

Aus der
Abteilung für Gastroenterologie
der medizinischen Klinik des
Israelitischen Krankenhauses Hamburg

Direktor: Prof. Dr. Peter Layer

**Wirkung des Prostaglandin E2-Analogons Nocloprost[®] auf die
submaximal exogen stimulierte, exokrine Pankreas-
enzymsekretion und Dünndarmmotilität beim Menschen**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Christine Stockhofe
aus Münster
Hamburg, 2002

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am 1. Juli 2002

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Dekan: Prof. Dr. C. Wagener

Referent: Prof. Dr. P. Layer

Koreferent: Prof. Dr. H. Greten

meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einführung und Problemstellung	1
1.1 Gastrointestinale Sekretion und Motilität	2
1.1.1 Interdigestive Funktion	2
1.1.2 Digestive Funktion	3
1.1.2.1 Digestive Pankreassekretion	3
1.2 NSAR: unerwünschte Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt	5
1.3 Prostaglandine: Stoffwechsel und physiologische Rolle im Verdauungstrakt	6
1.4 Zielsetzung der Arbeit	9
2. Methodik	10
2.1 Probanden	10
2.2 Experimentelles Protokoll und intestinale Intubation	10
2.3 Intestinale Markerdilution	12
2.4 Perfusions- und Infusionslösungen	13
2.5 Motilitätsregistrierung und -auswertung	13
2.6 Probengewinnung	14
2.7 Biochemische Bestimmungsmethoden	15
2.7.1 Pankreasenzyme	15
2.7.2 Amylasebestimmung	15
2.7.3 Lipasebestimmung	16
2.7.4 Chymotrypsinbestimmung	17
2.7.5 Trypsinbestimmung	17
2.7.6 Phenolsulphthalein (PSP)	18
2.7.7 Polyethylenglycol (PEG)	18
2.8 Definition	19
2.9. Statistische Methoden	19
3. Ergebnisse	20
3.1 Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE ₂ -Analogons Nocloprost [®] auf die submaximal exogen mit Ceruletid und Sekretin stimulierte Pankreasenzymsekretion	20
3.1.1 Amylase	20
3.1.2 Lipase	21
3.1.3 Chymotrypsin	23
3.1.4 Trypsin	24

3.2	Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE2-Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen mit Ceruletid und Sekretin stimulierte, proximale Dünndarmmotilität	26
3.3	Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE2-Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen mit Carbachol stimulierte Pankreasenzymsekretion	28
3.3.1	Amylase	28
3.3.2	Lipase	29
3.3.3	Chymotrypsin	30
3.3.4	Trypsin	31
3.4	Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE2-Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen mit Carbachol stimulierte, proximale Dünndarmmotilität	32
4.	Diskussion	34
4.1	Wirkung von Prostaglandinen auf die exokrine Pankreassekretion	34
4.2	Wirkung von Prostaglandinen auf die intestinale Motilität	36
4.3	Mögliche Regulationsmechanismen	39
4.3.1	Pankreassekretion	39
4.3.2	Intestinale Motilität	41
5.	Zusammenfassung	42
6.	Literaturverzeichnis	43
	Danksagung	56
	Lebenslauf	57
	Erklärung	58

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

Abb.	Abbildung
ASS	Acetylsalicylsäure
BTEE	N-benzoyl-L-tyrosin-ethylester
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CCK	Cholezystokinin
COX	Cyclooxygenase
EGF	epidermaler Wachstumsfaktor
Fa.	Firma
i.c.v.	intracerebroventriculärer
i.g.	intrastral
i.d.	intraduodenal
i.v.	intravenös
Lsg.	Lösung
MMC	migrating myoelectric complex
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
NO	Stickstoffmonoxid
NSAR	nicht steroidale Antirheumatika
PEG	Polyethylenglycol
PG	Prostaglandin
p.o.	per os
PSP	Phenolsulphthalein
RT	Raumtemperatur
Tab.	Tabelle
TCA	Trichloressigsäure

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

Abb. 1: Gastrales und jejunales Sondensystem. Der mehrlumige Aufbau der Sonden erlaubt die Perfusion der Markersubstanzen PSP und PEG, die Aspiration von Magen- und Duodenalsaft, sowie die kontinuierliche Registrierung der antroduodeno-jejunalen Motilität.	11
Abb. 2: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Amylaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	20
Abb. 3: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Lipaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	21
Abb. 4: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Chymotrypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	23
Abb. 5: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Trypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	24
Abb. 6: Motorische Aktivität des proximalen Dünndarms (MW ± Standardfehler).	26
Abb. 7: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Amylaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	28
Abb. 8: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Lipaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	29
Abb. 9: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Chymotrypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	30
Abb. 10: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Trypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo.	31
Abb. 11: Motorische Aktivität des proximalen Dünndarms (MW ± Standardfehler).	32

1. Einführung und Problemstellung

Über 30 Millionen Menschen weltweit nehmen nicht steroidale Antirheumatika (NSAR). Viele dieser Patienten entwickeln unter der Therapie Magen- und Duodenalulcera.

Bereits im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass Prostaglandine die Bildung von Ulcera verhindern können, die durch nicht steroidale Antirheumatika erzeugt werden [70]. Dieser Effekt wird auch als Cytoprotektion bezeichnet [71]. Der genaue Wirkmechanismus der Cytoprotektion ist bis heute noch nicht genau geklärt. Man diskutiert eine Veränderung der Magendurchblutung durch die Prostaglandine [27]. Prostaglandine führen zu einer Verdickung der Magenmucosa [7] und erhöhen die Bikarbonatausschüttung. Auf Grund dieser cytoprotektiven Eigenschaften werden synthetisch hergestellte Prostaglandinanaloga in der Vorbeugung und Behandlung von NSAR induzierten Schleimhautläsionen eingesetzt und können Magenulcera vermeiden [84]. Ein zur Zeit im Handel erhältliches Prostaglandin-Analogon ist das Misoprostol (Cytotec®), das zur Prävention eingesetzt wird.

Die Wirkung der Prostaglandine im Bereich des Gastrointestinaltraktes ist aber nicht nur auf den Magen beschränkt. Sie haben darüber hinaus komplexe regulatorische Effekte auf das exokrine Pankreas und die duodenale Motilität, die nur zum Teil erforscht sind.

Das in der hier vorgestellten Studie untersuchte Prostaglandin-E₂-Analogon Nocloprost® ist ebenfalls wie das Misoprostol, zur Prävention von durch NSAR induzierten Magenulcera entwickelt worden. Die bisher vorliegenden Daten zur Wirkung von PGE₂ auf das exokrine Pankreas und die gastrointestinale Motilität sind zum Teil widersprüchlich und deuten darauf hin, dass die Effekte von PGE₂ wesentlich von Dosierung, Spezies und Studiendesign beeinflusst werden.

Insbesondere bleibt unklar, auf welcher Ebene PGE₂ die exokrine Pankreassekretion und die intestinale Motilität beeinflusst.

Es könnte sich einerseits um einen indirekten Effekt durch Modulation von Mediatoren handeln, andererseits um einen direkten Effekt auf die Erfolgsorgane exokrines Pankreas bzw. Dünndarm oder eine Kombination beider Mechanismen. Deshalb soll in der hier vorgestellten Studie die Wirkung des Prostaglandin PGE₂-Analogons Nocloprost® auf die exogen durch Sekretin, Ceruletin und Carbachol stimulierte Pankreasenzymsekretion und

die intestinale Motilität untersucht werden. Wenn sich auch bei exogener Stimulation eine Inhibition von Pankreasenzymsekretion und Dünndarmmotilität nachweisen ließe, würde dies auf eine systemisch vermittelte, direkte Wirkung von PGE₂ auf Organebene hindeuten.

1.1 Gastrointestinale Sekretion und Motilität

Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die physiologische Pankreasenzymsekretion und das Dünndarmmotilitätsmuster gegeben werden.

