

**Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
der Philips-Universität Marburg**

Geschäftsführender Direktor : Prof. Dr. Arnold

**Klinische Forschergruppe für Gastrointestinale
Endokrinologie**

Leiter Prof. Dr. Göke

des Fachbereiches Medizin der Philips-Universität Marburg in

Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Giessen und Marburg GmbH,

Standort Marburg

**Untersuchungen zur Bedeutung des distalen Kolons für die
Funktionsfähigkeit der Enteroinsulären Achse**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin der Philips-Universität Marburg
vorgelegt von

Nader Samadi Ahadi

Aus Täbriz(Iran)

-Marburg 2007-

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Phillips-Universität

Marburg am 08.02.2007

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. Maisch

Referent: Prof. Dr. R. Göke

Koreferent: Prof. Dr. B. Gerdes

Meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1. Historischer Überblick zum Diabetes mellitus.....	6
1.2. Inkretine.....	10
1.2.2. GLP-1: Intestinales Hormon und sekretorisches Peptid	13
1.2.3. Spezifische Rezeptoren im endokrinen Pankreas	16
1.2.4. Wirkungsweise von GLP-1.....	20
1.2.4.1. GLP-1-Stimulierte Insulinsekretion und -produktion	20
1.2.4.2. Induktion der Glukosekompetenz der B-Zellen.....	22
1.2.4.4. Antidiabetogene Wirkung des GLP-1	24
2. Hypothese.....	29
3. Patienten und Methoden.....	28
3.1. Patienten:.....	28
3.2. Studienprotokoll.....	29
3.3. Radioimmunologische Messungen	30
3.3.1. GLP-1 Radioimmunoassay.....	30
3.3.1.1. Probenaufbereitung für GLP-1-Bestimmung.....	32
3.3.1.2. Bestandteile der GLP-1-Radioimmunoassay.....	33
3.3.1.3. Abtrennung und Messung.....	35
3.3.1.4. Verwendete Pufferlösungen.....	36
3.3.2. GIP-Radioimmunoassay.....	34
3.3.3. Insulin-Radioimmunoassay.....	36
3.4. Blutzuckerbestimmung.....	37

4. Statistische Auswertung	39
5. Ergebnisse	40
5.1. Patientenbeschreibung:.....	41
5.2. Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die Glukose-Homöostase	42
5.3. Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die Insulin-Homöostase:.....	43
5.4. Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die GIP-Homöostase:	44
5.5. Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die GLP-1-Homöostase:.....	46
6. Diskussion	49
7. Zusammenfassung	57
8. Literature	60
9. Danksagung	73
10. Verzeichnis der Akademische Lehrer	74

1. Einleitung

1.1 Historischer Überblick zum Diabetes mellitus

Der erste überlieferte Hinweis auf eine Krankheit mit abnormer Polyurie, bei der es sich möglicherweise um einen Diabetes gehandelt hat, findet sich in einem 3000 Jahre alten Papyrus, das 1862 in einem Grab bei Theben gefunden wurde. In der antiken Medizin des Abendlandes und der frühen chinesischen oder indischen Medizin finden sich Berichte über Patienten, die große Mengen Urin ausschieden und bei denen der Urin süßlich schmeckte oder wie Honig aussah. Zu Zeiten von PARACELSUS im ausgehenden Mittelalter hielt man den Diabetes für eine Nierenerkrankung. Thomas WILLIS (1621-1675) hat als erster den Diabetes insipidus vom Diabetes mellitus abgegrenzt, bei dem er eine Vermehrung von Zucker im Urin beschrieb [66]. Richard MORTON (1637-1698) berichtete ein gehäuftes Vorkommen des Diabetes in einzelnen Familien. Pathophysiologie und Organzugehörigkeit der Erkrankung blieben verborgen. MORGANIER (1682 - 1771) ordnete den Diabetes in die Gruppe der Krankheiten mit unbekanntem Sitz ein. John ROLLO (1755-1809) beschrieb als erster den Acetongeruch in der Atemluft der Zuckerkranken [66]. Quantitative Bestimmungen der Glukose gelangen nach den Entdeckungen von TROMMER (1806 - 1879)

bzw. von FEHLING (1811 - 1885), die die nach ihnen benannten Zuckerbestimmungsmethoden beschrieben. Claude BERNARD (1813 - 1878), der sich überwiegend mit der Erforschung des exokrinen Pankreas befasste, führte bereits Glukosebestimmungen im Blut durch.

Im Jahre 1869 beschrieb Paul LANGERHANS (1847— 1888) die später nach ihm benannten Inselzellhaufen im Pankreas, ohne ihre Bedeutung zu erkennen. Die erste umfassende klinische Beschreibung des Coma diabeticum erfolgte 1874 durch Adolf KUSSMAUL (1822 - 1902).

Die moderne organisch und pathophysiologisch begründete Diabetologie beginnt mit der Entdeckung von Oskar MINKOWSKI (1858-1931) und Joseph von MERING (1849-1908), die durch Pankreatektomie bei Hunden einen Diabetes erzeugen konnten, der sich durch die Implantation von Pankreasgewebe wieder bessern ließ [67]. Carl VON NOORDEN (1858-1944) befasste sich mit der diätetischen Behandlung der Zuckerkrankheit und führte die Broteinheit mit 12 g Kohlenhydraten ein. Nachdem BANTING (1891-1941) und BEST (1899-1978) im Jahre 1921 ein blutzuckersenkendes Präparat aus dem Pankreas gewinnen konnten, erfolgte im Jahre 1922 die erste Therapie eines 14jährigen diabetischen Kindes [69]. Nach Injektion des gereinigten Extraktes aus Pankreas kam es zu einer dramatischen Besserung seines Zustandes. Bereits im Jahre 1923 erschienen die ersten kommerziell erhältlichen Insulinpräparate in Deutschland. Das erste

Insulinpräparat mit Depotwirkung wurde im Jahre 1936 von HAGEDORN hergestellt. Große Fortschritte machte in dieser Zeit auch die Entdeckung der metabolischen Zusammenhänge. So wurde 1937 von KREBS der Zitrat-Zyklus beschrieben, und 1953 der Pentosephosphat-Zyklus. Die Struktur des Insulins wurde 1953 von SANGER analysiert und bereits 1964 gelang H. ZAHN die erste Totalsynthese des Rinderinsulins.

Die blutzuckersenkende Wirkung der Sulfonamide wurde 1942 festgestellt. Das erste zur Behandlung der Zuckerkrankheit eingesetzte Sulfonamid (Carbutamid) wurde 1955 von FRANKE erprobt, im Jahre 1956 folgte dann das besser verträgliche Tolbutamid. Die blutzuckersenkende Wirkung der Biguanide wurde bereits 1929 erstmals beschrieben.

Ein Meilenstein für die Erforschung der Pathophysiologie stellte die radioimmunologische Bestimmung des Insulins dar, die im Jahre 1960 von YALOW und BERSON beschrieben wurde. Die Sonderstellung des Typ-II-Diabetes mit begleitenden metabolischen Veränderungen wurde Ende der sechziger Jahre beschrieben. Etwa seit dieser Zeit ist auch bekannt, dass der Typ-II-Diabetes besonders stark genetisch determiniert ist. Die ätiologische Beschreibung des Typ-I-Diabetes begann 1965 mit der Nutzung von genetisch veränderte Ratten-Tiermodellen, bei denen lymphozytäre Infiltrationen in den Inselzellen beschrieben wurden. Mitte der 70er Jahre wurde die HLA-Assoziation entdeckt, Anfang der 80er Jahre die

Insulinautoantikörper und Ende der achtziger Jahre wurden nach zunehmender Standardisierung der Antikörpertestungen erste Versuche einer Immunintervention des Typ-I-Diabetes unternommen. Die 1982 erfolgte Einführung des Humaninsulins in die Diabetestherapie war therapeutisch weniger entscheidend, als das etwa seit dieser Zeit etablierte Konzept der intensivierten Insulintherapie. Obwohl das Prinzip der Glucosidaseinhibitoren bereits 1968 entwickelt wurde, erfolgte die Ersteinführung des Alpha Glucosidaseinhibitors Acarbose jedoch erst im Jahre 1990[14].

Im Jahre 1993 wurde mit der so genannten DCCT-Studie erstmals bewiesen, dass sich durch intensive Bemühungen um eine möglichst normnahe Glukoseeinstellung das Risiko von Spätveränderungen vermindern lässt [68].

1.2. Inkretine

Als Inkretine werden Hormone bezeichnet, die nach Nahrungsaufnahme in die Zirkulation freigesetzt werden und in Gegenwart erhöhter Glukosespiegel die Insulinfreisetzung stimulieren.

Schon 1906 vermuteten Moore und seine Mitarbeiter die Existenz hormoneller Faktoren, die im Dünndarm gebildet sowie dort sezerniert werden und welche die Blutzuckerspiegel beeinflussen können [35]. Sie versuchten mit Hilfe von Dünndarm-Mukosapräparationen, die den potentiell blutzuckersenkenden „Stoff“ enthalten sollten, die Glukosurie bei Diabetikern zu verbessern. Der Wiener Pharmakologe Heller diskutierte 1929 Berichte von Öhme u. Wimmers [38] aus dem Jahre 1923, die besagen: „die Anregung der inneren Sekretion des Pankreas kann auf demselben Wege erfolgen, wie die der äußeren, nämlich durch ein von der Darmwand ins Blut gesandtes Hormon“ [26]. Heller konnte in Extrakten aus Dünndarmschleimhaut von Rind und Kaninchen Substanzen nachweisen, die erhöhte Blutzuckerspiegel absenken konnten und definierte sie in einer Folgeuntersuchung aus dem Jahre 1935 als „Duodenin“ [27].

Nachdem die exakte radioimmunologische Bestimmung von Insulin im Plasma in den 60er Jahren möglich wurde, konnte die funktionelle Verbindung zwischen Dünndarm und endokrinem Pankreas bewiesen

werden, [40]. In den Experimenten konnte gezeigt werden, dass die Insulinantwort nach oraler Glukosegabe kräftiger ist als nach intravenöser Applikation, obwohl die Glukoseplasmaspiegel identisch waren. Dieses Phänomen wurde als Inkretineffekt und der Verbund zwischen Darm und Pankreas als enteroinsuläre Achse bezeichnet [3, 4, 43]. Ausschlaggebend für den Inkretineffekt sollen Darmhormone (Inkretine) sein, die im Dünndarm gebildet und postprandial in die systemische Zirkulation freigesetzt werden, um dann an den B-Zellen des endokrinen Pankreas die glukoseinduzierte Insulinsekretion zu verstärken. Der Inkretineffekt nach Glukoseeinnahme hängt von der Menge der aufgenommenen Glukose ab und macht ungefähr 20-60% der C-Peptidantwort aus [5]. Daher muss davon ausgegangen werden, dass die enteroinsuläre Achse einen durchaus signifikanten Beitrag zur Regulation der postprandialen Insulinsekretion leistet [5, 9].

Eine nervale, reflektorische Verbindung zwischen Dünndarm und endokrinem Pankreas spielt dagegen wohl nur eine sehr untergeordnete Rolle.

1.2.1 Gastric inhibitory polypeptide (GIP)

Das zuerst identifizierte Inkretinhormon war das "gastric inhibitory polypeptide" (GIP) [2]. Es wird auch als "Glucose-dependent insulin-releasing polypeptide" bezeichnet. GIP bewirkt etwa 20% des Inkretineffekts [6]. Während die Bedeutung von GIP in zahlreichen Studien untersucht und

belegt ist, blieben die zusätzlichen Effektoren, die zum Inkretineffekt beitragen müssen, lange Zeit unbekannt.

Die Entdeckung des „Glucagon-like peptide 1“ (GLP-1) und dessen Bedeutung für die enteroinsuläre Achse revolutionierte und erweiterte das klassische Inkretinkonzept [14, 16, 32].

Kolligs fand, dass der Inkretineffekt durch Gabe eines GLP-1-Rezeptor Antagonisten (Exendin (9-39) NH₂) um etwa 60% verringert wird [30]. Somit scheint eine Kombination von GIP mit dem 1992 erstmals beschriebenen [32] Inkretinhormon GLP-1 den Inkretineffekt im großem Umfang bewirken zu können.

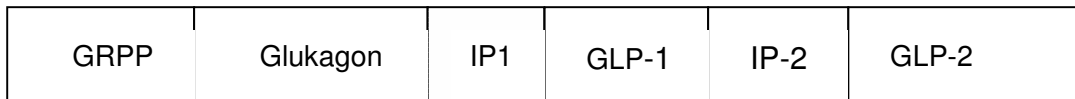
1.2.2 GLP-1: Intestinales Hormon und sekretorisches Peptid

Die Sequenz von GLP-1, einem Peptid mit 30 Aminosäuren, ist im Proglukagon-Gen kodiert [1], (Abb. 1).

Die Expression dieses Gens erfolgt in den *A-Zellen* des endokrinen Pankreas, in verschiedenen Neuronen des Gehirns und in den intestinalen neuroendokrinen L-Zellen des Darms. Zunächst bilden die Gewebe ein Vorläufermolekül aus 160 Aminosäuren. Das Pre-Proglucagon-Gen ist auf dem langen Arm des Chromosoms 2 lokalisiert.

