

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktorin: Prof. Dr. med. Julia Mayerle**

**Die Wirkung von Glukagon-like peptide-1 (GLP-1) und des
cholinergen Nervensystems auf die proximal-gastrale Motilität, die
Perzeption gastraler Dehnungsreize und die Sättigung: eine
prospektive, kontrollierte und randomisierte Studie bei Gesunden**

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

**vorgelegt von
Michael Lechner
aus
München**

2020

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

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jörg Schirra

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Klaus Tatsch

Prof. Dr. med. Christan Rust

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Mathias Nicolaus

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL

Tag der mündlichen Prüfung: 12.03.2020

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Michael Lechner,
erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem
Titel

„Die Wirkung von Glukagon-like peptide-1 (GLP-1) und des cholinergen
Nervensystems auf die proximal-gastrale Motilität, die Perzeption gastraler
Dehnungsreize und die Sättigung: eine prospektive, kontrollierte und
randomisierte Studie bei Gesunden“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel
bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd
übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter
Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher
oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines
akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 06.04.2020

Michael Lechner

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Jörg Schirra, der mich bei der Planung, Durchführung und Auswertung der Studie sowie Korrektur der Arbeit mit viel Geduld begleitete.

Frau Rita Schinkmann danke ich für die Unterstützung bei der praktischen Vorbereitung, Durchführung und Nachbereitung der Studie.

Herrn Dr. Mathias Nicolaus danke ich für die gute und freundschaftliche Zusammenarbeit sowie Ratschläge bei technischen Problemen.

Ich bedanke mich bei meinen Freunden und Eltern für sämtliche außerberufliche Unterstützung.

Zu guter Letzt danke ich all den bereitwilligen und ausdauernden Probanden, ohne deren Mitwirken diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Danksagung.....	5
Inhaltsverzeichnis	7
1 Einleitung	9
1.1 GLP-1(7-36)amid	9
1.1.1 Das Inkretinkonzept.....	9
1.1.2 Freisetzung von GLP-1 aus dem Intestinum.....	11
1.1.3 Wirkungen von GLP-1	13
1.2 Atropin.....	17
1.3 Pankreatisches Polypeptid (PP)	18
1.4 Insulin.....	19
1.5 Gastroduodenale Motilität.....	20
1.5.1 Interdigestive Motilität.....	21
1.5.2 Postprandiale Motilität	23
1.5.3 Die neuroendokrine Regulation der gastroduodenalen Motilität ...	26
1.6 Gastrale Perzeption	29
2 Ziele der Arbeit	31
3 Material und Methoden	33
3.1 Probanden	33
3.2 Ösophageale Sonde	33
3.3 Antro-pyloro-duodenale Sonde.....	36
3.4 Messung der antro-duodenalen transmukosalen Potentialdifferenz ...	38
3.5 Barostat.....	38
3.6 Experimentelles Design	40
3.6.1 Versuchsaufbau	40
3.6.2 Positionieren des Barostat-Ballons	45
3.6.3 Minimaler Dehnungsdruck (MDP)	46
3.6.4 Messung von Fundustonus und isobaren Distensionen	46
3.7 Analyse des Fundustonus und der gastralen Perzeption	51

3.7.1	Fundustonus.....	51
3.7.2	Proximal gastrale Perzeption	52
3.8	Messung von GLP-1, Insulin und Pankreatischem Polypeptid (PP) im Plasma	53
3.9	Herkunft von GLP-1 und Atropin.....	53
3.10	Statistik	54
4	Ergebnisse	56
4.1	Fundustonus	56
4.1.1	Interdigestiv	57
4.1.2	Duodenale Lipidperfusion.....	58
4.2	Gastrale Perzeption von Dehnungsreizen	60
4.2.1	Gastrale Sensitivität	60
4.2.2	Hunger und Sättigung	67
4.3	Hormone	72
4.3.1	GLP-1	72
4.3.2	Pankreatisches Polypeptid	75
4.3.3	Insulin	78
5	Diskussion.....	81
5.1	Wirkung von exogenem GLP-1 auf den Fundustonus.....	83
5.2	Wirkung von GLP-1 auf proximal gastrale Perzeption und Sättigung .	84
5.3	Freisetzung von GLP-1 und Insulin	89
5.4	Wirkung von exogenem GLP-1 auf die Sekretion von Pankreatischem Polypeptid (PP)	92
6	Zusammenfassung	95
7	Abkürzungsverzeichnis	99
8	Literaturverzeichnis.....	101

1 Einleitung

1.1 *GLP-1(7-36)amid*

1982 wurde die Gensequenz des Darmhormons GLP-1 zum ersten Mal aus der Präproglukagon-codierenden-cRNA des Anglerfisches geklont. Lund et al entdeckten hierbei die nahe Verwandtschaft zu Glukagon und den Peptiden GIP, VIP und Sekretin aus der Glukagon-Familie (Lund et al 82). Beim Menschen wird das Hormon mit einem Molekulargewicht von 53 kDa unter anderem in der Mukosa des Dün- und Dickdarmes durch L-Zellen, im endokrinen Pankreas durch α -Zellen und im Hirnstamm durch vereinzelte Neurone produziert. Dieses potente, glukoseabhängige, insulinotrope Hormon reduziert über verschiedene Mechanismen den Blutglukosespiegel beim Menschen: es stimuliert die Freisetzung von Insulin unter erhöhten Blutzuckerspiegeln und bremst gleichzeitig die von Glukagon. Ferner verzögert es die Magenentleerung durch Relaxation des Magenfundus und hemmt die antroduodenale Motilität mit konsekutiver Verminderung der postprandialen Glukosespitzen. Darüber hinaus beeinflusst es auch die gastrointestinale Sensorik wie Völlegefühl und Übelkeit sowie das zentralnervös regulierte Empfinden von Appetit und Sättigung. Somit könnte GLP-1 über seinen Einsatz in der Therapie des Diabetes mellitus hinaus ein potentieller neuer Wirkstoff zur Gewichtsreduktion bei adipösen Patienten sein.

1.1.1 Das Inkretinkonzept

Das Inkretinkonzept besagt, dass Hormone des Darms, die sogenannten Inkretine, den Glukosespiegel im Blut beeinflussen. Als Väter dieses Konzeptes gelten Bayliss und Starling, die bereits 1902 im Darmgewebe eine

Substanz entdeckten, die sie „Sekretin“ tauften (Bayliss and Starling 02) und welche den Kohlenhydratstoffwechsel beeinflusst. Um die Effekte dieses „Sekretins“ zu erklären, vermuteten sie, dass nach Nahrungsaufnahme vom Darm Signale ausgesendet werden würden, welche zu einer Stimulation der endokrinen Pankreas-Hormonproduktion führten. Auf dieser These stützend, injizierten Moore und Kollegen 1906 Patienten mit Diabetes mellitus Extrakte aus Darmgewebe und hofften auf eine Reduktion des Blutzuckerspiegels. Leider hatten sie keinen Erfolg (Moore 06). Etwa zwei Jahrzehnte später konnte die Stimulation der endokrinen Pankreassekretion im Tiermodell, am Hund, durch intravenöse Gabe eines nicht weiter verarbeiteten Sekretin-Extraktes von La Barre und seiner Arbeitsgruppe bestätigt werden. In weiteren wissenschaftlichen Arbeiten von ihm wurde in dem Sekretin-Extrakt neben der als „Inkretin“ bezeichneten Wirksubstanz, die zu einer Stimulation der endokrinen / internen Pankreassekretion führt, noch eine weitere, zweite vermutet und „Exkretin“ genannt, da sie auf das exokrine Pankreas wirken sollte (Zunz and La Barre 29; Still and La Barre 30; La Barre and Still 30; La Barre 32). Zu etwa derselben Zeit, 1935, extrahierte Heller aus Rinder- und Kaninchen-Dünndarmschleimhaut von ihm als „Duodenin“ definierte Substanzen, welche ebenfalls hohe Blutzuckerspiegel senkten (Heller 35).

Aufgrund des rasanten technischen Fortschrittes zum Ende der 1950er und Anfang der 1960er Jahre erlebte die Suche nach Inkretinhormonen eine Renaissance. Hierbei spielte insbesondere die Entwicklung der Radioimmunoassays, zum Beispiel zur exakten Messung der Insulinwerte im Blut (Yalow and Berson 60), eine wichtige Rolle. McIntyre und Holsworth entdeckten, dass nicht die gesamte Insulinantwort durch die alleinige Wirkung der Blutglukose auf das Pankreas erklärt werden kann (McIntyre et al 64) und Elrick, Stimmler und Kollegen zeigten, dass nach oraler Glukoseaufnahme die Insulinwerte im Blut auffallend höher sind als nach intravenöser Gabe von Glukose, bei gleichen Blutzuckerspiegeln (Elrick et al 64; Perley and Kipnis 67). Dieses Phänomen wurde „Inkretineffekt“ genannt und als Regelkreis eine

„entero-insulinäre Achse“ vermutet (Unger and Eisentraut 69). Die Quantifizierung des Inkretineffekts erfolgte jedoch erst in den 1980er Jahren: abhängig von der Glukosemenge wird nach oraler Glukoseaufnahme zwischen 25 und 60 % mehr Insulin ausgeschüttet (Nauck et al 86a;Nauck et al 86b;Tillil et al 88).

Das erste entdeckte Inkretinhormon war GIP (Gastric Inhibitory Polypeptide, oder auch Glucose-dependent Insulin-releasing Polypeptide genannt), welches in den K-Zellen der Duodenalschleimhaut produziert wird. Es besitzt sowohl in vitro als auch in vivo eine ausgeprägte Insulin-freisetzende Wirkung (Brown et al 69;Brown et al 70;Brown 71;Brown and Dryburgh 71). Anfang der 1980er Jahre zeigten Lautitsch, Moody und Kollegen, dass unter oraler Glukosebelastung die Neutralisation von GIP in vivo den Inkretineffekt nicht vollständig sondern nur partiell, zu 20 – 50 % vermindert (Lauritsen et al 80;Ebert and Creutzfeldt 82;Ebert et al 83). Folglich müssen noch weitere Hormone eine wichtige Rolle im Rahmen des Inkretineffekts spielen.

Auf der Suche nach neuen Inkretinhormonen war schließlich die Entdeckung von Glucagon-like Peptide 1(7-36)amid entscheidend (Schmidt et al 85;Mojsov et al 87). Das insulinotrope Hormon hat wesentlichen Einfluss auf den Inkretineffekt (Goke et al 88;Goke et al 91;Fehmann et al 92;Orskov 92). Humane Studien lassen vermuten, dass durch die zwei Peptidhormone GIP und GLP-1 beinahe der gesamte Inkretineffekt erklärbar ist (Nauck et al 93) und dass beide beim gesunden Menschen additiv interagieren (Nauck et al 93;Elahi et al 94;Schirra et al 97).

1.1.2 Freisetzung von GLP-1 aus dem Intestinum

Das Proglukagon-Gen kodiert die Sequenz von GLP-1 (Bell et al 83). Zunächst wird das biologisch kaum aktive Pro-GLP-1 aus 37 Aminosäuren

synthetisiert. Durch Abspaltung von sechs N-terminalen Aminosäuren entsteht biologisch aktives GLP-1(7-37), welches durch Amidierung des C-terminalen Restes zu GLP-1(7-36)amid umgewandelt werden kann. GLP-1(7-37) und GLP-1(7-36)amid besitzen die gleiche biologische Aktivität und Halbwertszeit (Bell et al 83;Orskov et al 93).

Verschiedene Arbeitsgruppen zeigten, dass nach Einnahme einer gemischten Mahlzeit aber auch nach oraler Aufnahme von lediglich Glukose, Fett oder Aminosäuren beim Menschen GLP-1 ins Blut freigesetzt wird (Katschinski et al 92;Elliott et al 93;Schirra et al 97;Nicolaus et al 11). Entscheidend hierfür ist eine Magenentleerungsgeschwindigkeit von mindestens 1.4 kcal/min. Wird diese unterschritten, findet keine messbare GLP-1-Freisetzung mehr statt (Schirra et al 96). Ca. 20 Minuten nach Nahrungsaufnahme wird rasch eine größere Menge GLP-1 ausgeschüttet und es kommt in dieser ersten Phase zu einem steilen Anstieg der GLP-1-Werte im Blut. Dies ist unabhängig von der aufgenommenen Nahrungsmenge. Darauf folgt in Phase 2 ein länger andauerndes Sekretionsplateau, welches im Gegensatz zu Phase 1 abhängig von der Menge zugeführter Glukose ist (Schirra et al 96).

Die GLP-1 produzierenden und sezernierenden L-Zellen haben eine pyramidenartige Konfiguration. An der zum Darmlumen gerichteten Spitze befinden sich Mikrovilli und an der breiten Basis zahlreiche mit GLP-1 angefüllte Granula (Larsson et al 75;Eissele et al 92). Diese Zellform ermöglicht, über Mikrovilli rezeptierte Änderungen des Darmmilieus, die Granula in die Blutbahn zu sezernieren. Jedoch bleibt aufgrund der Verteilung von L-Zellen im Darm - die höchste L-Zell-Dichte findet sich im Ileum und Colon und nur eine geringe Anzahl im proximalen Jejunum (Moody 80;Bryant et al 83;Sjolund et al 83;Eissele et al 92) - unklar wie vor allem die Phase 1 der GLP-1 Ausschüttung, der schnelle postprandiale, steile GLP-1 Anstieg im Blut, funktioniert. Als mögliche Erklärung wurde diskutiert, ob noch eine zusätzliche,

vom proximalen zum distalen Darmtrakt verlaufende, neuronale oder humorale Verbindung zwischen den L-Zellen besteht, die beim Menschen bisher nicht gefunden werden konnte.

1.1.3 Wirkungen von GLP-1

1.1.3.1 *GLP-1-Rezeptor*

Der GLP-1-Rezeptor, auch GLP-1-R abgekürzt, wird durch das GLP-1-Rezeptor-Gen codiert. Dieses sitzt auf Chromosom 6 an Position 6p21.2 und wird in absteigender Häufigkeit im Herz, Gehirn, Pankreas, Duodenum, Speicheldrüse, Magen, Schilddrüse und Lunge exprimiert. Auch findet GLP-1-R-Transkription in deutlich geringerer Häufigkeit unter anderem in der Niere, dem Hoden und den Lymphknoten statt.

Der GLP-1-Rezeptor ist ein G-Protein gekoppeltes Transmembranprotein (Thorens 92), bestehend aus 463 Aminosäuren und selektiv für GLP-1 (Stoffel et al 93). Die Aminosäuresequenz des Rezeptors ist bei Menschen und Ratten zu etwa 90 % identisch. Mittels Radioligand-Bindungsstudien an Ratten sind GLP-1-Rezeptoren im Pankreas an β - und δ -Zellen nachgewiesen (Heller and Aponte 95; Heller et al 97) und funktionell charakterisiert worden (Fehmann and Habener 91; Gros et al 93). Auch an einigen Glukagon-produzierenden α -Zellen sind GLP-1-Rezeptoren gefunden worden (Heller et al 97). Eine relativ neue Studie von Tornehave et al, die die Verteilung von GLP-1-Rezeptoren innerhalb der Langerhans-Inseln bei Ratten, Mäusen und Menschen mittels Fluoreszenzmikroskopie untersuchte, fand jedoch nur in β -Zellen GLP-1-Rezeptoren (Tornehave et al 08). Im Zentralnervensystem sind die GLP-1-Rezeptoren überwiegend im subfornischen Organ, im Thalamus und Hypothalamus, in der inferioren Olive, in der Area postrema und im Nucleus tractus solitarii verteilt (Uttenthal et al 92; Goke et al 95a; Goke et al 95b; Blazquez et al 98). Trotz beobachteter Effekte von GLP-1 auf Leber-

und Fettgewebe sowie der Skelettmuskulatur und seiner ausgeprägten blutzuckersenkenden Wirkung ist in diesen Organen bei Menschen und Nagetieren keine Rezeptor-mRNA gefunden worden (Wei and Mojsov 95; Bullock et al 96), jedoch zumindest in Muskel- und Fettgewebe bei Hunden (Sandhu et al 99). Eine Erklärung für diese Beobachtungen wäre die Existenz eines bisher noch nicht entdeckten GLP-1-Rezeptors. Die Expression des GLP-1-Rezeptors wird im Pankreas negativ durch Glukose und Dexamethason reguliert, wobei der Proteinkinase A-Signalweg keinen signifikanten Einfluss zu haben scheint (Abrahamsen and Nishimura 95).

Glukose und GLP-1 lösen an β -Zellen des Pankreas synergistische Signaltransduktionsmechanismen aus (Fehmann et al 95). GLP-1 aktiviert durch Bindung an den GLP-1-Rezeptor und nach Internalisierung in das Zellinnere (Goke et al 89) die membrangebundene Adenylatcyclase. Das hierdurch gebildete cAMP führt im weiteren Schritt zu einer Aktivierung der intrazellulären Proteinkinase A (PKA), die dann am Energiestoffwechsel beteiligte Enzyme im Zytosol interkonvertiert und im Zellkern die Transkription unter anderem von Präproinsulin stimuliert (Fehmann and Habener 92). Ferner führt die Aktivierung des GLP-1-Rezeptors zu einer Depolarisation der Zellmembran mit Öffnung spannungsabhängiger Ca^{2+} Kanäle und, unter erhöhten Glukosespiegeln (Cullinan et al 94), zu einem Anstieg zytosolischen Ca^{2+} mit Stimulation der Insulinfreisetzung aus intrazellulären Vesikeln. Die Mechanismen der GLP-1-induzierten Membrandepolarisation werden kontrovers diskutiert. Eine mögliche Erklärung ist, dass ATP-abhängige K^+ -Kanäle durch Proteinkinase A induzierte Phosphorylierung gehemmt werden (Holz et al 93). Die Hemmung solcher K^+ -Kanäle mit nachfolgender Depolarisation durch einen Anstieg des ATP/ADP-Verhältnisses nach Glukosemetabolisierung ist bekannt (Bokvist et al 91). Als weitere Möglichkeit der Membrandepolarisation wird die direkte Aktivierung eines unspezifischen Na^+ -Kanals durch cAMP diskutiert (Holz et al 95). Auf jeden Fall hat die GLP-1

induzierte Mobilisation von Ca^{2+} aus intrazellulären Ca^{2+} -Speichern nur geringe Bedeutung (Gromada et al 95).

1.1.3.2 **Glukosehomöostase und Nahrungsaufnahme**

GLP-1 hat einen glukoseabhängigen insulinotropen Effekt und inhibiert die Glukagonausschüttung in den α -Inselzellen des endokrinen Pankreas (Fehmann et al 95). Die Arbeitsgruppe um Schirra et al zeigte, dass GLP-1 sowohl im Nüchternzustand als auch unter duodenaler Glukosegabe einen tonisch-inhibitorischen Effekt auf pankreatische, Glukagon ausschüttende α -Zellen hat und dass das Inkretinhormon unter physiologisch erhöhten Glukosewerten im Blut die Insulinausschüttung verstärkt (Schirra et al 98b). Zusätzlich mindert GLP-1 die postprandialen Glukosespitzen durch seine verzögernde Wirkung auf die Magenentleerung (Schirra et al 97; Schirra et al 98a). Ferner hat GLP-1 auch einen wesentlichen Einfluss auf die Auslösung des postprandialen Sättigungsgefühls und reduziert bei Gesunden und adipösen Patienten mit Diabetes mellitus Typ II die Nahrungsaufnahme (Flint et al 98; Naslund et al 99; Toft-Nielsen et al 99; Gutzwiller et al 99a; Gutzwiller et al 99b). Byrne et al entdeckten bei Patienten mit beeinträchtigter Glukosetoleranz zusätzlich einen positiven Effekt von GLP-1 auf β -Inselzellen in Bezug auf Wahrnehmung und Antwort von Blutzuckerspiegeländerungen (Byrne et al 98). Sämtliche genannten Effekte tragen zur Glukosehomöostase bei und unterstreichen die wichtige Funktion von GLP-1 im Rahmen der Blutzuckerregulation.

1.1.3.3 ***Motilität und Perzeption des proximalen Gastrointestinaltraktes***

GLP-1 verzögert die Magenentleerung (Wettergren et al 93;Schirra et al 97), fördert das Gefühl von Sättigung (Flint et al 98;Naslund et al 99;Toft-Nielsen et al 99;Gutzwiller et al 99a) und führt zu verminderter Nahrungsaufnahme (Gutzwiller et al 99a;Gutzwiller et al 99b).

Die Mechanismen der Magenentleerungsverzögerung durch GLP-1 werden im Folgenden näher betrachtet. Weiter unten im Text werden die Grundlagen der interdigestiven und postprandialen gastroduodenalen Motilität genauer dargelegt (Punkt 1.5). GLP-1 reduziert den transpylorischen Fluss und damit die Magenentleerung einerseits durch Hemmung der Pumpfunktion des distalen Magens und andererseits durch Stimulation der Sphinkterfunktion des Pylorus. Dies geschieht durch Inhibition antraler und Stimulation phasischer und tonischer pylorischer Kontraktionen sowie Reduktion transpylorisch fortgeleiteter, vom Antrum ausgehender Peristaltikwellen (Schirra et al 00b). Ferner reduziert GLP-1 den intragastralen Druck durch dosisabhängige Relaxation des Magenfundus mit Erhöhung der Compliance der Magenwand und durch Reduktion phasischer Volumenkontraktionen des proximalen Magens (Schirra et al 02). Schirra et al entdeckte bei dieser Studie auch, dass die Probanden unter GLP-1 bei gleicher Perzeption mehr Magenvolumen tolerierten (Schirra et al 02), möglicherweise Korrelat eines antinozizeptiven Effekts von GLP-1 über den auch Nahrungsaufnahme und Sättigungsgefühl beeinflusst werden. Unter Punkt 1.6 wird die gastrale Perzeption noch genauer betrachtet.

1.2 **Atropin**

Atropin ist ein Tropanalkaloid, das in der Natur zum Beispiel im Nachtschattengewächs *Atropa belladonna* (schwarze Tollkirsche, Namensgeber) vorkommt und in Form eines Racemats (1:1) vorliegt. Es besteht aus den Isomeren D- und L-Hyoscyamin. Als selektiver, kompetitiver muskarinerg, cholinerg Rezeptorantagonist hat es parasympatholytische Wirkung indem es muskarinische Rezeptoren belegt, wodurch die Bindung von Acetylcholin verhindert und die Signaltransduktion unterbunden wird. Atropin selbst löst keine Aktivierung der parasymphathischen Rezeptoren aus, führt unter anderem zu einer Relaxation der glatten Muskulatur und reduziert sowohl die Häufigkeit als auch die Amplitude von gastrointestinalen Kontraktionen dosisabhängig (Borody et al 85).

Atropin hat als muskarinerg Antagonist medizinische Bedeutung, jedoch kann die therapeutische Anwendung mit unerwünschten Nebenwirkungen verbunden sein, da es dosisabhängig unter anderem zentrale, exzitatorische, cholinerge Afferenzen des Nervus vagus blockiert und intramurale cholinerge Neuronen stimuliert. Zu diesen Nebenwirkungen zählen zum Beispiel Mundtrockenheit, Harnverhalt, Herz- und Kreislaufstörungen sowie Obstipation. Deshalb war es in dieser Arbeit notwendig, mit einer möglichst geringen Dosis Atropin die gewünschte, muskarinerge Nervenblockade zu erreichen, ohne jedoch unspezifische zentrale oder zirkulatorische Nebenwirkungen hervorzurufen. Ein weiterer dosisabhängiger Effekt von Atropin ist die verminderte Wirkung derjenigen Hormone, die ihre Funktion teilweise über Freisetzung von Acetylcholin aus postganglionären, cholinergen Neuronen vermitteln. In dieser Studie wurde Atropin verwendet, um einen möglichen cholinergen Effekt auf die Perzeption gastraler Dehnungsreize zu untersuchen. In Kombination mit GLP-1 sollte insbesondere in der postprandialen Phase eine maximale Dilatation des Magens erreicht werden, um mögliche zentrale Effekte des GLP-1 auf die Perzeption zu

erkennen. Ferner sollte durch Atropin die Effekte anderer, unter vagal-cholinerger Kontrolle stehender Darmhormone, wie das Pankreatische Polypeptid (PP), ausgeschaltet werden.

1.3 ***Pankreatisches Polypeptid (PP)***

Das Pankreatische Polypeptid oder auch Pankreatische Peptid (PP) ist ein von PP- und F-Zellen der Langerhans-Inseln des endokrinen Pankreas, die sich hauptsächlich im Pankreaskopf befinden, sezerniertes Peptidhormon. Es besteht aus 36 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von ca. 4200 Da. Das Hormon hemmt sowohl die endokrine als auch exokrine Pankreassekretion und die Gallenblasenkontraktion. Ferner stimuliert es die Darmmotilität und beeinflusst den Glykogenspeicher in der Leber. Intravenös verabreichtes PP reduziert die Nahrungsaufnahme und die Magenentleerung (Katsuura et al 02;Asakawa et al 03). PP ist möglicherweise ein funktioneller Antagonist von Cholezystokinin (CCK), einem weiteren Peptidhormon des gastrointestinalen Traktes, welches die Verdauung von Fett und Proteinen unter anderem durch Sezernierung von Pankreassekret stimuliert.

Die Freisetzung von PP steht unter streng vagal-cholinerger Kontrolle. Sie erfolgt in zwei Phasen: Bereits während der Nahrungsaufnahme kommt es in der cephalen Phase durch Stimulation vagaler Efferenzen zu einem raschen Anstieg der Plasmakonzentration, wobei PP über zentrale PP-Rezeptoren in den Vagus-Kernen des Hirnstammes negativ rückkoppelt (Walsh 94;Mannon and Taylor 94). Die zweite, langsamere Freisetzung von PP in der intestinalen Phase wird direkt durch Nährstoffe stimuliert und ebenfalls vagal-cholinerg kontrolliert. Ca. 10 – 20 Minuten nach Nahrungsaufnahme wird die maximale PP-Konzentration im Blut erreicht und fällt dann wieder langsam ab. Bei Menschen mit erhöhter Nahrungsaufnahme finden sich erniedrigte, hingegen

bei Patienten mit Anorexia nervosa oder Diabetes mellitus erhöhte PP-Werte im Blut. Auch steigt die durchschnittliche PP-Konzentration mit dem Alter an.

1.4 *Insulin*

Das Peptidhormon Insulin ist der zentrale Regulator des Kohlenhydrat- und Fettmetabolismus. Es wird in den β -Zellen der Langerhans-Inseln des endokrinen Pankreas aus den Vorstufen Präproinsulin und Proinsulin gebildet. Das humane Insulinprotein hat 51 Aminosäuren und ein Molekulargewicht von 5808 Da. Die hormonelle Wirkung besteht aus Stimulation der Resorption von Glukose, Aminosäuren und Kalium in die Muskel- und Fettzellen, der sogenannte Membraneffekt. Ferner hat es auch metabolische Effekte: Anabole Stoffwechselprozesse wie die Glykogen-, Lipid- und Proteinsynthese werden gefördert, wohingegen katabole Prozesse wie die Glykogeno-, Lipo- und Proteinolyse gehemmt werden. Der wichtigste direkte Reiz zur Insulinausschüttung ist ein steigender Blutzuckerspiegel (ab ca. 5 mmol/l). Daneben bewirken auch verschiedene Aminosäuren (wie z. B. Arginin) und der parasymphatische Botenstoff Acetylcholin, aber auch Darmhormone wie Gastrin, Sekretin, GIP und GLP-1 die Freisetzung von Insulin. Grundsätzlich erfolgt die Insulinsekretion oszillierend, alle drei bis sechs Minuten, und man unterscheidet zwei Komponenten: Die basale, langsame Sekretion mit geringen Insulinkonzentrationen im Blut (5 – 25 μ U/ml) wird vor allem durch neu synthetisiertes Insulin bestimmt und unterdrückt die Glukosefreisetzung aus der Leber. Die andere Komponente ist die mahlzeitenabhängige Insulinausschüttung mit einem Insulinpeak nach ca. 3 – 5 Minuten als rasche Antwort auf den erhöhten Blutglukosespiegel und einer Dauer von ca. 10 Minuten. Hierbei wird hauptsächlich das in den Vesikeln gespeicherte und sofort verfügbare Insulin freigesetzt.

Bei Diabetikern ist generell die zelluläre Glukosestimulation erschwert. Entweder besteht ein Insulinmangel durch autoimmune Destruktion von insulinproduzierenden β -Zellen des Pankreas beim Typ-I Diabetes und/oder Insulinresistenz der Zellen, die Insulin benötigen, um Glucose aus dem Blut aufzunehmen (Typ-II Diabetes).

1.5 ***Gastroduodenale Motilität***

Der Magen, der gastroduodenale Übergang und das Duodenum sowie deren koordiniertes Zusammenspiel im Rahmen der gastroduodenalen Motilität sind essentiell für eine beschwerdefrei, normale Nahrungsaufnahme und Verdauung.

In den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde angenommen, dass der proximale Magen überwiegend der Nahrungsaufnahme und -speicherung sowie der Entleerung von Flüssigkeiten diene (Minami and McCallum 84). Hierbei spielt die Regulation des intragastralen Drucks eine entscheidende Rolle. Die Aufgabe des distalen Magens dagegen bestünde überwiegend in Zerkleinerung und Durchmischung von Nahrung, Regulation und Kontrolle von Transport der Nahrung ins Duodenum und zurück im Rahmen eines duodeno-gastralen Refluxes (Kelly 81). Diese strikte Trennung lässt sich heute nicht mehr aufrechterhalten und man betrachtet die beiden gastralen Regionen als funktionelle Einheit ohne die keine regelrechte Gesamtfunktion möglich ist (Wingate et al 94). Hierbei ist die gastrale und duodenale Motilität in der interdigestiven und die postprandialen Phase unterschiedlich.