Es werden im menschlichen Verdauungstrakt die nüchterne, auch interdigestive, und die postprandiale, auch digestive Funktion unterschieden. Motorische und sekretorische Muster sind für die beiden Perioden typisch und sind aneinander gekoppelt [44, 54]. Durch Nahrungsaufnahme wird die digestive Periode eingeleitet und dauert bis zur Magen- und oberen Dünndarmentleerung an [67]. Die digestive Periode wird von der interdigestiven abgelöst, die durch erneute Nahrungsaufnahme beendet wird. Tagsüber herrscht wegen der wiederholten Nahrungsaufnahme die digestive und nachts die interdigestive Funktion vor. Es besteht ein circadianer Rhythmus [31, 44, 45, 52].

1.1.1 Interdigestive Funktion

Die interdigestive Motilität ist durch drei Phasen gekennzeichnet:

Phase I: Hier handelt es sich um eine Ruhephase ohne motorische Aktivität. Diese Phase ist im Wachzustand eher von kurzer Dauer. Sie macht nur 5 bis 15% der Zyklusdauer aus. Allerdings ist die Phase I die überwiegende Phase im Schlafzustand und beträgt hier 70-80% der Zykluslänge. In der Phase I besteht auch weitgehend sekretorische Inaktivität: die Magensaftsekretion ist minimal, der Gallefluss ist unterbrochen, und die Pankreassekretion ist ebenfalls sehr gering.

Unregelmäßige und intermittierende Kontraktionen kennzeichnen die Phase II. Die Kontraktionen besitzen unterschiedliche Amplituden und unregelmäßige Frequenz. Im Wachzustand überwiegt die Phase II. Im Schlaf ist sie meist nur über einen kurzen Zeitraum nachweisbar. Wahrscheinlich wird die Motilität während der Phase II vorwiegend durch cholinerge Mechanismen kontrolliert. Tagsüber verlaufen die Sekretionsraten von Pankreas, Magen und Galle [44, 54, 55] parallel zu den motorischen Aktivitäten.

Die *Phase III* folgt auf die Phase II. Ihre Kennzeichen sind starke, regelmäßige Kontraktionen. Die Phase III, auch *migrating myoelectric complex* (MMC) genannt, beginnt im Magen oder im oberen Dünndarm und wird nach distal weitergeleitet. Während der Migration des MMC nehmen dessen Kontraktionsfrequenz und Fortleitungsgeschwindigkeit ab, bis er schließlich spätestens im terminalen Ileum ausläuft [68]. Der MMC nimmt ca. 5% der Gesamtzyklusdauer ein und dauert 4-7 min. Mit Beginn einer Phase III erreichen die Nüchternsekretionsraten von Magen, Galle und Pankreas maximale, interdigestive Werte und sind dann mit digestiven Werten vergleichbar. Im Anschluss an die Phase III folgt wieder eine Phase I und hiermit erneut ein Abfallen der kurzfristig gesteigerten Sekretion. Unregelmäßige Kontraktionen, die zwischen Phase III und Phase I auftreten, werden auch als Phase IV bezeichnet und ähneln dem Muster der Phase II. Die Dauer der einzelnen Phasen variiert und wird gleichermaßen wie die Pankreassekretion durch Bewusstseinszustand, Tageszeit und Abstand zur letzten Nahrungsaufnahme moduliert [19, 56].

1.1.2 Digestive Funktion

Durch Nahrungsaufnahme wird der interdigestive Zustand unterbrochen. Bezüglich der Motilität wird das interdigestive Muster durch unregelmäßige Kontraktionen ersetzt, die der Phase II ähneln. Das digestive Muster wird durch Wiederauftreten einer Phase III nach mehreren Stunden beendet [34, 58]. Die digestive Sekretion des exokrinen Pankreas ist im Folgenden genauer beschrieben.

1.1.2.1 Digestive Pankreassekretion

Das Pankreas sezerniert bei Ernährung mit normaler Kost in 24 Stunden ca. 1,5 l alkalisches, proteinreiches Sekret. Die basische Reaktion des Sekrets ist durch den Bikarbonatanteil bedingt, der überwiegend von den Gangepithelien des Pankreas abgegeben wird. Aus den Azinuszellen stammen die Proteine. Es werden täglich 15 – 90 g Eiweiß in den Darm abgegeben. Der Proteingehalt des Pankreassaftes ist fast ausschließlich auf Enzyme zurückzuführen, die in zwei Gruppen eingeteilt werden:

1. Enzyme, die direkt in ihrer aktiven Form gebildet werden, wie Alpha-Amylase, Lipase und Nuclease.
2. Enzyme, die als inaktive Vorstufen gebildet und als Zymogene bezeichnet werden: Trypsinogen, Chymotrypsinogen, Proelastasen und Procarboxy-

peptidasen. Die Zymogene werden erst im Duodenum durch Enterokinase bzw. durch Trypsin aktiviert.

Die Produktion und Sekretion der Enzyme zur Verdauung stellen eine der beiden Hauptfunktionen des exokrinen Pankreas dar. Die zweite Hauptfunktion ist die Produktion des alkalischen bikarbonat- und mukoproteinhaltenen Sekre-tes, das die Aufgabe der Neutralisation des sauren Magensaftes hat, um opti-male Bedingungen für die Enzyme zu schaffen.

Bei der Stimulierung der Pankreassekretion durch eine Mahlzeit werden drei Phasen unterschieden:

1. Die **cephale** Phase: Hierbei erfolgt die Stimulation der Pankreas über den Nervus vagus. PAWLOW und SCHUMOVA zeigten dies bereits 1889 beim Hund [67]. Bereits beim Anblick und Riechen einer Speise beginnt die Sekretion des bikarbonat- und enzymhaltigen Saftes. Angriffspunkte an der Zelle stellen cholinerge Rezeptoren dar. Die Existenz der cephalen Phase beim Menschen wurde erst vor einigen Jahren beschrieben: Die scheinbare Nahrungsaufnahme bewirkt die vagal vermittelte Steigerung der Pankreasenzymausschüttung [2, 42].
2. Die **gastrale** Phase: Die Dehnung des Magens durch Nahrungszufuhr be-wirkt eine geringgradige Stimulation.
3. Die **intestinale** Phase: Postprandial treten Nahrungsbestandteile in das Duodenum ein. Für die Stimulation der Enzymsekretion quantitativ am be-deutendsten ist diese Gegenwart von Nahrung in den obersten Dünndarm-abschnitten. Sie ist ebenfalls an der Aufrechterhaltung der Enzymsekretion während der digestiven Periode beteiligt [61]. GO *et al.* [32], MEYER und KELLY [60] zeigten, dass intraduodenale Perfusion von Peptiden und Aminosäuren eine gesteigerte Pankreasenzymsekretion verursacht. Die digestive Sekretion ist jedoch abhängig von Art, Menge und Zubereitung der Nährstoffe. Fette bewirken eine stärkere und längere Enzymsekretions-steigerung, als Kohlenhydrate und Proteine [32]. Hierbei wird die Pankreas-enzymsekretion sowohl über humorale als auch über nervale Mechanis-men stimuliert [53]. Exposition des distalen Dünndarms und proximalen Colons mit physiologisch malabsorbierten Nährstoffen hemmt die Pankreasenzymsekretion [43, 55] und ist beim Menschen wahrscheinlich an der Rückschaltung vom digestiven zum Nüchternzustand beteiligt.

