et al. (1981). "Size of liver particles emptied from the human stomach." Gastroenterology 80(6): 1489-1496.
- Mojsov, S., G. C. Weir, et al. (1987). "Insulinotropin: glucagon-like peptide I (7-37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas." J Clin Invest 79(2): 616-619.
- Moragas, G., F. Azpiroz, et al. (1993). "Relations among intragastric pressure, postcibal perception, and gastric emptying." Am J Physiol 264(6 Pt 1): G1112-1117.
- Nathan, D. M., E. Schreiber, et al. (1992). "Insulinotropic action of glucagonlike peptide-I-(7-37) in diabetic and nondiabetic subjects." Diabetes Care 15(2): 270-276.
- Nauck, M. A., E. Bartels, et al. (1993a). "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(4): 912-917.

- Nauck, M. A., N. Kleine, et al. (1993b). "Normalization of fasting hyperglycaemia by exogenous glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients." Diabetologia 36(8): 741-744.
- Nauck, M. A., U. Niedereichholz, et al. (1997). "Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans." Am J Physiol 273(5 Pt 1): E981-988.
- Nauck, M. A., D. Wollschlager, et al. (1996). "Effects of subcutaneous glucagon-like peptide 1 (GLP-1 [7-36 amide]) in patients with NIDDM." Diabetologia 39(12): 1546-1553.
- Nicolaus, M. (2003). "Regulation der gastroduodenalen Motilität und Perzeption durch endogenes Stickstoffmonoxid (NO) beim Menschen: Wirkungen und cholinerge Interaktionen." Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität.
- Orihata, M. and S. K. Sarna (1996). "Nitric oxide mediates mechano- and chemoreceptor-activated intestinal feedback control of gastric emptying." Dig Dis Sci 41(7): 1303-1309.
- Quigley, E. M. (1996). "Gastric and small intestinal motility in health and disease." Gastroenterol Clin North Am 25(1): 113-145.

- Rai, A., G. Singh, et al. (1993). "Actions of Helodermatidae venom peptides and mammalian glucagon-like peptides on gastric chief cells." Am J Physiol 265(1 Pt 1): G118-125.
- Raufman, J. P., L. Singh, et al. (1992). "Truncated glucagon-like peptide-1 interacts with exendin receptors on dispersed acini from guinea pig pancreas. Identification of a mammalian analogue of the reptilian peptide exendin-4." J Biol Chem 267(30): 21432-21437.
- Richter, H. M. (1988). Stomach and Duodenum. An illustrated guide to gastrointestinal motility. K. D and G. S, Frome and London, John Wiley and Sons: 163-174.
- Ritzel, R., C. Orskov, et al. (1995). "Pharmacokinetic, insulinotropic, and glucagonostatic properties of GLP-1 [7-36 amide] after subcutaneous injection in healthy volunteers. Dose-response-relationships." Diabetologia 38(6): 720-725.
- Ruppin, H. (1990). "[Physiology of gastric motility]." Z Gastroenterol 28 Suppl 1: 3-5, discussion 17-18.
- Salehi, M., T. P. Vahl, et al. (2008). "Regulation of islet hormone release and gastric emptying by endogenous glucagon-like peptide 1 after glucose ingestion." J Clin Endocrinol Metab 93(12): 4909-4916.

- Schirra, J., Leicht P., et al. (1997a). "Insulinotropic activity of incretin hormones in men." Gastroenterology 112: A1186 (Abstract).
- Schirra, J., P. Kuwert, et al. (1997b). "Differential effects of subcutaneous GLP-1 on gastric emptying, antroduodenal motility, and pancreatic function in men." Proc Assoc Am Physicians 109(1): 84-97.
- Schirra, J., , Roggel, R., et al. (1998a). "Endogenous GLP-1(7-36)amide controls endocrine pancreatic secretion and antroduodenal motility in human." Gastroenterology 114: A1178 (Abstract).
- Schirra, J., K. Sturm, et al. (1998b). "Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in humans." J Clin Invest 101(7): 1421-1430.
- Schirra, J. and B. Goke (2005). "The physiological role of GLP-1 in human: incretin, ileal brake or more?" Regul Pept 128(2): 109-115.
- Schirra, J., P. Houck, et al. (2000). "Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on antro-pyloro-duodenal motility in the interdigestive state and with duodenal lipid perfusion in humans." Gut 46(5): 622-631.
- Schirra, J., M. Katschinski, et al. (1996). "Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans." J Clin Invest 97(1): 92-103.