1.5.1 Interdigestive Motilität

In der interdigestiven Phase zwischen den Mahlzeiten wird durch die Magendarmmotilität, welche regelmäßig wiederkehrende Zyklen gesteigerter Aktivität durchläuft, unverdauliche Nahrungsbestandteile weitertransportiert und der Magen-Darm-Trakt von Bakterien gereinigt. Dieses sich immer wiederholende Aktivitätsmuster wird Migrating-Motor-Complex (MMC) genannt und wurde 1969 zuerst bei Hunden entdeckt (Szurszewski 69). Aber auch der Gastrointestinaltrakt vieler anderer Tiere, der Mensch eingeschlossen, weisen dieses Motilitätsmuster auf (Vantrappen et al 77; Fleckenstein 78). Aufgrund seiner Funktion wird der MMC auch prägnant als „interdigestiver Housekeeper“ des Gastrointestinaltraktes bezeichnet (Szurszewski 69; Code and Schlegel 73). Hierzu passend konnte gezeigt werden, dass bei einigen Patienten mit übermäßiger bakterieller Besiedlung des Magens eine anormale oder zu Teilen fehlende MMC-Aktivität vorliegt (Vantrappen et al 77). Entscheidender Unterschied zur postprandialen Motilität und Voraussetzung für eine vollständige Magenentleerung ist die Tatsache, dass der Pylorus interdigestiv unter einer beinahe vollständig das Lumen verschließender Magenkontraktion relaxiert bleibt (Kelly 81).

Der Migrating-Motor-Complex wird in drei Phasen untergliedert (Kellow et al 86), deren Verteilung sich regional unterscheiden: die Phase I nimmt vom proximalen Magen zum Duodenum hin ab, während sich die Phase III genau entgegengesetzt verhält (Dooley et al 92). In Phase I, auch Ruhephase genannt, finden beinahe keine Kontraktionen statt und sie dauert mindestens fünf und bis zu 60 Minuten. Danach schließt sich die Phase II mit zunehmender Motoraktivität an, die in Phase IIa und IIb untergliedert wird. Hierbei steigt die Frequenz sporadischer antraler und duodenaler Kontraktionen von unter fünf alle 10 Minuten bzw. pro Minute auf mehr als fünf über mindestens zwei Minuten im Antrum und typischerweise sechs bis neun pro Minute im Duodenum. Die Kontraktionen in Phase IIb sind im Gegensatz

zu Phase IIa nicht mehr sporadisch sondern überwiegend regelmäßig. Schließlich wird in der darauf folgende Phase III die maximale kontraktile Frequenz von ungefähr drei pro Minute im Antrum und elf pro Minute im Duodenum erreicht (Quigley 96). Lediglich in dieser Phase III wird jede Kontraktion kontinuierlich vom unteren Ösophagussphinkter bis zum distalen Ileum fortgeleitet. Nach Abschluss der Phase III beginnt der Zyklus wieder von Neuem mit der (Ruhe-)Phase I. Die gesamte Dauer des MMC variiert beim Menschen zwischen 113 und 230 Minuten (Dooley et al 92) und wird vom zirkadianen Rhythmus (Kumar et al 86; Bortolotti et al 00) beeinflusst. Auch scheint es geschlechts- (Wilson et al 94) und altersabhängige (Kellow et al 86; Malagelada et al 93) Unterschiede zu geben.

Die Motilität des proximalen Magens unterscheidet sich wesentlich von der des Antrums und Duodenums: In Phase I des MMC relaxiert er abseits vereinzelter, sporadischer Kontraktionen im Gegensatz zum übrigen Gastroduodenaltrakt nicht vollständig, sondern hält eher einen mittleren Tonus bei (Azpiroz and Malagelada 85). In der Phase II und III finden zwar auch vermehrt Kontraktionen statt, diese müssen jedoch in zwei verschiedene Subtypen unterschieden werden, den einerseits langsamen, tonisierenden und andererseits schnellen, phasischen. Letztere weisen eine Kontraktionsdauer von 10 - 15 Sekunden und eine Amplitude von 5 - 15 cmH₂O auf. Die Langsamen haben Amplituden von 10 - 50 cmH₂O, halten durchschnittlich ein bis drei Minuten an und verändern den intragastrischen Druck. Insbesondere in der Phase III kontrahiert sich der Magenfundus langanhaltend vollständig, teilweise bis zu ca. 20 Minuten (Azpiroz and Malagelada 85). Beide Kontraktionen können unabhängig voneinander auftreten, meist überlagern jedoch die kurzen phasischen Kontraktionen die langsamen Anhaltenden (Kelly 81).

Der distale Magen und das Duodenum besitzen jeweils eine eigene Schrittmacherregion, welches in der großen Magenkurvatur beziehungsweise

im proximalen Duodenum lokalisiert ist. Die Schrittmacherpotentiale werden von glatten Muskelzellen erzeugt, im Gegensatz zum Herzen löst jedoch nicht weitgehend jedes Aktionspotential auch eine Kontraktion aus. Insbesondere in Phase II des MMC wurden im distalen Magen weitaus mehr Aktionspotentiale gemessen als Kontraktionen (Minami and McCallum 84). Zwischen Antrum und Duodenum ist der Pylorus gelegen, welcher eine elektrische Barriere bildet (Malagelada et al 93). Houghton et al zeigten, dass aber dennoch eine gewisse antro-pyloro-duodenale Koordination mit fortgeleiteten Kontraktionen in der Nüchternperiode besteht (Houghton et al 88b). Voraussetzung hierfür ist ein intaktes intrinsisches Nervensystem (Richter H.M. 88). Der Pylorus besitzt aber auch ein eigenes, besonderes Motilitätsmuster, die sogenannten „isolierten pylorischen Druckwellen“ (isolated pyloric pressure waves = IPPW). Hierbei kontrahiert sich der Pylorus ohne die unmittelbar angrenzenden Magen-Darm-Abschnitte für 10 - 30 Minuten regelmäßig mit einer Frequenz von 3 K/min (Houghton et al 88a).

Zusammenfassend unterscheiden sich die einzelnen Motilitätsmuster des proximalen Magens, des distalen Magens und des Duodenums deutlich voneinander, bilden aber dennoch eine funktionelle Einheit, wobei insbesondere die Koordination fortgeleiteter Kontraktionen in der Nüchternperiode zwischen Antrum, Pylorus und Duodenum eine wichtige Rolle spielt (Houghton et al 88b).

1.5.2 Postprandiale Motilität

In der postprandialen Phase, nach Aufnahme von Nahrung, unterscheidet sich die gastroduodenale Motilität erheblich von der in der Nüchternphase. Wie auch in der interdigestiven Phase sollte die Motilität des proximalen und des distalen Magens einzeln betrachtet werden, wobei das jeweilige

Aktivitätsmuster von der Funktion abhängig ist und beide Regionen eine funktionelle Einheit darstellen.

Der proximale Magen übernimmt postprandial überwiegend eine Reservoirfunktion, spielt aber auch eine wichtige Rolle bei der Magenentleerung und weist zwei unterschiedliche Motilitätsmuster auf. In der Phase I relaxiert der Fundus, wodurch größere Mengen an Nahrung aufgenommen und gespeichert werden können. Auslöser hierzu können drei Stimuli sein. Der erste Stimulus ist der Schluckvorgang, ein vom Ösophagus ausgehender und vagal gesteuerter Reflex (Abrahamsson 73), der zweite wird im Magen durch den Dehnungsreiz des Speisebreis ausgelöst und ebenfalls durch den N. vagus vermittelt. Diese, auch als adaptative Akkomodation bezeichnete Magenrelaxation verhindert eine ausgeprägte intragastrale Drucksteigerung (Richter H.M. 88). Der dritte Stimulus wird im Duodenum durch Chemo- und Mechanorezeptoren bei Nährstoffkontakt vermittelt. Hierbei wird einerseits die Motilität des Fundus, gleichzeitig aber auch die des Antrums gehemmt sowie die des Pylorus stimuliert (Richter H.M. 88). Der dritte Stimulus hat somit auch einen Einfluss auf die Motilität des distalen Magens.

Der Weitertransport, aber auch die intragastrale Umverteilung und Vermischung des Speisebreis wird in der zweiten Phase bewerkstelligt. Hierfür wird die tonische Kontraktilität des proximalen Magens für einen längeren Zeitraum zunehmend erhöht, wodurch die Kapazität des Magens graduell reduziert wird und der dadurch erzeugte gastroduodenale Druckgradient die Magenentleerung erleichtert (Richter H.M. 88). Ferner sorgen neben der tonischen Kontraktion auch vom proximalen Magen ausgehende, phasische Peristaltikwellen, die bis zum Pylorus fortgeleitet werden, für eine Art Pumpfunktion und den Weitertransport von Nahrung in das Antrum. Wichtig für die korrekte Funktion ist die Koordination mit der Motilität des distalen Magens mit z. B. gesteigerter Kontraktionsfrequenz des Antrums und erhöhtem

Pyloruston (Heading 94). Phase II endet mit Erreichen des Ruhetonus des Magens.

Grundlegend muss die Entleerung von Flüssigkeiten und festen Nahrungsbestandteilen unterschieden werden. Flüssigkeiten und verflüssigte Nahrungsbestandteile werden recht frühzeitig aus dem Magen entleert, während feste Nahrungsbestandteile verzögert in den Dünndarm abgegeben werden. Faktoren wie das Volumen, die Dichte und Viskosität sowie die Partikelgrößen und der Kaloriengehalt des Speisebreis spielen hierbei eine Rolle (Horowitz et al 94).

Die Aufgaben des distalen Magens, des Antrums und Pylorus, bestehen postprandial überwiegend in Zerkleinerung, Durchmischung und Filterung des Mageninhaltes sowie der Regulation der Magenentleerung. Charakteristisch hierfür sind hochamplitudige koordinierte, wellenförmige, vom proximalen Antrum als Ursprungsort ausgehende Kontraktionen, die kontinuierlich bis zum Pylorus weitergeleitet werden, und isolierte pylorische Kontraktionen. Eine wichtige Rolle spielt der Pylorus: Pylorus und Duodenum sind relaxiert wenn sich das mittlere Antrum während der Peristaltikwelle kontrahiert, sodass flüssige und kleine Nahrungsbestandteile anterograd den Magen verlassen können. Erreicht nun die Peristaltikwelle das distale Antrum, okkludiert sich der Pylorus wieder und der Speisebrei wird komprimiert und retrograd zurückgedrückt, wobei er sich weiter durchmischt und im distalen Magen zunehmend zerkleinert wird (Quigley 96). Feste Nahrungsbestandteile, die aus dem Magen entleert werden, haben eine durchschnittliche Größe von unter einem Millimeter (Meyer et al 81). Neben den tonischen Kontraktionen weist der Pylorus, wie oben bereits erwähnt, auch ein phasisches Aktivitätsmuster auf, die sogenannten isolierten pylorischen Kontraktionen (IPPW). Die IPPW's werden durch Kontakt von Lipid, Aminosäuren oder hyperosmolaren Lösungen mit Rezeptoren in der duodenalen Mukosa ausgelöst (Hedde et al 88a). Während einer IPPW kontrahiert sich isoliert der Pylorus mit einer Frequenz

von bis zu 3 K/min, wohingegen das Antrum und Duodenum in ihren Kontraktionen gehemmt sind. Somit bremst die gesteigerte phasische und tonische, unter vagal-cholinerger Kontrolle stehende Aktivität des Pylorus die gastroduodenale Passage (Hedde et al 88b; Tougas et al 92; Hedde et al 93; Malbert et al 94; Heading 94; Anvari et al 95). Frühere Studien konnten beim Menschen eine Korrelation zwischen Magenentleerungsrate und Kontraktionen des distalen Magens bzw. fortgeleiteten antro-pyloro-duodenalen Kontraktionen für Flüssigkeiten (Camilleri et al 85; Houghton et al 88b; Schirra et al 96) und für feste Nahrung (Fraser et al 93) finden.

Zusammenfassend ermöglichen die unterschiedlichen aber koordinierten Motilitätsmuster des proximalen Magens, des distalen Magens und des Duodenums einerseits die postprandiale adaptive Akkomodation und andererseits den geregelten Weitertransport des Nahrungsbreis in den Dünndarm.

1.5.3 Die neuroendokrine Regulation der gastroduodenalen Motilität

Die gastroduodenale Motilität ist durch koordinierte und sich wiederholende Kontraktionen und Erschlaffungen der beteiligten Magen-Darm-Abschnitte charakterisiert. Sie lässt sich in eine postprandiale und interdigestive Phase einteilen. Der exzitatorische Neurotransmitter Acetylcholin scheint dabei hauptsächlich die Kontraktionen auszulösen. Einen einzelnen direkten Gegenspieler, der für die Erschlaffung der glatten Muskulatur zuständig ist, gibt es nicht. Vielmehr wird diese durch mehrere inhibitorische Neurotransmitter und postprandial freigesetzte gastrointestinale Hormone vermittelt.

Das Darmhormon Glucagon-like Peptid 1 (7-36)amid (GLP-1) hemmt signifikant die antroduodenale Motilität und stimuliert die tonische und phasische Kontraktibilität des Pylorus. Dies konnte für exogenes, verabreichtes GLP-1 unter physiologischen Plasmaspiegeln sowohl interdigestiv als auch postprandial gezeigt werden (Schirra et al 00b). Ferner bewirkt GLP-1 eine signifikante Reduktion der phasischen Volumenkontraktionen des Fundus und relaxiert diesen deutlich (Schirra et al 02). GLP-1 ist somit einer der wichtigsten inhibitorischen Enterohormone in der Feedback-Regulation der Magenentleerung. Der genaue Wirkmechanismus des GLP-1 ist nicht bekannt. Bisher sind keine GLP-1-Rezeptoren an der glatten gastroduodenalen Muskulatur gefunden worden, jedoch ist die durch GLP-1 vermittelte Hemmung des exzitatorischen cholinergen Inputs bekannt: die Freisetzung des streng unter vagal-cholinergem Kontrolle stehenden und deshalb auch als vagal-cholinerges Markerhormon bezeichneten Pankreatischen Polypeptids (PP) wird dosisabhängig durch subkutan oder intravenös appliziertes GLP-1 gehemmt (Dupre et al 95; Schirra et al 97; Schirra et al 98b). Dies konnte sowohl in der interdigestiven Phase als auch unter duodenaler Lipidperfusion gezeigt werden.

Einer der wichtigsten Modulatoren der gastroduodenalen Motilität ist das Enterohormon Cholecystinin (CCK), welches von I-Zellen in der Dünndarmmukosa bei Kontakt mit Salzsäure, Aminosäuren und langkettigen Fettsäuren in die Blutbahn ausgeschüttet wird. Die Hauptwirkung besteht in einer Relaxation des Magenfundus, die durch Studien mit spezifischen CCK-Antagonisten, wie z. B. Loxiglumid, bewiesen werden konnte (Feinle et al 96; Zerbib et al 98). Diese verzögernde Wirkung auf die Magenentleerung wird unterstützt durch Hemmung der antralen Kontraktibilität und Stimulation der pylorischen Motilität (Katschinski et al 96). Zusätzlich hat CCK auch einen stimulatorischen Effekt auf intestinale vagale Afferenzen, wodurch auf die Motilität inhibitorische Reflexkreise des enteralen Nervensystems ausgelöst werden. Ein weiteres, die Magenentleerung hemmendes Darmhormon ist das

Peptid YY. Auch für Gastrin, Glukagon, Sekretin und GIP wurde eine inhibitorische Wirkung auf die Darmmotilität gefunden, jedoch nur in supraphysiologischen Dosen.

Als wichtigster inhibitorischer, nicht adrenerger, nicht cholinerg (NANC-)Neurotransmitter des Gastrointestinaltraktes spielt Stickstoffmonoxid (NO) in der neuronalen Regulation der Motilität des Magen-Darmtraktes eine bedeutende Rolle. Sowohl NO als auch sein funktioneller Gegenspieler Acetylcholin agieren sowohl extrinsisch über vagale Nervenfasern als auch intrinsisch über das enterale Nervensystem. NO bewirkt postprandial vor allem eine Hemmung der Antrummotilität durch direkte Inhibition des stimulatorischen cholinergen Inputs und reguliert die Volumenakkommodation des Magenfundus über vagale Efferenzen (Desai et al 91; Tack et al 02; Kuiken et al 02). Ferner konnte durch Verwendung des NO-Synthase Inhibitors N(G)-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) gezeigt werden, dass NO postprandial einen stimulatorischen Einfluss auf den Pylorstonus hat, jedoch die phasischen Pyloruskontraktionen nicht beeinflusst (Kuo et al 09). Neben NO werden noch weitere inhibitorische Neurotransmitter wie VIP und ATP erforscht. So wurde in vitro Studien an glatten Muskelfasern von Ratten, Katzen und Schweinen entdeckt, dass die neurogene Relaxationen nicht nur NO- sondern auch VIP-vermittelt ist (Li and Rand 90; Boeckxstaens et al 92; D'Amato et al 92; Barbier and Lefebvre 93; Lefebvre et al 95).

Zusammenfassend wird die gastrale Motilität vorwiegend neuronal kontrolliert. Hierbei haben postprandial freigesetzte, gastrointestinale Hormone überwiegend inhibitorisch-modulatorischen Input. Das genauere Verständnis des gastrointestinalen Regelkreises bietet Möglichkeiten klinisch relevante, aber schwierig zu behandelnde Funktionsstörungen wie z. B. die funktionelle Dyspepsie oder die Gastroparese pharmakologisch zu therapieren. Aktuell gibt es nur wenige Motilitäts-modulierende Medikamente (Metoclopramid, Domperidon, Erythromycin), die alle keinen Langzeiteffekt haben.

1.6 ***Gastrale Perzeption***

Generell werden beim gesunden Menschen nicht alle gastrointestinalen Reize auch bewusst wahrgenommen und umgekehrt ist bei vielen Patienten mit gastrointestinalen Problemen eine organische Ursache der Beschwerden nicht zu finden, wie zum Beispiel bei Dyspepsie (Knill-Jones 91).

In der Magenwand sind Mechanorezeptoren eingebettet, welche Dehnungsreize über vagale und spinale Afferenzen weiter ins ZNS leiten. Gegenwärtig werden zwei verschiedene Typen von Rezeptoren vermutet: parallel zur Muskulatur geschaltete Dehnungs- und seriell angeordnete Spannungsrezeptoren. Es wird angenommen, dass Letztere für die Sensitivität auf Magendehnung verantwortlich sind. So konnte in Studien bei Gesunden durch pharmakologische, z.B. durch Glukagon (Notivol et al 95) oder Atropin (Schirra et al 00a) induzierte Relaxation des Magens gezeigt werden, dass die proximale gastrale Sensibilität gegenüber Dehnungsreizen erhöht ist: wird die bereits relaxierte, aber nicht gedehnte Magenwand durch z. B. einen Barostatballon (siehe weiter unten) gedehnt, das heißt zu den bereits aktivierten parallelen Dehnungsrezeptoren werden auch noch die seriell angeordneten Wandspannungsrezeptoren aktiviert, kommt es zu einer Zunahme der Distensionsempfindlichkeit – möglicherweise ein neuer, pharmakologischer Therapieansatz bei Patienten mit postprandialen Akkomodationsstörungen und dyspeptischen Symptomen (Azpiroz et al 14).

Whitehead und Delvaux entwickelten 1997 die Barostat-Technik mit dessen Hilfe die gastrale Akkomodation und die viszerale Sensitivität gemessen werden kann (Whitehead and Delvaux 97). Der Magenfundus wird hierbei schrittweise isobar distendiert und die hierbei hervorgerufene Perzeption mit Hilfe einer Skala erfragt. So konnte bei 45 % der Patienten mit funktioneller Dyspepsie eine Hypersensitivität gegenüber gastralen

Dehnungsreizen gefunden werden (Coffin et al 94; Holtmann et al 00; Tack et al 01).

Eine Studie der Arbeitsgruppe um Schirra et al mit synthetischem GLP-1 hat gezeigt, dass GLP-1 den Magenfundus im Nüchternzustand deutlich relaxiert, ohne jedoch die Perzeption von isobaren Dehnungsreizen zu ändern (Schirra et al 02). Somit ermöglicht GLP-1 eine höhere gastrale Volumenbelastung. Es wird hierfür ein antinozizeptiver Effekt von GLP-1 auf gastrale Dehnungsreize, entweder zentralnervös und/oder vagal vermittelt, vermutet. Korrespondierend hierzu wurden GLP-1-Rezeptoren zentral in der Area postrema nachgewiesen und eine Studie im Jahr 1997 von Imeryuz et al fand Hinweise auf GLP-1-Rezeptoren an vagalen Afferenzen (Imeryuz et al 97). In der vorliegenden Arbeit wurde unter anderem die gastrale Perzeption von Dehnungsreizen unter Einfluss des cholinergen Rezeptorantagonisten Atropin und synthetischen GLP-1 untersucht.

2 Ziele der Arbeit

Das wissenschaftliche Interesse am Inkretinhormon GLP-1 ist seit seiner Entdeckung immer groß gewesen und zwischenzeitlich am Markt etablierte GLP-1-Analoga stellen eine wichtige Ergänzung zur bisher durchgeführten Diabetestherapie dar. Neben seiner blutzuckersenkenden Wirkung, welche auf einer Veränderung des Insulin- und Glukagonplasmaspiegels beruht, hat es einen wesentlichen Effekt auf die Magenentleerung: es relaxiert den Magenfundus, hemmt die antro-duodenalen Motilität und steigert den Pylorustonos. Ferner reduziert GLP-1 die Magensäuresekretion und beeinflusst möglicherweise die Perzeption gastraler Dehnungsreize. Auch werden eventuell vorhandene zentrale Effekte dieses Enterohormons auf die Wahrnehmung von Sättigungsgefühl diskutiert. Dies alles zeigt auf, welche wichtige Rolle GLP-1 als zentraler Regulator der postprandialen Glukosehomöostase spielt. Die Wirkungen des Hormons auf das extraenterische Nervensystem und die Interaktion mit anderen regulatorischen Pathways des enterischen Nervensystems sowie der Einfluss synthetischen GLP-1 auf die Freisetzung von endogenem GLP-1 sind bisher kaum bekannt.

In unserer Studie haben wir zum besseren Verständnis der Effekte von GLP-1 synthetisches, ausschließlich bioaktiv wirksames GLP-1 eingesetzt. Das Fundusvolumen wurde interdigestiv und postprandial während induzierter, randomisierter Distensionen des proximalen Magens gemessen. Da bekannt ist, dass das cholinerge Nervensystem einen stimulatorischen Einfluss auf das enterische Nervensystem ausübt, wählten wir die Kombination mit dem cholinergen Antagonisten Atropin, um zu sehen, welche Wirkungen von GLP-1 cholinerg-muskarinerg vermittelt sind. GLP-1 hemmt die Magenentleerung und verändert somit das neurohumorale Feedback. Daher wurde der postprandiale Zustand durch Perfusion einer aus gemischtkettigen Fettsäuren bestehenden Lipidlösung direkt ins Duodenum erzeugt. Dabei wurde ein Kaloriendichtefluss von 1.5 kcal/min gewählt, um endogenes GLP-1 physiologisch freizusetzen.

Die Ziele der vorliegenden Arbeit sind:

- die dosisabhängige Wirkung von GLP-1 auf den Fundustonus und die Perzeption des proximalen Magens gegenüber Dehnungsreizen im Nüchternzustand (interdigestiv) und postprandial zu untersuchen. Hierzu verwenden wir synthetisches GLP-1 in einer niedrigen Dosis, die zu physiologischen Plasmaspiegeln führt, und in einer höheren, supraphysiologischen Dosis.
- die Wirkung von Atropin und synthetischem GLP-1 kombiniert mit Atropin auf Fundustonus und proximal gastrale Perzeption zu untersuchen.
- den Einfluss von synthetischem GLP-1 auf die Freisetzung von Pankreatischem Polypeptid (PP) zu untersuchen. PP fungiert hierbei als vagal-cholinerges „Markerhormon“.
- die Unterschiede in der Performance zweier verschiedener GLP-1-Assays zu untersuchen: Gesamt-GLP-1 und bioaktives GLP-1

In der Arbeit wurden simultan auch die Ösophagusmotilität und die antroduodenale Motilität gemessen. Diese werden entsprechend methodisch erwähnt, sind aber nicht Ziel der vorliegenden Arbeit.

3 Material und Methoden

3.1 *Probanden*

Die Studie wurde an zehn männlichen Probanden im Alter zwischen 22 und 36 Jahren durchgeführt. Die Probanden mussten während der Studie gesund sein, insbesondere keine gastrointestinalen Krankheiten oder sonstige systemische Erkrankungen aufweisen, und durften keine Medikamente einnehmen. Die Studie wurde der Ethik-Kommission der Ludwigs-Maximilians-Universität München vorgelegt und durch diese geprüft und genehmigt (Nr. 089/02). Sie wurde beim BfArM angezeigt und genehmigt (Vorlagennummer 40 20 106). Ebenso liegt eine Genehmigung des Bundesamtes für Strahlenschutz vor. Jeder Proband wurde ausführlich mündlich aufgeklärt und musste, um an der Studie teilzunehmen, eine schriftliche Einverständniserklärung unterschreiben.

3.2 *Ösophageale Sonde*

Es wurde eine Ösophagussonde verwendet und so platziert, dass der am distalen Ende der Sonde montierte Ballon im proximalen Magen gelegen war. Die korrekte Lage des Ballons im Magenfundus wurde durch perfusionsmanometrische Messung der Ösophagusmotilität, die aber in der vorliegenden Arbeit nicht ausgewertet wurde, kontrolliert. Die Ösophagussonde (Fa. Dentsleeve Pty Ltd, Australien, siehe Abbildung 3.1 Aufbau der Ösophagussonde) hatte insgesamt 14 Kanäle: Zwei Kanäle wurden, wie weiter unten genauer erwähnt wird, zur Steuerung des am Ende der Sonde befestigten Ballons genutzt. Die übrigen 12 Kanäle maßen die Ösophagus- und Pharynxmotilität, wobei neun Kanäle entlang des axialen Ösophagus lokalisiert waren und punktuelle Druckveränderungen im Ösophagus detektierten. Der zwölfte Kanal war mit einem sogenannten

Sleeve-Sensor, der im unteren Ösophagussphinkter platziert wurde, verbunden. Der Sleeve-Sensor besteht aus einer dünnen Manschette, welche die Sonde in dieser Studie auf einer Länge von 6.5 cm überzog. Mithilfe des Sleeve-Sensors kann der maximale Druck über die gesamte Länge der Manschette gemessen und somit die korrekte Lage der Ösophagussonde und des Ballons über den ganzen Versuch hinweg gesichert werden.

Alle 12 Motilitätskanäle wurden mit der gleichen Perfusionsrate von 0.15 ml/min mit destilliertem und sterilisiertem Wasser perfundiert wofür eine pneumohydraulische Pumpe (Fa. MMS, Niederlande) verwendet wurde. Jeder einzelne Kanal war mit einem externen Drucksensor konnektiert. Die Messwerte wurden an einen PC gesendet und in Echtzeit auf einem Multichannel-Chart-Programm (MMS Database Program, Fa. MMS Software, Niederlande) dargestellt und gespeichert.

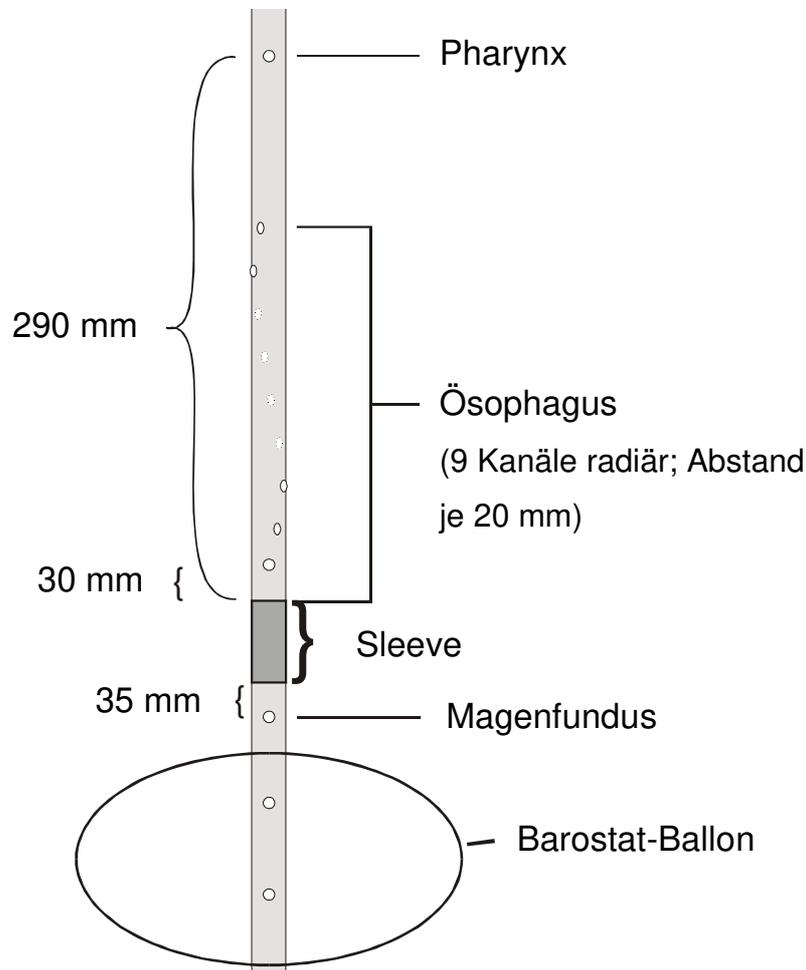


Abbildung 3.1 Aufbau der Ösophagussonde.