1.2 NSAR: unerwünschte Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt

Alle Bestrebungen zur Weiterentwicklung der NSAR zielen derzeit auf eine bessere, gastrointestinale Verträglichkeit ab. Warum sich die NSAR gerade im Verdauungstrakt so aggressiv verhalten, ist wissenschaftlich noch nicht genau geklärt. Eine entscheidende Rolle spielt hierbei aber wohl die Hemmung der Cyclooxygenase. Anfang der 90er-Jahre entdeckte man ein Isoenzym, die Cyclooxygenase 2: NSAR blockieren irreversibel diese zwei Enzyme, die Cyclooxygenase 1 und 2 (COX-1 und COX-2), die zur Bildung von Prostaglandinen aus Fettsäuren, wie etwa der Arachidonsäure dienen [80]. COX-2 wird in geschädigtem Gewebe aktiv. Es bewirkt die Bildung von Prostaglandin E₂, das die Sensitivität von Schmerzrezeptoren erhöht und Gefäße dilatiert. Die Hyperämisierung des Gewebes führt zu Schwellung und Überwärmung und bringt zahlreiche Immunzellen an den Ort, welche eine Entzündungsreaktion in Gang halten.

COX-1 ist für die Bildung von Prostaglandinen verantwortlich, die eine „alltägliche“ Rolle in den Organen spielen: Sie regenerieren die Schleimhaut und sorgen für die Bikarbonatsekretion [80]. Möglicherweise ist dies eine Ursache für die schädigende Schleimhautwirkung im Gastrointestinaltrakt durch NSAR, da sie die Bildung der schützenden Substanzen hemmen, die von COX-1 vermittelt werden [80]. Es muss allerdings weitere Gründe für die schädigende Wirkung von NSAR geben. Am Beispiel von sogenannten „knock out“-Mäusen, bei denen während der Embryonalentwicklung das Gen für die COX-1 ausgeschaltet wurde, zeigte sich, dass sich auch hier Magenulcera nicht spontan entwickeln, sondern erst nach NSAR-Behandlung [51, 78, 80]. Selektive COX-2-Inhibitoren, die sogenannten Coxibe, zeigen jedoch insgesamt eine bessere Magenverträglichkeit, als nicht selektive NSAR [17] bei gleicher analgesierender und antiinflammatorischer Wirkung [83]. Zu den Coxiben zählt das seit Juli 2000 im Handel erhältliche Celecoxib [8]. Es hemmt COX-2 bereits in hundert- bis tausendfach niedrigerer Konzentration als COX-1 [17].

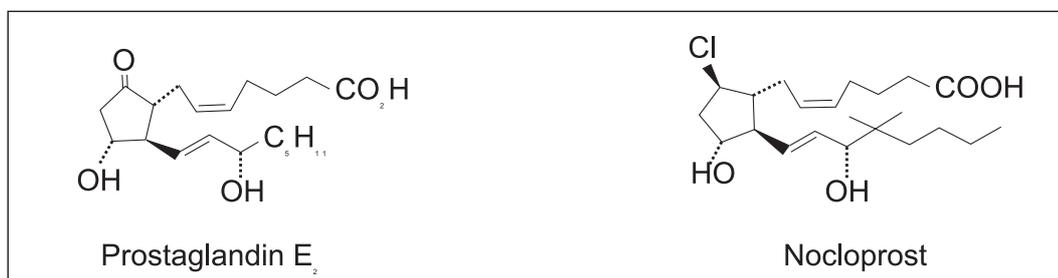
Eine andere Erklärung für die Aggressivität der NSAR gab WALLACE. Nach Gabe von ASS wurde ein deutlicher Rückgang des Blutflusses in den kleinen Gefäßen der Magenschleimhaut registriert. Hierdurch können Entzündungszellen, wie neutrophile Granulozyten, stärker an den Gefäßinnenwänden haften, ins Gewebe einwandern, und zellschädigende Stoffe abgeben, durch die ein Ulcus entstehen könnte [94]. Wenn eine solche Theorie zutrifft, dann könnte zusätzlich eine wirksame Therapie mit dem gefäßerweiternden Stickstoffmonoxid (NO) in der Zukunft eine Rolle spielen [80]. Allerdings werden die nichtselektiven COX-Hemmer auch in Zukunft ihren Stellenwert in der

Prophylaxe kardio- und cerebrovaskulärer Erkrankungen haben, da die COX-2-Inhibitoren nicht die Thrombozytenaggregation und Blutungszeit beeinflussen. In ihrer Effektivität bei der Magenculcusprävention scheinen Protonenpumpenhemmer und Misoprostol gleich effektiv zu sein [35].

1.3 Prostaglandine: Stoffwechsel und physiologische Rolle im Verdauungstrakt

Prostaglandine bilden eine Klasse natürlich vorkommender, ungesättigter, hydroxylierter Fettsäuren mit dem Prostanoidskelett aus 20 Kohlenstoffatomen als Grundkörper.

Die Prostaglandine wurden 1930 auf Grund ihrer kontrahierenden Wirkung auf die Uterusmuskulatur entdeckt. In Abhängigkeit von ihrer Struktur vermögen sie die periphere Gefäßmuskulatur [14] zu kontrahieren, wirken auf das Bronchialsystem [16] und die Thrombozytenaggregation [96].



Wie bereits in der Einleitung erwähnt, wurden spezielle Prostaglandine, wie auch das Nocloprost[®], zur Cytoprotektion entwickelt. Bei Nocloprost[®] handelt es sich um ein Prostaglandin E₂-Analogon (9β-Chloro-16,16-dimethyl-Prostaglandin E₂). Man geht davon aus, dass die Ulcusabheilung im Magen ein aktiver Prozess ist, in dem der Defekt der Magenschleimhaut mit proliferierenden Epithelzellen bei gleichzeitiger Hyperämisierung des betroffenen Bezirks gedeckt wird [49]. Entscheidend hierbei ist der epidermale Wachstumsfaktor (EGF). PGE₂ beschleunigt diesen Prozess. Eine Doppelblindstudie von KONTUREK vergleicht die Wirkung von Nocloprost[®] mit der von Ranitidin auf die Ulcusabheilung. Das Ergebnis war eine signifikant höhere Abheilungsrate der Ulcera unter Nocloprost[®] im Vergleich mit Ranitidin, bei nachweislich höheren Anteilen an EGF in den Ulcusrandgebieten, die mit PGE₂ behandelt wurden [49].

Studien an Menschen und Tieren haben gezeigt, dass Prostaglandine die unterschiedlichsten, teils sogar widersprüchliche Wirkungen auf die sekretorischen und motorischen Funktionen des Gastrointestinaltrakts haben. Der Effekt scheint entscheidend von der untersuchten Spezies, der Dosierung, dem Typ des Prostaglandins und dem Studiendesign bzw. dem Applikationsmodus abhängig zu sein.

Bezüglich der gastralen Sekretion zeigen die E₂-Prostaglandine beim Menschen eine Hemmung der basalen und der durch Gastrin stimulierten HCl-Produktion [26].

Man nimmt an, dass es mindestens drei verschiedene Prostaglandinrezeptoren im Gastrointestinaltrakt von Ratten [20] und Mäusen [62] gibt. Es zeigen zum Beispiel "knock out"-Mäuse, bei denen während der Embryonalentwicklung das Gen für einen speziellen Prostaglandinrezeptor ausgeschaltet wurde, im Gegensatz zu den Mäusen eines Wildtyps nach Applikation eines Prostaglandin E₂-Analogons keinerlei Bikarbonatsekretion. Hieraus lässt sich schließen, dass der Rezeptor eine wesentliche Rolle bei der Bikarbonatproduktion spielt [89, 90].

Im Hinblick auf die Pankreasdurchblutung belegen Studien, dass PGE₂ über eine Vasodilatation zur Zunahme des Pankreasblutflusses beim Hund führt [36]. Nach exogener Stimulation mit Sekretin und CCK und Gabe von PGE₂ i.v. kommt es zu einer Hemmung der Pankreasenzymausschüttung bei der Ratte [21]. Bei Hunden hingegen stimuliert PGE₂ nach intraduodenaler Gabe die basale Pankreasenzymsekretion [75]. Intraoral appliziert hemmt PGE₂ bei gleichzeitiger Sekretinstimulation die Pankreassekretion beim Menschen [46].