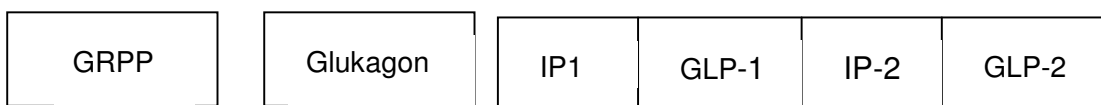
Durch einen gewebespezifischen, posttranslationalen Umbau des Prohormons „Proglukagon“ entstehen schließlich in den einzelnen Organen unterschiedliche Endprodukte [3], (Abb. 1).

Proglukagon



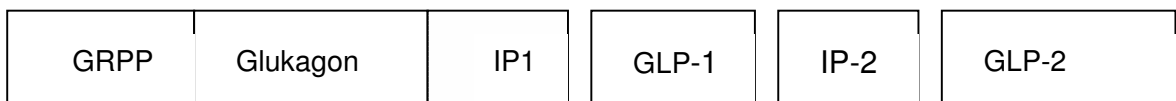
Prozessierung in den α -Zellen des Pankreas:

MPFG



Prozessierung in den L-Zellen des distalen Kolons:

Glicentin



Oxyntomodulin

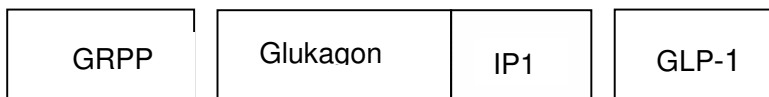


Abbildung 1: Schematische Darstellung der gewebespezifischen posttranslationalen Prozessierung von Proglukagon. GRPP = Glicentin-related pancreatic polypeptide; MPFG = Major proglukagon fragment; IP = Intervening peptide

In α -Zellen des Pankreas werden praktisch nur Glukagon, das N-terminale Fragment „glicentin-related pancreatic peptide“ sowie das C-terminale „major pancreatic proglucagon fragment“ gebildet, das nicht weiter aufgespalten wird. In den intestinalen L-Zellen (Abb. 4) entstehen Glicentin,

Oxyntomodulin sowie GLP- 1 und GLP-2. GLP-1 wird zunächst als ein Peptid aus 37 Aminosäuren gebildet, das biologisch inaktiv ist. Im weiteren Verlauf werden 6 N-terminale Aminosäuren abgespalten, so dass das biologisch aktive Peptid GLP-1 (7-37) entsteht [34]. Der Sinn dieses letzten Schrittes im posttranslationalen Prozess ist unbekannt, zumal beide Hormon-Isoformen offenbar gleiche biologische Aktivität haben und amidierter GLP-1(7-36)NH₂ nicht stabiler ist. Beide Formen, GLP-1 (7-37) und GLP-1 (7-36)amid, kommen in intestinalen Extrakten so wie auch im Plasma vor [39].

Während die menschlichen intestinalen neuroendokrinen L-Zellen praktisch nicht im Duodenum vorkommen, nimmt ihre Zahl im Ileum und Kolon nach distal kontinuierlich zu und findet ihr Maximum im Rektum [7]. In den sekretorischen Granula der L-Zellen ist GLP-1 häufig zusammen mit Peptid YY nachweisbar [7]. Eine Cosekretion von GLP-1 und Peptid YY ist daher wahrscheinlich.

Nach der oralen Aufnahme von Glukose wird GLP-1 rasch in die Zirkulation freigesetzt. Der basale Plasmaspiegel von GLP-1 beträgt etwa 5-10 pmol/L und steigt nach Glukoseaufnahme um das 4-bis 5fache an [28]. Fette und Aminosäuremischungen können die Freisetzung von GLP-1 ebenfalls stimulieren. Welcher molekulare Mechanismus der GLP-1-Freisetzung zugrunde liegt, ist noch unbekannt, da das Peptid in größeren Mengen erst in den distalen Darmabschnitten vorkommt, die in der beschriebenen Zeit nicht

von den Nahrungssubstraten erreicht werden [7]. Am ehesten sind dabei enterointestinale Reflexe oder noch unbekannte hormonale Mediatoren beteiligt.

1.2.3 Spezifische Rezeptoren im endokrinen Pankreas

Seine zahlreichen Wirkungen an den insulinproduzierenden B-Zellen vermittelt GLP-1 durch spezifische Rezeptoren [17, 19, 21]. Immunhistochemisch konnten diese Rezeptoren an der β -Zelle und der δ -Zelle der Pankreasinseln nachgewiesen werden. Auch eine Subpopulation der glukagonproduzierenden A-Zellen besitzt wahrscheinlich GLP-1 Rezeptoren. Spezifische Rezeptoren für GLP-1 wurden erstmals 1988 auf RINm5F-Zellen gefunden und später auch auf weiteren Insulinom-Zelllinien und Plasmamembranen menschlicher Insulinomzellen nachgewiesen [17,33]. Die Klonierung der cDNA des menschlichen GLP-1 Rezeptors zeigte, dass das für den Rezeptorkodierende Gen auf dem langen Arm des Chromosoms 6 lokalisiert ist und aus mehreren Exons und Introns aufgebaut ist [1,70]. Durch Northern-Blot Analysen mit GLP-1 Rezeptor cDNA ließen sich mehrere mRNA-Spezies nachweisen, die möglicherweise auf ein gewebsspezifisches RNA-splicing hinweisen [33]. Durch Translation der mRNA entsteht ein aus 463 Aminosäuren bestehendes Protein mit einem relativen Molekulargewicht von 63 kDa [17,44]. Die Expression des GLP-1 Rezeptors konnte in

verschiedenen Geweben des Magen-Darm-Traktes und im Hypothalamus nachgewiesen werden [42,71]. Ebenfalls wurden die mRNA's des Rezeptors in der Lunge, Leber, Muskelgewebe und in den Nieren detektiert [72].

Die gewebsspezifische Expression der GLP-1 Rezeptoren wird durch einen Promotor vermittelt, dessen Sequenz mittlerweile bekannt ist und dessen Feinregulierung durch spezifische Transkriptionsfaktoren erreicht wird [73,74]. Abrahamsen & Nishimura berichteten über eine Inhibierung der Expression des Rezeptors durch Dexamethason und eine leichte Erhöhung der Expression durch Glukose nach Untersuchungen an Ratten Insel-Zellen [75]. Eine Erhöhung des cAMP zeigte in diesem Falle keinen Effekt auf das Expressionsniveau des Rezeptors. Im Gegensatz dazu konnte in einer Studie an Insulin-produzierenden RINm5F-Zellen gezeigt werden, dass Agenzien, die eine Erhöhung des cAMP-Spiegels bewirken, eine Senkung der Expression des GLP-1 Rezeptors verursachten, was allerdings mit der Desensibilisierung des Rezeptors zusammenhängen könnte [72]. In der Regulierung der GLP-1-Rezeptor-Expression vermutet man einen der Mechanismen der Regulierung der biologischen Aktivität von GLP-1.

Der GLP-1-Rezeptor gehört zur Familie der Rezeptoren mit sieben transmembranösen Domänen und ist an G Proteine gekoppelt (Abb. 2).

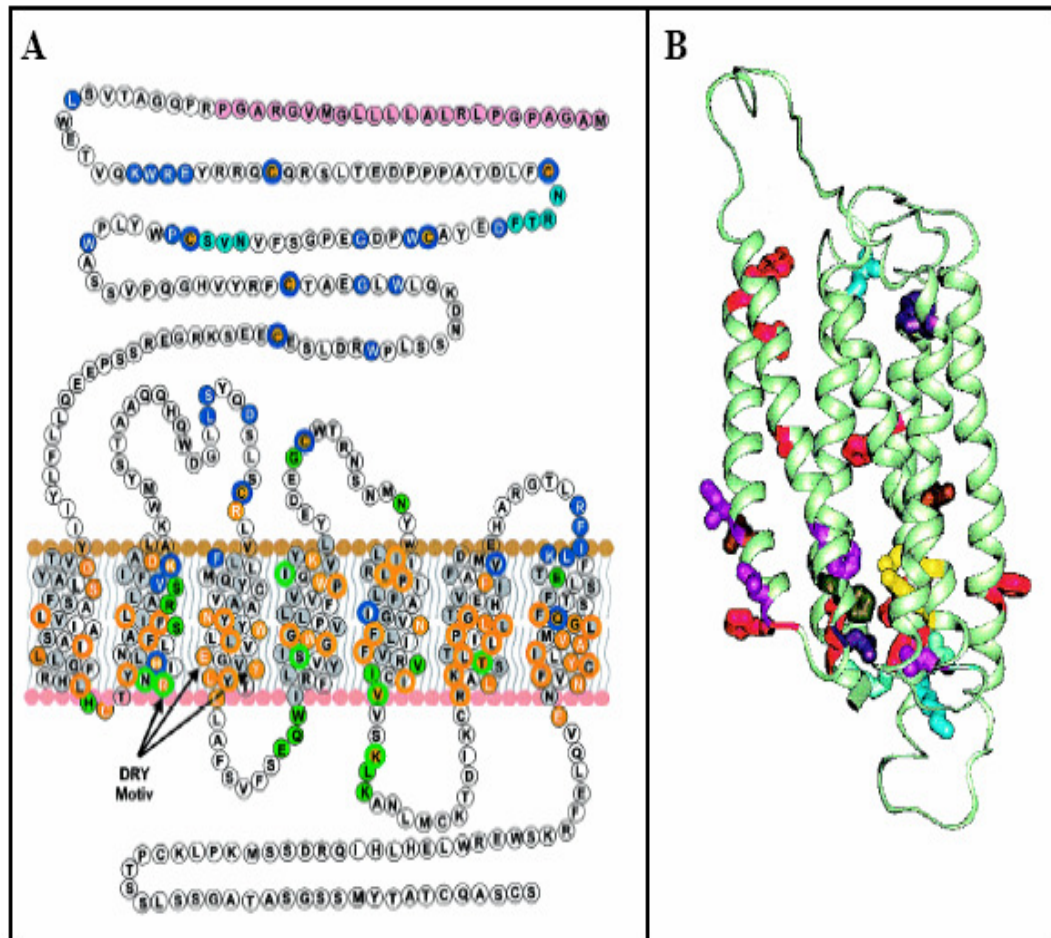


Abb. 2: (entnommen aus Frimurer & Bywater, 1999) A: Schematische Darstellung des GLP-1 Rezeptors. In rosa: Signal-Sequenz; in orange: konservierte Reste; in blau: möglicherweise in der Bindung beteiligte Reste; in türkis: Glykosylierungsstellen; in grün: in der Signalübertragung beteiligte Reste; in grau: Reste, die an die Lipidschicht der Membran angrenzen

B: Modell der strukturellen Anordnung von Transmembranhelizes des GLP-1 Rezeptors ohne der N-terminalen Domäne. Das N-terminale Ende befindet sich oben, und das Molekül ist orthogonal zur Membran angeordnet.

Der molekulare Mechanismus für die Insulin-Freisetzung besteht darin, dass durch Bindung von GLP-1 an seinen Rezeptor eine Interaktion des Rezeptors mit einem G-Protein und daraus folgend eine Aktivierung der

Adenylat-Cyclase stattfindet. Gesteigerte Konzentrationen an cAMP verursachen eine Schließung der ATP-abhängigen Kalium-Kanäle und eine Aktivierung von unspezifischen Kationenkanälen, die zu einer Membrandepolarisation führen. Vermittelt wird diese Wirkung durch die Aktivierung der Proteinkinase A. Durch die Depolarisation erfolgt ein Kalzium-Einstrom in die Zellen, welcher die Exozytose von Insulingranula stimuliert.

Die Stimulierung der Genexpression von Proinsulin durch GLP-1 erfolgt wieder durch cAMP-vermittelte Aktivierung der Proteinkinase A (PKA). Die cAMP bindet zur regulatorischen Untereinheit R von PKA, was zu einer Freisetzung von der katalytischen Untereinheit C des PKA führt. Die aktive Kinase phosphoryliert und aktiviert dadurch den Transkriptionsaktivator CREB im Nukleus, der an CRE im Promotorbereich des Proinsulingens gebunden vorliegt. Diese Kaskade resultiert in der Stimulierung der Transkription des Proinsulingens [75], (Abb. 3).

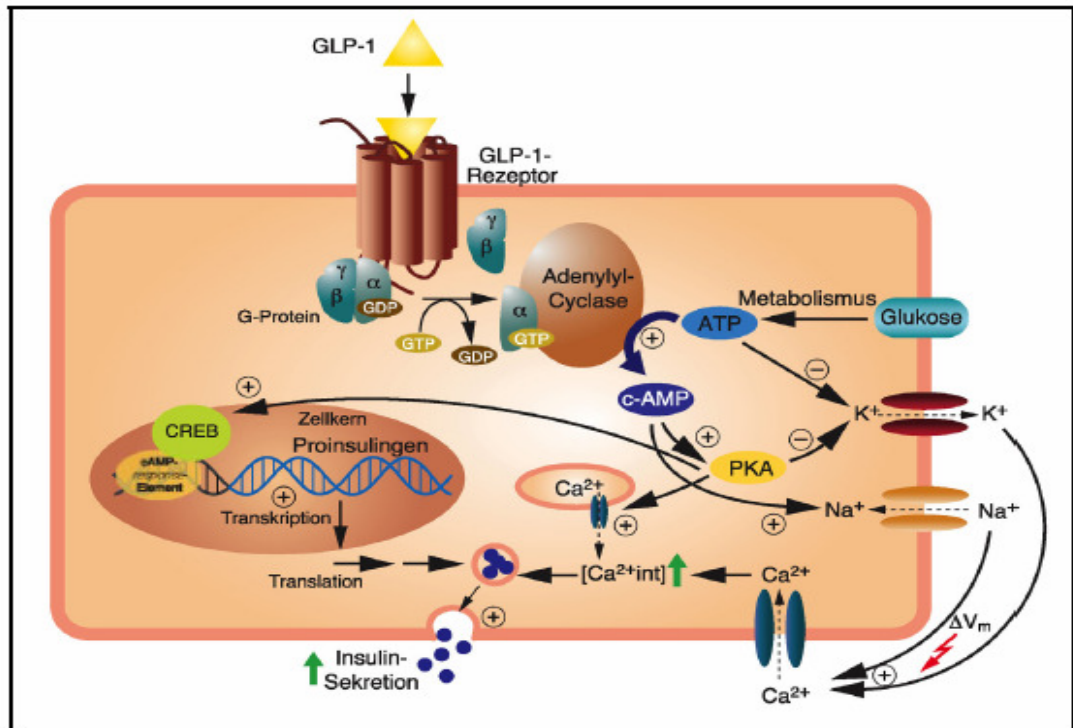


Abbildung 3: Signaltransduktion von GLP-1 zur Freisetzung von Insulin und zur Erhöhung der Expression des Proinsulins (entnommen aus Göke *et al.*, 2002)[76].