Die Sonde hat insgesamt 11 radiär angeordnete Seitlöcher zur Messung der punktuellen Motilität. Ein Seitloch befand sich im Pharynx, neun im Ösophagus und ein weiteres, das am weitesten distal gelegene, im Fundus des Magens. Zwischen dem am weitesten distal gelegenen Ösophagus-Seitloch und dem Seitloch im Magenfundus liegt ein Sleeve-Sensor, der zur kontinuierlichen Messung des unteren Ösophagussphinktertonus diente. Da sich während des Schluckaktes der Tonus des unteren Ösophagussphinkters charakteristisch verändert, ist die Kontrolle der transsphinktären Lage der Sleeve möglich. Durch zwei weitere Kanäle am distalen Ende wird die druckgesteuerte Regelung des im Magenfundus gelegenen Ballons bewerkstelligt.

3.3 *Antro-pyloro-duodenale Sonde*

Es wurde in dieser Studie eine antro-pyloro-duodenale Sonde verwendet, um entweder NaCl 0.9% oder Lipid direkt in das Duodenum zu perfundieren. Die perfusionsmanometrische Messung der antro-pyloro-duodenalen Motilität diente der exakten Lagekontrolle der Sonde. Die Messdaten wurden in der vorliegenden Arbeit nicht ausgewertet. Zum Aufbau der Sonde (Fa. Dentsleeve Pty Ltd, Australien) siehe

Abbildung 3.2. Die Sonde hatte insgesamt elf Kanäle. Ein Kanal mit einem etwas größeren Durchmesser verlief bis zum distalen Sondenende und diente der direkten Perfusion in das Duodenum. Ein Kanal war mit einem Sleeve-Sensor (Länge 4.5 cm), der im Pylorus platziert wurde, verbunden. Die übrigen neun radiär angeordneten Kanäle maßen die antro-pyloro-duodenale Motilität, wobei fünf Messkanäle im Antrum und vier im Duodenum mündeten. Analog zur Ösophagussonde wurde hierdurch die korrekte Lage der antro-pyloro-duodenalen Sonde über den ganzen Versuch hinweg überprüft und verifiziert. Zusätzlich wurde noch die transmukosale Potentialdifferenz (transmucosal potential difference = TMPD) zwischen distalem Antrum und proximalen Duodenum gemessen, wodurch absolut sichergestellt werden konnte, dass das distale Sondenende im Duodenum gelegen war.

Alle zehn Motilitätskanäle wurden mit einem Volumenstrom von 0.15 ml/min perfundiert, wobei bis auf die zwei Kanäle der TMPD sterilisiertes und destilliertes Wasser verwendet wurde. Die zwei TMPD-Kanäle sind mit sterilisierter isotonischer Kochsalzlösung (NaCl 0.9%) zur Spannungsmessung perfundiert worden. Für die Perfusion kam eine pneumohydraulische Pumpe (Fa. MMS, Niederlande) zur Verwendung. Die Druckänderungen jedes Motilitätskanals wurden analog zur Ösophagussonde von externen Drucksensoren gemessen und die gewonnenen Daten zusammen mit den ösophagealen Messdaten auf dem Bildschirm eines

Multichannel-Chart-Programms (Programm: MMS Database Program, Fa. MMS, Niederlande) dargestellt sowie auf einem PC gespeichert.

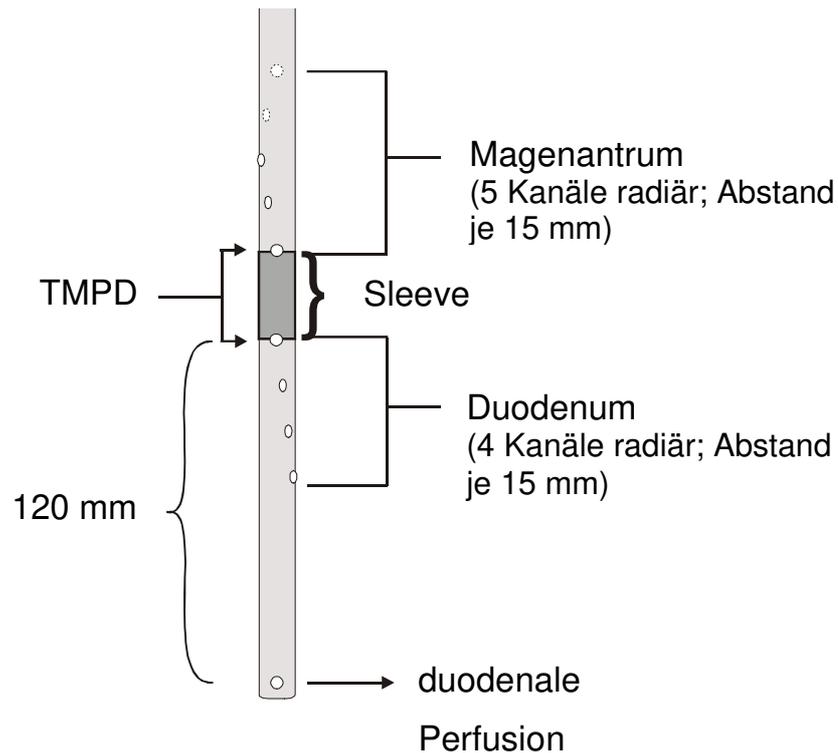


Abbildung 3.2 Aufbau der Antro-Pyloro-Duodenalsonde.

Die Sonde hat insgesamt 11 Kanäle. Neun radiär angeordnete Seitlöcher dienten zur Messung der punktuellen Motilität, wobei sich fünf Seitlöcher im Magenantrum und vier im Duodenum befanden. Zwischen den Antrum- und Duodenum-Seitlöchern liegt ein Sleeve-Sensor, der zur kontinuierlichen Messung des Pylorustonius diente. Das am weitesten distal gelegene Antrum-Seitloch und das am weitesten proximal gelegene Seitloch im Duodenum ermöglichen die transmukosale Potentialdifferenzmessung. In Kombination mit der Sleeve konnte somit die korrekte Lage der Sonde über den ganzen Versuch hinweg kontrolliert werden. Der 11. Kanal mündet am distalen Ende der Sonde und diente lediglich der Mahlzeitperfusion in das distale Duodenum.

3.4 *Messung der antro-duodenalen transmukosalen Potentialdifferenz*

Die transmukosale Potentialdifferenz wurde, wie bereits oben erwähnt, zwischen dem proximalen und distalen Sleeve-Ende gemessen. Beide Kanäle wurden mit physiologischer, elektrisch leitender, sterilisierter Kochsalzlösung perfundiert. Zur Ableitung der Potentialdifferenz wurde eine Calomel-Elektrode verwendet, die über eine elektrische Brücke aus 1 M KCl mit 3 % Agar im Nebenschluss über einen Drei-Wege-Hahn mit den TMPD-Kanälen verbunden war. Dieser Aufbau ermöglichte gleichzeitig die Messung der Potentialdifferenz und der Druckänderungen von Antrum und Duodenum. Als Referenzelektrode diente eine gewöhnliche Hautelektrode, die am Oberkörper des Probanden fixiert wurde.

Eine Potentialdifferenz von mindestens -15 mV zwischen Antrum und Duodenum zeigte die korrekte Lage der Antro-Pyloro-Duodenal-Sonde an. Ein Elektrometer hielt die Spannungsasymmetrie geringer als 2 mV. Die TMPD-Messdaten wurden zusammen mit den Motilitätsdaten auf dem Multichannel-Chart-Programm (Programm: MMS Database Program) der Fa. MMS (Niederlande) angezeigt und visuell überwacht sowie kontinuierlich aufgezeichnet.

3.5 *Barostat*

Zur Verwendung kam ein elektronischer Barostat (Distender Series II) der Firma G&J Electronics (Kanada), um isobare Distensionen (Dehnungen des Magens mit einem konstanten Druck) durchzuführen und um gleichzeitig die dadurch herbeigeführten Volumenänderungen des proximalen Magens aufzuzeichnen (siehe Abbildung 3.3 Schematische Darstellung der Funktion des Barostaten). Ein Ballon aus Polyethylen war am distalen Ende der

kombinierten Perfusionsmanometrie-Distensions-Ösophagussonde (14-lumig, äußerer Durchmesser 4.4 mm) der Firma Dentsleeve (Australien) fixiert. Der Ballon hatte eine maximale Kapazität von 900 ml und eine unendliche Compliance bezüglich der in dieser Studie gemessenen Volumina.

Der Barostat hält über einen elektronischen Rückkopplungsmechanismus und prompt herbeigeführten Volumenänderungen einen bestimmten Druck im Magenballon konstant aufrecht. Gesteuert und kontrolliert wird der Barostat durch einen Computer, der auch Druck- und Volumenänderungen des Ballons aufzeichnet. In den Versuchen wurde dies genutzt, um den Magen druckkontrolliert zu distendieren und das hierbei erreichte Fundusvolumen zu messen.

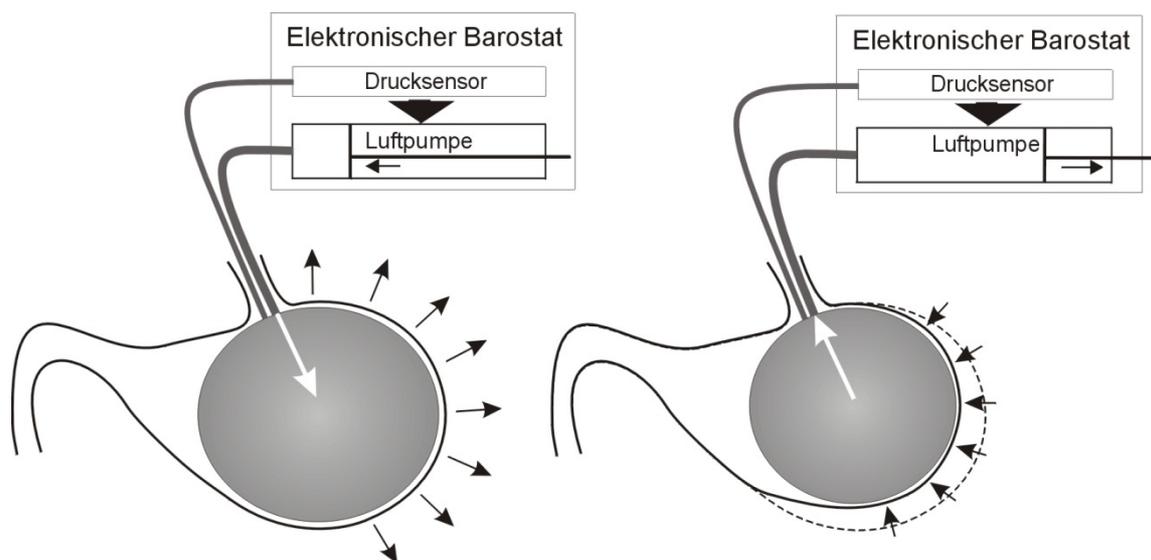


Abbildung 3.3 Schematische Darstellung der Funktion des Barostaten

Der Barostat ist im Prinzip eine Luftpumpe mit einem Drucksensor zur Rückkoppelung. Er steuert in dieser Studie einen angeschlossenen, im Magen platzierten Polyethylenballon und hielt einen bestimmten Druck im Ballon konstant aufrecht indem über einen elektronischen Regelmechanismus das Ballonvolumen kontinuierlich angepasst wurde. Dies wurde genutzt, um druckkontrollierte Magendistensionen durchzuführen und das Fundusvolumen zu messen.

3.6 *Experimentelles Design*

3.6.1 **Versuchsaufbau**

Sämtliche Experimente wurden an nüchternen Probanden, die eine Nahrungskarenz von mindestens 12 Stunden einhalten mussten, morgens gestartet und vormittags durchgeführt. Ein Mindestabstand von einer Woche wurde zwischen den einzelnen Versuchstagen eingehalten. Die verschiedenen intravenös verabreichten Prüfsubstanzen wurden randomisiert angewandt und sowohl die Probanden als auch der Untersucher diesbezüglich verblindet.

Im Rahmen der Vorbereitungen auf die Studientage wurde zuerst die antro-pyloro-duodenale Sonde durch ein Nasenloch positioniert und deren korrekte Lage röntgenologisch überprüft und dokumentiert. Anschließend schluckten die Probanden die gastro-ösophageale Manometrie-Ballonsonde (zur exakten intragastralen Positionierung siehe Absatz 3.6.2). Daraufhin wurde in einem Arm, um die Prüfsubstanzen intravenös verabreichen zu können, eine Verweilkanüle in einer antecubitalen Vene anterograd gelegt. Die Blutproben wurden durch eine retrograd in einer Armvene auf der anderen Seite platzierte Verweilkanüle entnommen. Im Anschluss daran nahmen die Probanden für die gesamte Dauer des Versuchstages eine bequeme halbsitzende Position ein und alle Sonden wurden korrekt konnektiert. Nach einer kurzen Ruhephase von einigen Minuten wurde mit Hilfe des Barostaten und der korrekt im Magen positionierten Ballonsonde der MDP (siehe auch Absatz 3.6.3) ermittelt und eingestellt. Die korrekte Lage der gastro-duodenalen Sonde wurde mittels Potentialdifferenz zwischen Magen und Duodenum überprüft und erst dann mit der Aufzeichnung der gastro-duodenalen und ösophagealen, basalen Motilität für 10 Minuten begonnen. Im Anschluss erfolgte die intravenöse Aufsättigung der jeweiligen Prüfsubstanzen. Dabei wurde synthetisches GLP-1 für 10 Minuten in der doppelten Dosis sowie Atropin in Form eines einmaligen Bolus verabreicht und

anschließend die Perfusionsrate auf den jeweiligen, während des ganzen Versuchs konstanten Wert eingestellt. 30 Minuten nach Start der Aufzeichnung erfolgte der eigentliche Versuchsstart.

Innerhalb der gesamten ersten beiden Perioden – interdigestiv und postprandial - der Messung, welche zusammen insgesamt 190 Minuten andauerten, wurde bis auf die Phasen der Distensionen der intragastrale Ballondruck auf MDP + 1 mmHg eingestellt und somit sichergestellt, dass der Ballon der Magenwand einerseits anlag, diese aber andererseits nicht gedehnt wurde. Dies diente auch der Äquilibration vor den jeweiligen Serien der gastralen Ballondistensionen (interdigestiv nach insgesamt 70 min, unter duodenaler Lipidperfusion nach 30 min). Im Anschluss an die zweite Serie gastraler Distensionen unter duodenalem Lipid wurde der basale intragastrale Ballondruck auf MDP + 4 mmHg geändert, wodurch der Magenfundus für die letzten 70 Minuten eines jeden Versuchstages dauerhaft gedehnt wurde. Der erhöhte Magenfundusdruck diente als Auslöser transienter Erschlaffungen des unteren Ösophagussphinkters und insofern der Messung der Ösophagusmotilität (nicht Bestandteil der Auswertung dieser Arbeit). Abbildung 3.4 zeigt das Studiendesign.

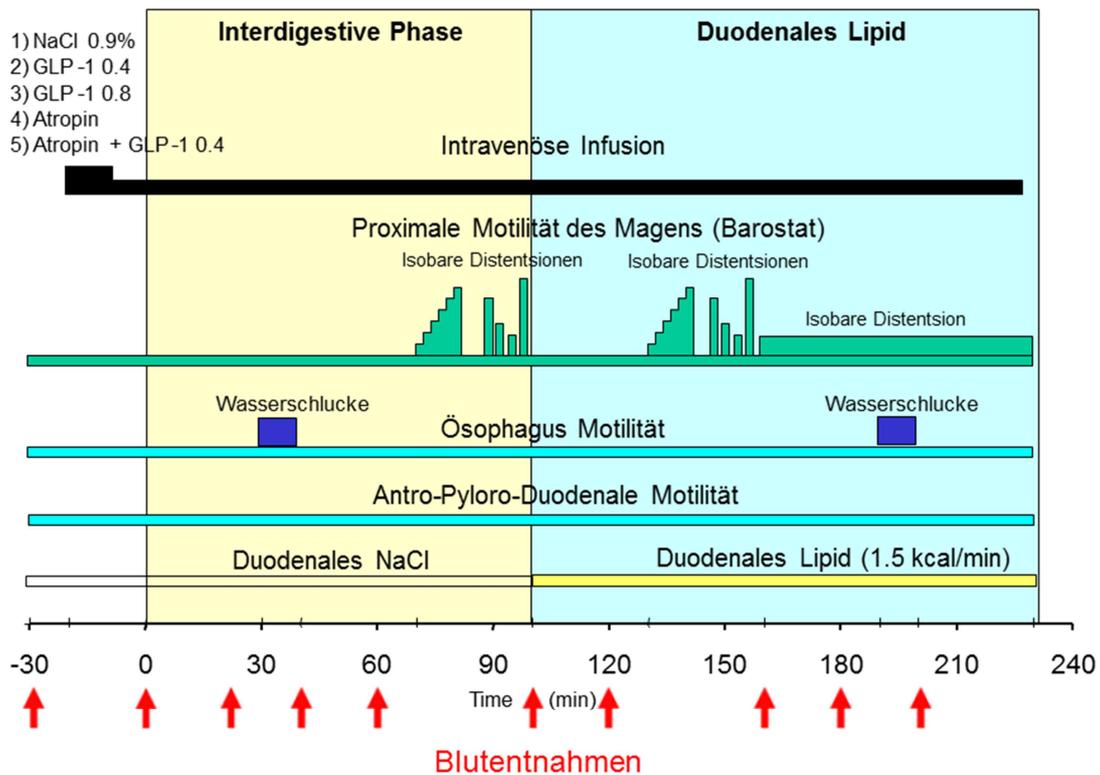


Abbildung 3.4 Studiendesign

Nach Bestimmung des MDP wurde mit der Aufzeichnung der gastralen und duodenalen Motilität begonnen. Es wurde eine Blutentnahmen durchgeführt, diese diente als Basalwert. Nach Aufsättigung der infundierten Prüfsubstanzen für 10 min und Erreichen des „Steady States“ nach weiteren 10 min ($t = 0$ min) wurde über einen Zeitraum von 60 min, mit 10-minütiger Unterbrechung durch die Wasserschlucke, die interdigestive Motilität gemessen (intra-gastraler Ballondruck MDP + 1 mmHg). In den letzten 30 min der interdigestiven Phase wurde der proximale Magen mit Hilfe des intra-gastralen Ballons distendiert zur Messung der gastralen Perzeption von Dehnungsreizen. Anschließend wurde Lipid intraduodenal unter konstantem Fluss perfundiert (1.5 kcal/min), um einen postprandialen Zustand zu erzeugen. 30 min nach Beginn der duodenalen Fettperfusion erfolgten wieder proximale gastrale Ballondistensionen. Es folgte eine 70-minütige postprandiale Messperiode der ösophagealen Motilität unter erhöhtem intra-gastralen Ballondruck (MDP + 4 mmHg). Sowohl nüchtern als auch postprandial wurde die Ösophagusmotilität durch 10 standardisierte Wasserschlucken (je 5 ml) gemessen. An jedem Probanden wurden insgesamt fünf Versuche durchgeführt mit intravenösen Infusionen: GLP-1 $0.4 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, GLP-1 $0.8 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, Atropin $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, GLP-1 $0.4 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ + Atropin $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, 0.154 M NaCl (Placebo) als Kontrolle.

Innerhalb der ersten, interdigestiven Messperiode wurden 30 Minuten nach Versuchsstart innerhalb von 10 Minuten zehn kontrollierte Wasserschlucke durchgeführt, um die Ösophagusmotilität unter standardisierten Bedingungen zu messen. Dabei bekam der Proband 5 ml Leitungswasser in die Mundhöhle gespritzt und musste dieses auf Kommando in Gänze hinunterschlucken. Es folgte eine 30-minütige Ruhephase zur Messung der interdigestiven Motilität. Danach wurden zur Messung der Perzeption zuerst in zufälliger Reihenfolge mit vom Computer generierten Drücken, und dann, nach kurzer Ruhepause von anderthalb Minuten, vier exakt vordefinierte (randomisiert MDP + 2/4/6 und + 8 mmHg) Distensionen des proximalen Magens mit Hilfe des Barostat-Ballons durchgeführt.

Um einen postprandialen Zustand zu erzeugen wurde anschließend eine Fettlösung (überwiegend mittel- und langkettige Fettsäuren) intraduodenal perfundiert. Beginn war 100 Minuten nach Versuchsstart. Das Fett wurde als flüssige Lösung unter während des gesamten weiteren Versuchs konstanter Perfusionsrate von 1.5 kcal/min in das distale Duodenum abgegeben. Durch die direkte intraduodenale Perfusion der Mahlzeit konnten einerseits, wie bei oraler Gabe zu erwarten, Interaktionen der Nahrung mit dem Barostat-Ballon ausgeschlossen und andererseits die durch die jeweiligen Prüfsubstanzen modulierte Magenentleerung umgangen und somit die Freisetzung endogenen GLP-1 gewährleistet werden.

Die ersten 30 Minuten der postprandialen Phase diente der Äquilibration und Messung der Motilität des Ösophagus sowie des Magens und Duodenums (MDP + 1 mmHg). Anschließend wurde der proximale Magen durch den Barostat-Ballon mit in zufälliger Reihenfolge vom Computer generierten, sowie, nach kurzer Ruhepause von anderthalb Minuten, mit vier exakt vordefinierten (randomisiert MDP + 2/4/6 und + 8 mmHg) Drücken distendiert (gleiches Schema wie interdigestiv, zur Messung der Perzeption siehe unten). Nach dreiminütiger Äquilibrationsphase begann die 70-minütige

postprandiale Messperiode der ösophagealen Motilität unter erhöhtem intragastralen Ballondruck (MDP + 4 mmHg), um die postprandiale Magenfüllung zu simulieren. 30 Minuten nach Beginn dieser ständigen isobaren Distension des proximalen Magens wurden 10 kontrollierte und standardisierte Wasserschlucke (je 5 ml Leitungswasser, siehe oben, intragastraler Ballondruck MDP + 4 mmHg) durchgeführt.

Jeder Proband durchlief fünf Versuchstage in unterschiedlicher, randomisierter Reihenfolge. Als Hintergrundinfusion wurde GLP-1 gelöst in 1 % Humanalbumin entweder mit einer Perfusionsrate von $0.4 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ oder mit $0.8 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, Atropin mit $5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, GLP-1 kombiniert mit Atropin (GLP-1 mit $0.4 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ und Atropin mit $5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) oder 0.154 M NaCl als Placebokontrolle intravenös infundiert. Die Prüfsubstanzen GLP-1 und Atropin wurden 20 min vor Start der eigentlichen Messung aufgesättigt. Die Vitalparameter Puls und Sauerstoffsättigung wurden kontinuierlich überwacht, um das Wohlbefinden der Probanden sicherzustellen.

An jedem Versuchstag wurden Blutentnahmen nach dem Prinzip der „heated hand“ aus der retrograd gelegenen Venenverweilkanüle entnommen. Dabei wurde die entsprechende Extremität vor jeder Blutentnahme mindestens 10 Minuten durch eine temperatursensor-gesteuerte Infrarotlampe auf 40°C erwärmt, wodurch sich in der Hand und Unterarm arteriovenösen Shunts öffnen und das venöse dem arteriellen Blut angeglichen wurde. In jedem Experiment wurden 10 Blutproben zu je 9 ml abgenommen: Die erste, basale Blutentnahme fand vor Aufsättigung der Hintergrundinfusionen statt, die Zweite nach Erreichen des Steady States der Prüfsubstanzen (Zeitpunkt „0“) und die Dritte unmittelbar vor den interdigestiven Wasserschlucken ($t = 20 \text{ min}$). Die vierte und fünfte Blutentnahme wurde dann während der 30-minütigen interdigestiven Messperiode durchgeführt, wobei eine direkt nach den interdigestiven Wasserschlucken und die andere 10 Minuten vor Beginn

der interdigestiven Distensionen ($t = 40$ und 60 min) entnommen wurde. Fünf weitere Blutproben fanden in der postprandialen Periode unter duodenaler Lipidperfusion statt, davon die erste 10 min nach Start der duodenalen Lipidinfusion, die zweite unmittelbar vor den postprandialen Distensionen und die dritte nach Erreichen des intragastralen Ballondrucks von $MDP + 4$ mmHg. Die letzten zwei Blutentnahmen wurden unmittelbar vor und nach den postprandialen Wasserschlucken bei intragastralem Ballondruck von $MDP + 4$ mmHg durchgeführt ($t = 100, 120, 160, 180, 200$ min). Das Blut wurde in Standard-EDTA-Röhrchen (1000 Kallikrein-inhibitorische Einheiten Aprotinin pro ml Blut) entnommen, unmittelbar auf Eis abgekühlt und umgehend 15 min lang bei 5000 Upm zentrifugiert. Das hierdurch gewonnene Blutplasma wurde abpipettiert, sofort eingefroren und bei -30 °C bis zur Hormonbestimmung gelagert. Die Blutplasmaproben dienten dem Nachweis der Immunreaktivitäten der Peptidhormone GLP-1, Insulin und Pankreatisches Polypeptid.

3.6.2 Positionieren des Barostat-Ballons

Der luftleere und möglichst klein zusammengefaltete Ballon wurde transoral unter ständigem Schlucken in den Magen vorsichtig eingeführt. Nachdem sich der Untersucher überzeugt hatte, dass der Ballon intragastral lag, konnte dieser durch 300 ml Luft entfaltet und anschließend die kombinierte Ösophagus-Ballonsonde soweit zurückgezogen werden, bis der Sleeve-Sensor beim willkürlichen Trockenschluck eine Relaxierung des unteren Ösophagussphinkters zeigte. Aufgrund der Bauart der Sonde befand sich der proximale Rand des Ballons nun ca. zwei Zentimeter distal des unteren Ösophagussphinkters im Magen. Danach wurde die Sonde mit einem Klebestreifen an der Haut des Probanden fixiert, der Ballon wieder vollständig entleert und die Ballon-Sondenkanäle mit dem auf den aktuell umgebenden Luftdruck geeichten elektronischen Barostaten verbunden (siehe Absatz 3.5).

3.6.3 Minimaler Dehnungsdruck (MDP)

Der MDP entspricht dem intraabdominell vorherrschenden Druck. Zur Bestimmung desselbigen wurde der Ballondruck durch den Barostaten alle 60 Sekunden stufenweise um 1 mmHg so lange erhöht, bis ein Ballonvolumen von mindestens 30 ml über mindestens zwei Minuten aufrecht erhalten wurde. Der auf diese Weise und zu jedem Versuchstag neu bestimmte MDP hebt den individuellen intraabdominellen Druck auf, sodass der Ballon der Magenwand anliegt und diese nicht gedehnt wird.

3.6.4 Messung von Fundustonus und isobaren Distensionen

Der Fundustonus wurde anhand des Volumens des Barostatballons bestimmt, wobei das Ballonvolumen umgekehrt proportional zum Fundustonus ist. Dies bedeutet, dass, bei gleichen Druckwerten, je mehr Volumen sich im Ballon befindet, desto geringer ist der Fundustonus und umgekehrt. Das Ballonvolumen wurde in allen Experimenten für die gesamte Dauer der Versuche durch den Barostaten gemessen und auf einem Computer aufgezeichnet. Ausgewertet wurde das während der isobaren Distensionen gemessene Volumen in der interdigestiven und der postprandialen Periode.

Nach Aufsättigung der jeweiligen Testsubstanz und Erreichen des Steady States (Zeitpunkt 0 min) wurde die erste interdigestive Distensionsserie zum Zeitpunkt 70 min durchgeführt, welche 30 Minuten nach Beginn der duodenalen Lipidperfusion unter postprandialen Bedingungen wiederholt wurde (Zeitpunkt 130 min). Das Ballonvolumen wurde interdigestiv und postprandial für die letzten 30 Sekunden der insgesamt 60 Sekunden andauernden, randomisierten Distensionen mit 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP bestimmt. Eventuelle phasische Volumenkontraktionen wurden identifiziert und die Messergebnisse hiervon bereinigt.