SAAD *et al.* zeigten jedoch, dass PGE₂ beim Menschen p.o. gegeben unter exogener Stimulation mit CCK und Sekretin keinen signifikanten Effekt auf die exokrine Pankreasenzymsekretion hat [77]. Eine weitere Studie untersucht die PGE₂-Wirkung auf narkotisierte Ratten. Hier war die exokrine Pankreassekretion nach i.g. Applikation von PGE₂ gesteigert, nach i.v. Applikation jedoch gehemmt. VON DER OHE *et al.* [93] zeigten, dass PGE₂ bei i.d. Applikation in einer die Magensäuresekretion inhibierenden Dosierung beim Menschen sowohl die interdigestive als auch die endogen stimulierte Pankreasenzymsekretion signifikant hemmt.

Hinsichtlich der gastrointestinalen Motilität zeigen die verfügbaren Studien ebenfalls uneinheitliche Prostaglandinwirkungen. Demzufolge verlängert PGE₂ die intestinale Transitzeit beim Menschen [64]. Im Gegensatz dazu beschleunigt PGE₁ den orozökalen Transit [86]. Dies erklärt die unangenehmen Nebenwirkungen wie Diarrhoe und krampfartige, abdominelle Beschwerden bei Einsatz von PGE₁-Analoga in der Ulcusprävention.

VON DER OHE *et al.* [93] konnten aufzeigen, dass das PGE₂-Analogon Nocloprost® bei intraduodenaler Applikation nach endogener Stimulation und im interdigestiven Zustand duodenale Phase III-Komplexe induziert und die Dauer des interdigestiven Zyklus durch Abnahme der Phase II-Dauer verkürzt. Die Assoziation zwischen interdigestiver Pankreassekretion und den Motilitätsphasen wurde allerdings nicht gestört und die Charakteristika der Phase III blieben unbeeinflusst. BUENO *et al.* [10] zeigte dies in ähnlicher Weise an gefütterten Ratten, bei denen er nach i.v. und intracerebroventrikulärer Gabe von PGE₂ Phase III-Komplexe induzierte.

Es werden in der Literatur bezüglich der Motilität verschiedene Angriffspunkte der Prostaglandine beschrieben. In vitro wirken sie direkt auf die glatte Muskulatur im Magen und Dünndarm [5]. In vivo zeigt PGE₂ auch im Tiermodell einen regulatorischen Effekt auf die gastrointestinale Motilität auf zentralnervösem Weg [10, 28].

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Die bisher durchgeführten Untersuchungen lassen offen, auf welcher Ebene PGE₂ die exokrine Pankreassekretion und intestinale Motilität beim Menschen beeinflusst. Es könnte sich einerseits um einen indirekten Effekt durch Modulation von Mediatoren handeln, andererseits um einen direkten Effekt auf die Erfolgsorgane exokrines Pankreas und Dünndarm oder um eine Kombination beider Mechanismen.

Das wesentliche Ziel des ersten Studienabschnittes der hier vorgestellten Studie bestand deshalb darin, bei gesunden Probanden unter exogener, submaximaler Stimulation mit Sekretin und Ceruletid die Wirkung des duodenal applizierten Prostaglandin E₂-Analogons Nocloprost® auf die Pankreasenzymsekretion und die Dünndarmmotilität zu untersuchen.

Ziel des zweiten Studienabschnitts war, unter Verwendung eines alternativen experimentellen Modells zur exogenen Stimulation, nämlich der intravenösen Gabe von Carbachol, wiederum die Wirkung des duodenal applizierten Prostaglandin E₂-Analogons Nocloprost® auf die Pankreasenzymsekretion und die Dünndarmmotilität zu ermitteln.

2. Methodik

2.1 Probanden

Sechs freiwillige, männliche Versuchspersonen im Alter von 20 bis 28 Jahren nahmen an den beiden Studien teil. Es handelte sich um gesunde Probanden, ohne relevante Vorerkrankungen (insbesondere keine gastrointestinalen Vorerkrankungen). Alle Probanden nahmen keine Medikamente ein und hatten einen normalen körperlichen Untersuchungsbefund. Nach eingehender Aufklärung über die Studie, gaben alle Probanden ihre schriftliche Einverständniserklärung. Das Protokoll wurde von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Essen genehmigt.

2.2 Experimentelles Protokoll und intestinale Intubation

Nach einer Fastenperiode von zwölf Stunden erschienen die Probanden morgens um sieben Uhr und wurden mit zwei mehrlumigen, jejunalen und gastralen Sonden intubiert. Unter kurzer Durchleuchtung erfolgte eine Kontrolle der korrekten Sondenlage. Die regelrechte, jejunale Sondenlage war erreicht, wenn die Perforationsöffnung für Test- und Markerlösungen auf Höhe der Papilla Vateri zu liegen kamen. Die Aspirationsstelle für den Duodenalsaft befand sich 20 cm distal. Die Magensonde wurde präpylorisch platziert. Nach regelrechter Platzierung beider Sonden bestand nun die Möglichkeit, Test- und Markerlösungen zu infundieren und über die Aspirationsstellen, Magen- und Duodenalinhalte zu entnehmen. Die entsprechenden Sonden sind in Abb. 1 dargestellt.

Als Markerlösungen (s.a. 2.7.2) dienten Polyethylenglycol (PEG) und Phenolsulphthalein (PSP). PEG 4000, in einer Konzentration von 15 g/l, wurde mit einer Geschwindigkeit von 3 ml/min und einer Temperatur von 37°C über einen Infusomaten in Höhe der Papilla duodeni appliziert. PSP wurde in einer Konzentration von 250 mg/l und mit einer Perfusionsgeschwindigkeit von 1 ml/min gastral eingeleitet. Gleichzeitig erfolgte eine submaximale exogene Stimulation der exokrinen Pankreassekretion durch intravenöse Gabe von Ceruletid (Takus®) in einer Dosierung von 15 ng/kg/h. In Kombination wurde Sekretin (Sekretolin®) in einer Dosierung von 0,2 U/kg/h ebenfalls i.v. über die gesamte Studiendauer appliziert. Im zweiten Studienabschnitt erfolgte die exogene Stimulation der Pankreassekretion durch Carbachol (Doryl®), das in einer Dosierung von 4 µg/kg/h während der gesamten Studiendauer i.v. appliziert wurde.

Anschließend wurde 200 µg Placebo oder 200 µg Nocloprost®, das in Tablettenform vorlag, zermörsert und in wenig PEG-Lösung als Bolus intraduodenal appliziert. Dann erhielten die Probanden 200 µg Placebo oder 200 µg Nocloprost®, zermörsert und in 180 ml PEG-Lösung gelöst, als i.d. Dauerperfusion über ein Zeitintervall von 60 min. Nach der Aquilibrierungsphase wurde während der gesamten Untersuchung der Mageninhalt maschinell abgesaugt (Sog von 20 mmHg). Über die duodenale Aspirationsstelle wurden in regelmäßiger Handaspiration 5ml Aliquots der Duodenalflüssigkeit in 15-minütigen Intervallen gewonnen. Die manuelle Aspiration des Duodenalsafts ist der maschinellen Aspiration aus mehreren Gründen vorzuziehen. Durch gelegentliche, nur wenige ml betragende Lufteinblasungen in die Aspirationskatheter der Sonde, wurden Überlagerungseffekte durch noch verbliebenen Duodenalsaft