- Schirra, J., M. Nicolaus, et al. (2006). "Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans." Gut 55(2): 243-251.
- Schirra, J., U. Wank, et al. (2002). "Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on motility and sensation of the proximal stomach in humans." Gut 50(3): 341-348.
- Schmidt, W. E., E. G. Siegel, et al. (1985). "Glucagon-like peptide-1 but not glucagon-like peptide-2 stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets." Diabetologia 28(9): 704-707.
- Stacher, G. and H. Bergmann (1992). "Scintigraphic quantitation of gastrointestinal motor activity and transport: oesophagus and stomach." Eur J Nucl Med 19(9): 815-823.
- Stanghellini, V., C. Tosetti, et al. (1996). "Risk indicators of delayed gastric emptying of solids in patients with functional dyspepsia." Gastroenterology 110(4): 1036-1042.
- Sun, W. M., S. Doran, et al. (1996). "Effects of glyceryl trinitrate on the pyloric motor response to intraduodenal triglyceride infusion in humans." Eur J Clin Invest 26(8): 657-664.

Struckmeier, C. A. (2003). "Wirkungen von endogenem GLP-1 auf die Motilität und Perzeption des proximalen Magen-Darm-Traktes unter besonderer Berücksichtigung der cholinergen Vermittlung seiner Wirkungen." Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität.

Szurszewski, J. H. (1969). "A migrating electric complex of canine small intestine." Am J Physiol 217(6): 1757-1763.

Tack, J. H. Piessevaux, et al. (1998). "Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia." Gastroenterology 115(6): 1346-1352.

Tang-Christensen, M., P. J. Larsen, et al. (1996). "Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats." Am J Physiol 271(4 Pt 2): R848-856.

Tatsch, K. (1994). Funktionsszintigraphie des Ösophagus in Mehrfachschlucktechnik: Ein neuer Ansatz für quantitative Beurteilung der Ösophaguspassage. Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität.

Thorens, B., A. Porret, et al. (1993). "Cloning and functional expression of the human islet GLP-1 receptor. Demonstration that exendin-4 is an agonist and exendin-(9-39) an antagonist of the receptor." Diabetes 42(11): 1678-1682.

Tougas, G., M. Anvari, et al. (1992). "Relation of pyloric motility to pyloric opening and closure in healthy subjects." Gut 33(4): 466-471.

- Troncon, L. E., D. G. Thompson, et al. (1995). "Relations between upper abdominal symptoms and gastric distension abnormalities in dysmotility like functional dyspepsia and after vagotomy." Gut 37(1): 17-22.
- Turton, M. D., D. O'Shea, et al. (1996). "A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding." Nature 379(6560): 69-72.
- Vantrappen, G., J. Janssens, et al. (1977). "The interdigestive motor complex of normal subjects and patients with bacterial overgrowth of the small intestine." J Clin Invest 59(6): 1158-1166.
- Wang, Z., R. M. Wang, et al. (1995). "Glucagon-like peptide-1 is a physiological incretin in rat." J Clin Invest 95(1): 417-421.
- Wen, J., S. F. Phillips, et al. (1995). "PYY and GLP-1 contribute to feedback inhibition from the canine ileum and colon." Am J Physiol 269(6 Pt 1): G945-952.
- Wettergren, A., B. Schjoldager, et al. (1993). "Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man." Dig Dis Sci 38(4): 665-673.

Willms, B., D. Lubke, et al. (1991). "[Delayed absorption of carbohydrates in the therapy of Type II diabetes: comparison between dietary (Muesli) and pharmacological (Alpha-glucosidase inhibition) modification]." Schweiz Med Wochenschr 121(38): 1379-1382.

Willms, B., J. Werner, et al. (1996). "Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal: effects of exogenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-(7-36) amide in type 2 (noninsulin-dependent) diabetic patients." J Clin Endocrinol Metab 81(1): 327-332.

Wishart, J. M., M. Horowitz, et al. (1998). "Relation between gastric emptying of glucose and plasma concentrations of glucagon-like peptide-1." Peptides 19(6): 1049-1053.