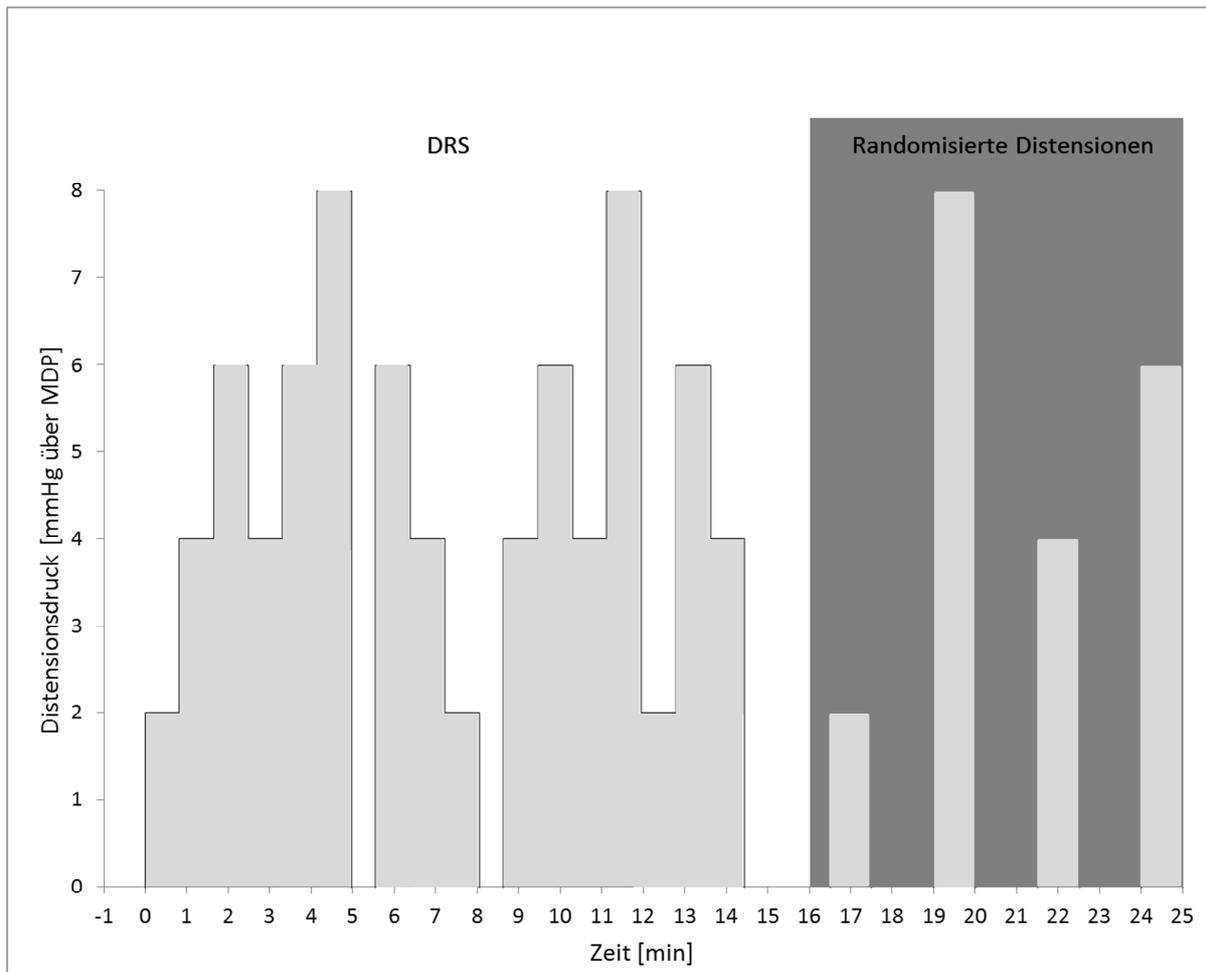


Abbildung 3.5 Ablauf des interdigestiven und postprandialen Distensionsprotokolls

Jede Distensionsserie bestand aus zwei Phasen. Zunächst wurden rein vom Computer generierte Distensionen zur Bestimmung des maximal tolerierbaren intragastralen Drucks durchgeführt (double random staircase (DRS)): beginnend bei MDP + 0 mmHg wurde der Druck im Ballon stufenweise solange um 1 bis maximal 2 mmHg gesteigert, bis der Proband zum ersten Mal die Taste „3“ (starker Druck/starkes Völlegefühl) drückte. Daraufhin führte das Computerprogramm selbstständig Distensionen des Magens mit geringerem oder bis maximal um 2 mmHg über dem bei Taste „3“ ermittelten Druck durch, um das Messergebnis zu validieren. Zwischen den zwei Distensionsphasen wurde der Ballondruck auf 0 mmHg reduziert und eine mindestens anderthalbminütige Pause eingelegt bis sich das Ballonvolumen wieder auf etwa den Ausgangswert vor Beginn der Magendistensionen einstellte. In der zweiten Phase wurden der Magenfundus randomisiert 60 Sekunden lang mit MDP + 2, 4, 6 oder 8 mmHg distendiert. Zwischen den randomisierten Distensionen wurde eine Pause von 90 Sekunden unter MDP + 0 mmHg eingelegt. Kurz vor Ende jeder Distension bewerteten die Probanden ihre Perzeption bezüglich Druck/Völlegefühl, Übelkeit, Schmerz, Hunger (Wunsch zu essen) und Sättigung mittels einer virtuellen Analogskala.

Jede Distensionsserie (siehe Abbildung 3.5 Distensionsprotokoll) bestand aus zwei Phasen. Zuerst wurde eine rein computergenerierte Serie isobarer Distensionen unterschiedlicher Drücke zur Bestimmung des maximal tolerierbaren intragastralen Drucks durchgeführt. Die Distensionen hatten eine Dauer von je 50 Sekunden und waren stellenweise durch Pausen von 35 Sekunden getrennt. Nach 40 Sekunden unter Distension beurteilten die Probanden ihr Empfinden bezüglich der Qualität Übelkeit/Druck mittels einer numerischen Skala, die von 0 (kein Empfinden) bis 5 (maximal vorstellbare Missempfindung) reichte (siehe Abbildung 3.6 Bewertungsbogen I). Die Probanden wurden instruiert, den Abstand zwischen den einzelnen Intervallen als gleich groß zu betrachten. Das Steuerungsprogramm des Ballons war so eingestellt, dass es den intragastralen Ballondruck kontinuierlich schrittweise um maximal 2 mmHg steigerte, bis der Proband zum ersten Mal die Taste „3“ (starker Druck/starkes Völlegefühl, siehe Abb. 3.6) drückte. Daraufhin führte das Computerprogramm selbstständig Distensionen des Magens mit geringerem oder bis maximal um 2 mmHg über dem bei Taste „3“ ermittelten Druck durch, um dieses Messergebnis zu validieren (double random staircase, DRS). Die gesamte Dauer dieser Serie betrug 15 Minuten. Eine Beurteilung des Druck-/Völlegefühls mit einem Score von 5 führte zum sofortigen Abbruch der jeweiligen Distension. Maximal wurde der Magen bis MDP + 8 mmHg gedehnt. Das Ballonvolumen wurde kontinuierlich während der gesamten Distensionsserie computergestützt aufgezeichnet. Diese Angaben dienen der Vollständigkeit und die Messergebnisse dieser ersten Distensionsserie wurden in dieser Arbeit nicht ausgewertet.

Distension		
Bitte entsprechende Taste drücken, wenn grünes Licht leuchtet und Ton piept		
Taste 0	➡ ➡ ➡ ➡	kein Empfinden
Taste 1	➡ ➡ ➡ ➡	vages Empfinden (unsicher)
Taste 2	➡ ➡ ➡ ➡	eindeutiges Empfinden (nicht unangenehm)
Taste 3	➡ ➡ ➡ ➡	starker Druck, starkes Völlegefühl
Taste 4	➡ ➡ ➡ ➡	Unbehagen
Taste 5	➡ ➡ ➡ ➡	sofortiger Abbruch!

Abbildung 3.6 Bewertungsbogen I

Intensität der Empfindungen im Oberbauch?
Bitte nach dem Signalton bzw. auf Aufforderung Markierung setzen.

Druck/Völlegefühl	min	max
	<input type="text"/>	
Hunger	min	max
	<input type="text"/>	
Übelkeit	min	max
	<input type="text"/>	
Sättigung	min	max
	<input type="text"/>	
Schmerz	min	max
	<input type="text"/>	

Abbildung 3.7 Bewertungsbogen II
Abbildung 3.6 und 3.7 Bewertungsbögen der interdigestiven und postprandialen Distensionen. Erläuterungen siehe Text.

Vor Beginn der zweiten Distensionsserie wurde mindestens anderthalb Minuten gewartet, sodass sich das Ballonvolumen wieder auf annähernd den Ausgangswert einstellen konnte. Nach Erreichen dieses „basalen“ Ballonvolumens wurde der proximale Magen durch vier randomisierte Distensionen mit Druckwerten von MDP + 2, 4, 6 und 8 mmHg gedehnt (siehe Abbildung 3.5 Distensionsprotokoll). Die Distensionsdauer betrug je eine Minute. Zwischen den einzelnen Distensionen wurde der Ballondruck auf MDP + 0 mmHg gesenkt und eine Pause von anderthalb Minuten eingelegt. Unter laufender Magendistension wurden die Probanden nach 40 Sekunden aufgefordert, ihre Perzeption bezüglich der fünf Qualitäten Druck/Völlegefühl, Hunger (Wunsch zu essen), Übelkeit, Sättigung und Schmerz zu evaluieren. Hierzu wurde eine 10 cm lange visuelle Analogskala, die nur jeweils am linken Ende eine Markierungen „min“ (kein Empfinden) und am rechten „max“ (maximal vorstellbares Empfinden) zeigte (siehe Abbildung 3.7 Bewertungsbogen II), verwandt. Die Probanden wurden instruiert, einen linearen Verlauf zwischen den Maxima der virtuellen Analogskala anzunehmen. Ähnlich zur ersten Distensionsserie führte die Beurteilung einer der Qualitäten Druck/Völlegefühl, Übelkeit und Schmerz mit maximalen Score zum vorzeitigen Ende der jeweiligen Distension. Das Ballonvolumen wurde während der gesamten Distensionsserie kontinuierlich computergestützt aufgezeichnet.

3.7 *Analyse des Fundustonus und der gastralen Perzeption*

3.7.1 Fundustonus

Die gemessenen Druck- und Volumenwerte des Barostat-Ballons wurden mit einer Frequenz von 1 Hz computergestützt aufgezeichnet, wobei das Volumen automatisch um die Komprimierbarkeit der Luft korrigiert wurde. Das

unter der jeweiligen Distension erreichte Ballonvolumen wurde als Mittelwert der während der letzten 30 Sekunden aufgezeichneten Volumenwerte nach Subtraktion des basalen Volumenwertes und Elimination der Volumenkontraktionen computergestützt bestimmt. Der basale Volumenwert war das jeweilige Ballonvolumen unter MDP + 0 mmHg. Als Volumenkontraktionen wurden Änderungen des Ballonvolumens von mindestens 30 ml definiert, die sich maximal nach zwei Minuten wieder um mindestens 50 % normalisierten (Azpiroz and Malagelada 87), wobei eine Volumenänderungsrate von mindestens 1.9 ml/Sekunde erreicht werden musste (Schirra et al 02). Die Identifizierung von Volumenkontraktionen wurde primär computergestützt durchgeführt, sekundär visuell kontrolliert und gegebenenfalls händisch korrigiert.

3.7.2 Proximal gastrale Perzeption

Die während der randomisierten Distensionen nüchtern und unter duodenalem Lipid ausgewerteten und anhand einer 100 mm langen VAS ermittelten Perzeptionsscores für die fünf Wahrnehmungsqualitäten Druck/Völlegefühl, Hunger (Wunsch zu essen), Übelkeit, Sättigung und Schmerz wurden mit Hilfe eines Lineals ausgemessen und tabellarisch erfasst. Ferner wurde die Summe aus den Werten der drei Wahrnehmungsqualitäten Druck/Völlegefühl, Hunger (Wunsch zu essen) und Übelkeit für jedes Distensionsniveau gebildet und als sogenannter „Summenscore“ ausgewertet (siehe Abschnitt 3.6.4 und 3.10).

3.8 Messung von GLP-1, Insulin und Pankreatischem Polypeptid (PP) im Plasma

Die Bestimmung der Immunreaktivität von Gesamt-GLP-1 und bioaktivem GLP-1(7-36) bzw. GLP-1(7-37) erfolgte nach Sep-Pak®-Extraktion (solid phase extraction cartridges) des Plasmas mit kommerziellen Ria-Assays (Linco Research, Missouri, USA). Der Antikörper für das bioaktive GLP-1 zeigt keine Kreuzreaktion mit GLP-1(1-36)amid, GLP-1(1-37), GLP-1(9-36)amid oder GLP-1(9-37). Die Immunreaktivitäten von Insulin und Pankreatischem Polypeptid (Eurodiagnostica) wurden mit kommerziellen Ria-Assays im Plasma bestimmt.

3.9 Herkunft von GLP-1 und Atropin

Synthetisch in pharmazeutischer Qualität hergestelltes GLP-1(7-36)amid wurde kommerziell von der Firma Calbiochem Novabiochem (Läufelfingen, Schweiz) erworben (Product Number C-215). GLP-1 wurde in 50 ml Humanalbumin 1 % aufgelöst und mit einem Perfusor in einer Dosis von 0.4 bzw. 0.8 pmol·kg⁻¹·min⁻¹ intravenös appliziert. Zum schnelleren Erreichen eines Steady States wurde während der ersten 10 Minuten mit der doppelten Infusionsgeschwindigkeit infundiert.

Atropinsulfat (Fa. B. Braun Melsungen AG) wurde, nach einem initialen Bolus von 5 µg·kg⁻¹ aufgelöst in NaCl 0.9%, mit 5 µg·kg⁻¹·h⁻¹ kontinuierlich intravenös infundiert.

3.10 **Statistik**

Alle Werte wurden als Mittelwert mit Standardabweichung der Mittelwerte (SEM) berechnet.

Der Fundustonus unter Magendistension wurde bestimmt anhand des gemessenen Ballonvolumens nach Subtraktion des basalen Volumens. Eventuell miterfasste phasische Volumenkontraktionen wurden eliminiert. Ausgewertet wurden interdigestiv und postprandial die letzten 30 Sekunden der insgesamt 60 Sekunden andauernden, randomisierten Distensionen mit 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP.

Die Perzeption gastraler Dehnungsreize (Druck/Völlegefühl, Übelkeit und Schmerz) wurde im Rahmen der isobaren randomisierten Ballondistensionen mit 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP unter Verwendung einer 100 mm visuellen Analogskala erfasst. Durch einfache Summenbildung wurde aus diesen drei Qualitäten zu jedem Druckniveau ein „Summen-Perzeptionsscore“ gebildet. Zusätzlich wurden die Empfindungen von Sättigung und Hunger (Wunsch zu essen) bei jeder Druckstufe als VAS Score erfasst. Für jede der genannten fünf Qualitäten wurde für die einzelnen Probanden der Mittelwert der VAS Scores der vier Druckstufen gebildet.

Die Veränderungen der Plasmahormonkonzentrationen von GLP-1, Pankreatischem Polypeptid (PP) und Insulin wurden zur statistischen Auswertung als Integral (AUC) über dem vor Beginn der intravenösen Infusion gemessenen Basalwert jeweils für interdigestiv und unter duodenalem Lipid berechnet.

Der Kolmogoroff-Smirnoff Test diente der Überprüfung aller Messwerte auf Normalverteilung. Die statistische Auswertung erfolgte ausnahmslos für alle Parameter als zweifaktorielle Varianzanalyse bei wiederholten Messungen (2way RM ANOVA) mit intravenöser Infusion und duodенaler Perfusion (NaCl 0.9% oder Lipid) als unabhängige Faktoren. Eine im ANOVA signifikante

Interaktion der Parameter belegt eine statistisch signifikante Abhängigkeit von Effekten der Infusion von der duodenalen Perfusion. Zeigte die ANOVA einen signifikanten Effekt der intravenösen Infusion oder der duodenalen Perfusion wurden die Unterschiede innerhalb und zwischen den Faktoren mit einem Student-Newman-Keuls-posthoc-Test geprüft. Die Unterschiede waren signifikant bei $P < 0.05$.

Die Datenanalyse ist in den folgenden Ergebnis-Abschnitten zur Verdeutlichung jeweils vorangestellt.

4 Ergebnisse

4.1 *Fundustonus*

Der Fundustonus wurde anhand des Ballonvolumens gemessen. Phasische Volumenkontraktionen des proximalen Magens wurden identifiziert und die Messergebnisse diesbezüglich bereinigt. Ausgewertet wurden interdigestiv und postprandial die letzten 30 Sekunden der insgesamt 60 Sekunden andauernden, randomisierten Distensionen mit 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP. Ballon- bzw. Fundusvolumen und -tonus verhalten sich umgekehrt proportional zueinander: Eine Erhöhung des Fundusvolumens entspricht einer Erniedrigung des Fundustonus und umgekehrt. Als Korrelat für die postprandiale Volumenakkommodation des Magens stieg das basale Fundusvolumen unter duodenaler Lipidperfusion deutlich an.

Das basale Fundusvolumen war nach jeder Distension an allen fünf Versuchstagen zunächst deutlich erhöht, deshalb wurde zwischen jeder der Distensionen eine mindestens 90 Sekunden dauernde Pause, mit einem intragastralen Ballondruck der lediglich dem MDP entsprach, eingelegt, sodass der Magenfundus vom Ballon nicht weiter gedehnt wurde und sich vor den Distensionen das vorher gemessene basale Fundusvolumen wieder einstellen konnte.

Tabelle 4.1 fasst den Effekt der intravenösen Infusionen auf das Ballonvolumen nüchtern und während duodenaler Lipidperfusion zusammen. Für die einzelnen Probanden wurde der Mittelwert des Volumens der vier Druckstufen gebildet. Die statistische Auswertung erfolgte als zweifaktorielle Varianzanalyse mit intravenöser Infusion und duodenaler Perfusion (NaCl 0.9% oder Lipid) als unabhängigen Faktoren. Zeigte diese einen signifikanten Effekt der intravenösen Infusion oder der duodenalen Perfusion, wurden die Unterschiede innerhalb und zwischen den Faktoren mit einem Student-Newman-Keuls-posthoc-Test geprüft.

4.1.1 Interdigestiv

Mit zunehmendem Distensionsdruck nahm das Fundusvolumen nahezu linear zu (Abbildung 4.1). GLP-1 erhöhte signifikant und dosisabhängig das Fundusvolumen. Atropin als cholinerg-muskarinerg Antagonist hatte keinen Effekt auf das Fundusvolumen im Nüchternzustand. Zusätzlich zu niedrig dosiertem GLP-1 gegeben veränderte Atropin auch nicht den Fundusvolumen-steigernden Effekt des GLP-1.

Tabelle 4.1: Ballonvolumina (Fundusvolumina) nüchtern und unter duodенaler Lipidperfusion während randomisierter Ballondistensionen: Effekt von intravenösem GLP-1 und Atropin

	Duodenale Perfusion:		2 way RM ANOVA:		
	NaCl 0.9%	Lipid	Duodenale Perfusion	Intravenöse Infusion	Interaktion
Volumen (ml)					
Intravenöse Infusion (IV):					
NaCl 0.9%	280 ± 25	470 ± 36 #	P<0.001	P<0.001	P=0.027
GLP-1 LD	389 ± 24 *&	584 ± 43 *#			
GLP-1 HD	503 ± 51 *§&	657 ± 50 *#			
Atropin	280 ± 29	596 ± 47 *#			
GLP-1 LD + Atropin	376 ± 42 *&	604 ± 33 *#			

N=10 gesunde Probanden. Mittelwert ± SEM unter den Distensionsdrücken 2, 4, 6 und 8 mmHg + MDP. MDP Minimal Distending Pressure. LD niedrige Dosis, HD hohe Dosis
2way RM ANOVA:

* P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin innerhalb derselben duodenalen Perfusion;

P<0.05 vs. duodenal NaCl 0.9% innerhalb derselben IV Infusion

4.1.2 Duodenale Lipidperfusion

30 Minuten nach Beginn der duodenalen Lipidperfusion mit 1.5 kcal/min wurde der Magen isobar stufenweise distendiert. Das Fundusvolumen erhöhte sich unter allen intravenösen Infusionen deutlich im Vergleich zur Nüchternperiode (Abbildung 4.1). Die unter intravenösem NaCl 0.9% gemessenen Ballonvolumina zeigen die Relaxation des Magens im Rahmen der postprandialen Volumenakkommodation unter der duodenalen Lipidperfusion. GLP-1 steigerte auch postprandial signifikant und dosisabhängig das Fundusvolumen. Im Gegensatz zur Nüchternperiode relaxierte Atropin den Magen deutlich unter duodenalem Lipid. Die unter Atropin erreichten Volumina entsprechen etwa den Werten unter niedrig dosiertem GLP-1. In Kombination mit Atropin hatte GLP-1 keinen additiven Effekt auf das Fundusvolumen.

Ballonvolumina

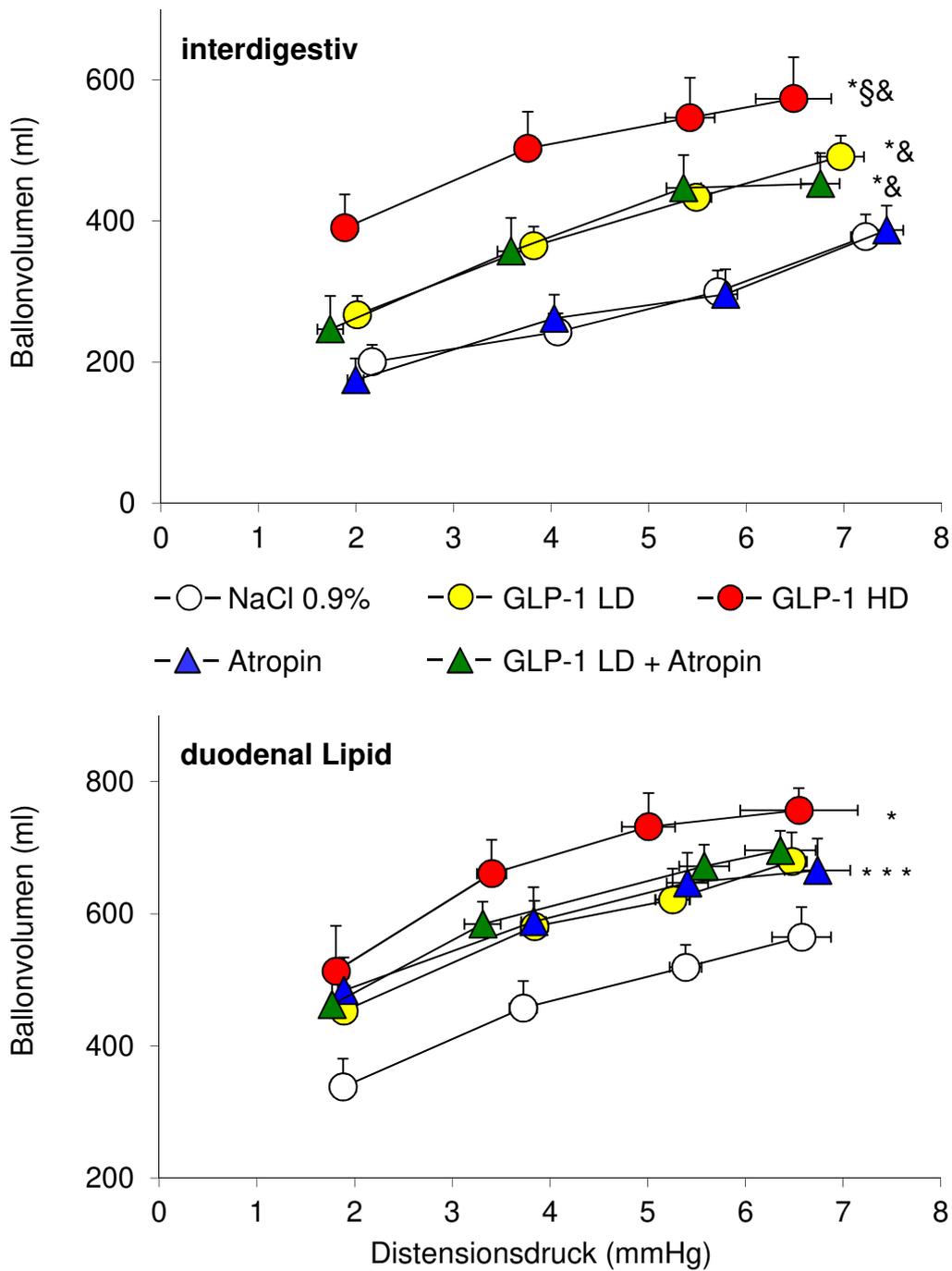


Abbildung 4.1: Ballonvolumina (Fundusvolumina) nüchtern (Bild oben) und unter duodenaler Perfusion mit Lipid (Bild unten) während randomisierter Ballondistensionen von 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP: Effekt von intravenösem (IV) GLP-1 in niedriger (LD) und hoher (HD) Dosis sowie von Atropin. IV NaCl 0.9% als Kontrolle, N = 10, Mittelwert \pm SEM.

* P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin

zur Statistik siehe Tabelle 4.1

4.2 *Gastrale Perzeption von Dehnungsreizen*

Im Rahmen der isobaren randomisierten Ballondistensionen mit 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP wurde die gastrale Sensitivität anhand der Perzeptionsqualitäten Druck/Völlegefühl, Übelkeit und Schmerz unter Verwendung einer 100 mm visuellen Analogskala erfasst. Durch einfache Summenbildung wurde aus diesen Qualitäten zu jedem Druckniveau ein Summen-Perzeptionsscore gebildet. Zusätzlich wurden die Empfindungen von Sättigung und Hunger (Wunsch zu essen) bei jeder Druckstufe als VAS Score erfasst. Die gastralen Distensionen erfolgten nüchtern während duodенaler Perfusion mit NaCl 0.9% sowie während duodенaler Perfusion mit Lipid („postprandial“).

Für jede der genannten Qualitäten wurde für die einzelnen Probanden der Mittelwert der VAS Scores der vier Druckstufen gebildet. Die statistische Auswertung erfolgte als zweifaktorielle Varianzanalyse mit intravenöser Infusion und duodенaler Perfusion (NaCl 0,9% oder Lipid) als unabhängige Faktoren. Falls sich ein signifikanter Effekt der intravenösen Infusion oder der duodенalen Perfusion zeigte, wurden die Unterschiede innerhalb und zwischen den Faktoren mit einem Student-Newman-Keuls-posthoc-Test geprüft.

4.2.1 *Gastrale Sensitivität*

4.2.1.1 *Interdigestiv*

70 Minuten nach Versuchsbeginn wurden nüchtern (während duodенaler Perfusion mit NaCl 0.9%) unter konstanter intravenöser Infusion von NaCl 0.9%, GLP-1 in niedriger (LD) oder hoher (HD) Dosierung, Atropin oder der Kombination von GLP-1 LD und Atropin der Magenfundus randomisiert mit den Druckstufen 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP isobar distendiert. Als

Qualitäten der gastralen Sensitivität wurden Druck/Völlegefühl, Übelkeit und Schmerz mit Hilfe von virtuellen Analogskala-Scores erfragt. Die Addition der VAS-Scores der oben genannten drei Qualitäten bei jedem Druckniveau führte zur Bildung eines Summen-Perzeptionsscore. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst und in den Abbildungen 4.2 und 4.3 dargestellt.

GLP-1 steigerte nüchtern unter duodenaler Perfusion mit NaCl 0.9% signifikant die Perzeption von Druck/Völlegefühl bereits in der niedrigen Dosis und Übelkeit in der hohen Dosis, tendenziell auch in der niedrigen Dosis. Entsprechend änderte sich auch der Summenscore signifikant. GLP-1 hatte keinen Einfluss auf die Perzeption von Schmerz. Atropin hatte nüchtern keinen Einfluss auf die Perzeption von Dehnungsreizen. GLP-1 steigerte die Perzeption auch vor einem Hintergrund mit intravenösem Atropin.

Tabelle 4.2: Perzeptions-Scores während randomisierter Ballondistensionen nüchtern und unter duodenaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem GLP-1 und Atropin

	Duodenale Perfusion:		2 way RM ANOVA:		
	NaCl 0.9%	Lipid	Duodenale Perfusion	Intravenöse Infusion	Interaktion
Druck-/ Völlegefühl					
NaCl 0.9%	25.3 ± 5.0	37.5 ± 4.6 #	P<0.001	P<0.001	P=0.047
GLP-1 LD	36.9 ± 4.9 *	49.2 ± 6.4 *#			
GLP-1 HD	40.3 ± 4.6 *&	61.4 ± 4.4 *§#			
Atropin	26.1 ± 3.0	48.2 ± 4.3 *#			
GLP-1 LD + Atropin	38.0 ± 5.2 *&	63.6 ± 5 *§&#			
Übelkeit					
NaCl 0.9%	14.9 ± 3.8	26.9 ± 6.1 #	P<0.001	P=0.003	P=0.379
GLP-1 LD	21.5 ± 5.0	37.1 ± 7.9 #			
GLP-1 HD	25.4 ± 7.3 *&	45.3 ± 7.6 *&#			
Atropin	15.5 ± 3.3	29.4 ± 3.9 #			
GLP-1 LD + Atropin	26.3 ± 7.1 *&	49.2 ± 8.2 *&#			
Schmerz					
NaCl 0.9%	11.5 ± 3.4	3.3 ± 1.2 #	P=0.280	P=0.026	P=0.043
GLP-1 LD	11.8 ± 3.7	15.8 ± 4.9 *			
GLP-1 HD	15.4 ± 3.8	20.5 ± 5.9 *			
Atropin	7.9 ± 2.1	11.4 ± 2.3			
GLP-1 LD + Atropin	15.9 ± 4.9	20.1 ± 7.3 *			
<p>N=10 gesunde Probanden. Mittelwert ± SEM unter den Distensionsdrücken 2, 4, 6 und 8 mmHg + MDP. MDP Minimal Distending Pressure. LD niedrige Dosis, HD hohe Dosis 2way RM ANOVA: * P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin innerhalb derselben duodenalen Perfusion; # P<0.05 vs. duodenal NaCl 0.9% innerhalb derselben IV Infusion</p>					

Tabelle 4.2 (Fortsetzung): Summen-Perzeptionsscore während randomisierter Ballondistensionen nüchtern und unter duodenaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem GLP-1 und Atropin (Fortsetzung)

	Duodenale Perfusion:		2 way RM ANOVA:		
	NaCl 0.9%	Lipid	Duodenale Perfusion	Intravenöse Infusion	Interaktion
Summen-Perzeptionsscore					
Intravenöse Infusion (IV):					
NaCl 0.9%	51.7 ± 10.9	67.6 ± 10.0 #	P<0.001	P<0.001	0.021
GLP-1 LD	70.2 ± 11.9 *	102 ± 16.1 *#			
GLP-1 HD	81.1 ± 12.3 *&	127 ± 13 *§&#			
Atropin	49.5 ± 6.5	88.9 ± 7.2 #			
GLP-1 LD + Atropin	80.2 ± 16.1 *&	132 ± 18 *§&#			
<p>N=10 gesunde Probanden. Mittelwert ± SEM unter den Distensionsdrücken 2, 4, 6 und 8 mmHg + MDP. MDP Minimal Distending Pressure. LD niedrige Dosis, HD hohe Dosis 2way RM ANOVA: * P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin innerhalb derselben duodenalen Perfusion; # P<0.05 vs. duodenal NaCl 0.9% innerhalb derselben IV Infusion</p>					

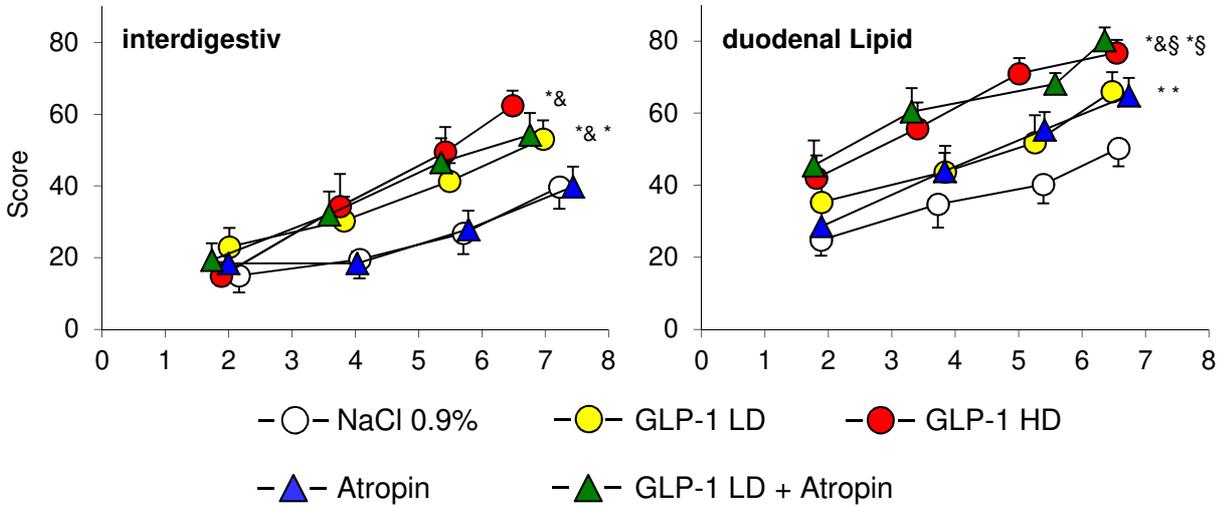
4.2.1.2 *Duodenale Lipidperfusion*

30 Minuten nach Start der duodenalen Lipidinfusion (1,5 kcal/min) wurde der Magenfundus unter konstanter Infusion der jeweiligen intravenösen Testsubstanzen randomisiert mit den Druckstufen 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP isobar distendiert und wie in der Nüchternphase die bereits oben genannten Perzeptionsqualitäten Druck/Völlegefühl, Übelkeit und Schmerz sowie deren Summen-Score mit Hilfe einer visuellen Analogskala erfasst. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst und in den Abbildungen 4.2 und 4.3 dargestellt.