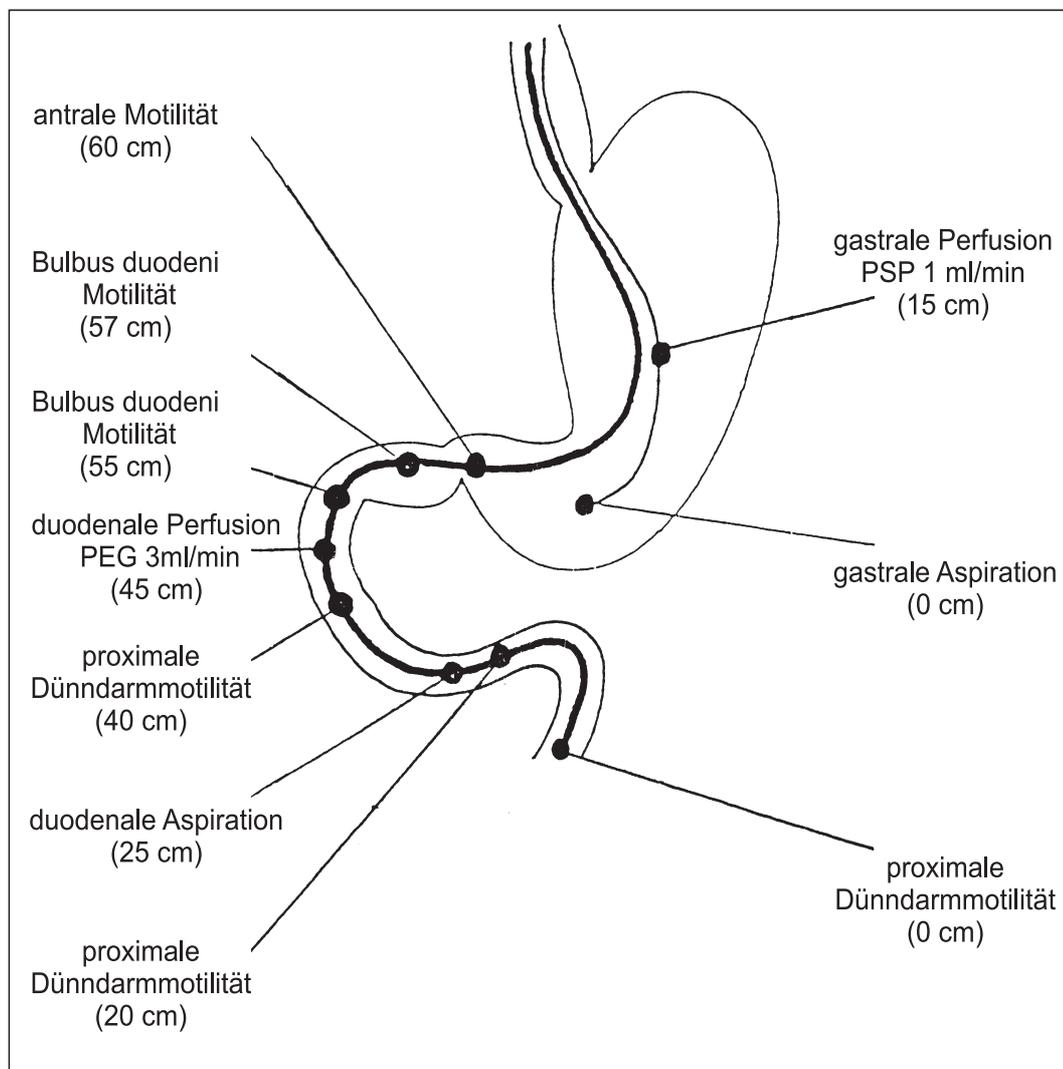


Abb. 1: Gastrales und jejunales Sondensystem. Der mehrlumige Aufbau der Sonden erlaubt die Perfusion der Markersubstanzen PSP und PEG, die Aspiration von Magen- und Duodenalsaft, sowie die kontinuierliche Registrierung der antroduodeno-jejunalen Motilität

im Katheterlumen eines vorausgegangenen Sammelintervalls vermieden. Zur Verhinderung eines duodenogastralen Refluxes mussten alle Probanden eine halbsitzende Position für die Studiendauer einnehmen.

2.3 Intestinale Markerdilution

Als Markersubstanzen dienten die wasserlöslichen, nicht resorbierbaren Substanzen Phenolsulphthalein (PSP) und Polyethylenglycol (PEG) [85]. Die Markerdilutionstechnik wurde von GO *et al.* [33] an der Mayo Klinik (USA) entwickelt. Die wasserlöslichen, nicht resorbierbaren Markersubstanzen wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Diese Lösungen wurden kontinuierlich mit definierter Perfusionsgeschwindigkeit proximal der Aspirationsstelle in den Magen bzw. das Duodenum perfundiert. Hierbei wurde PSP für die Magenvolumenbestimmung nach HOBSEY und SELEN [37] in einer Konzentration von 250 mg/ml und einer Perfusionsgeschwindigkeit von 1 ml/min 15 cm proximal der gastralen Aspirationsstelle eingeleitet und PEG für die duodenale Volumenflussbestimmung in einer Konzentration von 15 g/l und einer Perfusionsgeschwindigkeit von 3 ml/min 20 cm proximal der duodenalen Aspirationsstelle perfundiert. Entsprechend folgender Gleichung lässt sich anhand der im Duodenalsaft gemessenen PEG-Konzentration der duodenale Volumenfluss in ml/min berechnen:

$$\text{Volumenfluss} = \frac{\text{PEG}_{ST}}{\text{PEG}_{PROBE}} \times 3 \text{ ml / min}$$

PEG_{ST} = PEG-Konzentration im Perfusat
 PEG_{PROBE} = PEG-Konzentration im Duodenalaspirat

Analog errechnet sich das Magenvolumen:

$$\text{Volumenfluss} = \frac{\text{PSP}_{ST}}{\text{PSP}_{PROBE}} \times 1 \text{ ml / min}$$

PSP_{ST} = PSP-Konzentration im Perfusat
 PSP_{PROBE} = PSP-Konzentration im Magenaspirat

Weiterhin ist eine Refluxkorrektur über die Konzentrationen von PEG im Magen möglich. Durch diese Methode lassen sich Volumenbestimmungsfehler, die bei ausschließlicher, kontinuierlicher Aspiration aus dem Darmlumen erfolgen, reduzieren.

2.4 Perfusions- und Infusionslösungen

Jeder der Probanden erhielt zunächst in randomisierter Reihenfolge und einfach blind 200 µg Placebo oder 200 µg Nocloprost® (2 Tbl. gelöst in 5 ml 0,9% NaCl-Lösung) als Bolus intraduodenal. Gleichzeitig wurde eine duodenale Dauerperfusion der gleichen Dosierung (200 µg Placebo oder 200 µg Nocloprost® gelöst in 180 ml PEG) mit einer Perfusionsgeschwindigkeit von 180 ml/h über eine Stunde verabreicht. Nach einem Zeitintervall von einer weiteren Stunde wurde dieses Protokoll mit dem vorher nicht gegebenen Wirkstoff (Placebo oder Nocloprost®) wiederholt. Zur i.v. Infusion dienten zwei Lösungen: Eine Ceruletid-Lösung (Takus® der Fa. *Farmitalia ERBA*) in einer Dosierung von 15 ng/kg/h in Kombination mit einer Sekretin-Lösung (Sekretin® der Fa. *Hoechst*) in einer Dosierung von 0,2 U/kg/h. Im zweiten Studienabschnitt wurde eine Carbachol-Lösung (Doryl® der Fa. *Merck*) in einer Dosierung von 4 µg/kg/h (in Lösung mit 0,9% NaCl) infundiert.