1.2.4 Wirkungsweise von GLP-1

1.2.4.1 GLP-1-Stimulierte Insulinsekretion und -produktion

Es ist unbestritten, dass GLP-1 eine zentrale Rolle bei der Glukosehomöostase spielt (Abb.4). Die kräftige Stimulation der Insulinsekretion durch GLP-1 ist in allen bisherigen experimentellen und klinischen Studien belegt [14].

eine solche Wirkung nicht [37]. Fallen Plasmaglukosespiegel unter den postprandialen Werten, erlöscht die GLP-1 stimulierte Insulinsekretion. Daher kann GLP-1 beim Menschen keine gefährlichen Hypoglykämien auslösen.

GLP-1 kann wie die Sulfonylharnstoffe die Freisetzung von Insulin stimulieren, es kann aber außerdem auch die Expression des Insulingens in B-Zellen stimulieren, und zwar indem es direkt die Gentranskription von Proinsulin erhöht [13]. Als Folge produzieren die B-Zellen mehr Insulin. Eine solche Wirkung lässt sich für die Sulfonylharnstoffe nicht nachweisen. Somit beeinflusst GLP-1 zahlreiche Funktionen der B-Zellen und muss daher als ein insulinotropes Hormon bezeichnet werden.

1.2.4.2 Induktion der Glukosekompetenz der B-Zellen

Die in den Langerhans-Inseln enthaltenen B-Zellen sind physiologisch eine heterogene Zellpopulation. Nur ein Teil von ihnen sezerniert auf den physiologischen Glukosereiz hin Insulin. Mit modernen elektrophysiologischen Methoden konnte Holz 1993 nachweisen, dass GLP-1 den Anteil der glukosesensiblen B-Zellen erhöhen kann [29]; das heißt, nach Exposition gegenüber GLP-1 antworten mehr B-Zellen auf eine Glukosestimulation. Außerdem fällt die Reaktion bereits glukosesensibler B-Zellen auf den Glukosereiz nach GLP-1-Exposition deutlich stärker aus. Der molekulare Mechanismus besteht darin, dass GLP-1 bei den B-Zellen auch eine Schließung des ATP-abhängigen Kaliumkanäle bewirkt, was eine

Membrandepolarisation mit anschließendem Kalziumeinstrom zur Folge hat. Vermittelt wird diese Wirkung am ehesten wiederum durch die Aktivierung der Proteinkinase A. Ein physiologisches Korrelat finden diese Ergebnisse im „Priming Effect“ [12]. Nach einer kurzen Exposition gegenüber GLP-1 antwortet das endokrine Pankreas mit einer deutlich erhöhten Insulinfreisetzung. GLP-1 kann also direkt und indirekt die Insulinsekretion positiv beeinflussen.

1.2.4.3 Auswirkungen des GLP-1 auf die Motilität des proximalen Gastrointestinaltrakt

Nicht nur die Funktion des endokrinen Pankreas, sondern auch die Nahrungsaufnahme, das Sättigungsgefühl und die Magenfunktion werden von GLP-1 beeinflusst [5, 14]. Die Magenentleerung und die Säuresekretion werden gehemmt. Es kommt zur einer Verstärkung des Sättigungsgefühls. Zudem steigert GLP-1 die antrale Somatostatinausschüttung [8]. Die Effekte von GLP-1 am Magen werden zentralnervös beeinflusst. Die Hemmung der Magenentleerung ist nicht unbedingt eine unerwünschte Wirkung, denn die Nahrung gelangt so langsamer in den Dünndarm und die Resorption der Nahrungssubstrate ist dadurch verzögert. Ein Teil der Diabetiker weist aber eine funktionelle Magenentleerungsstörung („diabetische Gastroparese“) auf

und kommt deshalb möglicherweise nicht für eine Therapie mit GLP-1 in Frage. Dies muss weiter in klinischen Untersuchungen geprüft werden.

1.2.4.4 Antidiabetogene Wirkung des GLP-1

Während GIP seine Wirkung bei den Typ II Diabetikern verliert, bleibt die antidiabetogene Wirkung von GLP-1 erhalten. Damit ist GLP-1 ein Kandidat zur Therapie des Typ II Diabetikers [4].

Infusion und subkutane Injektion von GLP-1 bewirken bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ II eine deutliche Steigerung der Insulinsekretion sowie eine Hemmung der Glukagonfreisetzung [24, 25, 32, 36, 37]. Außerdem wird eine verzögerte Magenentleerung beobachtet. Alle drei Mechanismen sind aus therapeutischer Sicht von Interesse und an der blutzuckersenkenden Wirkung von GLP-1 beteiligt: Insulin fördert an seinen Zielgeweben die Glukoseaufnahme und unterdrückt durch die niedrigeren Glukagonspiegel die Glukoneogenese. Die Hemmung der Glukagonsekretion wird sowohl bei Typ I als auch bei Typ II Diabetikern beobachtet.

Zwei molekulare Mechanismen tragen zur GLP-1-induzierten Insulinsekretion beim Diabetes mellitus Typ II bei: Zum einen die direkte Verstärkung der glukoseinduzierten Insulinfreisetzung und zum anderen die Sensibilisierung einer Subgruppe von B-Zellen gegenüber dem Schlüsselreiz

„Glukose“ [12] und möglicherweise auch gegenüber weiteren Stimuli, so dass insgesamt mehr B-Zellen Insulin sezernieren. Diese „Priming“-Wirkung durch erhöhte Aktivität von Glukosetransporter (GLUT1) und des glukosephosphorylierenden Enzyms (Hexokinase1) erklärt am ehesten die Tatsache, dass GLP-1 trotz seiner relativ kurzen Plasmahalbwertszeit zu einer langanhaltenden Insulinfreisetzung führt [59]. Neuere Untersuchungen zeigen auch eine proliferative Wirkung der GLP-1 an den β -Zellen [60].

Nach R. Göke ist die insulinfreisetzende Wirkung von erhöhten Glukosespiegeln (> 108 mg/dl) abhängig [22]. Dies unterscheidet GLP-1 grundsätzlich von den Sulfonylharnstoffen, die die Insulinsekretion unabhängig vom Glukoseplasmaspiegel beeinflussen. Sinkt der Glukosewert unter 108 mg/dl, so sinkt die Insulinsekretion selbst bei intravenöser Infusion von GLP-1. Daher sind beim therapeutischen Einsatz von GLP-1 keine Hypoglykämien zu erwarten und wurden tatsächlich in den bisherigen klinischen Studien auch nicht beschrieben.

Aus therapeutischer Sicht ist in jedem Fall die Synthese stabiler und wirkungsstarker GLP-1-analoger Peptide wünschenswert. Untersucht wurden bisher 2 strukturverwandte, natürliche Hormone (Helodermin und Exendin 4), die ursprünglich aus dem Gift von Echsen (*Heloderma horridum* und *Heloderma suspectum*) isoliert wurden. Während Helodermin die Insulinsekretion nur gering beeinflusst, ist Exendin 4 ein Superagonist am

GLP-1-Rezeptor, das heißt, dieses Hormon ist noch wirksamer als GLP-1 selbst bezüglich der Stimulation der Insulinsekretion und der Transkription des Proinsulins [23].

In der Abbildung 5 werden verschiedene Wirkungen von GLP-1 dargestellt.

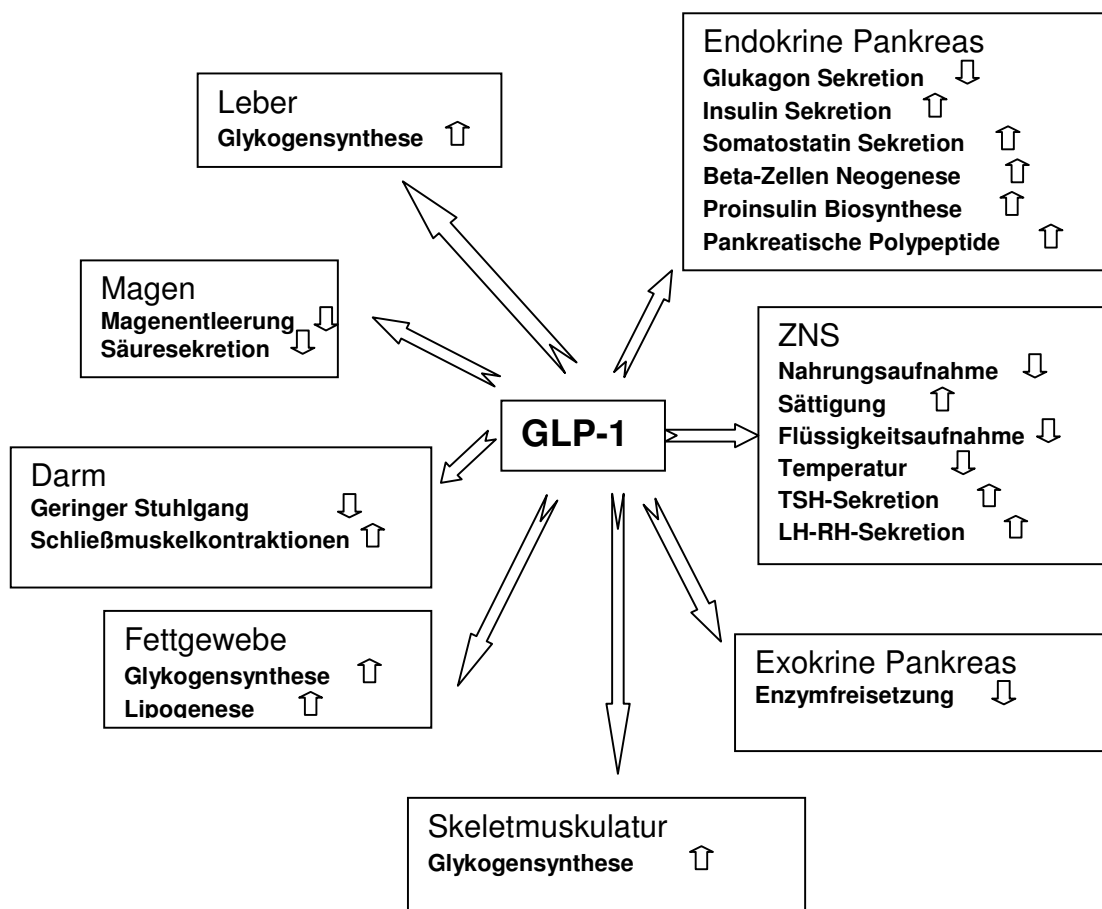


Abb.5: Wirkungen der GLP-1 in verschiedenen Organe und Gewebe in vivo. (nach Meier et al 2002) [57].

2. Hypothese

Die verstärkte Insulinfreisetzung durch orale Glukoseeinnahme wird durch Freisetzung insulinotroper Darmhormone nach Nahrungsaufnahme vermittelt. Während GIP als Inkretinomon des oberen Dünndarmes höchstwahrscheinlich nach direktem Kontakt der Nahrung mit der Darmmukosa in das Blut freigesetzt wird, ist die Regulation der GLP-1-Freisetzung offensichtlich viel komplizierter und derzeit wird von vielen Arbeitsgruppen versucht, die Mechanismen der Verbindung zwischen der GLP-1-Freisetzung und der Nahrungsaufnahme zu definieren [6].

Wir wissen, dass die intestinalen L-Zellen durch Kontakt mit dem Darminhalt und durch Wirkung potentieller Mediatoren aus dem Kreislauf und dem neuronalen System stimuliert werden können [5], wobei bekannt ist, dass die GLP-1 produzierenden Zellen relativ distal im Darmtrakt lokalisiert sind.

In diesem Zusammenhang stellen wir die Hypothese auf, dass die Resektion eines distalen Kolon-Anteils zum einen veränderte postprandiale GLP-1-Konzentration im Serum bewirken und zum anderen eine pathologische Glukosestoffwechsellage induzieren kann. .

3. Patienten und Methoden

3.1 Patienten:

Ziel der Untersuchung war die Evaluation des Einflusses einer distalen Kolonresektion auf postprandiale GLP-1-Konzentration im Serum und die Glukosestoffwechsellage. Für diese prospektive Längsschnittuntersuchung erfolgte konsekutives Screening von Patienten mit geplanter Kolonteilresektion aufgrund anderer Erkrankungen (Divertikulose, Kolonneoplasien), welche folgende Einschlusskriterien erfüllten: Alter über 18 Jahre Einverständniserklärung für die Studienaufnahme und erforderlichen Untersuchungen.