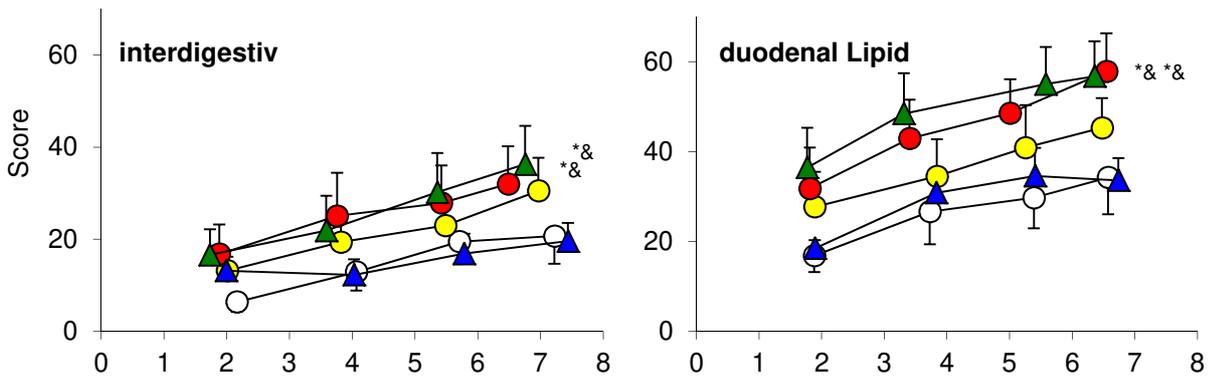
Die duodenale Lipidperfusion steigerte die Perzeption von Druck/Völlegefühl und Übelkeit signifikant und unabhängig von den intravenösen Infusionen. Duodenales Lipid hatte keinen Effekt auf das Empfinden von Schmerz.

GLP-1 steigerte signifikant und dosisabhängig die Perzeption von Druck/Völlegefühl, Übelkeit und von Schmerz. Atropin alleine steigerte ebenfalls signifikant die Wahrnehmung von Druck/Völlegefühl, aber nicht von Übelkeit oder Schmerz. GLP-1 in der niedrigen Dosis (GLP-1 LD) steigerte auch vor Hintergrund mit Atropin und verglichen mit Atropin allein signifikant und additiv die Wahrnehmung von Druck/Völlegefühl und Übelkeit, nicht aber von Schmerz. Die Effekte von GLP-1 LD und Atropin waren isovolämisch, also bei gleichem Fundusvolumen. Dies weist darauf hin, dass der Effekt von GLP-1 auf die gastrale Sensitivität unabhängig erfolgt von der Wirkung auf das Volumen bzw. den Akkomodationszustand des Magens. Die beschriebenen Veränderungen spiegeln sich auch gut im Summen-Score wieder.

Druck / Völlegefühl



Übelkeit



Schmerz

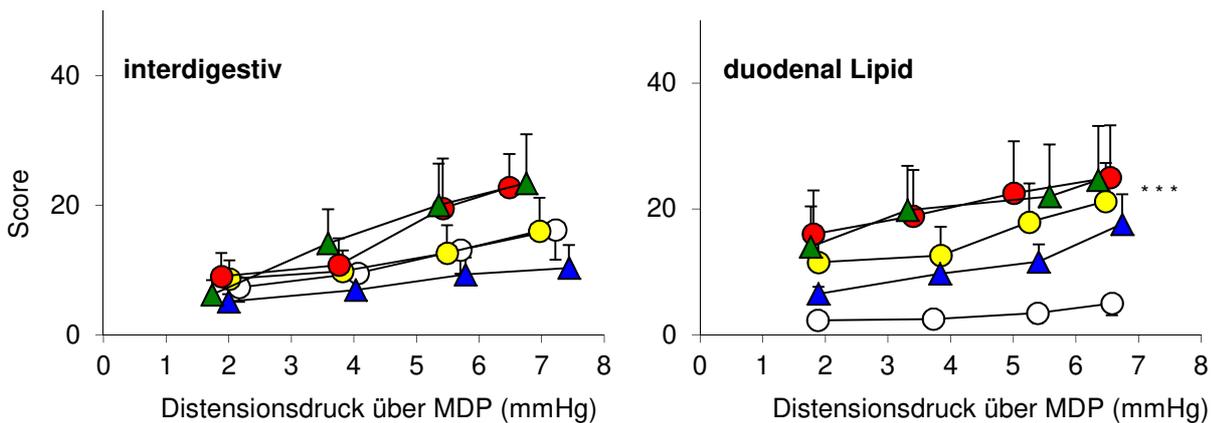


Abbildung 4.2: VAS-Scores für die gastrale Perzeption von Dehnungsreizen nüchtern (Reihe links) und unter duodenaler Perfusion mit Lipid (Reihe rechts) während randomisierter Ballondistensionen von 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP: Effekt von intravenösem (IV) GLP-1 in niedriger (LD) und hoher (HD) Dosis sowie von Atropin. IV NaCl 0.9% als Kontrolle, N = 10, Mittelwert \pm SEM. * $P < 0.05$ vs. IV NaCl 0.9%, § $P < 0.05$ vs. IV GLP-1 LD, & $P < 0.05$ vs. IV Atropin zur Statistik siehe Tabelle 4.2

Summen-Score

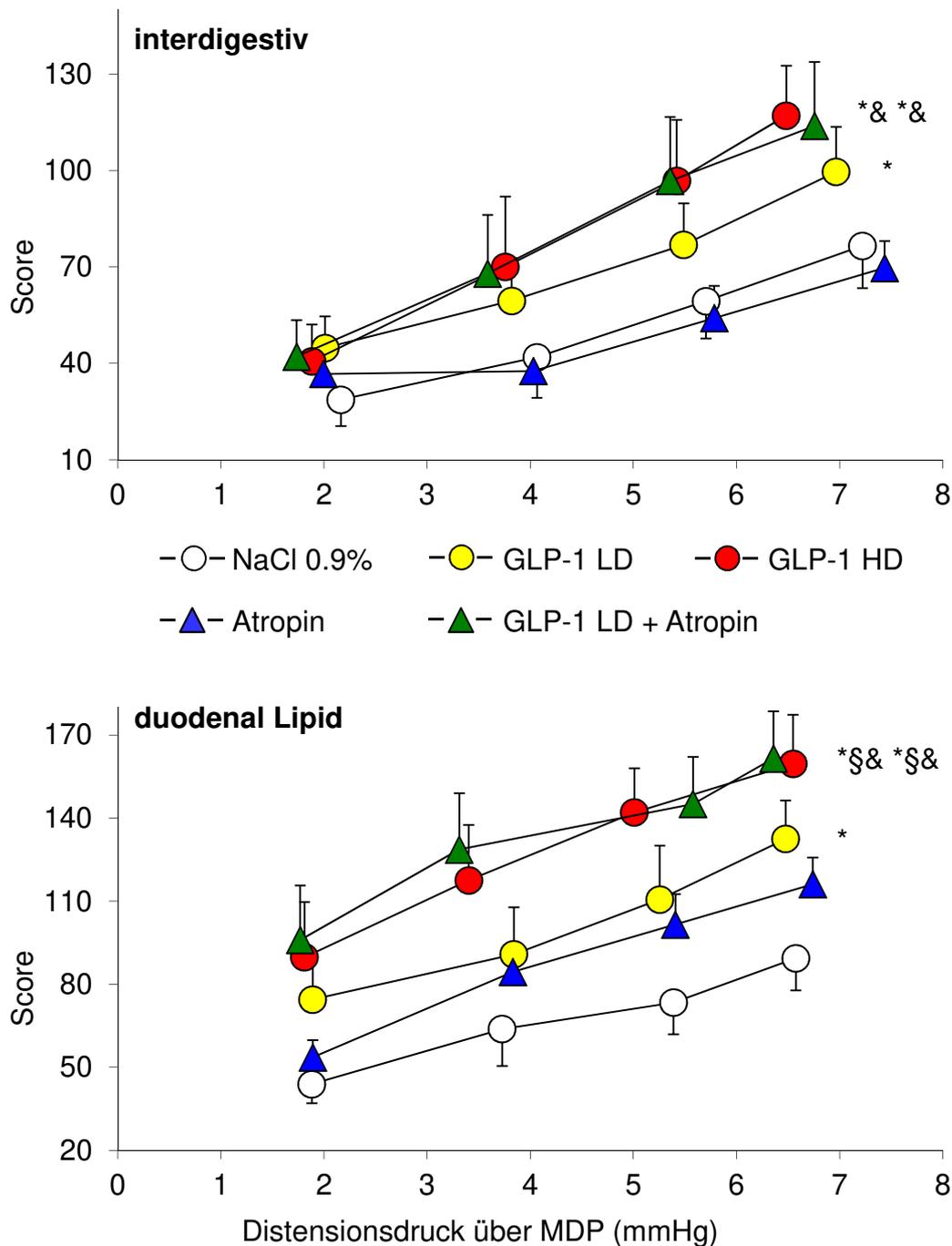


Abbildung 4.3: VAS-Summen-Scores für die gastrale Perzeption von Dehnungsreizen nüchtern (Bild oben) und unter duodенaler Perfusion mit Lipid (Bild unten) während randomisierter Ballondistensionen von 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP: Effekt von intravenösem (IV) GLP-1 in niedriger (LD) und hoher (HD) Dosis sowie von Atropin. IV NaCl 0.9% als Kontrolle, N = 10, Mittelwert ± SEM.

* P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin zur Statistik siehe Tabelle 4.2

4.2.2 Hunger und Sättigung

Den Effekt der duodenalen Lipidperfusion und der intravenösen Infusionen von GLP-1 und Atropin auf das Empfinden von Hunger (Wunsch zu essen) und Sättigung während der gastralen Ballondistensionen zeigen die Tabelle 4.3 sowie die Abbildungen 4.4 und 4.5.

Zunehmender gastraler Druck senkte das Gefühl von Hunger und steigerte das Gefühl von Sättigung. Die duodenale Perfusion von Lipid hatte keinen Effekt auf die Hunger-Scores, steigerte aber die VAS-Scores für Sättigung.

Die hohe Dosis von GLP-1 senkte signifikant das Gefühl von Hunger sowohl nüchtern als auch während duodенaler Lipidperfusion. Das Sättigungsgefühl wurde durch GLP-1 signifikant gesteigert. Es gab einen Trend zu einer dosisabhängigen Wirkung von GLP-1.

Atropin hatte keine Effekte, weder auf das Gefühl von Hunger noch auf das von Sättigung.

Mit einer multiplen linearen Regression untersuchten wir postprandial potentielle Assoziationen zwischen den Perzeptionsqualitäten – Druck-/Völlegefühl, Übelkeit, Schmerz - zu dem Gefühl von Hunger. Dabei war Übelkeit als einzige Perzeptionsqualität signifikant mit einer Abnahme des Hungergefühls assoziiert ($R = 0.501$, $P = 0.0013$). Diese Assoziation bestand unabhängig von der intravenösen Infusion (Abbildung 4.6).

Tabelle 4.3.: Scores für Hunger und Sättigung während randomisierter Ballondistensionen nüchtern und unter duodenaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem GLP-1 und Atropin

	Duodenale Perfusion:		2 way RM ANOVA:		
	NaCl 0.9%	Lipid	Duodenale Perfusion	Intravenöse Infusion	Interaktion
Hunger					
Intravenöse Infusion (IV):					
NaCl 0.9%	28.7 ± 9.2	21.8 ± 5.4	P=0.056	P=0.006	0.264
GLP-1 LD	23.7 ± 6.5	18.4 ± 4.6			
GLP-1 HD	14.6 ± 3.6*&	8.9 ± 2.5 *&			
Atropin	29.9 ± 7.2	23.3 ± 6.3			
GLP-1 LD + Atropin	28.3 ± 7.6	12.2 ± 2.9			
Sättigung					
NaCl 0.9%	29.5 ± 8.8	33.3 ± 8.1	P<0.001	P<0.001	P=0.047
GLP-1 LD	31.4 ± 7.6	41.9 ± 7.8 #			
GLP-1 HD	47.0 ± 10.0	65.6 ± 5.9 *§&#			
Atropin	26.5 ± 6.2	42.3 ± 7.7 #			
GLP-1 LD + Atropin	37.7 ± 9.1	62.4 ± 8.4 *§&#			

N=10 gesunde Probanden. Mittelwert ± SEM unter den Distensionsdrücken 2, 4, 6 und 8 mmHg + MDP. MDP Minimal Distending Pressure. LD niedrige Dosis, HD hohe Dosis
2way RM ANOVA:

* P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin innerhalb derselben duodenalen Perfusion;

P<0.05 vs. duodenal NaCl 0.9% innerhalb derselben IV Infusion

Hunger

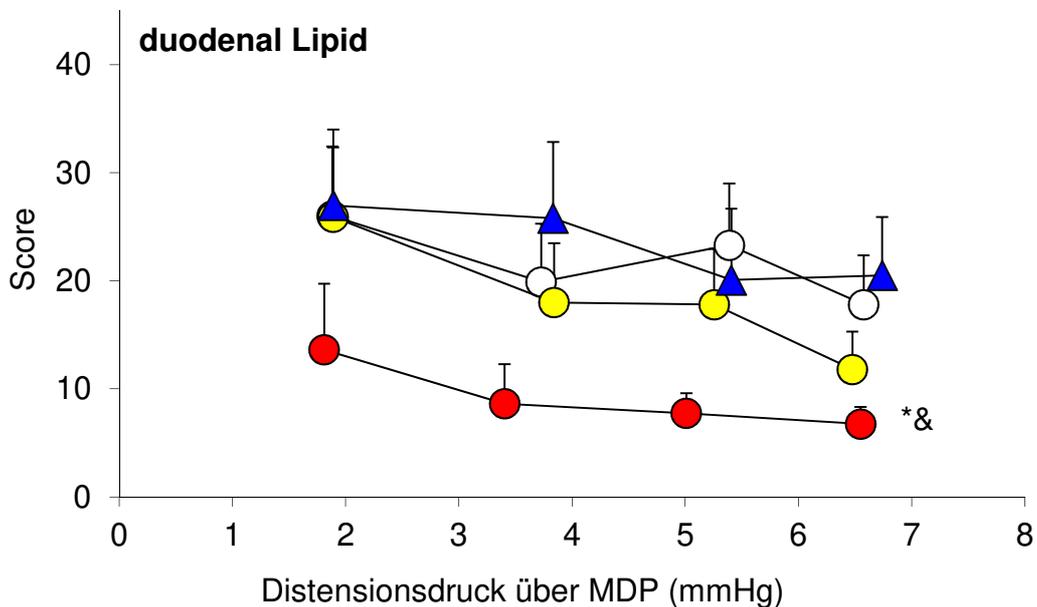
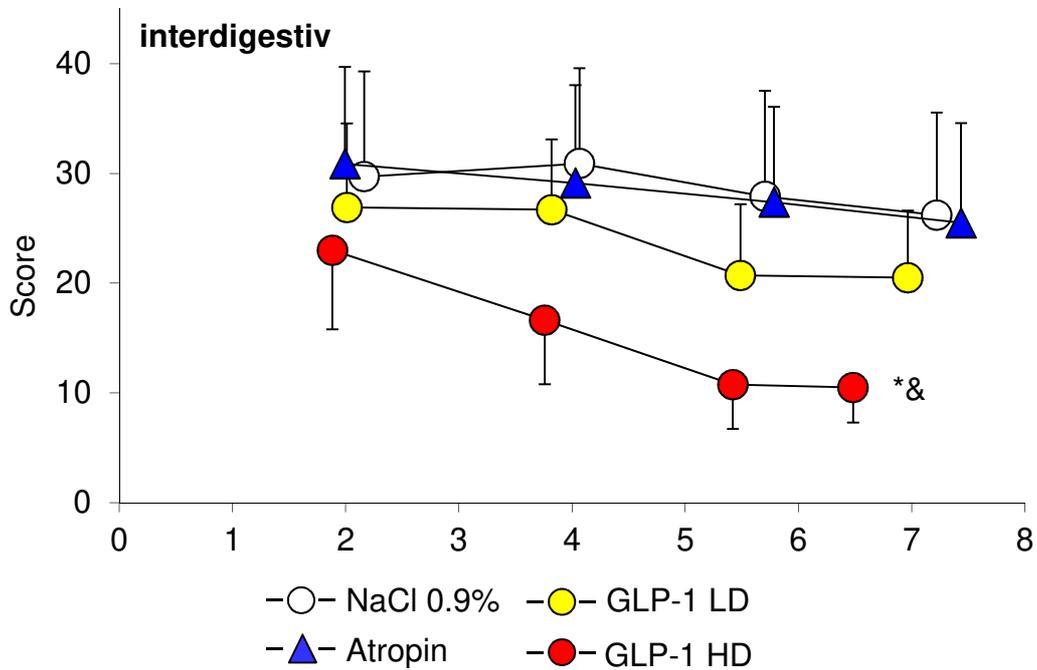
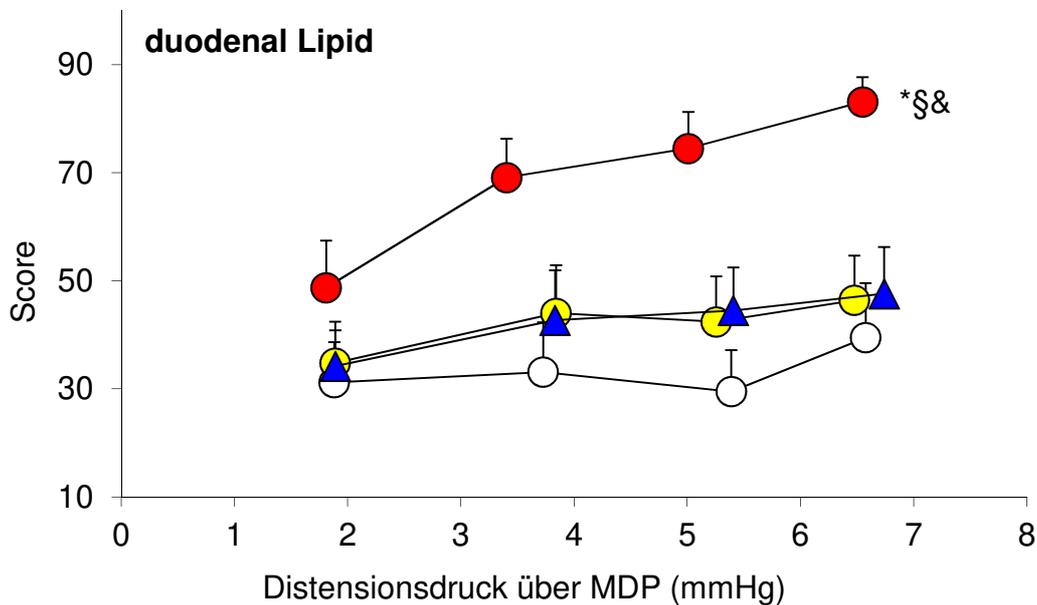
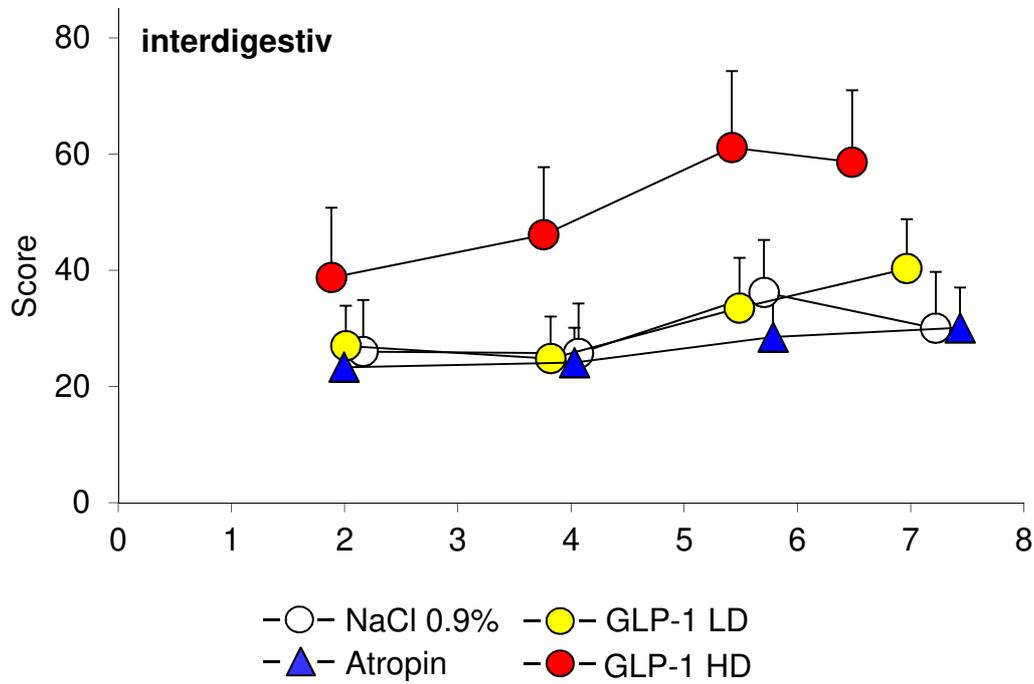


Abbildung 4.4: VAS-Scores für die Wahrnehmung von Hunger (Wunsch zu essen) nüchtern (Bild oben) und unter duodенaler Perfusion mit Lipid (Bild unten) während randomisierter gastraler Ballondistensionen von 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP: Effekt von intravenösem (IV) GLP-1 in niedriger (LD) und hoher (HD) Dosis sowie von Atropin. IV NaCl 0.9% als Kontrolle, N = 10, Mittelwert ± SEM

* P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin zur Statistik siehe Tabelle 4.3

Sättigung



**Abbildung 4.5: VAS-Scores für das Gefühl von Sättigung nüchtern (Bild oben) und unter duodенaler Perfusion mit Lipid (Bild unten) während randomisierter gastraler Ballondistensionen von 2, 4, 6 und 8 mmHg über MDP: Effekt von intravenösem (IV) GLP-1 in niedriger (LD) und hoher (HD) Dosis sowie von Atropin. IV NaCl 0.9% als Kontrolle, N = 10, Mittelwert ± SEM
 * P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin zur Statistik siehe Tabelle 4.3**

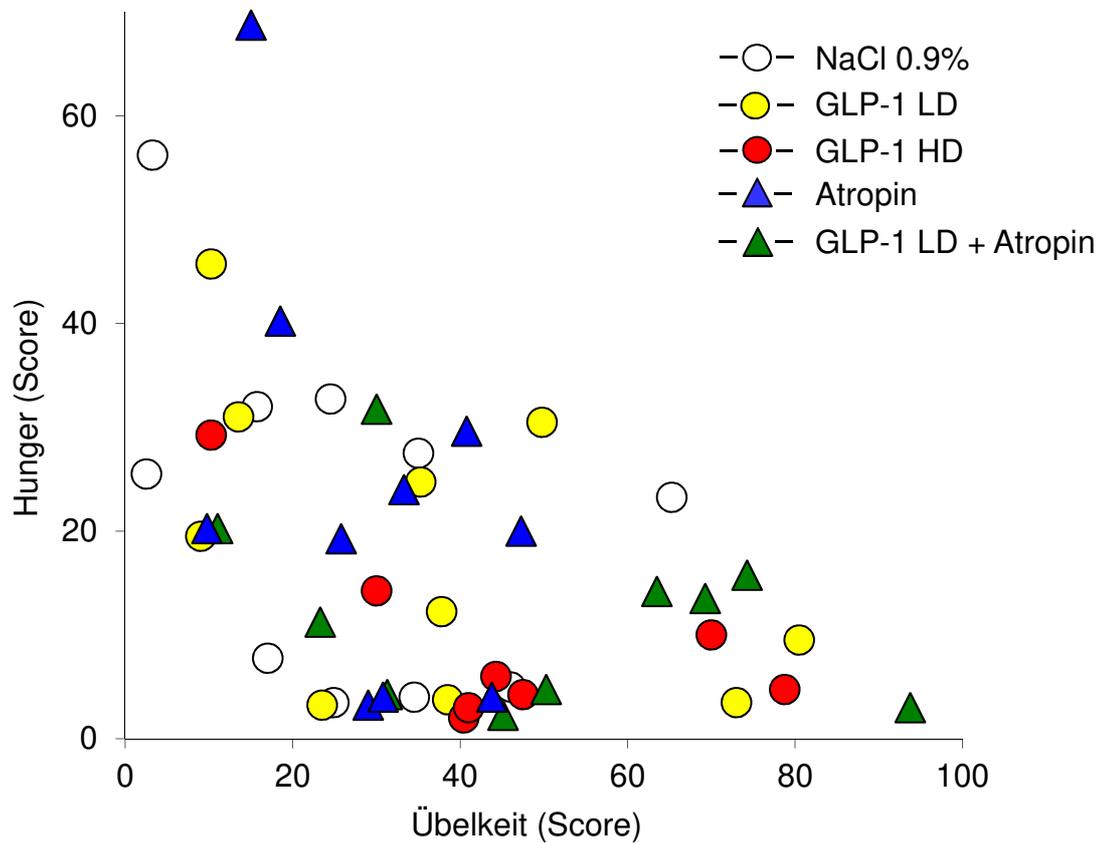


Abbildung 4.6: Korrelation von Hungergefühl und Übelkeit während duodенaler Lipidperfusion. Von den Perzeptionsqualitäten Druck-/Völlegefühl, Schmerz und Übelkeit war in einer multiplen linearen Regressionsanalyse einzig Übelkeit signifikant assoziiert mit abnehmendem Hungergefühl (R= 0.501, P=0.0031)

4.3 *Hormone*

4.3.1 **GLP-1**

GLP-1 im Plasma wurde mit zwei Assays gemessen: bioaktives GLP-1(7-36) und (7-37)amid sowie Gesamt-GLP-1, also sowohl bioaktives GLP-1 als auch durch die ubiquitäre Dipeptidyl-Peptidase-4 (DPP-4) zu inaktivem GLP-1(9-36) degradiertes GLP-1(7-36).