2.5 Motilitätsregistrierung und -auswertung

Die antrale und duodeno-jejunale Motilität wurde mittels intraluminaler Druckmessung an sechs verschiedenen Stellen registriert. An den sechs Messpunkten endeten die dünnlumigen Perfusionskatheter. Insgesamt waren drei Messpunkte der proximalen, intestinalen Dünndarmmotilität bei 0, 20 und 40 cm Distanz von der Sondenspitze der Duodenalsonde, drei Messpunkte der antralen Motilität bei 55, 57 und 60 cm, sowie ein Messpunkt der distalen, tubulären Ösophagusmotilität bei 26 cm und ein Messpunkt der Corpusmotilität bei 25 cm zugeordnet. Die Druckabnahmepunkte sind der Abb. 1 zu entnehmen. Über die Katheter wurde eine konstante Perfusion mit 0,1 ml/min einer 0,9% NaCl-Lösung vorgenommen. Druckschwankungen des entsprechenden Abschnittes wurden über die so zwischen Katheter und Wand aufgebaute, nicht komprimierbare Flüssigkeitssäule auf einen Druckwandler übertragen und mit Hilfe eines Mehrkanalschreibers aufgezeichnet. Eine simultane und kontinuierliche Aufzeichnung der Motilität der einzelnen, gastrointestinalen Segmente ist durch diese Messvorrichtung möglich.

Das hydraulische Kapillarperfusionssystem geht auf ARNDORFER *et al.* [4] zurück. Für die vorliegende Studie wurde zur statistischen Auswertung ein praktikables Punktesystem angewendet. Bei dem Punktesystem wurden Darmkontraktionen in einem 15-minütigen Intervall ausgezählt. Gewertet wurden alle Kontraktionen mit

einer Amplitude von mehr als 10 mmHg. Die Bewertungsmaßstäbe sind der nachfolgenden Übersicht zu entnehmen, wobei die uneinheitliche Phase II zur genaueren Beurteilung in Rubriken von II1 bis II3 eingeteilt wurde.

Keine	Kontraktionen im Intervall entsprechen Phase I
1 – 60	Kontraktionen im Intervall entsprechen Phase II1
60 – 120	Kontraktionen im Intervall entsprechen Phase II2
über 120	Kontraktionen im Intervall entsprechen Phase II3
	Kräftige, gleichförmige Kontraktionen mit einer Frequenz von 10-12 Kontraktionen/min über 3min entsprechen Phase III.

Die Phasen wurden dann wie folgt bewertet:

Phase I	:	0 Punkte
Phase II	:	1 Punkte
Phase II ₁	:	2 Punkte
Phase II ₂	:	3 Punkte
Phase III	:	Phase III-Komplexe wurden separat analysiert

Die Messpunkte bei 0, 20 und 40 cm wurden als duodenale und jejunale Motilität zusammengefasst und als proximale Dünndarmmotilität ausgewertet. Als Maß für die motorische Aktivität wurde aus den Punktesummen pro Zeitintervall der arithmetische Mittelwert gebildet und graphisch dargestellt.

2.6 Probengewinnung

Der Magensaft wurde über eine maschinelle Dauerabsaugung gewonnen. 5 ml Duodenalsaft wurden in regelmäßiger Handaspiration in 15-minütigen Intervallen gewonnen. Durch gelegentliche, wenige Milliliter betragende Lufteinblasungen in die Aspirationsstelle wurden eventuelle Überlagerungseffekte (auch „carry over effect“) vermieden. Die in 15-minütigen Intervallen gesammelten Proben wurden sofort auf Eis gelagert. Für die Enzymbestimmung wurde der Duodenalsaft gleichmäßig auf verschiedene Röhrchen verteilt und getrennt bis zur Analysierung der Pankreasenzymaktivität bei –20°C tiefgefroren.

2.7 Biochemische Bestimmungsmethoden

Zu allen Bestimmungen wurde eine Kontrolldoppelbestimmung angefertigt. Bei sehr hohen Enzymaktivitäten war es teilweise notwendig, eine Verdünnungsreihe des Safts anzulegen und zu analysieren.

2.7.1 Pankreasenzyme

Der auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefrorene Duodenalsaft wurde nach der Studie analysiert. Die Amylase-, Lipase-, Trypsin- und Chymotrypsinaktivitäten wurden nach Routinemethoden [22, 40, 63] bestimmt. Nach LEGG und SPENCER [57] sind Aktivitätsverluste der Enzyme durch den Zeitfaktor und die Lagerung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nur minimal.

2.7.2 Amylasebestimmung

Amylase setzt aus Stärke reduzierende Hemiactalgruppen frei, die mit 3,5-Dinitrosalicylsäure unter hohen Temperaturen zu der orangefarbenen Nitrosalicylsäure reagieren. Die Konzentration von Nitrosalicylsäure ist der Amylaseaktivität direkt proportional [6]. Da Maltose ebenfalls 3,5-Dinitrosalicylsäure reduziert, wurde zur Kontrolle der Messgenauigkeit und für die Enzymaktivitätsberechnung eine Maltose-Eichkurve mitgeführt [69]. Je nach Enzymgehalt wurden Verdünnungsreihen mit 0,9% NaCl-Lösung der Duodenalproben angelegt.

2 x 50 μl verdünnte Probe (Doppelbestimmung) wurden in hitzebeständige Röhrchen pipettiert. Mit der Dispensette wurden 2 ml einer $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ warmen Puffer/Stärkelösung über alle Proben gegeben. (Phosphatpuffer: Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl 0,9% und Aqua dest.; Stärkelösung 1%, beides in einem Verhältnis 1:1). Die gut vermischten Proben wurden für genau 10 min in ein $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ warmes Wasserbad gegeben. Die Zugabe von 2 ml Dinitrosalicylsäure unterbrach die Reaktion sofort. Die Röhrchen wurden mit Aluminiumfolie abgedeckt und für exakt 5 min im Wasserbad gekocht. Die Leeransätze wurden gleichermaßen behandelt (die zuerst zugesetzte Dinitrosalicylsäure unterbrach hier die enzymatische Reaktion mit Stärke sofort). Anschließend wurde bei 546 nm die Extinktion sämtlicher Proben gemessen und miteinander verglichen.

Die sich aus den Proben- und Leeransätzen ergebenden Extinktionsdifferenzen sowie ein aus der Maltose-Eichkurve ermittelter Berechnungsfaktor (F) gingen zusammen mit dem Verdünnungsfaktor in die folgende Formel ein:

$$\text{Amylasaeaktivität (U / ml)} = E \times F \times 2 \times \text{Verdünnungsfaktor}$$

$$\text{Amylaseausschüttung (U / min)} = \text{Amylaseaktivität (U / ml)} \times \text{duodenale Volumenflussrate (ml / min)}$$

2.7.3 Lipasebestimmung

Zur Lipasebestimmung diente eine Lipase-Reagenz der Fa. *Boehringer Mannheim*. Die Methode für die Serumlipasebestimmung geht auf NEUMANN und ZIEGENHORN [63] zurück. Durch Verdünnungsreihen des wesentlich Lipase reicheren Duodenalsafts war es möglich, den Lipasebestimmungstest der Fa. *Boehringer Mannheim* für die Serumlipasebestimmung zu nutzen. Das Testprinzip besteht darin, dass Lipase die folgende Reaktion katalysiert:



Die durch Aufklärung der Triolein-Emulsion messbare Extinktionsabnahme ist proportional dem Lipasegehalt der Probe. Nach der Herstellung von Reagenz-, Standard- und einer Kontrolllösung werden je 2 x 40 µl vorverdünnte Probe in Microküvetten pipettiert.

Da die durch Lipase katalysierte Reaktion im Zeitraum von 2–20 min linear verläuft, wurde zuerst über alle Probenansätze 1ml der 25 °C warmen Lipase-reagenzlösung pipettiert. Exakt 2 min nach Reagenzzugabe wurden die Küvetten bei 320 nm photometrisch gemessen (E_1). Eine zweite Messung erfolgte nach 7 min, ebenfalls bei 320 nm (E_2). Pro Durchgang werden zwei Standardlösungen und eine Kontrolllösung gemessen. Aus der Extinktion nach 2 min (E_1) und der Extinktion nach 7 min (E_2) ergab sich eine Extinktionsdifferenz (E).