Ausschlusskriterien waren in der Familienanamnese vorhandener Diabetes mellitus oder beim Patienten bekannte oder bei Eingangsuntersuchung nachzuweisende diabetische Stoffwechsellage, Nierenerkrankungen Lebererkrankungen und chronisch-entzündliche Darmerkrankungen. Die Eingangsuntersuchungen erfolgten bei 18 Patienten, von denen 5 Patienten wegen pathologischer Stoffwechsellage nach dem ersten OGTT nicht in die Studie eingeschlossen werden konnten. So dass letztlich 13 Patienten in die Studie eingeschlossen werden konnten. Zwei Patienten erschienen nicht zur

Folgeuntersuchungen und mussten ausgeschlossen werden (drop out). Abschliessend konnten die Daten von 11 Patienten verwertet werden.

3.2 Studienprotokoll

Bei den Patienten wurde ein oraler Glukosetoleranztest (OGT) zu zwei Zeitpunkten, d.h. präoperativ sowie am 10. postoperativen Tag, nachdem die reguläre Nahrungsaufnahme wieder aufgenommen worden und eine Postaggressionsstoffwechsellage nicht mehr anzunehmen war, durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten jeweils morgens nach einer 12 stündigen Nahrungskarenz. Die Patienten tranken 75 Gramm einer Glucoselösung (Dextro O.G-TT.), Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany). Blutproben wurden aus einer vorher angelegten Unterarmbraunüle 10 Minuten vor und gleich nach Glukoseeinnahme nach 10, 20, 30, 60 und 90 Minuten abgenommen und sofort aufbereitet. Hierbei wurden jeweils die Konzentrationen von Glukose, Insulin, Glukagon, GIP und GLP-1 im Plasma bestimmt.

Das Untersuchungsprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität Marburg unter der Registriernummer 59/95 und 77/96 angenommen.

Alle Patienten erhielten schriftliche Informationen über den Untersuchungshergang sowie mögliche Risiken und waren darüber informiert, dass sie zu jeder Zeit die Untersuchung abbrechen dürften.

3.3. Radioimmunologische Messungen

3.3.1. GLP-1 Radioimmunoassay

Im Serum befinden sich viele Faktoren, die mit der GLP-1 Konzentrationsbestimmung interferieren können, so dass in unserer Arbeitsgruppe eine spezielle Extraktionsmethode entwickelt wurde.

3.3.1.1. Probenaufbereitung für GLP-1 Bestimmung

Hierfür wurden ein Extraktionsfilter (Sep Pak Cartridge), 5-, 10- und 20 ml Injektionsspritzen und vier verschiedene Puffer mit folgender Zusammensetzung verwendet: Puffer A: Aqua dest. mit 0,1% TFA; Puffer B: 100% Acetonitril; Puffer C: 30% Acetonitril, 70% Aqua dest., 0,1% TFA; Puffer D: 60% Acetonitril, 40% Aqua dest., 0.1% TFA.

Arbeitsschritte:

1. Zunächst werden 2 ml des Serums zusammen mit 3 ml Puffer A aufgenommen und in eine 5 ml Injektionsspritze aufgezogen.

2. Das Sep Pak Cartridge wird mit 10 ml Puffer B (Acetonitril) aktiviert.
3. Danach wird das Sep Pak Cartridge mit 20ml Puffer A gespült.
4. Das verdünnte Serum wird nun langsam durch das vorbereitete Sep Pak Cartridge gespritzt.
5. Das Sep Pak Cartridge wird anschließend ein zweites Mal mit 10 ml Puffer A gespült.
6. Das Sep Pak Cartridge wird mit Puffer C voreluiert und danach mit 3ml Puffer D eluiert.
7. Das Eluat wird in einem Speedvac- Röhrchen aufgefangen und mit einer Vakuumentrifuge (Speedvac) eingetrocknet. Das so erhaltene Lyophilisat wird bei -20°C gelagert.
8. Für den Einsatz in den RIA wird das Lyophilisat in 600µl Borsäure-Puffer gelöst und für die weiteren Untersuchungen werden 200 µl in ein RIA-Röhrchen gegeben und wie im Folgenden beschrieben eingesetzt.

3.3.1.2. Bestandteile der GLP-1 Radioimmunoassay

Der GLP-1 Radioimmunoassay besteht aus folgenden Komponenten:

Antikörper: Das immunoreaktive GLP-1 (7-36)amid bindet einen spezifischen polyklonalen Antikörper (Code: GA 1178 Affinity Research, Nottingham, UK), der in Kaninchen produziert wurde. Die Nachweisgrenze des Antikörpers liegt

bei 1 fmol/ml, wobei eine 100%ige Spezifität für den Nachweis von Affinität zu GLP-1 (7-37) und GLP-1 (7-36)amid besteht. In unserem Labor konnte keine Kreuzreaktivität mit Glicentin, Oxyntomodulin, GLP 2, GIP oder Glukagon festgestellt werden. Der Inhalt eines Gläschens wird in 25 ml Borsäure-Puffer aufgenommen und in einer Menge von 100 µl in den RIA eingesetzt.

Tracer: ^{125}J -GLP-1 (7-36)amid wird mit der Jodogenmethode hergestellt. Dazu wird Jodogen auf die Innenwand eines Eppendorf-Hütchens aufgedampft. 100 µl Phosphatpuffer (0,2 M, PH 7,5), in dem 10 µg GLP-1(7-36)amid gelöst sind, und 1mCi Na^{125}J werden in das Eppendorf-Hütchen gegeben und 3 min inkubiert. Mit 300 µl 0,1% TFA wird der Vorgang unterbrochen und die Lösung auf eine Nova-Pak C18 reversed-phase HPLC-Säule gegeben.

Die Säule wurde mit 0,1% TFA, Flussrate 1,5 ml/min äquilibriert. Das ^{125}J GLP-1 wird mit einem linearen Gradienten von 0-70% Acetonitril aufgereinigt, wobei in einminütigen Abständen Proben entnommen werden. Bei einer Acetonitrilkonzentration von ungefähr 42% eluiert das markierte GLP-1 von der Säule.

Mit einem Gammacounter werden die Proben, die ^{125}J GLP-1 enthalten, identifiziert und bei -20 °C gelagert. Der Tracer wird für den Einsatz im RIA mit

Borsäure-Puffer so verdünnt, dass in 100 µl Tracer 3000 cpm zu messen sind. Die spezifische Aktivität des Tracers lag bei annähernd 74 Tbq/mmol.

Standardkurve: Aus der Stammlösung mit einer Konzentration von 10µg/ml GLP-1(7-36)amid werden 50µl entnommen. Diese werden erst 1:100, dann 1:94.78 verdünnt, um eine Konzentration von 105,5pg in 100µl entsprechend 32fmol/Röhrchen (1. Standard), zu erhalten. Mit dem ersten Standard wird eine 1:2 Verdünnungsreihe (7 Schritte) begonnen, bis eine Konzentration von 0.25 fmol/Röhrchen (8. Standard) vorliegt.

3.3.1.3. Abtrennung und Messung

1. Nach vier Tagen Inkubationszeit bei 4°C, werden in alle Röhrchen, bis auf eines „Total Counts“, das nicht abgetrennt wird, 100µl 1% Gammaglobulin (0,1g auf 10ml Borsäure-Puffer) und 1ml 20% PEG (20g Polyetylen glykol/100ml PBS) gegeben. Anschließend werden die Proben geschüttelt und 45min bei 3000U/min und einer Temperatur von 4°C zentrifugiert. Der Überstand der Proben wird abgetrennt und die Radioaktivität des im Röhrchen verbliebenen Pellets mit einem Gammacounter gemessen. Aus der Anzahl der gemessenen „Counts“ lässt sich anhand der Standardkurve die GLP-1-Konzentration errechnen.

Die GLP-1 Konzentrationen werden in [fmol/Röhrchen] angegeben, das Lyophilisat enthält GLP-1 aus zwei Milliliter Serum. Ein Drittel des gelösten Lyophilisats wird eingesetzt, folglich muss der angegebene Wert mit 1,5 multipliziert werden, um den Wert in [fmol/ml] zu erhalten.

Die Interassay Koeffizient liegt bei 10,2 und der Intraassay Koeffizient bei 3,4%.

3.3.1.4. Verwendete Pufferlösungen

Borsäure-Puffer: 50mM Borsäure (1,55g/500ml), 0,2% Bovines Serum Albumin (BSA) (1.0g/500ml) und 0.02% Triton X-100 (0,1ml/500ml) werden in 500ml Aqua dest. gelöst und auf pH 8,2 eingestellt.

PBS: Pufferlösung, bestehend aus: NaCl- 8g/l, KCl- 0,2g/l, Na₂HPO₄ 2 H₂O- 1,15g/l, KH₂PO₄- 2g/l. Die Pufferlösung wird auf einen pH von 7,4 eingestellt.

3.3.2 GIP-Radioimmunoassay

Für diese Messung wurde ein kommerzielles RIA-Kit-System (Peninsula Laboratoris Inc., 611 Taylor Way, Belmont, California 94002) verwendet.

RIA-Protokoll:

1. Tag: Auflösen des Pufferpulvers mit 200ml Aqua dest. und Rekonstituieren der Stammlösung (+1ml Puffer) und des Antikörpers (+13ml Puffer).
Standardkurve: aus dem Stock (12,8 µg GIP/ml) werden 10 µl entnommen und auf 1ml verdünnt, so dass sich der erste Standard von 128 pg/Röhrchen ergibt. Mit 1:2 Verdünnungen wird die Standardkurve bis zu einer Konzentration von 1pg/Röhrchen erstellt. Für den Counter werden noch jeweils zwei Röhrchen mit „Total Counts“, „Blank“ (200µl Puffer) und „Reference“ (100 µl Puffer, 100 µl AK) beschriftet und pipettiert. Die Proben (100 µl Serum, 100 µl AK) werden in ihrer Reihenfolge dahinter eingeordnet. Danach werden alle Proben geschüttelt und 16-24 h bei 4 °C inkubiert.
2. Tag: Der Tracer wird rekonstituiert (13ml Puffer) und auf alle Proben in einer Dosierung von 100 µl gegeben. Anschließend werden alle Proben geschüttelt und 16-24h bei 4 °C inkubiert.
3. Tag: Von Ziegen gebildetes Anti-Kaninchen IgG und Kaninchen Serum Lyophilisat werden mit je 13 ml rekonstituiert und davon je 100 µl auf alle Proben pipettiert. Die Proben werden geschüttelt und 6h bei Raumtemperatur inkubiert. Danach werden 500µl Puffer dazugegeben, die Proben geschüttelt und bei 3000U/min zentrifugiert. Wie bereits für den GLP-1 RIA beschrieben wurde, wird der Überstand der Proben abgetrennt und die Radioaktivität, des Pellets 3min im Gammacounter bestimmt.

3.3.3. Insulin-Radioimmunoassay

Der Insulin RIA war ein ebenfalls kommerzielles Kit-System (DPC, Diagnostic Products Corporation, 5700 West 96th Street Los Angeles, CA, USA) und wird in Deutschland von der Firma Biermann vertrieben. Der RIA ist komfortabler, da sich der AK bereits an der Gefäßwand befindet („Coated tubes“).

Protokoll:

1. Tag: Der Tracer liegt in konzentrierter Form vor und wird mit 100ml Aqua dest. verdünnt. Die Standardkurve liegt in lyophilisierter Form vor. Standard A entspricht der „Reference“ und wird mit 6ml Aqua dest gelöst. Die Standards B-E enthalten 5, 15, 50, 100, 200 und 400µl und werden mit 3ml Aqua dest. resovliert. In die dafür vorgesehenen RIA Röhrrchen werden 200µl der Standards oder 200µl Serum pipettiert. Auf alle Proben, Standardkurve und „Total Counts“, wird je 1ml Tracer pipettiert. Anschließend werden die Proben geschüttelt und für 18-24h bei Raumtemperatur inkubiert.

2. Tag: Die Proben werden abgetrennt und einige Minuten umgekehrt auf Zellstoff abgetropft, danach werden sie im Gammacounter über eine Dauer von 1 min gemessen.

3.4. Blutzuckerbestimmung

Für die Blutzuckerbestimmung wurde ein käufliches Kit-System von Boeringer Mannheim verwendet. Die Bestimmungen erfolgten mittels der Hexokinase-Methode. D-Glukose wird durch das Enzym Hexokinase und Adenosin-5'-Triphosphat zu Glukose-6-Phosphat und Adenosin-5'-Diphosphat phosphoryliert (Reaktion 1). In Gegenwart des Enzyms Glukose-6-Phosphatdehydrogenase wird Glukose-6-Phosphat von NADP^+ zu Glukonat-6-Phosphat oxidiert, wobei $\text{NADPH}+\text{H}$ entsteht. Die entstandene $\text{NADPH}+\text{H}$ Menge ist der Glukosemenge äquivalent. $\text{NADPH}+\text{H}$ ist die Messgröße, deren Extinktion bei 340nm gemessen wird.

Das Kit-System enthält drei Komponenten:

- 1.) Triätanolamin-Puffer, 110mg NADP , 260mg ATP , Magnesiumsulfat und Stabilisatoren. Der Inhalt wird mit 45ml Aqua dest. gelöst (Lösung 1);
- 2.) 1,1ml Enzymsuspension (320U Hexokinase, 160U Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase (Lösung 2));
- 3.) Standard-Lösung.