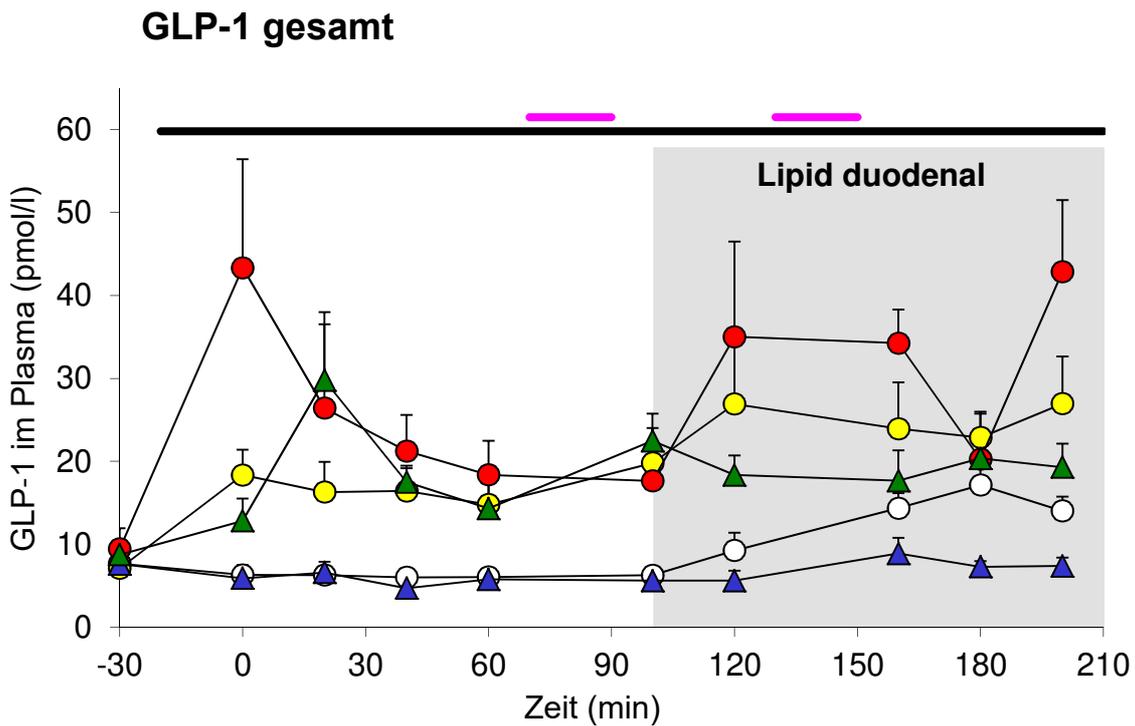
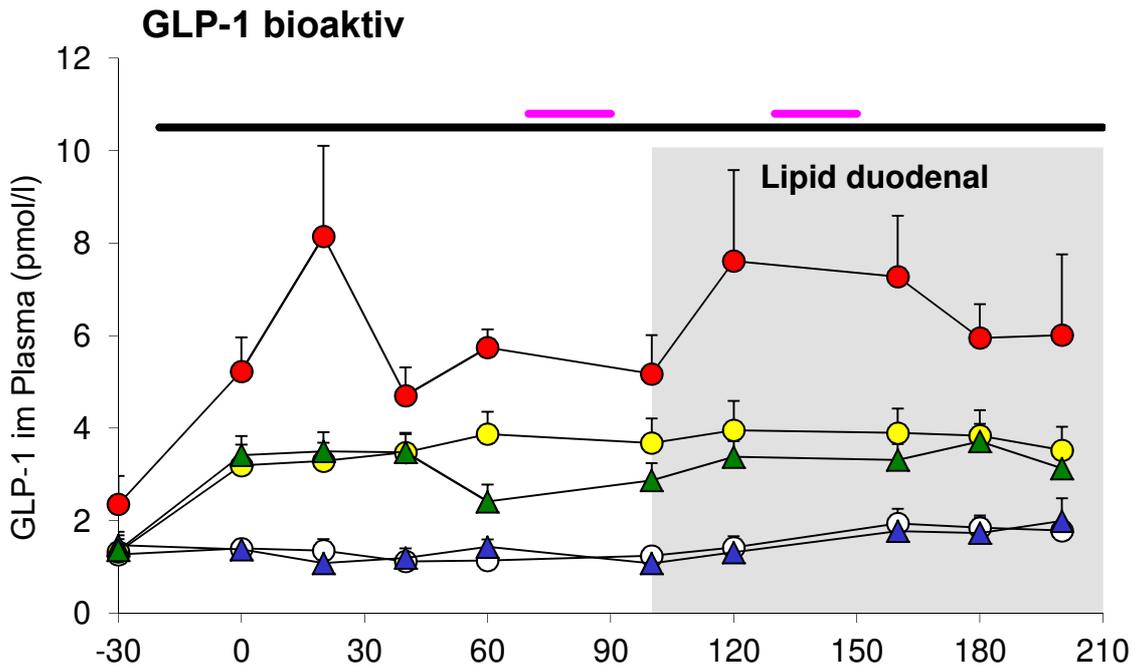
Wie Tabelle 4.4. und Abbildung 4.7 zeigen, stieg Plasma-GLP-1 unter der duodenalen Lipidperfusion signifikant an. Dieser Anstieg wurde durch Atropin nicht gehemmt. Duodenales Lipid setzt also GLP-1 frei, und diese Freisetzung ist nicht cholinerg vermittelt.

Die Änderungen der endogenen GLP-1-Freisetzung wurden mit beiden Assays erfasst, sind aber deutlicher bei Messung von Gesamt-GLP-1. Die Änderungen der GLP-1-Plasmakonzentrationen unter intravenöser Infusion von GLP-1 werden durch die Messung von bioaktivem GLP-1 diskriminativer erfasst (Abbildung 4.7).

Unter Infusion von synthetischem GLP-1 stiegen die GLP-1-Plasmaspiegel erwartungsgemäß signifikant und dosisabhängig an. Die Analyse mit 2way ANOVA zeigte unabhängig von den jeweiligen intravenösen Infusionen eine signifikante Zunahme von Plasma-GLP-1 unter duodenaler Lipidperfusion. Hier kann aber ein „Order“-Effekt nicht ausgeschlossen werden, da die duodenale Lipidperfusion jeweils zeitlich nach der Nüchternphase startete. Theoretisch könnten die GLP-1-Plasmaspiegel auch mit der Dauer der intravenösen Infusionen steigen, ein Steady State also nicht erreicht werden. Auch dann wären sie in der Phase der Lipidperfusion höher als vor Lipidperfusion.

Tabelle 4.4: Plasmakonzentration von GLP-1 nüchtern und unter duodенaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem GLP-1 und Atropin

	Duodenale Perfusion:		2 way RM ANOVA:		
	NaCl 0.9%	Lipid	Duodenale Perfusion	Intravenöse Infusion	Interaktion
GLP-1 bioaktiv (pmol/l · 100 min)					
Intravenöse Infusion (IV):					
NaCl 0.9%	-4.3 ± 11	41 ± 19 #	P=0.005	P<0.001	0.919
GLP-1 LD	224 ± 27 *&	252 ± 30 *&#			
GLP-1 HD	396 ± 69 *§&	474 ± 123 *§&#			
Atropin	-23 ± 24	17 ± 25 #			
GLP-1 LD + Atropin	167 ± 33 *&	199 ± 31 *&#			
GLP-1 Gesamt (pmol/l · 100 min)					
Intravenöse Infusion (IV):					
NaCl 0.9%	-152 ± 59	486 ± 102 #	P=0.013	P<0.001	P=0.061
GLP-1 LD	968 ± 187 *&	1742 ± 346 *&#			
GLP-1 HD	1348 ± 281 *&	2111 ± 501 *&#			
Atropin	-190 ± 84	-50 ± 110 #			
GLP-1 LD + Atropin	1078 ± 220 *&	1030 ± 170 *&#			
N=10 gesunde Probanden. AUC über basal. Mittelwert ± SEM. LD niedrige Dosis, HD hohe Dosis					
2way RM ANOVA:					
* P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin innerhalb derselben duodenalen Perfusion;					
# P<0.05 vs. duodenale NaCl 0.9% innerhalb derselben IV Infusion					



- NaCl 0.9%
- GLP-1 HD
- ▲- GLP-1 LD + Atropin
- GLP-1 LD
- ▲- Atropin
- IV Infusion
- gastrale Ballondistension

Abbildung 4.7: Plasmakonzentration von bioaktivem GLP-1 (Bild oben) und Gesamt-GLP-1 (Bild unten) nüchtern und während duodенaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem (IV) GLP-1 in niedriger (LD) und hoher (HD) Dosis sowie von Atropin. IV NaCl 0.9% als Kontrolle, N = 10, Mittelwert ± SEM

zur Statistik siehe Tabelle 4.4

4.3.2 Pankreatisches Polypeptid

Die Freisetzung von Pankreatischem Polypeptid (PP) steht unter streng vagal-cholinerger Kontrolle. PP ist insofern ein Markerhormon des cholinerger Tonus.

Bereits nüchtern, also unter duodenaler Perfusion von NaCl 0.9%, senkte Atropin signifikant die PP-Plasmaspiegel (Tabelle 4.5, Abbildung 4.8). Dies zeigt, dass bereits nüchtern eine basale tonische vagal-cholinerge Aktivität besteht. Auch intravenöses GLP-1 senkte nüchtern signifikant die basalen PP-Plasmaspiegel. Dies weist hin, dass GLP-1 ein außerordentlicher Inhibitor der vagal-cholinerger Aktivität ist.

Die duodenale Lipidperfusion führte zu einer deutlichen und signifikanten Freisetzung von PP. Diese Freisetzung wurde durch Atropin komplett unterbunden und durch intravenöses GLP-1 dosisabhängig und deutlich reduziert.

Der Effekt auf die PP-Plasmakonzentrationen legt somit nahe, dass GLP-1 ein starker Inhibitor der vagal-cholinerger Aktivität ist.

Tabelle 4.5: Plasmakonzentration von Pankreatischem Polypeptid (PP) nüchtern und unter duodенaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem GLP-1 und Atropin

	Duodenale Perfusion:		2 way RM ANOVA:		
	NaCl 0.9%	Lipid	Duodenale Perfusion	Intravenöse Infusion	Interaktion
Pankreatisches Polypeptid (pg/ml · 100 min)					
Intravenöse Infusion (IV):					
NaCl 0.9%	512 ± 298	5576 ± 1049 #	P<0.001	P<0.001	P<0.001
GLP-1 LD	-531 ± 360 *	1996 ± 871 *&#			
GLP-1 HD	-640 ± 530	-424 ± 497 *§			
Atropin	-1335 ± 203 *	-992 ± 199 *			
GLP-1 LD + Atropin	-1635 ± 282 *	-1531 ± 262 *§			
N=10 gesunde Probanden. AUC über basal. Mittelwert ± SEM. LD niedrige Dosis, HD hohe Dosis 2way RM ANOVA: * P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin innerhalb derselben duodenalen Perfusion; # P<0.05 vs. duodenale NaCl 0.9% innerhalb derselben IV Infusion					

Pankreatisches Polypeptid (PP)

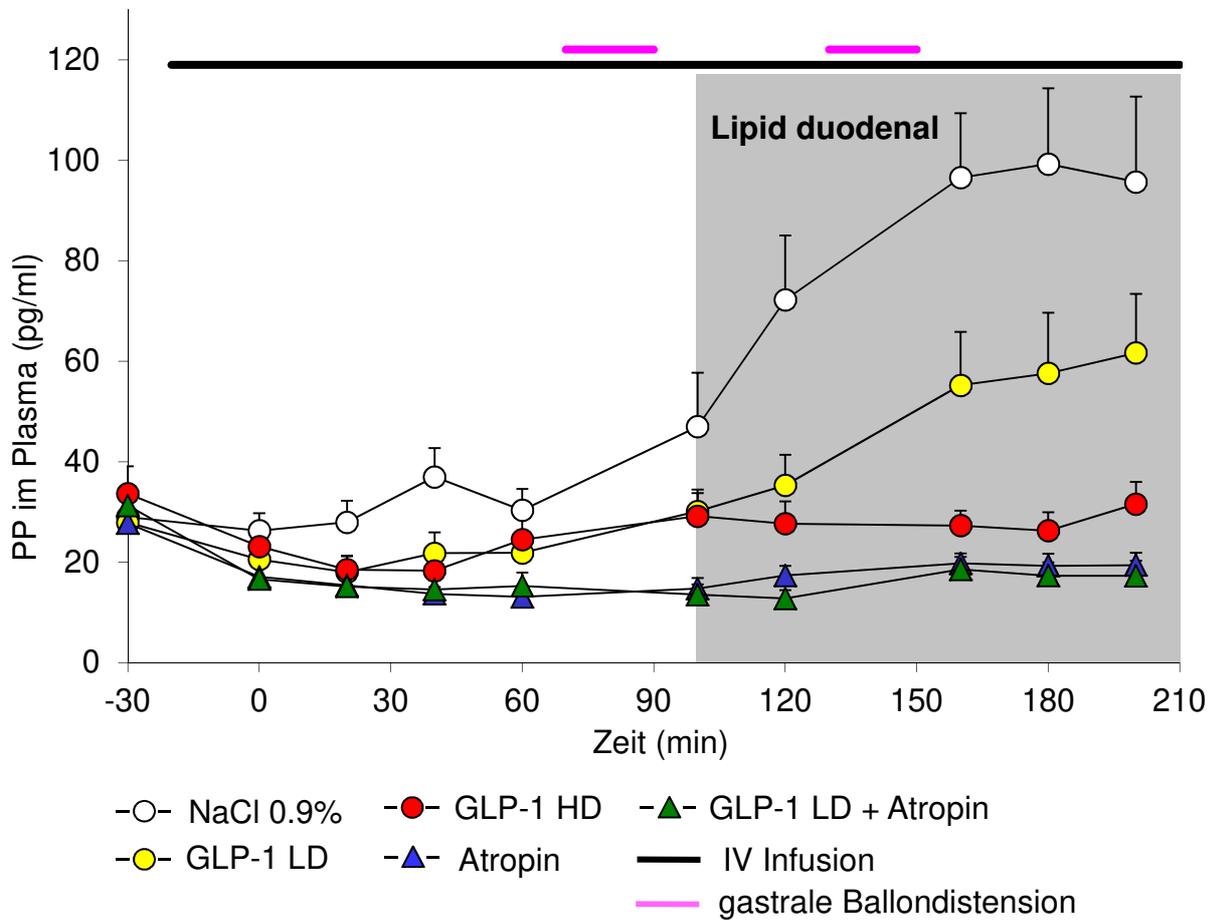


Abbildung 4.8: Plasmakonzentration von Pankreatischem Polypeptid (PP) nüchtern und während duodенaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem (IV) GLP-1 in niedriger (LD) und hoher (HD) Dosis sowie von Atropin. IV NaCl 0.9% als Kontrolle, N = 10, Mittelwert ± SEM zur Statistik siehe Tabelle 4.5

4.3.3 Insulin

Intravenöses GLP-1 steigerte dosisabhängig gering die Insulin-Plasmakonzentration nüchtern zum Zeitpunkt 0 min, also 20 min nach Start der GLP-1-Infusion (Tabelle 4.6, Abbildung 4.9). Das dürfte an dem initialen GLP-1-Bolus gelegen haben. Darüber hinaus hatten weder GLP-1 noch Atropin Effekte auf die Insulin-Plasmakonzentrationen.

Der fehlende Effekt von GLP-1 auf Insulin wundert nicht, da GLP-1 die Insulinfreisetzung glukoseabhängig stimuliert. Da die vorliegenden Untersuchungen an nüchternen Probanden mit basalen Blutzuckerkonzentrationen erfolgten, ist ein Effekt von GLP-1 auf Insulin nicht zu erwarten.

Unter der duodenalen Lipidperfusion stiegen die Insulin-Plasmakonzentrationen gering, aber signifikant an. Dies hatte keinen Effekt auf die Blutzuckerspiegel (Daten nicht gezeigt, nur sporadische Messungen). Auch unter duodenaler Perfusion mit Lipid zeigte sich kein Effekt von GLP-1 oder Atropin auf die Insulin-Plasmakonzentrationen.

Tabelle 4.6: Plasmakonzentration von Insulin nüchtern und unter duodенaler Lipidperfusion: Effekt von intravenösem GLP-1 und Atropin

	Duodenale Perfusion:		2 way RM ANOVA:		
	NaCl 0.9%	Lipid	Duodenale Perfusion	Intravenöse Infusion	Interaktion
Insulin ($\mu\text{U/ml} \cdot 100 \text{ min}$)					
Intravenöse Infusion (IV)					
NaCl 0.9%	-32 \pm 40	309 \pm 63 #	P<0.001	P=0.258	0.003
GLP-1 LD	22 \pm 41	293 \pm 54 #			
GLP-1 HD	76 \pm 64	130 \pm 87			
Atropin	-1.8 \pm 33	265 \pm 68 #			
GLP-1 LD + Atropin	-26 \pm 57	48 \pm 77			
N=10 gesunde Probanden. AUC über basal. Mittelwert \pm SEM. LD niedrige Dosis, HD hohe Dosis 2way RM ANOVA: * P<0.05 vs. IV NaCl 0.9%, § P<0.05 vs. IV GLP-1 LD, & P<0.05 vs. IV Atropin innerhalb derselben duodenalen Perfusion; # P<0.05 vs. duodenale NaCl 0.9% innerhalb derselben IV Infusion					

5 Diskussion

Das Inkretinhormon GLP-1 ist ein wichtiger Regulator der postprandialen Glukosehomöostase. Die Wirkungen des Hormons auf das extraenterische Nervensystem und eventuelle Interaktionen mit anderen regulatorischen Signalwegen des enterischen Nervensystems sind kaum bekannt. Bisher durchgeführte Studien mit synthetischem GLP-1 haben gezeigt, dass dieses Darmhormon die postprandiale Blutglukosekonzentration durch verschiedene Effekte reduziert: es stimuliert die Insulinausschüttung, hemmt die Magenentleerung und den intestinalen Transit sowie reduziert die Nahrungsaufnahme.

Ziele der vorliegenden Arbeit waren deshalb, die Wirkung von synthetischem GLP-1 auf den Fundustonus und die Perzeption des proximalen Magens auf Dehnungsreize, das Appetitempfinden und den Einfluss auf die Freisetzung des vagal-cholinergen Markerhormons Pankreatisches Polypeptid (PP) ins Blut im Nüchternzustand und unter duodenaler Mahlzeitperfusion zu untersuchen. Es ist bekannt, dass das cholinerge Nervensystem einen stimulatorischen Einfluss auf das enterische Nervensystem ausübt. Daher wurde die Kombination mit Atropin gewählt, um zu sehen, welche Wirkungen von GLP-1 cholinerg-muskarinerg vermittelt sind. Die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit sind:

- Synthetisches GLP-1 senkt sowohl interdigestiv als auch postprandial dosisabhängig den Fundustonus und führt dosisabhängig zu einer Relaxation des proximalen Magens. Atropin hat nüchtern keinen Einfluss auf den Fundustonus, senkt ihn aber postprandial, hinweisend auf einen postprandial tonisierenden cholinergen Input auf den Magenfundus. GLP-1 und Atropin wirken postprandial nicht additiv auf das Fundusvolumen. GLP-1 relaxiert den Magen also postprandial zumindest teilweise über eine cholinerge Hemmung. Hingegen ist die interdigestiv relaxierende Wirkung nicht vagal vermittelt.

- Synthetisches GLP-1 steigert dosisabhängig die Perzeption von Druck/Völlegefühl und Übelkeit unter gastral Distension sowohl nüchtern als auch postprandial. Atropin hat nüchtern keinen Effekt, steigert aber die Perzeption von Druck/Völlegefühl postprandial - der unter Atropin relaxierte Magen ist also dehnungsempfindlicher. GLP-1 hatte vor Hintergrund von Atropin postprandial aber keinen zusätzlich relaxierenden Effekt auf das Fundusvolumen, steigerte aber dennoch die Perzeption der Distensionsreize. Die Steigerung der gastralen Perzeption von Dehnungsreizen unter GLP-1 erfolgt somit unabhängig vom gastralen Volumen und ist wahrscheinlich durch eine zentralnervöse Wirkung von GLP-1 bedingt.
- Synthetisches GLP-1 reduziert das Hungergefühl und steigert das Sättigungsgefühl unabhängig vom Distensionszustand des proximalen Magens. Da GLP-1 die Blut-Hirn-Schranke zu passieren vermag und intrazerebral GLP-1 Rezeptoren nachgewiesen wurden, vermuten wir einen direkten Einfluss von GLP-1 insbesondere auf zirkumventrikuläre Organe wie die Area postrema. Die signifikante Korrelation zwischen Hungergefühl und Übelkeit legt allerdings nahe, dass GLP-1-Effekte auf Hunger auch sekundär durch ein Gefühl von Übelkeit bedingt sein können. Es muss sich also nicht um über das zentrale Sättigungszentrum vermittelte Effekte handeln.
- Synthetisches GLP-1 senkt sowohl nüchtern als auch postprandial dosisabhängig die Plasmakonzentration von Pankreatischem Polypeptid, einem Hormon unter streng vagal-cholinergem Kontrolle. GLP-1 hemmt somit den vagal-cholinergen Input.

5.1 ***Wirkung von exogenem GLP-1 auf den Fundustonus***

In den Versuchen relaxierte GLP-1 dosisabhängig sowohl interdigestiv als auch postprandial den Magenfundus. Dies entspricht dem Ergebnis einer früheren Arbeit unserer Gruppe (Schirra et al 02). Im Gegensatz hatte Atropin in der von uns gegebenen Dosis interdigestiv keine Erschlaffung des Fundustonus bewirkt. Allerdings konnten Lidums et al zeigen, dass, nach einem Bolus von $15 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ und anschließender Dauerinfusionsrate von $4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, Atropin sehr wohl eine Senkung des Magentonus bewirkt (Lidums et al 00). Unter einer höheren Dosis von Atropin sind aber zentralnervöse anticholinerge Effekte zu befürchten, die die Wirkung auf das enterische Nervensystem überlagern. So haben auch Studien von Bruley des Varannes und Parys mit geringeren Atropin-Dosen keinen Effekt auf den Fundustonus gezeigt (Parys et al 93; Bruley, V et al 95). Auf jeden Fall kam es in diesen Versuchen nach einem Bolus von $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ und anschließender kontinuierlicher Infusion von $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ Atropin zu keiner Relaxation des Magenfundus in der interdigestiven Phase. Dies zeigen auch sehr schön die Ballonvolumenwerte an den Versuchstagen mit Infusion von GLP-1 niedrig und GLP-1 niedrig in Kombination mit Atropin, die nahezu identisch sind und ohne nachweisbaren Effekt des Atropins. Atropin und somit der vagal-cholinerge Input haben also im Nüchternzustand keinen wesentlichen Einfluss auf den Fundustonus. Eine Hemmung von Stickstoffmonoxid (NO), ein gasförmiger inhibitorischer Neurotransmitter des enterischen Nervensystems, könnte den auch nüchtern relaxierenden Effekt von GLP-1 erklären (Andrews et al 07).

In der postprandialen Phase, unter duodenaler Lipidperfusion, kam es bei allen Versuchstagen zu einer deutlichen Steigerung des Fundusvolumens und damit zu einer Reduktion des Fundustonus im Rahmen der postprandialen Volumenakkomodation. GLP-1 relaxierte den Magen darüber hinaus dosisabhängig. Ebenso führte Atropin zu einer Erschlaffung des proximalen Magens. Dabei war das Ausmaß der Relaxation unter der niedrigen Dosis

GLP-1, unter Atropin und unter der Kombination von GLP-1 niedrig mit Atropin identisch. GLP-1 hatte vor Hintergrund mit Atropin keinen zusätzlichen Effekt auf die Magenrelaxation. Die postprandiale Volumenakkommodation des Magenfundus ist Resultat eines tonisierenden cholinergen und eines relaxierenden nitrogenen Inputs. In einer früheren Studie hatte unsere Arbeitsgruppe bereits gezeigt, dass endogenes GLP-1 postprandial relaxierend wirkt auf den proximalen Magen im Sinne eines endogenen Regulators der postprandialen Fundusakkommodation (Schirra et al 09). Diese Effekte waren vermittelt durch eine Hemmung des cholinergen Inputs. GLP-1 als Hemmer des cholinergen Inputs sowie Atropin als cholinergem Rezeptorantagonist reduzieren den tonisierenden cholinergen Input. Die Kombination aus beiden Substanzen bewirkt keine weitere Relaxation des Magenfundus bzw. Reduktion des Fundustonus. Eine weitere Erschlaffung des Magenfundus lässt sich in unseren Versuchen nur noch durch die doppelte Dosis an GLP-1 von $0.8 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ erreichen. Die hier gemessenen Fundusvolumina waren maximal. GLP-1 reduziert somit sowohl interdigestiv als auch postprandial dosisabhängig den Fundustonus. Während nüchtern nicht-cholinerge Pathways eine Rolle spielen, dominiert postprandial die Hemmung des cholinergen Inputs.

5.2 Wirkung von GLP-1 auf proximal gastrale Perzeption und Sättigung

Mangelnde Fundusrelaxation und dyspeptische Symptome scheinen in Zusammenhang zu stehen und eine pharmakologisch bewirkte Steigerung der Fundusrelaxation ohne Erhöhung der gastralen Perzeption wird als mögliche Therapieoption zur Reduktion dyspeptischer Symptome diskutiert (Tack et al 98). Diese Studie zeigte, dass synthetisches, exogenes GLP-1 sowohl interdigestiv als auch postprandial den Magenfundus relaxiert und damit die Compliance des proximalen Magens dosisabhängig steigert, aber auch die

Perzeption isobarer Distensionen des Magenfundus für die Qualitäten Druck/Völlegefühl und Übelkeit erhöht. Nur die hohe Dosis GLP-1 steigerte postprandial auch das Empfinden von Schmerz. Es stellt sich somit die Frage, ob die Effekte von GLP-1 auf die Perzeption entgegen dem Postulat von Tack et al. über die mechanische Relaxation des Magens vermittelt sind oder unabhängig davon über zentralnervöse Wechselwirkungen bedingt sind. Ferner reduziert synthetisches GLP-1 die Wahrnehmung für Hunger und erhöht umgekehrt das Sättigungsgefühl. Synthetisches GLP-1 hatte bei Distensionsdrücken von unter 4 mmHg keinen signifikanten Einfluss auf die Perzeption. Um vermutete physiologisch relevante Drücke in unseren Versuchen zu simulieren, distendierten wir den proximalen Magen mit bis zu 8 mmHg über MDP.

Perzeption und Wandspannung des proximalen Magens stehen in direktem Zusammenhang: je höher die Wandspannung desto stärker ist die Perzeption ausgeprägt (Distrutti et al 99). Atropin veränderte nüchtern weder das Fundusvolumen noch die Perzeption der Dehnungsreize. Unter duodenalem Lipid hingegen führte Atropin sowohl zu einer Zunahme des Fundusvolumens als auch zu einer Zunahme der Perzeption. Es lässt sich so eine direkte Verbindung zwischen Perzeption und gastralen Volumen herstellen. In dieser Studie wurde Atropin in einer bewusst niedrigen Dosis gewählt bei der ausgegangen wird, dass keine zentralnervösen oder zirkulatorischen Wirkungen auftreten. Unter dieser Dosis Atropin veränderten sich auch weder Blutdruck noch Herzfrequenz. Auch die duodenale Perfusion mit Lipid relaxierte den proximalen Magen, der infolgedessen empfindlicher war gegenüber denselben Dehnungsreizen. Ein relaxierter Magen scheint unter den Versuchsbedingungen dieser Studie somit empfindlicher gegenüber isobaren Dehnungsreizen zu sein. Andererseits zeigte diese Studie auch, dass unter synthetischem GLP-1 die Perzeptionszunahme unabhängig von der Volumenänderung ist. Dies wird in der postprandialen Phase der Versuche mit niedrig dosiertem GLP-1 in Kombination mit Atropin gezeigt. Hier steigerte synthetisches GLP-1 vor dem Hintergrund mit Atropin die Perzeption

signifikant im Vergleich zum isovolämischen Versuch mit Atropin. Im Gegensatz hierzu zeigte Struckmeier in ihrer Promotionsarbeit unter Verwendung des spezifischen GLP-1-Rezeptorantagonisten Exendin(9-39) (Struckmeier 04), dass endogenes GLP-1 postprandial keinen Einfluss auf die gastrale Perzeption von Dehnungsreizen hat bzw. sie tendenziell bei niedrigen Drücken sogar eher senkt, also eine antinozizeptive Wirkung hat. Sie vermutete aber auch, dass diese GLP-1-Wirkung unabhängig von der Motilität des Magens ist und die druckbedingte Zunahme der Magenwandspannung die entscheidende Determinante für die Perzeption ist. Die Diskrepanz zu den Effekten des endogenen GLP-1 nach Blockade des GLP-1-Rezeptors könnte einerseits begründet sein durch zahlreiche redundante Regulationsmechanismen, die physiologisch bedeutsame Größen wie gastrale Perzeption oder Appetitempfinden regulieren. Dazu gehören z.B. auch die Enteroenzyme CCK und PYY. Sie könnte aber auch hinweisen, dass in dieser Studie pharmakologische Effekte von GLP-1 gemessen wurden. Allerdings lag die Steigerung der GLP-1-Plasmakonzentration unter Infusion zumindest bei der niedrigen GLP-1-Dosis durchaus im Bereich dessen, was nach oraler Einnahme von 50 g oder 100 g Glukose gemessen wurde, und zwar unter Verwendung derselben Extraktionsmethode und desselben Assays (Schirra et al 96).

In dieser Arbeit wurde jedoch eindeutig gezeigt, dass ein relaxierter Magen druckempfindlicher ist. Synthetisches GLP-1 steigert unabhängig vom Magenvolumen die Perzeption. Dies lässt mutmaßen, dass GLP-1 die gastrale Wahrnehmung von Dehnungsreizen und das Gefühl für Hunger sowie Sättigung nicht nur exklusiv durch den Magen, sondern auch durch zentrale Mechanismen beeinflusst. Diese Mechanismen mögen relevant sein für den pharmakologischen Einsatz von GLP-1-Rezeptoragonisten in der Therapie von Diabetes mellitus. Übelkeit und Völlegefühl sind eine häufige Nebenwirkung insbesondere in den ersten Wochen der Einleitung dieser Therapien, wohingegen eine Reduktion von Appetit eine erwünschte Wirkung ist.