Es ergibt sich folgende Formel:

$$\text{Faktor } F = \frac{\text{Aktivität des Standards}}{E_{ST}} \quad E = E_1 - E_2$$

$$\text{Lipaseaktivität (U / ml)} = F \times E_{PROBE} \times \text{Verdünnung}$$

$$\text{Lipaseausschüttung (U / min)} = \text{Lipaseaktivität (U / ml)} \times \text{duodenale Volumenflussrate (ml / min)}$$

2.7.4 Chymotrypsinbestimmung

Die Chymotrypsinaktivität wurde nach der von HUMMEL (1955) [40] beschriebenen Methode bestimmt. Den synthetisch-aromatischen Aminosäureester N-benzoyl-L-tyrosin-ethylester (BTEE) hydrolysiert Chymotrypsin zu N-benzoyl-L-tyrosin. Nach Herstellung eines Trispuffers (Tris gelöst in CaCl-Lösung, pH 7,8) wurde ein Substratgemisch hergestellt (BTEE in 50 % Methanol). Die Calcium-Ionen des Puffers sorgten für eine Stabilisierung und ideale Reaktionsbedingungen. 2 x 100 µl verdünnter Probe wurde in Quarzküvetten pipettiert und mit 2,9 ml des 25°C warmen Substratpuffergemisches versehen. Bei 256 nm wurden die Quarzküvetten sofort (E₁) und nach 1 min (E₂) gemessen (zur Messung dient ein Spectralphotometer der Fa. Zeiss). Die Extinktionszunahme pro Zeiteinheit ist ein Maß für die Chymotrypsinaktivität.

Chymotrypsinaktivität (U / ml) = E x Faktor 31,1 x Verdünnung			
Chymotrypsin- ausschüttung (U / min)	=	Chymotrypsin- aktivität (U / ml)	x duodenale Volumenflussrate (ml / min)

2.7.5 Trypsinbestimmung

Als Substratgemisch diente für die Trypsinmessung Tosyl-L-argininmethylester (TAME) aus dem nach Trypsinwirkung Tosyl-L-arginin entsteht. Die Extinktionsänderung der Lösung konnte bei einer Wellenlänge von 247 nm gemessen werden. Es erfolgte die Herstellung eines Substrat-Puffergemisches (pH 8,1). Auch hier stabilisiert der Trispuffer durch seine Calcium-Ionen das Enzym und schafft ideale Reaktionsbedingungen. Je 2 x 100 µl verdünnter Probe wurden in Quarzküvetten pipettiert und mit 2,9 ml des 25 °C warmen Substrat-Puffergemisches überpipettiert. Die Küvetten enthielten dann 0,3 ml Substratlösung (TAME), 2,6 ml Pufferlösung und 0,1 ml Duodenalprobe. Bei 247 nm wurden die Küvetten im Photometer sofort nach Zugabe des Substrat-Puffergemisches (E₁) und nach 1 min gemessen (E₂).

Analog der Chymotrypsinbestimmung errechnete sich die Trypsinaktivität:

Trypsinaktivität (U / ml) = E x Faktor 55,6 x Verdünnung			
Trypsinausschüttung (U / min)	=	Trypsinaktivität (U / ml)	x duodenale Volumenflussrate (ml / min)

2.7.6 Phenolsulphthalein (PSP)

PSP ist ein Indikator, der in basischem Milieu einen Farbumschlag von farblos nach rot erfährt. Den Magenproben wurde ein basischer Puffer (Borsäure, KCl und Aqua dest.) [15] zugesetzt, um photometrisch die Intensität der roten Farbe bei 520, 560 und 600 nm zu messen. Das produzierte Magenvolumen ist umgekehrt proportional zu den gemessenen Extinktionen. Die Magenprobe wurde sofort nach der Gewinnung mit 5,5 ml Aqua dest. und 1 ml Boratpuffer versetzt und bei den drei o.g. Wellenlängen photometrisch gemessen.

Es ergibt sich die Extinktionsberechnung für PSP:

$$E_{560 \text{ nm}} - (E_{520 \text{ nm}} + E_{600 \text{ nm}}) / 2 = E_{PROBE}$$

Mit Hilfe einer Eichkurve des Standard-PSP kann den PSP-Probeextinktionen eine Konzentration zugeordnet werden. Es ergibt sich die Formel:

$$\text{sezerniertes Magenvolumen (U / min)} = \frac{E_{PSP \text{ Standard}}}{E_{PSP \text{ Probe}}} \times \text{Infusionsvolumen (ml / min)}$$

2.7.7 Polyethylenglycol (PEG)

PEG dient zur Ermittlung der duodenalen Volumenflussrate (ml/min). Es wurden 200 µl Duodenalsaft in ein Glasreagenzröhrchen mit 1,75 ml eisgekühltem Aceton (72%) pipettiert (Lösung A). Aus diesem gut durchmischten Reagenz wurden erneut 250 µl entnommen und mit 1,75 ml *Gummi arabicum* (25 mg/l, RT) versetzt (Lösung B). Zur Lösung B wurden 2 ml TCA (Trichloressigsäure, eisgekühlt, 30% mit CaCl₂ 5% versetzt) gegeben und 30 min bei Zimmertemperatur inkubiert. TCA bildet mit *Gummi arabicum* und Ca-Ionen eine Emulsion mit PEG. Mit Aceton werden potentiell interferierende Proteine ("cold acetone-method") ausgefällt [12]. Nach 30-minütiger Inkubationszeit erfolgte nach guter Durchmischung der Proben eine photometrische Messung bei 650 nm. Die Standardproben wurden gleich behandelt.

Es ergibt sich eine Formel für die duodenale Volumenflussrate wie folgt:

$$\frac{E_{PSP \text{ Standard}}}{E_{PSP \text{ Probe}}} \times \text{Infusionsvolumen / min (3 ml / min)} = \text{duodenale Volumenflussrate (ml / min)}$$

2.8 Definition

Als basale Enzymflussrate wurde der Mittelwert der ersten drei, in der mit Sekretin und Ceruletid stimulierten Studie und der ersten vier, in der mit Carbachol stimulierten Studie, vor intraduodener Applikation von Placebo bzw. des Prostaglandin-E₂-Analogons Nocloprost® gewonnenen Enzymflussraten definiert.

2.9 Statistische Methoden

Alle bei den Studien gewonnenen Stichproben wurden auf ihre Normalverteilung hin untersucht. Jeder Proband stellte seine eigene Kontrolle dar. Unterschiede zwischen den unter Nocloprost® und Placebo erhobenen Daten wurden dementsprechend mit Hilfe des gepaarten t-Testes [9] auf statistische Signifikanz geprüft (Bonferroni-Korrektur bei multiplen Vergleichen). Ein Signifikanzniveau von 5% wurde festgelegt. Alle Daten wurden als arithmetische Mittelwerte mit entsprechendem Standardfehler dargestellt.