Um den Leerwert zu erhalten, wird in eine Küvette 1ml Lösung 1 und 2ml Aqua dest. gegeben. Der Probenwert lässt sich ermitteln, in dem 100 µl Serum in eine weitere Küvette gegeben werden und 1ml der Lösung 1 sowie 1,9ml Aqua dest. hinzugefügt werden (Reaktion 1). Nach einer Wartezeit von drei Minuten werden die Proben und der Leerwert im Spektrometer bei 340 nm gemessen (Extinktion 1). Daraufhin werden die Proben und der Leerwert mit 200µl Enzymsuspension versehen (Reaktion 2). Nach einer weiteren Wartezeit von 15 Minuten wird erneut die Extinktion gemessen (Extinktion 2).

Extinktion 1 wird von der Extinktion der Reaktion 2 subtrahiert, und auf diese Weise die Differenz der Extinktion des NADPH+H errechnet. Aus der Differenz ergibt sich, multipliziert man den Wert mit dem Faktor 86,365, die Konzentration der Glukose in der Serumprobe in [mg/dl]. Der Faktor errechnet sich aus der Probenverdünnung und der allgemeinen Bestimmungsformel für Konzentrationen:

$$c = (V * MG)/(e * d * v * 1000)$$

$$V = \text{Testvolumen} = 3,02\text{ml}$$

$$MG = \text{Molekulargewicht} = 180,16[\text{g/mol}]$$

$$v = \text{Probenvolumen} = 0,1\text{ml}$$

$$e = \text{Extinktionskoeffizient von NADPH+H bei 340nm} = 6,3$$

$$d = \text{Schichtdicke} = 1\text{cm}$$

4. Statistische Auswertung

Für alle Messparameter (Glucose, Glukagon, GIP, GLP-1) wurden prä- und postoperativ die Spitzen-(peak-)werte, die Zeit bis zum Peak-wert (time to peak, TTP), sowie die Fläche unter der Konzentration/Zeitkurve (area under the curve, AUC) (siehe Abb. 6) ermittelt. Für alle Messparameter wurden arithmetische Mittelwerte (MW) sowie die Standardabweichung (SD) berechnet.

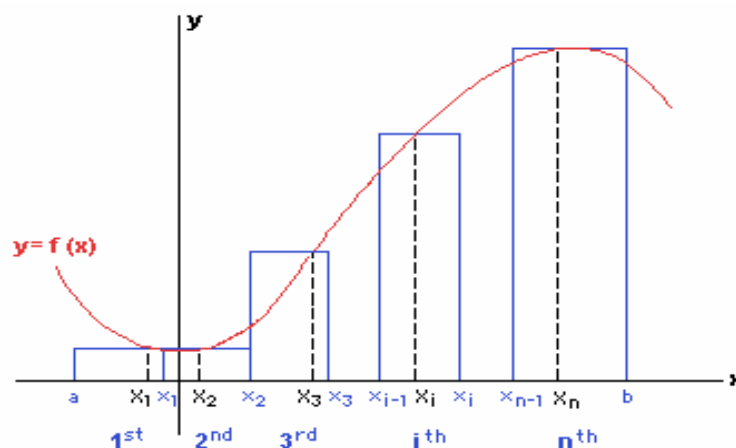


Abb. 6: Ermittlung der area under the curve aus dem Integral der Einzelwerte

Für die Ermittlung der AUC wurden die Flächen unter den dargestellten Messkurven der jeweiligen Substanzen abzüglich der Basiswerte berechnet.

Der Basiswert ist das Integral des zum Zeitpunkt Null gemessenen Wertes über die Messperiode.

Prä- und postoperative Unterschiede wurden mittels bivariatem t-Test untersucht, wobei als Signifikanzniveau ein $p < 0.05$ festgelegt wurde.

Die intraindividuellen Korrelationen der Messparameter sowie die Korrelationen der beobachteten Unterschiede mit der Länge des resezierten Kolonanteils erfolgten Mittels des Spearman-Rho Koeffizienten.

Hierfür wurde als Statistik-Software SSPS[°] (Version 5) und Statview[°] (Version 3) verwendet.

5. Ergebnisse

5.1 Patientenbeschreibung:

Die epidemiologischen Zusammensetzung und die Basisdaten sind in Tabelle 1 aufgeführt.

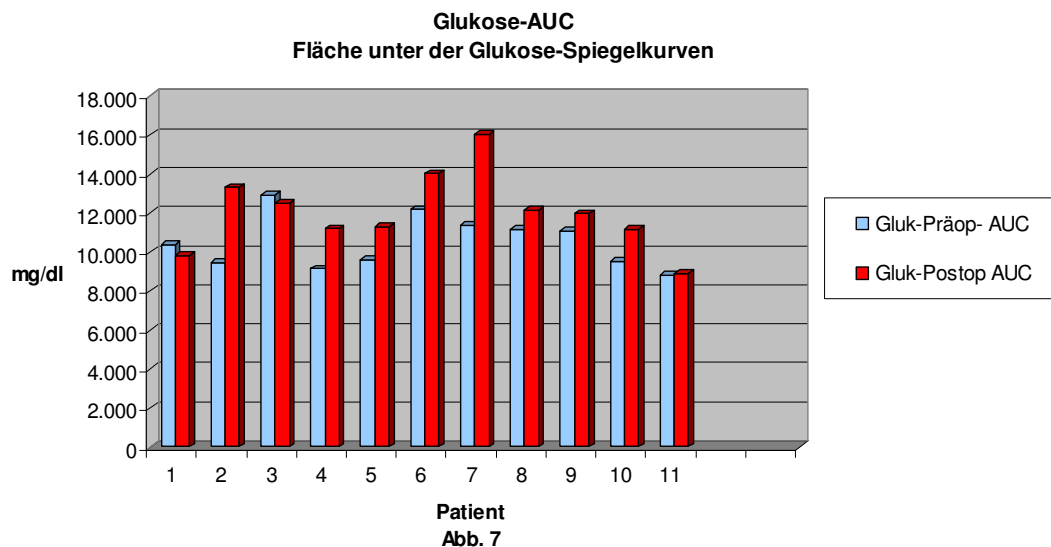
<i>n=</i>	<i>11</i>
<i>Geschlecht:</i>	<i>8 Männer</i> <i>3 Frauen</i>
<i>Alter(Jahre)</i>	<i>62,9 ± 8 (MW±SD)</i>
<i>Body Mass Index (kg/m²)</i>	<i>24,4 ± 4 (MW±SD)</i>
<i>Nüchtern-Blutzucker (mg/dl)</i>	<i>95 ± 14 (MW±SD)</i>
<i>Länge der Darmresektion(cm)</i>	<i>23,44 ± 6,7 (MW±SD)</i>
<i>Erkrankung</i>	<i>8 Patienten mit Kolontumor, 2 Patienten mit Divertikulose</i>

Tabelle 1. Klinische Daten der untersuchten Patienten

Die Probanden setzten sich zusammen aus 8 Männern und 3 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 62,9 ± 8 Jahren (Range : 53 bis 81 Jahren) und einem mittleren BMI von 25.4 ± 4.0 kg/m². Alle Patienten hatten eine normale präoperative Nüchternglucosekonzentration von 98 ± 15mg/dl und keine antidiabetische Therapie. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der Tabelle 3 im Anhang aufgeführt. Es fanden sich keine Korrelationen zwischen den Messparametern und der Länge der resezierten Darmanteils.

5.2 Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die Glukose-Homöostase

Es war eine mittlere Darmlänge von $23,4 \pm 6,7$ cm exzidiert worden (Tab.1). In den Einzelmessungen führte der präoperative und postoperative OGT zu einem Anstieg der Blutglukosewerte mit einem Maximum bei 30-60 Minuten nach Glukosegabe, wobei in den postoperativen Messungen eine leichte zeitliche Verzögerung des Glukosepeaks zu verzeichnen war (Tab.3, s. Ahang). Der Effekt wird deutlicher bei Vergleich der Glukosewerte gemessen als area under the curve (AUC). Die intraindividuellen Werte sind in der Abb.7 wiedergegeben.



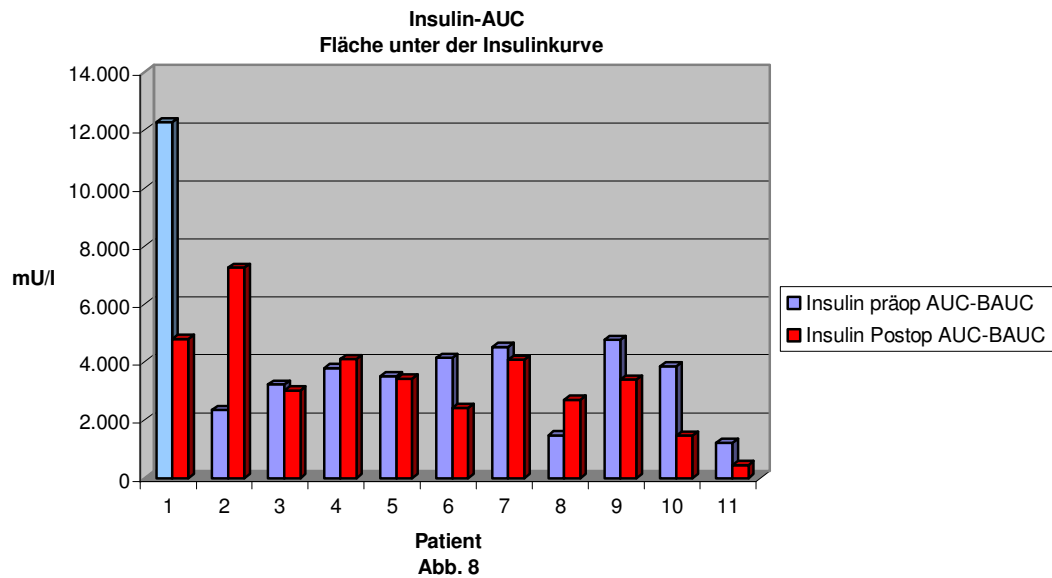
präoperativ (4930 ± 2100 vs. 3955 ± 1985 , $p=0,01$).

Die Resektionslängenvariabilität war bei unseren Patienten mit $23,4 \pm 6,7$ cm relativ gering ausgefallen. Verglichen mit den präoperativen Werten, erreichte der postoperative Mittelwert der Glukose-Peak höhere Werte (166 ± 26 vs 182 ± 21 , $p=0,07$), wenngleich keine statistische Signifikanz erreicht wurde. Ebenfalls höher jedoch ohne Signifikanz fiel der postoperative Wert der „Zeit zum Peak“ (Tab.3) aus. Als „Zeit zum Peak“ wird die Zeit bis zum Erreichen des höchsten Spiegels des gemessenen Wertes bezeichnet.

Während sich der Blut-Glukosespiegel präoperativ nach durchschnittlich 90 Minuten normalisierte, war dies postoperativ erst nach 95 Minuten der Fall. Der Unterschied war nicht signifikant und zeigte keine signifikante Korrelation zu der Länge der Darmresektionen.

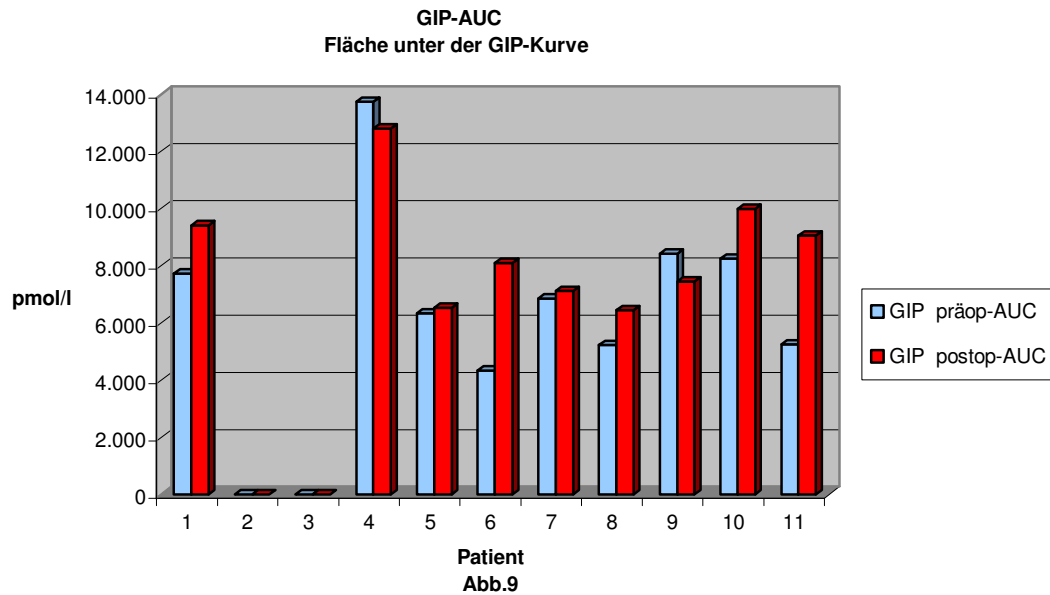
5.3 Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die Insulin-Homöostase:

Die durchschnittlichen postoperativen basalen Insulinspiegel zeigten einen signifikant höheren Wert im Vergleich zu den präoperativen Werten (885 ± 854 vs. 683 ± 637 , $p=0,01$). Der Peakwert, die Zeit bis zum Peak und die AUC des postoperativen Insulinspiegels nach dem OGT zeigten keinen signifikanten Unterschied zu den präoperativen Werten (Abb.7). Auffallend waren jedoch die großen interindividuellen Unterschiede.