Im Tiermodell reduzierte die zentrale Injektion von GLP-1 sowohl intrazerebroventriculär als auch in den Ncl. paraventricularis die Kalorienaufnahme, wohingegen die zentrale Injektion des GLP-1-Rezeptorantagonisten Exendin(9-39) den food intake steigerte (Turton et al 96). Periphere GLP-1-Injektion oder die des GLP-1-Rezeptoragonisten Exendin-4 reduzierte den food intake beim Menschen (Edwards et al 01). Adipöse Menschen, die über 5 Tage mit subkutanem GLP-1 behandelt wurden, reduzierten ihren food intake um 15 % und reduzierten ihr Gewicht um 0.5 kg (Naslund et al 04). Bilder von Speisen steigerten bei Gesunden und übergewichtigen Typ 2-Diabetikern das Signal im funktionellen MRT des ZNS in Regionen, die mit der Appetitregulation verbunden sind (Insel, Amygdala) (van Bloemendaal et al 14). Der GLP-1-Rezeptoragonist Exenatide (Exendin-4) reduzierte sowohl den food intake als auch das entsprechende ZNS-Signal im funktionellen MRT (Insel, Amygdala, Putamen, orbitofrontaler Cortex). Diese Effekte konnten wiederum durch den GLP-1-Rezeptorantagonist Exendin(9-39) aufgehoben werden (van Bloemendaal et al 14). Insofern passen unsere Beobachtungen in der aktuellen Studie, dass synthetisches GLP-1 dosisabhängig das Empfinden von Sättigung steigert und das Hungergefühl senkt, gut in den Kontext und lassen vermuten, dass GLP-1 ein physiologisches Sättigungshormon sein könnte.

Kürzlich wurde gezeigt, dass gesunde Probanden auf GLP-1-Rezeptorblockade durch den GLP-1-Rezeptorantagonisten Exendin(9-39) zwar nicht mit einer Reduktion des food intake reagieren, aber immerhin mit einer Reduktion von Appetit und dem Wunsch zu essen (Steinert et al 14). In dieser Studie wurde auch erstmals gezeigt, dass eine Blockade des GLP-1-Rezeptors zu einem deutlichen Anstieg von PYY führt. PYY gilt seinerseits als zentraler Stimulator von Sättigung (Wren and Bloom 07). PYY ist mit GLP-1 in intestinalen L-Zellen ko-lokalisiert und wird zusammen mit GLP-1 sezerniert. GLP-1 hemmt die L-Zelle via Autofeedback (Edwards et al 01; Schirra et al 09; Steinert et al 14). Blockade des GLP-1-Rezeptors führt deshalb zu einer gesteigerten Freisetzung sowohl von endogenem GLP-1 als

auch von PYY. Letzteres ist geeignet, eine Zunahme des food intake unter dem GLP-1-Rezeptorantagonisten zu maskieren und zeigt beispielhaft wie redundant diese überlebenswichtigen Funktionen reguliert sind.

Insgesamt sprechen die Daten eher dafür, dass endogenes GLP-1 ein schwächerer Regulator von Sättigung ist, aber dass synthetisches GLP-1 Sättigung pharmakologisch zu induzieren vermag. Unsere Beobachtung, dass unter gastral Distension mit und ohne Infusion mit GLP-1 das Gefühl von Hunger signifikant negativ korreliert mit der Perzeption von Übelkeit, weist darauf hin, dass das Sättigungsgefühl auch unspezifisch über die gastrale Perzeption reguliert werden könnte.

Zahlreiche Hinweise deuten bereits auf eine nicht nur allein durch die Magenmotorik bestimmte gastrale Perzeption hin. Zum Beispiel relaxiert der 5-HT₁ Agonist Sumatriptan, ebenfalls wie GLP-1, den Magenfundus, reduziert jedoch das Sättigungsgefühl und führt zu einer vermehrten Nahrungsaufnahme (Tack et al 98;Gutzwiller et al 99a;Gutzwiller et al 99b). In dieser Studie wurde gezeigt, dass synthetisches GLP-1, im Gegensatz hierzu, dosisabhängig das Sättigungsgefühl erhöht und Hunger reduziert. Thumshirn et al untersuchten den Einfluss des α_2 -adrenergen Agonistens Clonidin und exogenen Nitroglyzerins als NO-Donor auf den Magen. Beide Substanzen führten zu einer Magenrelaxation. Während Clonidin die Wahrnehmung für Schmerz durch Stimulation spinaler Rezeptoren des antinozizeptiven Systems dosisabhängig reduzierte, führte Nitroglyzerin jedoch zu keiner Veränderung der Perzeption. Die Perzeption von Übelkeit und Völlegefühl wurde von Clonidin ebenfalls nicht beeinflusst (Thumshirn et al 99). Da peripheres GLP-1 liquorgängig ist (Kastin et al 02) und in verschiedenen Kerngebieten des ZNS GLP-1 Rezeptoren beschrieben sind (Turton et al 96), vermuten wir einen direkten Einfluss von GLP-1 auf zirkumventrikuläre Organe wie die Area postrema.

Unsere Studie legt nahe, dass synthetisches GLP-1 nicht zur Behandlung der funktionellen Dyspepsie geeignet ist. Jedoch ergeben sich durch unsere

Ergebnisse mögliche Therapieoptionen bei der Behandlung von Adipositas durch schnelleres Erreichen eines postprandialen Sättigungsgefühls bzw. Reduktion von Hunger.

5.3 Freisetzung von GLP-1 und Insulin

Eine akute Hyperglykämie - selbst in physiologisch normaler Größenordnung - hemmt die gastrointestinale Motilität und die Magenentleerung, relaxiert den Magenfundus und steigert die gastrale Perzeption von Dehnungsreizen (Horowitz et al 93;Hebbard et al 96a;Hebbard et al 96b;Rayner et al 01). Ebenso kann eine Hyperinsulinämie die proximal gastrale Motilität und Perzeption beeinflussen (van Petersen et al 00). Die insulinotrope Wirkung von GLP-1 ist glukoseabhängig. Die intestinale Freisetzung von GLP-1 ist abhängig von der Magenentleerung, die wiederum durch GLP-1 gehemmt wird (Schirra et al 96;Schirra et al 98a). Um den kaum zu kontrollierenden störenden Einfluss von Hyperglykämie, Hyperinsulinämie und Magenentleerung einerseits zu eliminieren, andererseits doch einen postprandialen Zustand mit physiologischer Relaxation des proximalen Magens zu erzeugen, wurde eine kontinuierliche duodenale Perfusion mit Lipid gewählt. Sporadische Blutzuckermessungen zeigten erwartungsgemäß keine Abweichungen des Blutzuckers (Daten nicht gezeigt).

Die duodenale Lipidperfusion führte zu einer zwar signifikanten, aber sehr geringen Steigerung der Insulin-Plasmakonzentrationen. Diese schwach insulinotrope Wirkung von Triglyceriden ist bekannt. Lediglich die initiale Bolusgabe von GLP-1 während der Aufsättigungsphase steigerte während Euglykämie sehr kurzfristig und dosisabhängig Plasmainsulin. Darüber hinaus zeigten sich unter den Studienbedingungen dieser Arbeit keine Änderungen von Insulin und Blutglukose. Effekte von Hyperglykämie, Insulin oder der Magenentleerung mit potentiellen Wirkungen auf die proximal gastrale Motilität und Perzeption können also ausgeschlossen werden.

Die Plasmaspiegel von GLP-1 stiegen unter Infusion von synthetischem GLP-1 erwartungsgemäß dosisabhängig an. Dabei scheint die Messung des bioaktiven GLP-1(7-36) und GLP-1(7-37) den dosisabhängigen Anstieg unter intravenöser Gabe von synthetischem GLP-1 differenzierter zu erfassen als die Messung des Gesamt-GLP-1. Unter duodenaler Lipidperfusion stiegen die GLP-1-Plasmakonzentrationen ebenfalls erwartungsgemäß an. Wir hatten schon früher gezeigt, dass intraduodenales Lipid dosisabhängig die GLP-1-Freisetzung stimuliert (Schirra et al 00b). Beide Assays - der für bioaktives GLP-1(7-36) als auch der Assay für Gesamt-GLP-1 - zeigten diesen Anstieg der GLP-1-Immunreaktivität im Plasma. Jedoch scheint die Messung von Gesamt-GLP-1 Unterschiede in der Freisetzung sensitiver zu erfassen als die Messung nur des bioaktiven GLP-1. Dies macht auch Sinn, da GLP-1(7-36) mit einer Halbwertszeit von nur 2 min durch die Dipeptidyl-Peptidase-4 (DPP-4) zu trunkiertem GLP-1(9-36) abgebaut wird, sodass Veränderungen der tatsächlichen Sekretion durch die Messung nur des verhältnismäßig kleinen Anteils an zirkulierendem bioaktiven GLP-1 unterschätzt werden können. Für künftige Studien zur Freisetzung von endogenem GLP-1 ist die Messung des Gesamt-GLP-1 zu bevorzugen.

GLP-1 wird nach Nahrungsaufnahme sehr schnell freigesetzt, obwohl GLP-1-sezernierende L-Zellen vor allem im distalen Darmtrakt vorkommen (Schirra et al 96). Es wurde die Existenz eines neurohumoralen Reflexbogens postuliert, über den die schnelle postprandiale Freisetzung von GLP-1 getriggert würde. Ein entsprechender Mediator ist bislang jedoch unbekannt. Balks et al. mutmaßten in ihrer Studie, dass die Sekretion von GLP-1 möglicherweise unter cholinerg-muskarinergem Kontrolle steht: Sie zeigten, dass nach oraler Mahlzeitungestion der Glukose- und GLP-1-Anstieg im Blut durch Atropin verlangsamt wird, wobei die verzögernde Wirkung auf den GLP-1-Anstieg deutlich prägnanter war als auf den für Glukose und somit als unabhängig voneinander angesehen wurde (Balks et al 97). Jedoch blieben in dieser Studie weitere Effekte von Atropin auf den Gastrointestinaltrakt, insbesondere der veränderte Nahrungstransport durch die Inhibition der

gastrointestinalen Motilität und Reduktion der Magenentleerung, unberücksichtigt. Unsere Arbeitsgruppe hatte früher bereits gezeigt, dass, bei direkter Nährstoffperfusion des Duodenums, Atropin keinen Effekt auf die GLP-1-Freisetzung hat. Auch in der aktuellen Studie sahen wir keine signifikante Reduktion der GLP-1-Plasmaspiegel unter duodener Lipidperfusion und intravenösem Atropin. Es gibt somit unverändert keinen Hinweis auf eine cholinerge-muskarinerge Kontrolle der GLP-1-Freisetzung.

5.4 Wirkung von exogenem GLP-1 auf die Sekretion von Pankreatischem Polypeptid (PP)

Postuliert wird, dass das Pankreatische Polypeptid möglicherweise die endokrine und die exokrine Pankreassekretion und die Gallenblasenkontraktion hemmt. Ferner soll es die Darmmotilität stimulieren und den Glykogenspeicher in der Leber beeinflussen. Intravenös verabreichtes PP reduziert die Nahrungsaufnahme und die Magenentleerung (Katsuura et al 02;Asakawa et al 03). Diese Effekte des PP sind jedoch umstritten, beruhen sie doch ganz überwiegend auf pharmakologische Effekte synthetischen PP oder Beobachtungen, dass PP-Plasmaspiegel bei Patienten mit Anorexia nervosa erhöht und bei übergewichtigen Patienten erniedrigt sind (Wren and Bloom 07).

Unumstritten hingegen ist die Abhängigkeit der Freisetzung PP von einem vagal-cholinergen Stimulus. Die Freisetzung von PP nach einer hauptsächlich proteinreichen Nahrung wird in 2 Phasen unterteilt: eine schnelle und stark ausgeprägte - bereits während der Nahrungsaufnahme - durch vagal-cholinerge Stimulation mit raschem Anstieg der Plasmakonzentration, wobei PP über zentrale PP-Rezeptoren in den Vagus-Kernen des Hirnstammes negativ rückkoppelt (Mannon and Taylor 94;Walsh 94) und einer zweiten, langsameren, als Reaktion auf die zunehmende Stimulation von Darmhormonen, hauptsächlich CCK. Ca. 10 – 20 Minuten nach Nahrungsaufnahme wird die maximale PP-Konzentration im Blut erreicht und fällt dann wieder langsam ab. PP wird auch als ein sogenannter „Marker“ des cholinergen Inputs verwendet, da es unter überwiegend strenger vagal-cholinenger Kontrolle steht (Schwartz et al 78).

Unter NaCl als Hintergrundinfusion stieg in den Versuchen die PP-Konzentration im Blut nach den Wasserschlucken in der interdigestiven Phase leicht an, wohl vermittelt durch orale Stimulation von Vagus-Kernen und deren vagal-cholinenger Efferenzen wie in der cephalen Phase nach

Nahrungsaufnahme. Duodenales Lipid stimulierte PP sehr deutlich. Atropin als cholinerges Rezeptorantagonist blockierte erwartungsgemäß die Freisetzung von PP komplett, sowohl interdigestiv als auch postprandial unter duodenalem Lipid. Dies zeigt zum einen, dass bereits nüchtern ein tonischer vagal-cholinerges Stimulus besteht, der durch Nahrungsstimulation stark zunimmt. Zum anderen zeigt es, dass die von uns gewählte Dosis Atropin ausreichend ist, um auch den postprandialen vagal-cholinergen Input komplett zu blockieren. Synthetisches GLP-1 reduzierte dosisabhängig und ausgeprägt die PP-Plasmaspiegel sowohl nüchtern als auch unter duodenalem Lipid. Dies beweist, dass GLP-1 ein starker Inhibitor der vagal-cholinergen Aktivität ist. Die vagal-cholinerge Hemmung dürfte der wesentliche Mechanismus sein über den GLP-1 die postprandiale Motilität des proximalen Magens hemmt. So konnte gezeigt werden, dass bei Gesunden eine GLP-1-Rezeptorblockade die postprandiale Motilität auch des proximalen Magen stimuliert parallel zu einem Anstieg des PP (Schirra et al 09). Dieser Effekt war unter GLP-1-Rezeptorblockade und Atropin komplett blockiert. GLP-1 ist somit ein inhibitorischer Regulator der postprandialen Magenmotorik. Der Effekt ist wesentlich vermittelt durch eine Hemmung des postprandialen cholinergen Inputs.

Auch andere Mediatoren dürften bei der inhibitorischen Wirkung von GLP-1 auf die Magen-Darmmotilität involviert sein. So reduzierte die kombinierte Gabe des Stickstoffmonoxid-Synthase-Hemmers N(G)-Monomethyl-L-Arginin-Acetat (L-NMMA) die Wirkung von synthetischem GLP-1 auf die Fundusakkommodation unter einer oralen Mahlzeit beim Menschen (Andrews et al 07). Bei Ratten blockierte die Hemmung der Stickstoffmonoxid-Synthase den inhibitorischen Effekt von GLP-1 auf die nüchterne, nicht aber die postprandiale Dünndarmmotilität (Tolessa et al 98). Im Gegensatz hierzu beeinflusste die Blockade der Stickstoffmonoxid-Synthase bei Ratten und Hunden nicht den inhibitorischen Effekt von GLP-1 auf die antroduodenale Motilität im Nüchternzustand (Giralt and Vergara 98; Shibata et al 01). Eine Blockade α - und β -adrenerger

Rezeptoren blockierte die hemmende Wirkung von GLP-1 auf die antroduodenale Motilität bei Ratten, aber nicht bei Hunden (Giralt and Vergara 98; Shibata et al 01). Somit dürften auch nicht-cholinerge Mechanismen in der Vermittlung von GLP-1-Effekten auf die Motilität involviert sein.

6 Zusammenfassung

Das Hormon GLP-1 bzw. pharmakologisch beim Diabetes mellitus eingesetzte GLP-1-Rezeptoragonisten und Inkretinmimetika wie Albiglutid, Exenatide und Liraglutid stellen einen wichtigen Pfeiler der Diabetestherapie dar. Die Blutzucker-senkende Wirkung wird durch Simulation von Insulin und Hemmung von Glukagon erreicht. Aber auch eine Verzögerung der Magenentleerung durch Relaxation des Magenfundus und Inhibition der antroduodenalen Motilität reduziert postprandiale Glukosespitzen und trägt zur Reduktion der postprandialen Glykämie bei. GLP-1 beeinflusst darüber hinaus aber auch die gastrointestinale Sensorik wie Völlegefühl und Übelkeit sowie das zentralnervös regulierte Empfinden von Appetit und Sättigung. Während Ersteres in der Induktionstherapie der Inkretinmimetika zu einer einschleichenden Therapie zwingt, ist die Gewichtsabnahme unter diesen Medikamenten eine wichtige Indikation zur Therapie der oft übergewichtigen Diabetiker. Die Wirkungen von GLP-1 auf die gastrale Perzeption von Reizen sowie auf das Sättigungsempfinden sind beim Menschen kaum untersucht.

Ziel der vorliegenden Studie war bei gesunden Probanden die Wirkung von synthetischem GLP-1 auf den Tonus des proximalen Magens und die Perzeption kontrollierter gastraler Dehnungsreize zu untersuchen. Dabei machten wir uns Erkenntnisse früherer Studien zunutze, insbesondere dass die Relaxation des proximalen Magens unter GLP-1 im Wesentlichen durch cholinerge Hemmung vermittelt ist.

Zehn gesunde männliche Probanden nahmen an unterschiedlichen Tagen in randomisierter Reihenfolge an je fünf Experimenten teil. An jedem Versuchstag wurden zwei Sonden, die die Probanden schlucken mussten, verwendet: eine Magensonde, an deren Spitze ein dünnwandiger Ballon mit unendlicher Compliance befestigt war. Der Ballon war konnektiert mit einem elektronischen Barostat zur kontinuierlichen Messung von Ballondruck und -volumen. Der Barostat wiederum erlaubt die Regulation von Volumen

unter definierten konstanten Drücken. Volumenänderungen des Ballons entsprechen somit Tonusänderungen des Magens. Außerdem ermöglicht der Barostat kontrollierte isobare Distensionen des Magens durchzuführen. Die korrekte Position des Ballons im Magenfundus wurde durch die simultane Messung der Ösophagusmotilität kontrolliert. Zum anderen schluckten die Probanden eine antroduodenale Sonde, über die das Duodenum perfundiert werden konnte. Die korrekte Lage dieser Sonde wurde durch die Messung der antroduodenalen Motilität kontrolliert.

An jedem Tag schloss sich an eine 100-minütige Nüchternperiode mit duodенaler Perfusion von NaCl 0.9% eine 140-minütige postprandiale Periode mit duodенaler Perfusion einer Lipidlösung (1.5 kcal/min) an. Die duodenale Lipidperfusion wurde gewählt, um einerseits einen postprandialen Zustand mit identischem Nährstofffluss, gleichförmiger Wirkung auf die Magenakkommodation und die Freisetzung intestinaler Hormone zu gewährleisten, und andererseits die Euglykämie zu wahren, da GLP-1 glukoseabhängig insulinotrop wirkt und die Magenentleerung hemmt. Nach einer jeweiligen Äquilibrierungsdauer erfolgten randomisierte Ballondistensionen des proximalen Magens mit 2, 4, 6 und 8 mmHg. Während dieser Distensionen wurde zu einem der Magenfundustonus, zum anderen die Perzeption von Druck-/Völlegefühl, Übelkeit, Schmerz, Hunger (Wunsch zu essen) und Sättigung anhand einer VAS-Scala gemessen.

An den fünf Versuchstagen wurden mit einer jeweils 10-minütigen Aufsättigung randomisiert folgende intravenöse Infusionen verabreicht: GLP-1 $0.4 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, GLP-1 $0.8 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, Atropin $5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ oder GLP-1 $0.4 \text{ pmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ + Atropin $5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Ein fünfter Tag mit Infusion von NaCl 0.9% diente als Kontrolle. Es erfolgten Blutentnahmen zur Messung der Immunreaktivitäten von GLP-1, Insulin und Pankreatischem Polypeptid, letzteres als Marker des vagal-cholinergen Tonus.

GLP-1 relaxierte sowohl interdigestiv als auch postprandial dosisabhängig den proximalen Magen. Atropin hatte nüchtern keinen Einfluss

auf den Fundustonus, senkte ihn aber postprandial, hinweisend auf einen postprandial tonisierenden cholinergen Input. GLP-1 und Atropin wirkten postprandial nicht additiv auf das Fundusvolumen. GLP-1 relaxiert den Magen also postprandial zumindest teilweise über eine cholinerge Hemmung. GLP-1 senkte sowohl nüchtern als auch postprandial dosisabhängig die Plasmakonzentration von Pankreatischem Polypeptid, einem Hormon unter streng vagal-cholinergem Kontrolle. GLP-1 hemmt somit den vagal-cholinergen Input. Hingegen ist die interdigestiv relaxierende Wirkung nicht vagal vermittelt.

GLP-1 steigerte dosisabhängig die Perzeption von Druck/Völlegefühl und Übelkeit unter gastral Distension sowohl nüchtern als auch postprandial. Atropin hatte nüchtern keinen Effekt, steigerte aber die Perzeption von Druck/Völlegefühl postprandial - der unter Atropin relaxierte Magen ist also dehnungsempfindlicher. Trotz fehlendem additiven Effekt auf das postprandiale Fundusvolumen steigerte GLP-1 dennoch die Perzeption gastraler Dehnungsreize. Die Steigerung der gastralen Perzeption unter GLP-1 erfolgt somit unabhängig vom gastralen Volumen und ist wahrscheinlich durch eine zentralnervöse Wirkung von GLP-1 bedingt.

GLP-1 reduzierte das Hungergefühl und steigerte das Sättigungsgefühl unabhängig von der Relaxation des proximalen Magens. Wir vermuten einen direkten Einfluss von GLP-1 insbesondere auf zirkumventrikuläre Organe wie die Area postrema.

Zusammengefasst relaxiert synthetisches GLP-1 den proximalen Magen, es steigert die gastrale Perzeption von Dehnungsreizen und induziert Sättigung. Die motorischen Wirkungen von GLP-1 sind teilweise bedingt durch eine vagal-cholinerge Hemmung. GLP-1 hat somit klassische Funktionen in der komplexen postprandialen Stoffwechselregulation, auch unabhängig von seinen endokrinen Wirkungen.

7 Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ANOVA	analysis of variance
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	area under the curve
CCK	Cholecystokinin
DPP-4	Dipeptidyl-Peptidase-4
DRS	double random staircase
EDTA	Ethylendiamin-tetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
GIP	Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide, oder auch Gastric Inhibitory Polypeptide
GLP-1	Glukagon-like Peptide 1
GLP-1-R	Glukagon-like Peptide 1 Rezeptor
IPPW	isolated pyloric pressure waves
i.v.	intravenös
IV	intravenöse Infusion
K	Kontraktionen
KCl	Kaliumchlorid
MDP	Minimal Distending Pressure
MMC	Migrating Motor Complex

MW	Mittelwert
n	Nummer
NaCl	Natriumchlorid
PKA	Proteinkinase A
PP	Pankreatisches Polypeptid
RIA	Radioimmunoassay
RNA	Ribonucleidacid, Ribonukleinsäure
SEM	Standardabweichung des Mittelwertes
TMPD	transmucosal potential difference, transmukosale Potentialdifferenz
Upm	Umdrehungen pro Minute
VAS	virtuelle Analogskala
VIP	Vasoactive Intestinal Peptide

8 Literaturverzeichnis

1. Abrahamsen,N. & Nishimura,E. (1995) Regulation of glucagon and glucagon-like peptide-1 receptor messenger ribonucleic acid expression in cultured rat pancreatic islets by glucose, cyclic adenosine 3',5'-monophosphate, and glucocorticoids. *Endocrinology*, **136**, 1572-1578.
2. Abrahamsson,H. (1973) Studies on the inhibitory nervous control of gastric motility. *Acta Physiol Scand.Suppl*, **390**, 1-38.
3. Andrews,C.N., Bharucha,A.E., Camilleri,M., Low,P.A., Seide,B., Burton,D., Baxter,K. & Zinsmeister,A.R. (2007) Nitrgergic contribution to gastric relaxation induced by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in healthy adults. *Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol*, **292**, G1359-G1365.
4. Anvari,M., Dent,J., Malbert,C. & Jamieson,G.G. (1995) Mechanics of pulsatile transpyloric flow in the pig. *J.Physiol*, **488 (Pt 1)**, 193-202.
5. Asakawa,A., Inui,A., Yuzuriha,H., Ueno,N., Katsuura,G., Fujimiya,M., Fujino,M.A., Niiijima,A., Meguid,M.M. & Kasuga,M. (2003) Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology*, **124**, 1325-1336.
6. Azpiroz,F., Feinle-Bisset,C., Grundy,D. & Tack,J. (2014) Gastric sensitivity and reflexes: basic mechanisms underlying clinical problems. *J.Gastroenterol.*, **49**, 206-218.
7. Azpiroz,F. & Malagelada,J.R. (1985) Physiological variations in canine gastric tone measured by an electronic barostat. *Am.J.Physiol*, **248**, G229-G237.
8. Azpiroz,F. & Malagelada,J.R. (1987) Gastric tone measured by an electronic barostat in health and postsurgical gastroparesis. *Gastroenterology*, **92**, 934-943.
9. Balks,H.J., Holst,J.J., zur Mühlen,A. & Brabant,G. (1997) Rapid oscillations in plasma glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in humans: cholinergic control of GLP-1 secretion via muscarinic receptors. *J Clin Endocrinol Metab*, **82**, 786-790.
10. Barbier,A.J. & Lefebvre,R.A. (1993) Involvement of the L-arginine: nitric oxide pathway in nonadrenergic noncholinergic relaxation of the cat gastric fundus. *J.Pharmacol Exp.Ther.*, **266**, 172-178.

11. Bayliss,W.M. & Starling,E.H. (1902) The mechanism of pancreatic secretion. *J.Physiol*, **28**, 325-353.
12. Bell,G.I., Santerre,R.F. & Mullenbach,G.T. (1983) Hamster preproglucagon contains the sequence of glucagon and two related peptides. *Nature*, **302**, 716-718.
13. Blazquez,E., Alvarez,E., Navarro,M., Roncero,I., Rodriguez-Fonseca,F., Chowen,J.A. & Zueco,J.A. (1998) Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide as a novel neuropeptide. *Mol.Neurobiol.*, **18**, 157-173.
14. Boeckxstaens,G.E., Pelckmans,P.A., De Man,J.G., Bult,H., Herman,A.G. & Van Maercke,Y.M. (1992) Evidence for a differential release of nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide by nonadrenergic noncholinergic nerves in the rat gastric fundus. *Arch Int Pharmacodyn.Ther.*, **318**, 107-115.
15. Bokvist,K., Ammala,C., Ashcroft,F.M., Berggren,P.O., Larsson,O. & Rorsman,P. (1991) Separate processes mediate nucleotide-induced inhibition and stimulation of the ATP-regulated K(+)-channels in mouse pancreatic beta-cells. *Proc.Biol.Sci.*, **243**, 139-144.
16. Borody,T.J., Quigley,E.M., Phillips,S.F., Wienbeck,M., Tucker,R.L., Haddad,A. & Zinsmeister,A.R. (1985) Effects of morphine and atropine on motility and transit in the human ileum. *Gastroenterology*, **89**, 562-570.
17. Bortolotti,M., Annese,V., Mari,C., Lopilato,C., Porrazzo,G. & Miglioli,M. (2000) Dose-related stimulatory effect of clarithromycin on interdigestive gastroduodenal motility. *Digestion*, **62**, 31-37.
18. Brown,J.C. (1971) A gastric inhibitory polypeptide. I. The amino acid composition and the tryptic peptides. *Can.J.Biochem.*, **49**, 255-261.
19. Brown,J.C. & Dryburgh,J.R. (1971) A gastric inhibitory polypeptide. II. The complete amino acid sequence. *Can.J.Biochem.*, **49**, 867-872.
20. Brown,J.C., Mutt,V. & Pederson,R.A. (1970) Further purification of a polypeptide demonstrating enterogastrone activity. *J.Physiol*, **209**, 57-64.
21. Brown,J.C., Pederson,R.A., Jorpes,E. & Mutt,V. (1969) Preparation of highly active enterogastrone. *Can.J.Physiol Pharmacol.*, **47**, 113-114.
22. Bruley,d., V, Parys,V., Ropert,A., Chayvialle,J.A., Roze,C. & Galmiche,J.P. (1995) Erythromycin enhances fasting and postprandial proximal gastric tone in humans. *Gastroenterology*, **109**, 32-39.

23. Bryant,M.G., Bloom,S.R., Polak,J.M., Hobbs,S., Domschke,W., Domschke,S., Mitznegg,P., Ruppin,H. & Demling,L. (1983) Measurement of gut hormonal peptides in biopsies from human stomach and proximal small intestine. *Gut*, **24**, 114-119.
24. Bullock,B.P., Heller,R.S. & Habener,J.F. (1996) Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide-1 receptor. *Endocrinology*, **137**, 2968-2978.
25. Byrne,M.M., Gliem,K., Wank,U., Arnold,R., Katschinski,M., Polonsky,K.S. & Göke,B. (1998) Glucagon-like peptide 1 improves the ability of the beta-cell to sense and respond to glucose in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetes*, **47**, 1259-1265.
26. Camilleri,M., Malagelada,J.R., Brown,M.L., Becker,G. & Zinsmeister,A.R. (1985) Relation between antral motility and gastric emptying of solids and liquids in humans. *Am.J.Physiol*, **249**, G580-G585.
27. Code,C.F. & Schlegel,F. (1973) The gastrointestinal interdigestive housekeeper: motor correlates of the interdigestive myoelectric complex of the dog. *Fourth International Symposium on GI motility, Vancouver*. Mitchell Press.
28. Coffin,B., Azpiroz,F., Guarner,F. & Malagelada,J.R. (1994) Selective gastric hypersensitivity and reflex hyporeactivity in functional dyspepsia. *Gastroenterology*, **107**, 1345-1351.
29. Cullinan,C.A., Brady,E.J., Saperstein,R. & Leibowitz,M.D. (1994) Glucose-dependent alterations of intracellular free calcium by glucagon-like peptide-1(7-36amide) in individual ob/ob mouse beta-cells. *Cell Calcium*, **15**, 391-400.
30. D'Amato,M., Curro,D. & Montuschi,P. (1992) Evidence for dual components in the non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the rat gastric fundus: role of endogenous nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide. *J.Auton.Nerv.Syst.*, **37**, 175-186.
31. Desai,K.M., Zembowicz,A., Sessa,W.C. & Vane,J.R. (1991) Nitroergic Nerves Mediate Vagally Induced Relaxation in the Isolated Stomach of the Guinea Pig. *PNAS*, **88**, 11490-11494.
32. Distrutti,E., Azpiroz,F., Soldevilla,A. & Malagelada,J.R. (1999) Gastric wall tension determines perception of gastric distention. *Gastroenterology*, **116**, 1035-1042.

33. Dooley,C.P., Di,L.C. & Valenzuela,J.E. (1992) Variability of migrating motor complex in humans. *Dig.Dis.Sci.*, **37**, 723-728.
34. Dupre,J., Behme,M.T., Hramiak,I.M., McFarlane,P., Williamson,M.P., Zabel,P. & McDonald,T.J. (1995) Glucagon-like peptide I reduces postprandial glycemic excursions in IDDM. *Diabetes*, **44**, 626-630.
35. Ebert,R. & Creutzfeldt,W. (1982) Influence of gastric inhibitory polypeptide antiserum on glucose-induced insulin secretion in rats. *Endocrinology*, **111**, 1601-1606.
36. Ebert,R., Unger,H. & Creutzfeldt,W. (1983) Preservation of incretin activity after removal of gastric inhibitory polypeptide (GIP) from rat gut extracts by immunoadsorption. *Diabetologia*, **24**, 449-454.
37. Edwards,C.M., Stanley,S.A., Davis,R., Brynes,A.E., Frost,G.S., Seal,L.J., Ghatei,M.A. & Bloom,S.R. (2001) Exendin-4 reduces fasting and postprandial glucose and decreases energy intake in healthy volunteers. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab*, **281**, E155-E161.
38. Eissele,R., Goke,R., Willemer,S., Harthus,H.P., Vermeer,H., Arnold,R. & Goke,B. (1992) Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. *Eur.J.Clin.Invest*, **22**, 283-291.
39. Elahi,D., McAloon-Dyke,M., Fukagawa,N.K., Meneilly,G.S., Sclater,A.L., Minaker,K.L., Habener,J.F. & Andersen,D.K. (1994) The insulinotropic actions of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (7-37) in normal and diabetic subjects. *Regul.Pept.*, **51**, 63-74.
40. Elliott,R.M., Morgan,L.M., Tredger,J.A., Deacon,S., Wright,J. & Marks,V. (1993) Glucagon-like peptide-1 (7-36)amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion patterns. *J.Endocrinol.*, **138**, 159-166.
41. Elrick,H., Stimmler,L., Hlad,C.J., Jr. & Rai,Y. (1964) Plasma Insulin Response to oral and intravenous Glucose Administration. *J.Clin.Endocrinol.Metab*, **24**, 1076-1082.
42. Fehmann,H.C., Goke,R. & Goke,B. (1992) Glucagon-like peptide-1(7-37)/(7-36)amide is a new incretin. *Mol.Cell Endocrinol.*, **85**, C39-C44.
43. Fehmann,H.C. & Habener,J.F. (1991) Functional receptors for the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) on a somatostatin secreting cell line. *FEBS Lett.*, **279**, 335-340.

44. Fehmann,H.C. & Habener,J.F. (1992) Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma beta TC-1 cells. *Endocrinology*, **130**, 159-166.
45. Fehmann,H.C., Hering,B.J., Wolf,M.J., Brandhorst,H., Brandhorst,D., Bretzel,R.G., Federlin,K. & Goke,B. (1995) The effects of glucagon-like peptide-I (GLP-I) on hormone secretion from isolated human pancreatic islets. *Pancreas*, **11**, 196-200.
46. Feinle,C., D'Amato,M. & Read,N.W. (1996) Cholecystokinin-A receptors modulate gastric sensory and motor responses to gastric distension and duodenal lipid. *Gastroenterology*, **110**, 1379-1385.
47. Fleckenstein,P. (1978) Migrating electrical spike activity in the fasting human small intestine. *Am.J.Dig.Dis.*, **23**, 769-775.
48. Flint,A., Raben,A., Astrup,A. & Holst,J.J. (1998) Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest*, **101**, 515-520.
49. Fraser,R., Horowitz,M., Maddox,A. & Dent,J. (1993) Dual effects of cisapride on gastric emptying and antropyloroduodenal motility. *Am.J.Physiol*, **264**, G195-G201.
50. Giralt,M. & Vergara,P. (1998) Sympathetic pathways mediate GLP-1 actions in the gastrointestinal tract of the rat. *Regulatory Peptides*, **74**, 19-25.
51. Goke,R., Fehmann,H.C. & Goke,B. (1991) Glucagon-like peptide-1(7-36) amide is a new incretin/enterogastrone candidate. *Eur.J.Clin.Invest*, **21**, 135-144.
52. Goke,R., Goke,B., Richter,G. & Arnold,R. (1988) [The entero-insular axis: the new incretin candidate glucagon-like peptide-1(7-36)amide (GLP-1(7-36))amide]. *Z.Gastroenterol.*, **26**, 715-719.
53. Goke,R., Larsen,P.J., Mikkelsen,J.D. & Sheikh,S.P. (1995a) Distribution of GLP-1 binding sites in the rat brain: evidence that exendin-4 is a ligand of brain GLP-1 binding sites. *Eur.J.Neurosci.*, **7**, 2294-2300.
54. Goke,R., Larsen,P.J., Mikkelsen,J.D. & Sheikh,S.P. (1995b) Identification of specific binding sites for glucagon-like peptide-1 on the posterior lobe of the rat pituitary. *Neuroendocrinology*, **62**, 130-134.
55. Goke,R., Trautmann,M.E., Haus,E., Richter,G., Fehmann,H.C., Arnold,R. & Goke,B. (1989) Signal transmission after GLP-1(7-36)amide binding in RINm5F cells. *Am.J.Physiol*, **257**, G397-G401.

56. Gromada,J., Dissing,S., Bokvist,K., Renstrom,E., Frokjaer-Jensen,J., Wulff,B.S. & Rorsman,P. (1995) Glucagon-like peptide I increases cytoplasmic calcium in insulin-secreting beta TC3-cells by enhancement of intracellular calcium mobilization. *Diabetes*, **44**, 767-774.
57. Gros,L., Thorens,B., Bataille,D. & Kervran,A. (1993) Glucagon-like peptide-1-(7-36) amide, oxyntomodulin, and glucagon interact with a common receptor in a somatostatin-secreting cell line. *Endocrinology*, **133**, 631-638.
58. Gutzwiller,J.P., Drewe,J., Goke,B., Schmidt,H., Rohrer,B., Lareida,J. & Beglinger,C. (1999a) Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type 2. *Am J Physiol*, **276**, R1541-R1544.
59. Gutzwiller,J.P., Goke,B., Drewe,J., Hildebrand,P., Ketterer,S., Handschin,D., Winterhalder,R., Conen,D. & Beglinger,C. (1999b) Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans. *Gut*, **44**, 81-86.
60. Heading,R.C. (1994) Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying. *Dig.Dis.Sci.*, **39 (Suppl)**, 32S-34S.
61. Hebbard,G.S., Samsom,M., Sun,W.M., Dent,J. & Horowitz,M. (1996a) Hyperglycemia affects proximal gastric motor and sensory function during small intestinal triglyceride infusion. *Am.J.Physiol*, **271**, G814-G819.
62. Hebbard,G.S., Sun,W.M., Dent,J. & Horowitz,M. (1996b) Hyperglycaemia affects proximal gastric motor and sensory function in normal subjects. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.*, **8**, 211-217.
63. Heddle,R., Dent,J., Toouli,J. & Read,N.W. (1988a) Topography and measurement of pyloric pressure waves and tone in humans. *Am.J.Physiol*, **255**, G490-G497.
64. Heddle,R., Fone,D., Dent,J. & Horowitz,M. (1988b) Stimulation of pyloric motility by intraduodenal dextrose in normal subjects. *Gut*, **29**, 1349-1357.
65. Heddle,R., Miedema,B.W. & Kelly,K.A. (1993) Integration of canine proximal gastric, antral, pyloric, and proximal duodenal motility during fasting and after a liquid meal. *Dig.Dis.Sci.*, **38**, 856-869.
66. Heller,H. (1935) Ueber das insulinotrope Hormon der Darmschleimhaut (Duodenin). *Nauyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol*, **177**, 127-133.

67. Heller,R.S. & Aponte,G.W. (1995) Intra-islet regulation of hormone secretion by glucagon-like peptide-1-(7--36) amide. *Am J Physiol*, **269**, G852-G860.
68. Heller,R.S., Kieffer,T.J. & Habener,J.F. (1997) Insulinotropic glucagon-like peptide I receptor expression in glucagon-producing alpha-cells of the rat endocrine pancreas. *Diabetes*, **46**, 785-791.
69. Holtmann,G., Gschossmann,J., Neufang-Huber,J., Gerken,G. & Talley,N.J. (2000) Differences in gastric mechanosensory function after repeated ramp distensions in non-consulters with dyspepsia and healthy controls. *Gut*, **47**, 332-336.
70. Holz,G.G., Kuhlreiber,W.M. & Habener,J.F. (1993) Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1(7-37). *Nature*, **361**, 362-365.
71. Holz,G.G., Leech,C.A. & Habener,J.F. (1995) Activation of a cAMP-regulated Ca(2+)-signaling pathway in pancreatic beta-cells by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1. *J.Biol.Chem.*, **270**, 17749-17757.
72. Horowitz,M., Dent,J., Fraser,R., Sun,W. & Hebbard,G. (1994) Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying. *Dig.Dis.Sci.*, **39**, 7S-13S.
73. Horowitz,M., Edelbroek,M.A., Wishart,J.M. & Straathof,J.W. (1993) Relationship between oral glucose tolerance and gastric emptying in normal healthy subjects. *Diabetologia*, **36**, 857-862.
74. Houghton,L.A., Read,N.W., Heddle,R., Horowitz,M., Collins,P.J., Chatterton,B. & Dent,J. (1988a) Relationship of the motor activity of the antrum, pylorus, and duodenum to gastric emptying of a solid-liquid mixed meal. *Gastroenterology*, **94**, 1285-1291.
75. Houghton,L.A., Read,N.W., Heddle,R., Maddern,G.J., Downton,J., Toouli,J. & Dent,J. (1988b) Motor activity of the gastric antrum, pylorus, and duodenum under fasted conditions and after a liquid meal. *Gastroenterology*, **94**, 1276-1284.
76. Imeryuz,N., Yegen,B.C., Bozkurt,A., Coskun,T., Villanueva-Penacarrillo,M.L. & Ulusoy,N.B. (1997) Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *Am J Physiol*, **273**, G920-G927.

77. Kastin,A.J., Akerstrom,V. & Pan,W. (2002) Interactions of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) with the blood-brain barrier. *J Mol.Neurosci.*, **18**, 7-14.
78. Katschinski,M., Dippel,C., Reinshagen,M., Schirra,J., Arnold,R., Nustede,R., Beglinger,C. & Adler,G. (1992) Induction of the fed pattern of human exocrine pancreatic secretion by nutrients: role of cholecystokinin and neurotensin. *Clin.Investig.*, **70**, 902-908.
79. Katschinski,M., Schirra,J., Beglinger,C., Langbein,S., Wank,U., D'Amato,M. & Arnold,R. (1996) Intestinal phase of human antro-pyloro-duodenal motility: cholinergic and CCK-mediated regulation. *Eur.J.Clin.Invest*, **26**, 574-583.
80. Katsuura,G., Asakawa,A. & Inui,A. (2002) Roles of pancreatic polypeptide in regulation of food intake. *Peptides*, **23**, 323-329.
81. Kellow,J.E., Borody,T.J., Phillips,S.F., Tucker,R.L. & Haddad,A.C. (1986) Human interdigestive motility: variations in patterns from esophagus to colon. *Gastroenterology*, **91**, 386-395.
82. Kelly,K.A. (1981) Motility of the Stomach and Gastroduodenal Junction. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. **L.R.Johnson**, New York, Ravens Press, pp. 393-410.
83. Knill-Jones,R.P. (1991) Geographical differences in the prevalence of dyspepsia. *Scand.J.Gastroenterol.Suppl*, **182**, 17-24.
84. Kuiken,S.D., Vergeer,M., Heisterkamp,S.H., Tytgat,G.N.J. & Boeckxstaens,G.E.E. (2002) Role of nitric oxide in gastric motor and sensory functions in healthy subjects. *Gut*, **51**, 212-218.
85. Kumar,D., Wingate,D. & Ruckebusch,Y. (1986) Circadian variation in the propagation velocity of the migrating motor complex. *Gastroenterology*, **91**, 926-930.
86. Kuo,P., Gentilcore,D., Nair,N., Stevens,J.E., Wishart,J.M., Lange,K., Gilja,O.H., Hausken,T., Horowitz,M., Jones,K.L. & Rayner,C.K. (2009) The nitric oxide synthase inhibitor, Ng-nitro-L-arginine-methyl-ester, attenuates the delay in gastric emptying induced by hyperglycaemia in healthy humans. *Neurogastroenterol.Motil.*, **21**, 1175-e103.
87. La Barre,J. (1932) Sur les possibilités d'un traitement du diabète par l'incrétine. *Bull.Acad.R.Med.Belg*, **12**, 620-634.
88. La Barre,J. & Still,E.U. (1930) Further studies on the effects of secretin on the blood sugar. *Am.J.Physiol*, **91**, 649-653.

89. Larsson,L.I., Holst,J., Hakanson,R. & Sundler,F. (1975) Distribution and properties of glucagon immunoreactivity in the digestive tract of various mammals: an immunohistochemical and immunochemical study. *Histochemistry*, **44**, 281-290.
90. Lauritsen,K.B., Moody,A.J., Christensen,K.C. & Lindkaer,J.S. (1980) Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin release after small-bowel resection in man. *Scand.J Gastroenterol.*, **15**, 833-840.
91. Lefebvre,R.A., Smits,G.J. & Timmermans,J.P. (1995) Study of NO and VIP as non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitters in the pig gastric fundus. *Br.J.Pharmacol*, **116**, 2017-2026.
92. Li,C.G. & Rand,M.J. (1990) Nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide mediate non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory transmission to smooth muscle of the rat gastric fundus. *Eur.J.Pharmacol*, **191**, 303-309.
93. Lidums,I., Hebbard,G.S. & Holloway,R.H. (2000) Effect of atropine on proximal gastric motor and sensory function in normal subjects. *Gut*, **47**, 30-36.
94. Lund,P.K., Goodman,R.H., Dee,P.C. & Habener,J.F. (1982) Pancreatic preproglucagon cDNA contains two glucagon-related coding sequences arranged in tandem. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, **79**, 345-349.
95. Malagelada,J.R., Azpiroz,F. & Mearin,F. (1993) Gastroduodenal Motor Function in Health and Disease. *Gastrointestinal Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management*. Sleisenger and Fordtran, Saunders Company, **1**, pp. 486-508.
96. Malbert,C.H., Mathis,C. & Laplace,J.P. (1994) Vagal control of transpyloric flow and pyloric resistance. *Dig.Dis.Sci.*, **39**, 24S-27S.
97. Mannon,P. & Taylor,I.L. (1994) The pancreatic polypeptide family. *Walsh, J.H., Dockray, G.J., Gut Peptides, Martini,L., Comprehensive Endocrinology, Revised Series*. Raven Press, New York, pp. 341-362.
98. McIntyre,N., Holdsworth,C.D. & Turner,D.S. (1964) New interpretation of oral glucose tolerance. *Lancet*, **41**, 20-21.
99. Meyer,J.H., Ohashi,H., Jehn,D. & Thomson,J.B. (1981) Size of liver particles emptied from the human stomach. *Gastroenterology*, **80**, 1489-1496.
100. Minami,H. & McCallum,R.W. (1984) The physiology and pathophysiology of gastric emptying in humans. *Gastroenterology*, **86**, 1592-1610.

101. Mojsov,S., Weir,G.C. & Habener,J.F. (1987) Insulinotropin: glucagon-like peptide I (7-37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas. *J.Clin.Invest*, **79**, 616-619.
102. Moody,A.J. (1980) Gut glucagon-like immunoreactants. *Clin.Gastroenterol.*, **9**, 699-709.
103. Moore,B. (1906) On the treatment of Diabetes mellitus by acid extract of Duodenal Mucous Membrane. *Biochem.J.*, **1**, 28-38.
104. Naslund,E., Barkeling,B., King,N., Gutniak,M., Blundell,J.E., Holst,J.J., Rossner,S. & Hellstrom,P.M. (1999) Energy intake and appetite are suppressed by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in obese men. *Int J.Obes.Relat Metab Disord.*, **23**, 304-311.
105. Naslund,E., King,N., Mansten,S., Adner,N., Holst,J.J., Gutniak,M. & Hellstrom,P.M. (2004) Prandial subcutaneous injections of glucagon-like peptide-1 cause weight loss in obese human subjects. *Br.J.Nutr.*, **91**, 439-446.
106. Nauck,M., Stockmann,F., Ebert,R. & Creutzfeldt,W. (1986a) Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, **29**, 46-52.
107. Nauck,M.A., Bartels,E., Orskov,C., Ebert,R. & Creutzfeldt,W. (1993) Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic human gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide infused at near-physiological insulinotropic hormone and glucose concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*, **76**, 912-917.
108. Nauck,M.A., Homberger,E., Siegel,E.G., Allen,R.C., Eaton,R.P., Ebert,R. & Creutzfeldt,W. (1986b) Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J.Clin.Endocrinol.Metab*, **63**, 492-498.
109. Nicolaus,M., Brodl,J., Linke,R., Woerle,H.J., Goke,B. & Schirra,J. (2011) Endogenous GLP-1 regulates postprandial glycemia in humans: relative contributions of insulin, glucagon, and gastric emptying. *J.Clin.Endocrinol.Metab*, **96**, 229-236.
110. Notivol,R., Coffin,B., Azpiroz,F., Mearin,F., Serra,J. & Malagelada,J.R. (1995) Gastric tone determines the sensitivity of the stomach to distention. *Gastroenterology*, **108**, 330-336.
111. Orskov,C. (1992) Glucagon-like peptide-1, a new hormone of the entero-insular axis. *Diabetologia*, **35**, 701-711.

112. Orskov,C., Wettergren,A. & Holst,J.J. (1993) Biological effects and metabolic rates of glucagonlike peptide-1 7-36 amide and glucagonlike peptide-1 7-37 in healthy subjects are indistinguishable. *Diabetes*, **42**, 658-661.
113. Parys,V., Bruley,d., V, Ropert,A., Roze,C. & Galmiche,J.P. (1993) [Use of an electronic barostat for measurement of motor response of the proximal stomach to feeding and different nervous stimuli in man]. *Gastroenterol.Clin.Biol.*, **17**, 321-328.
114. Perley,M.J. & Kipnis,D.M. (1967) Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects. *J.Clin.Invest*, **46**, 1954-1962.
115. Quigley,E.M. (1996) Gastric and small intestinal motility in health and disease. *Gastroenterol.Clin.North Am.*, **25**, 113-145.
116. Rayner,C.K., Samsom,M., Jones,K.L. & Horowitz,M. (2001) Relationships of upper gastrointestinal motor and sensory function with glycemic control. *Diabetes Care*, **24**, 371-381.
117. Richter H.M. (1988) Stomach and duodenum. In Kumar D. & Gustavsson S. (eds), *An illustrated guide to gastrointestinal motility*. Frome and London, John Wiley and sons Ltd.: 163-174.
118. Sandhu,H., Wiesenthal,S.R., MacDonald,P.E., McCall,R.H., Tchipashvili,V., Rashid,S., Satkunarajah,M., Irwin,D.M., Shi,Z.Q., Brubaker,P.L., Wheeler,M.B., Vranic,M., Efendic,S. & Giacca,A. (1999) Glucagon-like peptide 1 increases insulin sensitivity in depancreatized dogs. *Diabetes*, **48**, 1045-1053.
119. Schirra,J., Craney,C., Nicolaus,M., Wank,U., Arnold,R., Goke,B. & Katschinski,M. (2000a) Endogenes Glukagon-like peptide-1(7-36)amid reduziert die gastrale Perzeption beim Menschen. *DGVS*.
120. Schirra,J., Houck,P., Wank,U., Arnold,R., Goke,B. & Katschinski,M. (2000b) Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on antro-pyloro-duodenal motility in the interdigestive state and with duodenal lipid perfusion in humans. *Gut*, **46**, 622-631.
121. Schirra,J., Katschinski,M., Weidmann,C., Schafer,T., Wank,U., Arnold,R. & Goke,B. (1996) Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J.Clin.Invest*, **97**, 92-103.
122. Schirra,J., Kuwert,P., Wank,U., Leicht,P., Arnold,R., Goke,B. & Katschinski,M. (1997) Differential effects of subcutaneous GLP-1 on

- gastric emptying, antroduodenal motility, and pancreatic function in men. *Proc.Assoc.Am.Physicians*, **109**, 84-97.
123. Schirra,J., Leicht,P., Hildebrand,P., Beglinger,C., Arnold,R., Goke,B. & Katschinski,M. (1998a) Mechanisms of the antidiabetic action of subcutaneous glucagon-like peptide-1(7-36)amide in non-insulin dependent diabetes mellitus. *J.Endocrinol.*, **156**, 177-186.
 124. Schirra,J., Nicolaus,M., Woerle,H.J., Struckmeier,C., Katschinski,M. & Goke,B. (2009) GLP-1 regulates gastroduodenal motility involving cholinergic pathways. *Neurogastroenterol.Motil.*, **21**, 609-e22.
 125. Schirra,J., Roggel,R., Leicht,P., Wank,U., Arnold,R., Goke,B. & Katschinski,M. (1998b) Endogenous GLP-1(7-36)amide controls endocrine pancreatic secretion and antroduodenal motility in human. *Gastroenterology*, **114 (abstract)**, A1178.
 126. Schirra,J., Wank,U., Arnold,R., Goke,B. & Katschinski,M. (2002) Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on motility and sensation of the proximal stomach in humans. *Gut*, **50**, 341-348.
 127. Schmidt,W.E., Siegel,E.G. & Creutzfeldt,W. (1985) Glucagon-like peptide-1 but not glucagon-like peptide-2 stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets. *Diabetologia*, **28**, 704-707.
 128. Schwartz,T.W., Holst,J.J., Fahrenkrug,J., Jensen,S.L., Nielsen,O.V., Rehfeld,J.F., de Muckadell,O.B. & Stadil,F. (1978) Vagal, cholinergic regulation of pancreatic polypeptide secretion. *J.Clin.Invest*, **61**, 781-789.
 129. Shibata,C., Naito,H., Jin,X.L., Ueno,T., Funayama,Y., Fukushima,K., Hashimoto,A., Matsuno,S. & Sasaki,I. (2001) Effect of glucagon, glicentin, glucagon-like peptide-1 and-2 on interdigestive gastroduodenal motility in dogs with a vagally denervated gastric pouch. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, **36**, 1049-1055.
 130. Sjolund,K., Sanden,G., Hakanson,R. & Sundler,F. (1983) Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology*, **85**, 1120-1130.
 131. Steinert,R.E., Schirra,J., Meyer-Gerspach,A.C., Kienle,P., Fischer,H., Schulte,F., Goeke,B. & Beglinger,C. (2014) Effect of glucagon-like peptide-1 receptor antagonism on appetite and food intake in healthy men. *Am.J.Clin.Nutr.*, **100**, 514-523.
 132. Still,E.U. & La Barre,J. (1930) Studies on the physiology of secretin. *Am.J.Physiol*, **91**, 405-408.

133. Stoffel,M., Espinosa,R., III, Le Beau,M.M. & Bell,G.I. (1993) Human glucagon-like peptide-1 receptor gene. Localization to chromosome band 6p21 by fluorescence in situ hybridization and linkage of a highly polymorphic simple tandem repeat DNA polymorphism to other markers on chromosome 6. *Diabetes*, **42**, 1215-1218.
134. Struckmeier,C. (2004) Regulation der gastroduodenalen Motilität und Perzeption durch endogenes Glukagon-like Peptide-1 (GLP-1): Wirkungen und cholinerge Interaktion. *Dissertation*.
135. Szurszewski,J.H. (1969) A migrating electric complex of canine small intestine. *Am.J.Physiol*, **217**, 1757-1763.
136. Tack,J., Caenepeel,P., Fischler,B., Piessevaux,H. & Janssens,J. (2001) Symptoms associated with hypersensitivity to gastric distention in functional dyspepsia. *Gastroenterology*, **121**, 526-535.
137. Tack,J., Demedts,I., Meulemans,A., Schuurkes,J. & Janssens,J. (2002) Role of nitric oxide in the gastric accommodation reflex and in meal induced satiety in humans. *Gut*, **51**, 219-224.
138. Tack,J., Piessevaux,H., Coulie,B., Caenepeel,P. & Janssens,J. (1998) Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterology*, **115**, 1346-1352.
139. Thumshirn,M., Camilleri,M., Choi,M.G. & Zinsmeister,A.R. (1999) Modulation of gastric sensory and motor functions by nitrenergic and alpha2-adrenergic agents in humans. *Gastroenterology*, **116**, 573-585.
140. Tillil,H., Shapiro,E.T., Miller,M.A., Karrison,T., Frank,B.H., Galloway,J.A., Rubenstein,A.H. & Polonsky,K.S. (1988) Dose-dependent effects of oral and intravenous glucose on insulin secretion and clearance in normal humans. *Am J Physiol*, **254**, E349-E357.
141. Toft-Nielsen,M.B., Madsbad,S. & Holst,J.J. (1999) Continuous subcutaneous infusion of glucagon-like peptide 1 lowers plasma glucose and reduces appetite in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, **22**, 1137-1143.
142. Tolessa,T., Gutniak,M., Holst,J.J., Efendic,S. & Hellstrom,P.M. (1998) Inhibitory effect of glucagon-like peptide-1 on small bowel motility. Fasting but not fed motility inhibited via nitric oxide independently of insulin and somatostatin. *J.Clin.Invest*, **102**, 764-774.
143. Tornehave,D., Kristensen,P., Romer,J., Knudsen,L.B. & Heller,R.S. (2008) Expression of the GLP-1 receptor in mouse, rat, and human pancreas. *J.Histochem.Cytochem.*, **56**, 841-851.

144. Tougas,G., Anvari,M., Dent,J., Somers,S., Richards,D. & Stevenson,G.W. (1992) Relation of pyloric motility to pyloric opening and closure in healthy subjects. *Gut*, **33**, 466-471.
145. Turton,M.D., O'Shea,D., Gunn,I., Beak,S.A., Edwards,C.M., Meeran,K., Choi,S.J., Taylor,G.M., Heath,M.M., Lambert,P.D., Wilding,J.P., Smith,D.M., Ghatei,M.A., Herbert,J. & Bloom,S.R. (1996) A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, **379**, 69-72.
146. Unger,R.H. & Eisentraut,A.M. (1969) Entero-insular axis. *Arch.Intern.Med.*, **123**, 261-266.
147. Uttenthal,L.O., Toledano,A. & Blazquez,E. (1992) Autoradiographic localization of receptors for glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in rat brain. *Neuropeptides*, **21**, 143-146.
148. van Bloemendaal,L., IJzerman,R.G., Ten Kulve,J.S., Barkhof,F., Konrad,R.J., Drent,M.L., Veltman,D.J. & Diamant,M. (2014) GLP-1 receptor activation modulates appetite- and reward-related brain areas in humans. *Diabetes*, **63**, 4186-4196.
149. van Petersen,A.S., Vu,M.K., Lam,W.F., Lamers,C.B., Ringers,J. & Masclee,A.A. (2000) Effects of hyperglycaemia and hyperinsulinaemia on proximal gastric motor and sensory function in humans. *Clin.Sci.(Lond)*, **99**, 37-46.
150. Vantrappen,G., Janssens,J., Hellemans,J. & GhooS,Y. (1977) The interdigestive motor complex of normal subjects and patients with bacterial overgrowth of the small intestine. *J.Clin.Invest*, **59**, 1158-1166.
151. Walsh,J.H. (1994) Gastrointestinal hormones. *Physiology of the gastrointestinal tract, 3rd edition*. Johnson,L.R., Raven Press, New York, pp. 1-128.
152. Wei,Y. & Mojsov,S. (1995) Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences. *FEBS Lett.*, **358**, 219-224.
153. Wettergren,A., Schjoldager,B., Mortensen,P.E., Myhre,J., Christiansen,J. & Holst,J.J. (1993) Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Dig.Dis.Sci.*, **38**, 665-673.
154. Whitehead,W.E. & Delvaux,M. (1997) Standardization of barostat procedures for testing smooth muscle tone and sensory thresholds in

the gastrointestinal tract. The Working Team of Glaxo-Wellcome Research, UK. *Dig.Dis.Sci.*, **42**, 223-241.

155. Wilson,P., Perdikis,G., Hinder,R.A., Redmond,E.J., Anselmino,M. & Quigley,E.M. (1994) Prolonged ambulatory antroduodenal manometry in humans. *Am.J.Gastroenterol.*, **89**, 1489-1495.
156. Wingate,D.L., Stacher,G. & Kreiss,C. (1994) Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying. *Frontiers in gastric emptying. Dig.Dis.Sci.*, **39**, 120S-123S.
157. Wren,A.M. & Bloom,S.R. (2007) Gut hormones and appetite control. *Gastroenterology*, **132**, 2116-2130.
158. Yalow,R.S. & Berson,S.A. (1960) Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J.Clin.Invest*, **39**, 1157-1175.
159. Zerbib,F., Bruley,d., V, Scarpignato,C., Leray,V., D'Amato,M., Roze,C. & Galmiche,J.P. (1998) Endogenous cholecystokinin in postprandial lower esophageal sphincter function and fundic tone in humans. *Am.J.Physiol*, **275**, G1266-G1273.
160. Zunz,E. & La Barre,J. (1929) Contributions á l'étude des variations physiologiques de la sécrétion interne du pancréas: Relations entre les sécrétions externe et interne du pancréas. *Arch.Int.Physiol.*, **31**, 20-44.