5.4. Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die GIP-Homöostase:

Bei der GIP-Sekretion konnten wir deutliche Differenzen prä- und post-op verzeichnen (4836 ± 2477 pmol/l vs 6204 ± 1450 pmol/l, $p=0,004$). Die durchschnittlichen postoperativen Werte lagen signifikant höher als die präoperativen Werte. Auffällig waren erneut große interindividuelle Unterschiede (Abb.9). Der GIP-Basalwert fiel postoperativ ebenfalls signifikant höher aus, als die präoperativen Werte.



Ähnliches traf auf die GIP-Peaks zu. Hier war der durchschnittliche postoperative Peak signifikant höher als der präoperative Peak (115 ± 31 pmol/l vs. 127 ± 21 pmol/l, $p=0,05$) [Abb.10]. Es war ebenfalls eine signifikant längere time to peak zu verzeichnen (40 ± 23 min. vs. 63 ± 17 min, $p=0,002$)[Tab.3].

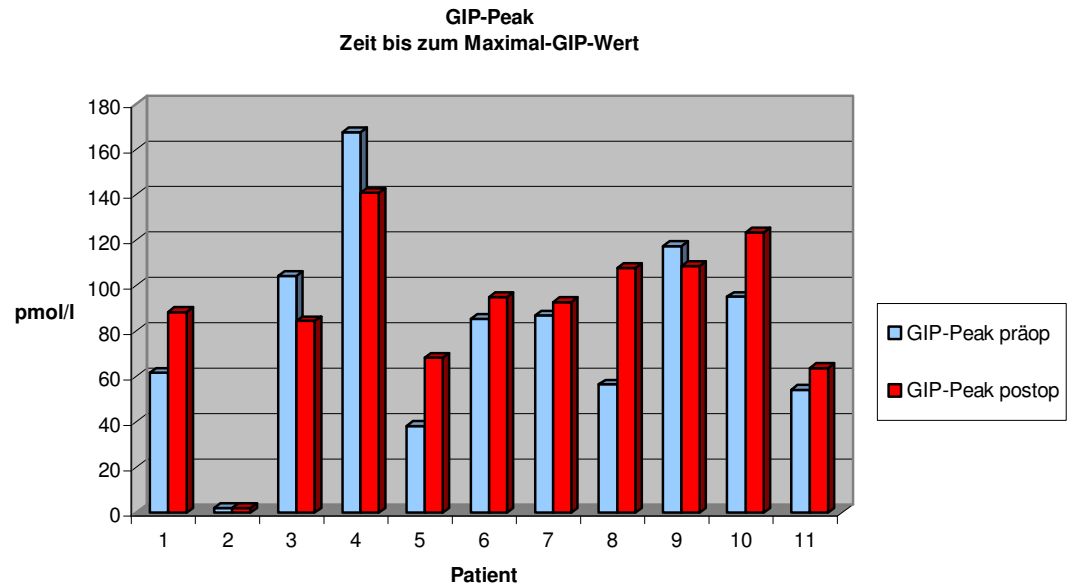
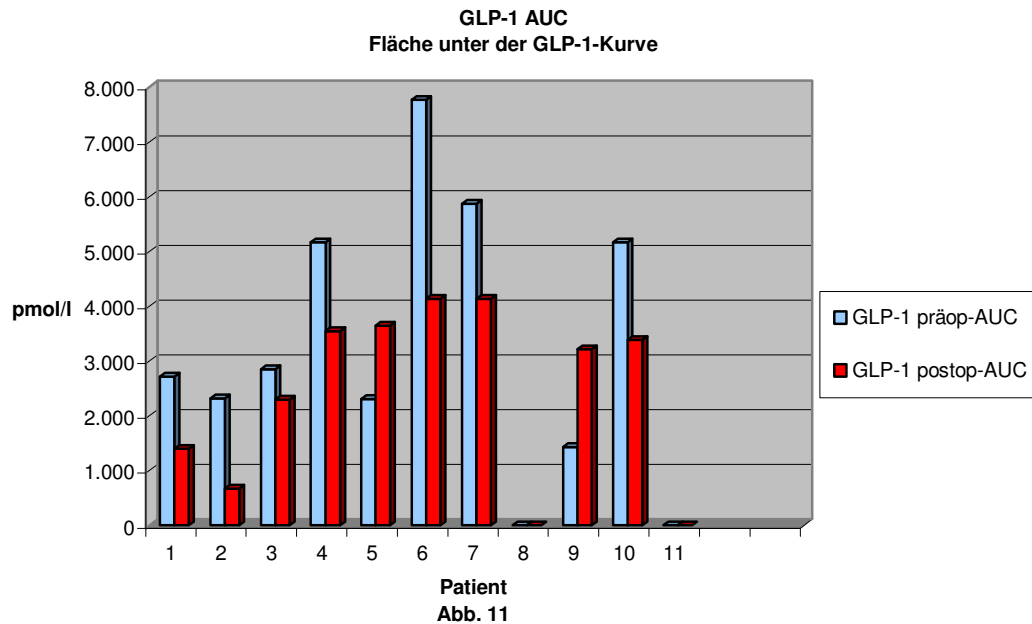


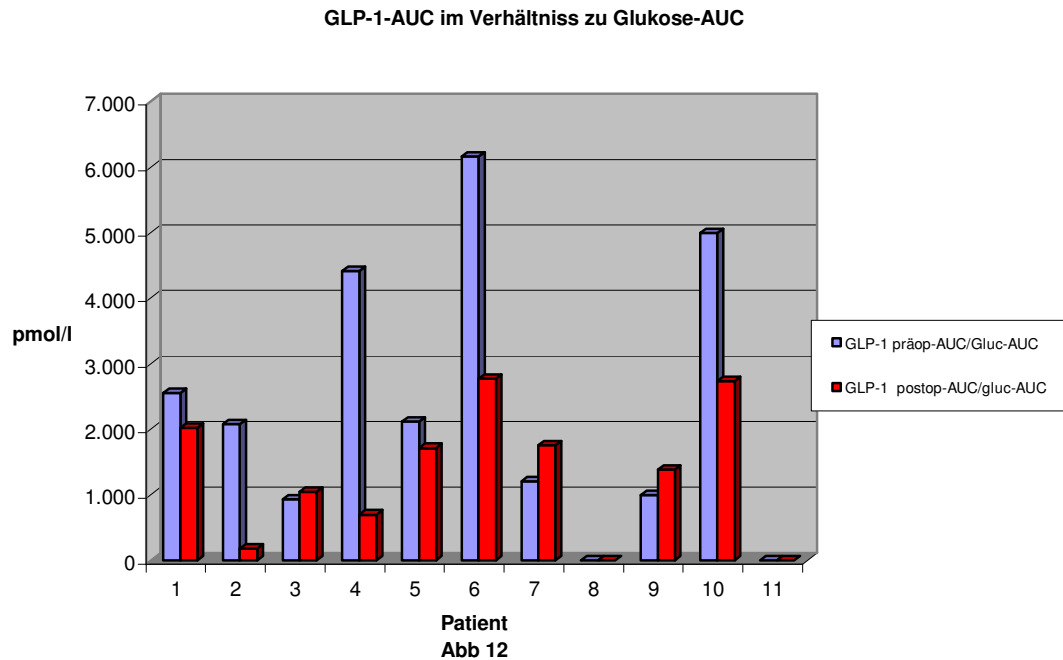
Abb.10

5.5. Auswirkung der Endstreckenresektion des Dickdarmes auf die GLP-1-Homöostase:

Bei den GLP-1-Sekretion gemessen an der prä- und post-operativen AUC-Werte konnten wir keine statistisch signifikanten Differenzen feststellen (2746 ± 1991 pmol/l vs. 2215 ± 1496 pmol/l, $p=0,25$). Die intraindividuellen Werte der einzelnen Patienten sind in der Abb. 11 dargestellt.



Allerdings ändert sich das Bild, sobald man die postoperativen Werte in Beziehung zu den hohen postoperativen Glukosespiegeln setzt. Hierbei wurden die AUC-Werte der Glukose im Blut berechnet. Die AUC-Werte der GLP-1 wurden auf die Glukose-AUC-Werte der jeweiligen Patienten im Verhältnis gesetzt. Der Differenz war statistisch signifikant(Abb.12).



Der Peakwert zeigte eine signifikante Verminderung mit gleichzeitiger signifikanter zeitlicher Verzögerung (71 ± 49 pmol/l vs. 55 ± 27 pmol/l, $p=0,05$)[Tab.3].

Die AUC der GLP-1-Basalwerte blieben ohne statistisch signifikante Veränderung.

6. Diskussion

Die verstärkte Insulinfreisetzung nach oraler Glukoseeinnahme wird durch Freisetzung insulinotroper Darmhormone vermittelt. Während GIP als Inkretinhomon des oberen Dünndarmes höchstwahrscheinlich nach direktem Kontakt der Nahrung mit der Darmmukosa in das Blut freigesetzt wird, ist die Regulation der GLP-1-Freisetzung offensichtlich viel komplexer(Abb.4).

Es ist bekannt, dass die intestinalen L-Zellen durch einen Kontakt mit dem Darminhalt an deren apikalen Membranseite und durch Wirkung potentieller Mediatoren aus dem Kreislauf und dem neuronalen System an deren basolateralen Seite stimuliert werden können(Abb.4)[5,78]. Von vielen Arbeitsgruppen ist versucht worden, die Mechanismen der Verbindung der GLP-1-Freisetzung und der Nahrungsaufnahme zu definieren [6].

Die bisher durchgeführten Untersuchungen haben sich auf Patienten mit Kolitis ulcerosa nach Ileostomaanlage oder Darmresektionen beschränkt [61,62, 63]. Die Kontrollgruppen bestanden in diesen Untersuchungen aus gesunden Probanden. Hieraus resultieren aber zwei Interpretationsschwierigkeiten. Zum einen bleiben die deutlichen interindividuellen Schwankungen der Inkretinspiegel außer Acht und zum anderen haben die Adaptationsprozesse bei chronischer Kolitis und

vorgeschädigten Darmabschnitten zum Zeitpunkt der Untersuchungen bereits eingesetzt. Diese zwei Faktoren erschweren die Zuordnung verschiedener Beobachtungen in den genannten Untersuchungen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden erstmals bewusst die Patienten vor und nach Teilresektionen des distalen Darmes untersucht und die erhobenen prä- und postoperativen Daten der jeweiligen Patienten untereinander verglichen.

In diesem Zusammenhang und zum besseren Verständnis der Pathophysiologie von GLP-1 galt das Hauptaugenmerk der Frage, ob und in welchem Ausmaß die distalen Darmabschnitte zur Homöostase von GLP-1 im Serum beitragen und ob Aussagen über die eventuelle neurohumorale Regulation der GLP-1-Freisetzung ableitbar sind.

Die Annahme einer neurohumoralen Regulation drängt sich auf, weil die GLP-1 produzierenden Zellen relativ distal im Darmtrakt lokalisiert sind, aber die GLP-1-Sekretion bereits unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme erfolgt (Abb.4).

Es ist bekannt, dass das Kolon reich an Proglucagonmetaboliten ist, aber deren biologische Bedeutung und wahrscheinliche Sekretionsmechanismus sind noch unklar. Dass die L-Zellen des distalen Darmbereiches in der Lage sind, Darmhormone nach luminalen

Stimulationen freizusetzen, ist in vitro Untersuchungen an isolierten Darmsegmenten demonstriert worden [18].

Die Entfernung eines endokrinen Organs zur Untersuchung dessen Funktion ist eine klassische Methode in der Endokrinologie. Eine selektive Entfernung der L-Zellen aus der Darmmukosa oder deren funktionelle Modifikation würde nur in Studien mit transgenen Tieren möglich sein. In einer klinischen Studie könnten die Untersuchungen nur an darmresezierten Patienten durchgeführt werden. Diese Methode ist schon bei ähnlichen Untersuchungen bezüglich der GIP-Freisetzung beim Menschen angewandt worden [10]. Diese Untersuchungen zeigten, dass die Menge des freigesetzten GIP nach oraler Glukoseaufnahme mit der Länge des Restjejunums positiv korreliert. Der Inkretineffekt bei den Patienten mit einer Jejunumlänge von weniger als 150 cm war vermindert, trotz einer normalen GIP-Freisetzung. Interessanterweise zeigen Patienten mit verbliebenem Ileum eine höhere Inkretinaktivität. Dies führte zu der Vermutung, dass es noch weitere Inkretine außer GIP im Darm geben müsse. Mit der Entdeckung von GLP-1 als neues Inkretinhormon und dessen Lokalisation, sowie neuer therapeutischer Möglichkeit zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ2, kam die Frage erneut auf, wie die funktionelle Verbindung zwischen der oberen und unteren Darmabschnitten sei. Außerdem war es bedeutend zu wissen ob

GIP- oder GLP-1-Freisetzung durch einer oberen und oder unteren Darmresektion beeinträchtigt wird.

Die neueren Untersuchungen konnten die früher präsentierten Daten von Lauritsen über die Korrelation des Inkretineffekts mit der resezierten Darmlänge nicht bestätigen [10, 61, 62, 63]. Aber die Ergebnisse waren nur bedingt vergleichbar, da sich die Länge der resezierten Därme in diesen Untersuchungen unterschieden [11]. Ein weiterer Mangel dieser Untersuchungen bestand darin, dass die verglichenen Werte nicht prä- und postoperativ erhoben worden waren. Dies ist aber besonders wichtig, weil in allen Untersuchungen eine starke interindividuelle Variabilität in der endokrinen Antwort zu verzeichnen war.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass das vom Dickdarm produzierte GLP-1 sehr wahrscheinlich eine nennenswerte Rolle in der Aufrechterhaltung der normalen Glukosetoleranz spielt, denn sowohl Rektum- als auch Dickdarmresektion einen signifikanten Einfluss auf den postoperativen OGT-Test hatten(Tab.3). Überraschend war, dass sich trotz höherer postoperativer Glukosewerte keine höheren postoperativen GLP-1-Werte nach einer oralen Glukosebelastung eingestellt hatten(Abb.9, Tab.3). Es kam zu einer reduzierten und verzögerten Anstieg der GLP-1-Werte in den postoperativen Messungen. Gleichzeitig waren höhere Glukose-AUC-

Werte(Glukosewerte über die gesamten Messperiode) bei erhöhten basalen Insulinwerte zu verzeichnen.

Die vorliegenden Daten belegen, dass die Resektion des Sigmoids und des Kolons um 30 cm eine pathologische Glukosetoleranz hervorruft, was wiederum die funktionelle Bedeutung des distalen Kolons unterstreicht. Patienten mit alleiniger Ileumresektion waren in der Studie nicht eingeschlossen. Ein intakter Ileum- und Kolonrest sind keine ausreichende Voraussetzung, um eine adäquate GLP-1-Antwort nach Nahrungsaufnahme zu garantieren, obwohl bekannt ist, dass bereits eine GLP-1-Sekretion aus den oberen Darmbereichen für eine adäquate Antwort auf die Glukoseaufnahme im Darm ausreichen könnte. Dies wurde auch durch Berechnungen [11,61] bestätigt, welche zu dem Schluss führten, dass nur eine geringe Menge von GLP-1 im Darm nach einer oralen Glukoseaufnahme freigesetzt wird [14]. Andererseits ist der untere Dickdarm auch nach Resektion der proximaleren Anteile ein großes Reservoir für GLP-1. Die pharmakologische Wirkung der Substanzen wie Acarbose bestätigen diese Annahme. Die Alpha-Glukosidase Inhibitoren wie Acarbose und Voglibose haben die Fähigkeit, die Freisetzung von GLP-1 aus den distalen Darmbereichen zu verstärken [8, 15, 16,17]. Sie verlagern die Resorption der Glukose auf die distalen Darmbereiche und führen somit zu einer erhöhten GLP-1 Freisetzung. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass in den

vorliegenden Untersuchungen in der postoperativen Phase trotz höherer Glukosespiegel zu keiner erhöhten GLP-1-Ausschüttung kommt muss man von einer relativ verminderten Freisetzung von GLP-1 sprechen (Abb.9, 10).

Eine Beeinträchtigung der GLP-1-Sekretion durch vermehrten Drüsenausfall durch Resektion der Darmanteile könnte eine mögliche Erklärung sein. Aber wie es bereits in verschiedenen Untersuchungen gezeigt wurden, sollten die GLP-1-Reserven des Körpers durchaus in der Lage sein, eine ausreichende Sekretion zu gewährleisten [61, 62,63]. Außerdem mussten die Adaptationsmechanismen die fehlende Sekretion der GLP-1 durch die resezierten Darmanteile ausgleichen. In der Tat deuten einige Daten darauf hin, dass nach einer Darmresektion vermehrt Enteroglukagone, Polypeptide mit Glukagonähnlicher Wirkung, freigesetzt werden [12]. Die hier vorliegenden Daten unterstützen diese Annahme sowohl für GLP-1 als auch für GIP.

Eine Beeinträchtigung der GLP-1-Sekretion durch Resektion der eher kurzen Darmanteile ist daher unwahrscheinlich.

Es ist aber möglich, dass operationsbedingt die enteroinsuläre Achse durch eine Sigmaresektion unterbrochen wird (Abb.4). Dies könnte nur dann der Fall sein, wenn nicht der gesamte Dickdarm, sondern nur ein kleinerer Endteil des Darmes in dieser Achse eingebunden ist, und der Großteil des Darmes nur eine untergeordnete und verzögerte Rolle bei diesem

Mechanismus spielen. Diese Hypothese wird durch einen niedrigen Peak und die verzögerte Zeit zum Peak(TTP) bei GLP-1-Sekretion in der postoperativen Phase bei eher kurzen Resektionslängen unterstützt (Tab.3).

Die neuroendokrine Achse könnte sowohl intra- als auch extraintestinal verlaufen, sodass eine Kontinuitätsunterbrechung des Darmes oder extraintestinal verlaufende neuronale Verbindungen mit funktionellem Ausfall einer größeren nachgeschalteten Strecke die Ursache für die erwähnte pathologische enteroinsuläre Funktion sein könnten.

Die erhöhte Gesamtglukose in der postoperativen Phase wird durch einen fehlenden GLP-1-Anstieg begleitet, welcher wiederum mit einem fehlenden Insulin-Anstieg einhergeht. Es ist auffallend, dass GIP die deutlichsten Veränderungen in postoperativen Messungen zeigt (Abb.6, 7). Dies könnte man im Rahmen der Anpassungsaktivitäten des Organismus bei reduziertem GLP-1-Freisetzung erklären. Bekanntlich hemmt das GLP-1 die Magenentleerung. Es ist daher denkbar, dass sich die gastroduodenale Motilität durch relativen GLP-1-Mangel und oder die Operation selbst geändert hat, sodass erhöhte Glukosemengen in bestimmten Zeiteinheiten in den oberen Darmbereich transportiert werden und eine erhöhte GIP-Freisetzung bedingen.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass die Endstrecke des Dickdarmes eine bedeutende Rolle in der Glukose-Homöostase spielt, welche durch die

Regulierung der GLP-1-Spiegel vermittelt wird. Dies unterstützt die Hypothese, dass funktionelle Verbindungen zwischen proximalen und distalen Anteilen des Dickdarmes bestehen und diese Verbindungen eine bedeutende Rolle in der Homöostase von GLP-1 und damit der Glukose spielen. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung mit noch größeren und homogeneren Patientenkollektiven mit evtl. gleichzeitiger Manipulation der GIP-Sekretion könnten in der Zukunft eine definitive Bestätigung liefern. Auch die genaue anatomische und funktionelle Aufbau dieser Achse bleibt noch zu erforschen. Die Tatsache, dass die Medikamente, die GLP-1 beeinflussen bereits auf dem Markt gekommen sind, wird die Forschungen in dieser Richtung bedeutend verstärken.

7. Zusammenfassung

Die verstärkte Insulinfreisetzung nach oraler Glukoseeinnahme wird durch Freisetzung insulinotroper Darmhormone vermittelt. Während GIP als Inkretinhomon des oberen Dünndarmes höchstwahrscheinlich nach direktem Kontakt der Nahrung mit der Darmmukosa in das Blut freigesetzt wird, ist die Regulation der GLP-1-Freisetzung offensichtlich viel komplexer. Über spezifische Rezeptoren an den β -Zellen der endokrinen Pankreas stimuliert es die Freisetzung von Insulin. Wir wissen, dass die intestinalen L-Zellen, die größtenteils in den distalen Darmabschnitten vorkommen, durch einen Kontakt mit den Nahrungsstoffen an deren apikalen Membranseite, durch Wirkung potentieller Mediatoren aus dem Kreislauf und dem neuronalen System an deren basolateralen Seite stimuliert werden können.

In diesem Zusammenhang stellte sich die Frage: welche Wirkung die GLP-1 reichen distalen Dickdarmsegmente auf die Kinetik der GLP-1-Spiegel und den Glukosestoffwechsl im Serum nach Nahrungsaufnahme haben?

Zu diesem Zweck haben wir Patienten vor und nach distaer Darmresektion dem oraler Glukose-Toleranz-Test unterzogen und den Spiegel von GIP, GLP-1, Glukose und Insulin ermittelt.

Obwohl theoretisch ausreichende Reserven an GLP-1 im gesamten Darm vorhanden sind, kommt es in meiner Untersuchung in der

postoperativen Phase trotz höherer Glukosespiegel zu keiner erhöhten GLP-1-Ausschüttung in OGTT. Zieht man diese Tatsache in Betracht, muss man von einer relativ verminderten oder eine inadäquate Freisetzung von GLP-1 sprechen.

Es ist auffallend, dass GIP die deutlichsten Veränderungen in den postoperativen Messungen zeigt. Dies könnte man im Rahmen der Anpassungsaktivitäten des Organismus bei reduzierter GLP-1-Freisetzung erklären.

Meine Untersuchung zeigt, dass die Resektion der distalen Darmabschnitte den Glukosestoffwechsel beeinträchtigt und bestärkt die Annahme, dass die Endstrecke des Dickdarmes eine bedeutende Rolle in der Glukose-Homöostase spielt, welche durch die Regulierung der GLP-1-Spiegel vermittelt wird. Dies bedeutet, dass es funktionelle Verbindungen zwischen proximalen und distalen Anteilen des Dickdarms bestehen.

Weitere Untersuchungen in dieser Richtung mit evtl. gleichzeitiger Manipulation die GIP-Sekretion könnten in der Zukunft eine definitive Bestätigung liefern.

8. Literature

1. Bell GI, Santerre RF, Mullenbach GT (1983) Hamster proglucagon contains the sequence of glucagon and two related peptides. *Nature* 302:716-718
2. Brown JC, Dryburgh JR (1971) A gastric inhibitory polypeptide. II. The complete amino acid sequence. *Can J Biochem* 49:867-872
3. Creutzfeldt W (1979) The incretin concept today. *Diabetologia* 16:75-85
4. Creutzfeldt W, Ebert R (1985) New developments in the incretin concept. *Diabetologia* 28: 565-573
5. Creutzfeldt W, Nauck M (1992) Gut hormones and diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 8:149-177
6. Holst JJ. (1994) Glucagon-Like peptide-1 (GLP-1) a newly discovered GI hormone. *Gastroenterology*. 107: 1848-1855
7. Eissele R, Göke R, Willemer S, Harthus HP, Vermeer H, Arnold R, Göke B (1992) Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract of rat, pig and man. *Eur J Clin Invest* 22:283-291
8. Eissele R, Bothe-Sandforth E, Göke B, Eng J, Arnold R, Koop H (1994) Rat gastric somatostatin and gastrin release: Interactions of exendin-4 and truncated glucagon-like peptide-I (GLP-1) amide. *Life Sci* 55:629-634

9. Ensink JW, D'Alessio DA (1992) The enteroinsular axis revisited. A novel role for an incretin. *N Engl J Med* 326: 1352-1353
10. Fehmann HC, Göke B, Göke R, Trautmann ME, Arnold R (1989) Synergistic stimulatory effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide on the endocrine and exocrine rat pancreas. *FEBS Lett* 252:109-112
11. Fehmann HC, Göke B, Weber V, Göke R, Trautmann ME, Richter G, Arnold R (1990) Interaction of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and cholecystinin-8 in the endocrine and exocrine rat pancreas. *Pancreas* 5:361-365
12. Fehmann HC, Göke R, Göke B, Bächle R, Wagner B, Arnold R (1991) Priming effect of glucagon-like peptide-I (7-36) amide, glucose-dependent insulinotropic polypeptide and cholecystinin-8 at the isolated perfused rat pancreas. *Biochim Biophys Acta* 1091: 356-363
13. Fehmann HC, Habener JF (1992) Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1 (7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma β TC-I cells. *Endocrinology* 130:159-166
14. Fehmann HC, Göke R, Göke B (1992) Glucagon-like peptide-1 (7-37) (7-36) amide is a new incretin. *Mol Cell Endocrinol* 85: C39-44
15. Fehmann HC, Strowski M, Göke B (1992) Interaction of glucagon-like peptide-I (7-37) and somatostatin-14 on signal transduction and proinsulin gene expression in TC- I cells. *Metabolism* 43:787-792

16. Göke B (Hrsg) (1993) International Symposium on Glucagon-like peptide-I; Copenhagen 1993. Digestion 54:339-397
17. Göke R, Conlon JM (1988) Receptors for glucagon-like peptide-I (7-36) amide on rat insulinoma-derived cells. J Endocrinol 116:357-362
18. Göke R, Just R, Lankat-Buttgereit B, Göke B (1994) Glycosilation of the GLPI receptor is a pre-requisite for regular receptor function. Peptides 15: 675 682
19. Göke R, Trautmann ME, Haus E, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Göke B (1989) Signal transmission after GLP-I (7-36) amide binding in RINm5F cells. Am J Physiol 257:G397 401
20. Göke R, Fehmann HC, Richter G, Trautmann ME, Göke B (1989) Interaction of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and somatostain-14 in RINm5F cells and in the perfused rat pancreas. Pancreas 4:668-673
21. Göke R, Oltmer B, Sheikh SP, Göke B (1992) Solubilization of active GLP-1 (7-36) amide receptors from RINm5Fplasma membranes. FEBS Lett 300:232-236
22. Göke R, Wagner B, Fehmann HC, Göke B (1993) Glucose-dependency of the insulin stimulatory effect of glucagon-like peptide I (7-36) amide on the rat pancreas. Res Exp Med 193:97 103

23. Göke R, Fehmann HC, Linn T, Eng J, Göke B (1993) Exendin-4 is a super-agonist and truncated Exendin (9-39) amide a potent antagonist at the GLP-1 (7-36) amide receptor of insulin-secreting β -cells. *J Biol Chem* 268: 19650-655
24. Gutniak M, Orskov C, Holst JJ, Ahren B, Efendic S (1992) Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med* 326:1316-1322
25. Gutniak M, Linde B, Efendic S (1993) Subcutaneous injection of glucagon-like insulinotropic peptide reduces postprandial glycemia in non-insulin dependent diabetes. *International Symposium on Glucagon-like peptide-I; Copenhagen 1993. Digestion* 54:389-390
26. Heller H (1929) Über den blutzuckerwirksamen Stoff in Sekretinextrakten. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 145:343-358
27. Heller H (1935) Über das insulinotrope Hormon der Darmschleimhaut (Duodenin). *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 177:127-133
28. Herrmann C, Göke R, Fehmann HC, Richter G, Göke B (1995) GLP-I und GIP secretion in response to nutrients. *Digestion* 56:117-126
29. Holz GG, Kuhlreiber WM, Habener JF (1993) Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1 (7-37). *Nature* 361:362-365

30. Kolligs F, Fehmann HC, Göke R, Göke B. Reduction of the incretin effect in rats by the GLP-I receptor antagonist exendin (9-39) amide. *Diabetes*
31. Komatsu R, Matsuyama T, Namba M, Watanabe N, Itoh H, Kono N, Tarui S (1989) Glucagonostatic and insulinotropic action of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide. *Diabetes* 38:902-905
32. Kreymann B, Ghatei MA, Williams G, Bloom SR (1987) Glucagon-like peptide1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet II*: 1300-1304
33. Lankat-Buttgereit, Göke R, Stöckmann R, Fehmann HC, Göke B (1994) Detection of the human GLP-1 (7-36) amide receptor on insulinoma-derived cell membranes. *Digestion* 55:29 33
34. Mojsov S, Heinrich G, Wilson IB, Ravazzola M, Orci L, Habener JF (1986) Preproglucagon gene expression in pancreas and intestine diversifies at the level of posttranscriptional processing. *J Biol Chem* 261:1188~ 11889
35. Moore B, Edie ES, Abram JH (1906) On the treatment of diabetes mellitus by acid extract of duodenal mucous membrane. *Biochem J* 1 :28 38
36. Nathan DM, Schreiber E, Fogel H, Mojsov S, Habener JF (1992) Preliminary studies of insulinotropic actions of glucagon-like peptide-1 (7-37) administered to diabetic and non-diabetic human subjects. *Diabetes Care* 15:270--276
37. Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W (1993) Preserved incretin activity of glucagon like peptide-1 (7 36) amide but

not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 91:301 -307

38. Öhme C, Wimmers K (1913) Wirkung von Duodenalschleimhautextrakten (Secretin) auf den Butzucker. *Z Ges Exp Med* 38: 1 -8

39. Orskov C, Wettergren A, Holst JJ (1993) Biological effects and metabolic rates of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and glucagon-like peptide-1 (7 37) amide in healthy subjects are indistinguishable. *Diabetes* 42:658 661

40. Perfetti R., Merkel P. (2000) Glucagon-like peptide-1: a major regulator of pancreatic β -cell function. *European Journal of Endocrinology* 143: 717-725

40. Perley MJ, Kipnis DM (1967) Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest* 46:1954 1962

41. Thorens B (1992) Expression cloning of the pancreatic β cell receptor for the glucoincretin hormone glucagon-like peptide-I. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:8641-8645

42. Thorens B, Porret A, Bühler L, Deng SP, Morel P, Widman C (1993) Cloning and functional expression of the human islet GLP-I receptor. *Diabetes* 42:1678-1682

43. Unger RH, Eisentraut AM (1969) Entero-insular-axis. *Arch Intern Med* 123: 261- 266

44. Van Eyll B, Lankat-Buttgereit B, Bode HP, Göke R, Göke B (1994) Signal transduction of the GLP-I receptor cloned from a human insulinoma. FEBS Lett 348:7 13
45. Zunz E, LaBarre J (1929) Contributions a l'etude des variations physiologiques de la secretion interne du pancreas. Arch Int Physiol 31:20 44
46. Byrne MM, Göke B : Human studies with GLP-1: Potential of the gut hormone for clinical use. Diabetic Medicine 1996; 13:854-860
47. Wilmen A, Walkenbach A, Fuller P, Lankat-Buttgereit B Göke R & Göke B. The genomic organization of the Human GLP-1 receptor gene. Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes 1998; 106: 299-302.
48. Widmann C, Dolci W & Thorens B. Internalization and homologous desensitization of the GLP-1 receptor depend on phosphorylation of the receptor carboxyl tail at the same three sites. Molecular Endocrinology 1997; 11 : 1094-1102.
49. Nauck MA. Is GLP-1 an incretin hormone? Diabetologia 1999; 42: 373-379.
50. Nauck MA, Sauerwald A, Ritzel R, Holst J & Schmiegel W. Influence of GLP-1 on fasting glycemia in type 2 diabetic patients treated with insulin after sulfonylurea secondary failure. Diabetes Care 1998; 21: 1925-1931.
51. Nauck M. Therapeutic potential of GLP-1 in type 2 diabetes. Diabetic Medicine 1996; 13: S39-S43.

52. Naslund E, Bogefors J, Skogar S, Gryback P, Jacobsson H & Holst JJ. Et al. GLP-1 slows solid gastric emptying and inhibits insulin, glucagon, and PYY release in humans. *American Journal of Physiologie* 1999; 277: R910-R916.

53. Creutzfeldt WO, Kleine N, Wilms B, Orskov C, Holst JJ & Nauck MA. Glucagonostatic actions and reduction of fasting hyperglycemia by exogenous Glucagon like peptide (7-36) amide in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1996; 19: 580-586.

54. Xu G, Stoffers DA, Habener JF & Bonner –Weir S. Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. *Diabetes* 1999; 48 : 2270-2276

55. Toft- Nielsen M-B, Madsbad S & Holst JJ. Continuous subcutaneous infusion of glucagon-like peptide in Type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1999; 22:1137-1143.

56. Gutniak MK, Orskov C, Holst JJ, Ahren B, Efendic S. Antidiabetogenic action of GLP-1 related to administration relativ to meal intake in subjects with type 2 diabetes. *J Intern Med* 2001; 250 (1): 81-87

57. Meier Juris J. , Gallwitz B. GLP-1 as a regulator of food intake and body weight:therapeutic perspectives. *European J. of Pharmacology.* 2002,440:269-279

58. Holst J J, Therapy of type 2 diabetes mellitus based on the actions of glucagon-like peptide-1. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 2002, 18:430-441

59. Wang Y, Egan JM, Raygada M, Nadiv O, (1995) Glucagon-like peptide 1 affects gene transcription and messenger ribonucleic acid stability of components of the insulin secretory system in RIN 1046-38 cells. *Endocrinology* 136:4910-4917

60. Nie Y, Nakashima M, Brubaker PL, Li QL, Perfetti R & Jansen E. et al. (2000) Regulation of pancreatic PC1 and PC 2 associated with increased glucagon and GLP-1 immunoreactivity in diabetic rats. *Journal of Clinical Investigation* 105: 955-965.

61. Nauck M.A., Siemsglüss,J., Orskov,C., Holst,J.J. Release of glucagon-like peptide 1(GLP-1(7-36 amide), gastric inhibitory polypeptide(GIP) and insulin in response to oral glucose after upper and lower intestinal resections. *Gastroenterol.* 1996; 34:159-166

62. Hansen, C.p., Andreasen,J.J., Holst,J.J.. The release of gastric inhibitory peptide, Glukagon-Like Peptide-1, and Insulin after Oral Glukose Test in Colectomized Subjects. *Scand. Journal of Gastroenterolo.* 1997; 32:473-477

63. M.D. Robertson, G. Livesey, L.M. Morgan, S.M. Hampton and J.C. Mathers. The Influence of the Colon on postprandial Glucagon Like-Peptide-1(7-36) amide concentration in man. *Journal of Endocrinology* 1999; 161:25-31.
64. J.J.Holst. Therapie of type 2 diabetes mellitus based on the actions of glucagon-like peptide-1. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18:430-441.
65. Vaag AA, Holst JJ, Volund A, Beck-Nielsen H 1996. Gut incretin hormones in identical twins discordant for non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) – evidence for decreased glucagon-like peptide 1 secretion during oral glucose ingestion in NIDDM twins. *European Journal of Clinical Endocrinology* 135; 425-432.
66. Holler, C. Geschichte der Ernährungstherapie der Diabetes mellitus. *Journal für Ernährungsmedizin*, 2000; 2(3):22-26
67. Minkowski, O., R. G. Bretzel: Further reports on diabetes mellitus after the extirpation of the pancreas. *J Mol Med* 80 (2002), 3
68. Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 329 (1993), 977-986
69. Banting, F. G., C. H. Best, J. B. Collip, W. R. Campbell, A. A. Fletcher: Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus: preliminary report, 1922. *Can Med Assn J.* 145 (1991), 1281-1286

70. Stoffel, M., Espinosa, R., 3rd, Le Beau, M.M. and Bell, G.I. (1993) Human glucagon-like peptide-1 receptorgene. 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, 1215-8.

71. Alvarez, E., Roncero, I., Chowen, J.A., Thorens, B. and Blazquez, E. (1996) Expression of the glucagon-like peptide-1 receptor gene in rat brain. *J Neurochem*, 66, 920-7.

72. Göke, B., Steffen, H. and Göke, R. (1996) The signal transduction of the glucagon-like peptide 1 receptor: fishing beyond the protein kinase level. *Acta Physiol Scand*, 157, 321-8.

73. Galehshahi, F.S., Göke, B. and Lankat-Buttgereit, B. (1998) Contribution of a PS1-like element to the tissueand cell-specific expression of the human GLP-1 receptor gene. *FEBS Lett*, 436, 163-8.

74. Lankat-Buttgereit, B. and Göke, B. (1997) Cloning and characterization of the 5' flanking sequences (promoterregion) of the human GLP-1 receptor gene. *Peptides*, 18, 617-24.

75. Abrahamsen, N. and 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, 1572-8.

76. Göke, B., Hoppe, B., Konrad, A. and Schirra, J. (2002) [A therapeutic option for type-2 diabetes. The incretion hormone GLP-1]. *Pharm Unserer Zeit*, 31, 294-9.

77. Habener, J.F. (1996) Insulinotropic glucagon-like peptides. In: LeRoith, D., Taylor, S.I. and Olefsky, J.M. (eds) *Diabetes Mellitus*. Lippincott-Raven, Philadelphia, 68-78 .

78. Kieffer, T.J. and Habener, J.F. (1999) The glucagon-like peptides. *Endocr Rev*, 20, 876-913.

Tabelle 3: Zusammenfassung der erhobenen Ergebnisse mit Signifikanzangabe

		Präop	Postop	Tendenz	Signifikanz, p=
Glukose	Basal AUC	6813 ± 1871	6892 ± 1589	↔	n. S.
	Peak	167 ± 27	182 ± 21	↑	0,07
	Zeit zum Peak (TTP)	49 ± 15	55 ± 12	↑	n.S.
	AUC	3955 ± 1985	4931 ± 2104	↑	0,01
Insulin mU/L	Basal AUC	683 ± 637	886 ± 854	↑	0,01
	Peak	89 ± 65	79 ± 42	↓	n.S.
	Zeit zum Peak (TTP)	52 ± 14	57 ± 16	↑	n.S.
	AUC	4037 ± 3084	3430 ± 2154	↓	n.S.
GIP pmol/L	Basal AUC	1880 ± 1492	2180 ± 1097	↑	0,01
	Peak	115 ± 32	128 ± 21	↑	0,05
	Zeit zum Peak (TTP)	40 ± 23	63 ± 17	↑	0,0002
	AUC	4836 ± 2478	6205 ± 1451	↑	0,004
GLP-1 pmol/L	Basal AUC	898 ± 1326	790 ± 693	↓	0,07
	Peak	72 ± 50	55,8 ± 28	↓	0,05
	Zeit zum Peak (TTP)	33 ± 9	49 ± 15	↑	0,01
	AUC	2747 ± 1992	2215 ± 1496	↓	0,25

10. Danksagung

Herrn Prof. Dr. B. Göke danke ich für die Überlassung des Themas und seine freundliche Betreuung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. R. Göke für seine außerordentliche Geduld und Engagement, mit dem er die vorliegende Arbeit weiter betreut hat und in gemeinsamen Diskussionen stets ein großartiger Wegweiser war.

Allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der klinischen Forschergruppe für gastrointestinale Endokrinologie möchte ich für die gute Zusammenarbeit danken. Mein besonderer Dank gilt Herrn H. Schmidt und T. Schilling für ihre kompetente Hilfe beim Erlernen der Labormethoden, die ich bei dieser Arbeit angewendet habe.

11. Verzeichnis der Akademische Lehrer

Meine akademische Lehrer in Marburg, Bochum und Bonn waren die Damen und Herren:

Arnold, Baum, Barth, Berressem, Bidlingmaier, Blankenburg, Griss, Fuhrmann,
Eschenbach, Göke, Gotzen, Griss, Habermehl, Happle, Havemann,
Huffmann, Josepf, Kaffarnik, Klenk, Kleinsasser, Klose, Kretschmer, Kroll,
Lange, Lennartz, Lüderitz, Maisch, Mennel, Oepen, Pohlen, Portig,
Radsak, Renschmidt, Riedmiller, Rothmund, Schulz, Schneider, Schüffel,
Schwerk, Thomas, von Wichert, Zelder, Wulf