3. Ergebnisse

3.1 Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE2-Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen mit Ceruletid und Sekretin stimulierte Pankreasenzymsekretion

3.1.1 Amylase

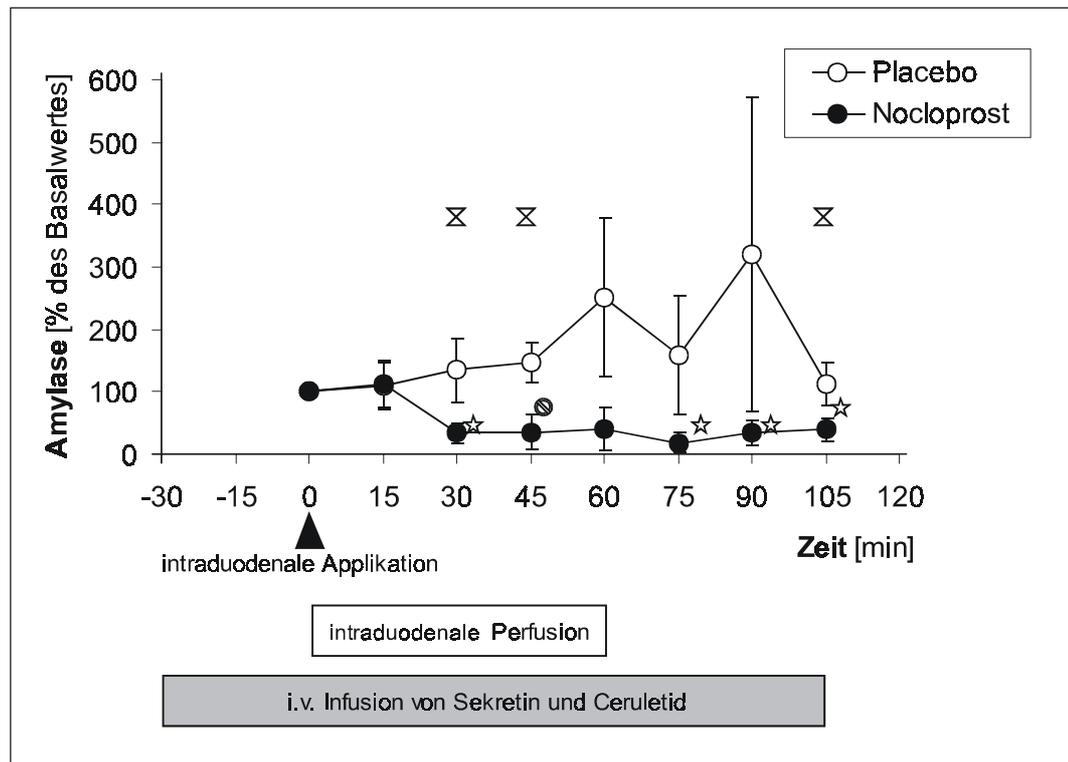


Abb. 2: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Amylaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Sekretin (0,2 U/kg/h) und Ceruletid (15 ng/kg/h) wurden im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten drei Sammelperioden (-30 min bis 0 min) entsprechend 100% definiert (n = 6, MW ± SEM).

- ☆ p < 0,05 im Vergleich zum Basalwert
- ⊙ p < 0,10 im Vergleich zum Basalwert
- X p < 0,10 Placebo im Vergleich zu Verum

Die Amylaseflussrate zeigte in Bezug auf die basale Flussrate 30 min nach duodener Nocloprost®-Applikation einen signifikanten Abfall der Flussrate um 66%. 45 min nach Nocloprost®-Applikation war kurzfristig eine statistisch nicht signifikante Abnahme der Amylaseflussrate zu verzeichnen. Hier war jedoch noch ein Trend zu erkennen (p = 0,08). Zu einem signifikanten Abfall der

Flussrate kam es erst wieder 75 min nach duodenaler Nocloprost®-Applikation, hier sank die Flussrate um 82%. Der signifikante Abfall dauerte dann bis Studienende bei 105 min an. Bei den Amylaseflussraten in Bezug auf die basale Enzymflussrate nach duodenaler Placebo-Applikation war kein signifikanter Abfall der Enzymflussraten zu erkennen.

Vergleicht man die unter Nocloprost® und Placebo beobachteten Amylaseflussraten direkt, so fand sich unter Nocloprost® eine tendenziell niedrigere Enzymausschüttung ($p = 0,09$ bei 30 min, $p = 0,07$ bei 45 min, $p = 0,06$ bei 105 min).

3.1.2 Lipase

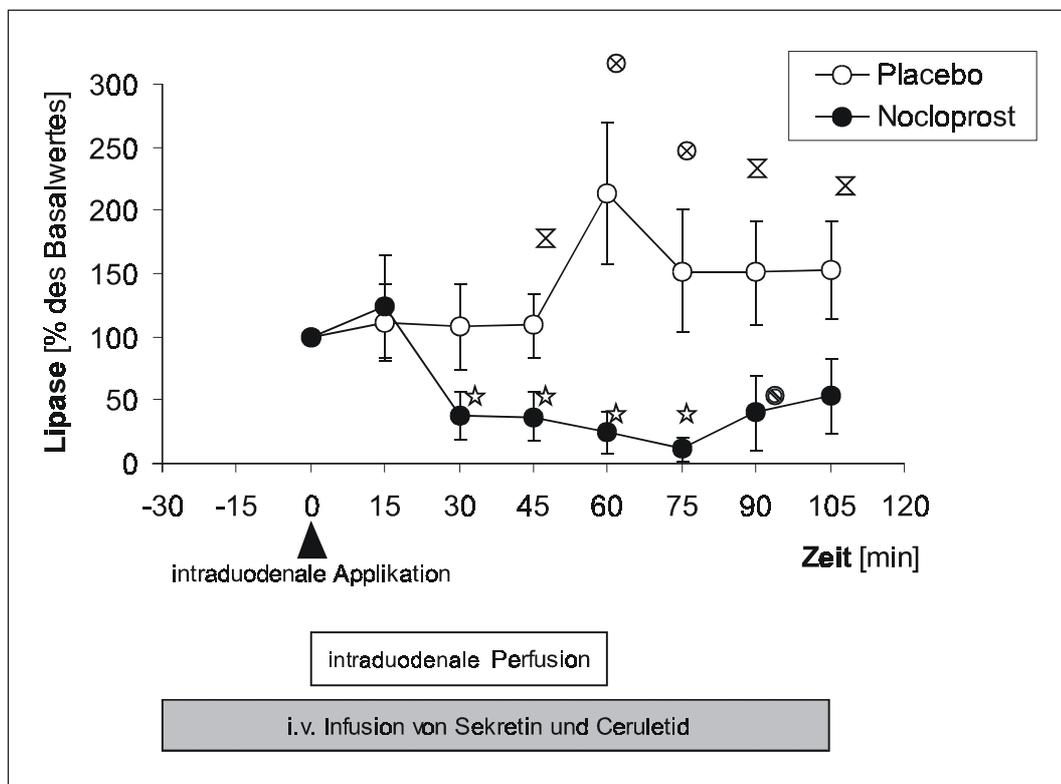


Abb. 3: Wirkung des PGE₂-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Lipaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost®- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost® oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Sekretin (0,2 U/kg/h) und Ceruletid (15 ng/kg/h) wurden im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten drei Sammlerperioden (-30 min bis 0 min) entsprechend 100 % definiert (n = 6, MW ± SEM).

- ☆ $p < 0,05$ im Vergleich zum Basalwert
- ⊙ $p < 0,10$ im Vergleich zum Basalwert
- ⊗ $p < 0,05$ Placebo im Vergleich zu Verum
- ⊗ $p < 0,10$ Placebo im Vergleich zu Verum

Die Lipaseflussrate zeigte in Bezug auf die basale Flussrate 30 min nach duodенaler Nocloprost®-Applikation einen signifikanten Abfall der Flussrate um 62%. Der signifikante Abfall dauerte nach Nocloprost®-Applikation 75 min an und die Flussraten nahmen bis zu 89% ab. Nach 90 min stiegen die Flussraten dann wieder an. Aber auch hier ließ sich noch ein Trend erkennen ($p = 0,07$). Bei den Lipaseflussraten in Bezug auf die basale Enzymflussrate nach duodенaler Placebo-Applikation war kein signifikanter Abfall der Enzymflussraten zu erkennen.

Betrachtet man die Lipaseflussraten nach duodенaler Placebo-Applikation im Vergleich mit den Flussraten nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so lagen die Flussraten nach Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als die nach Placebo-Applikation. Nach 45 min zeichnete sich ein Enzymflussratenabfall ab, der einem Trend entsprach ($p = 0,08$). Nach 60 min kam es zu einem signifikanten Flussratenabfall um 77%. Der signifikante Abfall dauerte dann bis 75 min an. Nach 90 und 105 min war noch ein Trend zu erkennen ($p = 0,1$).

3.1.3 Chymotrypsin

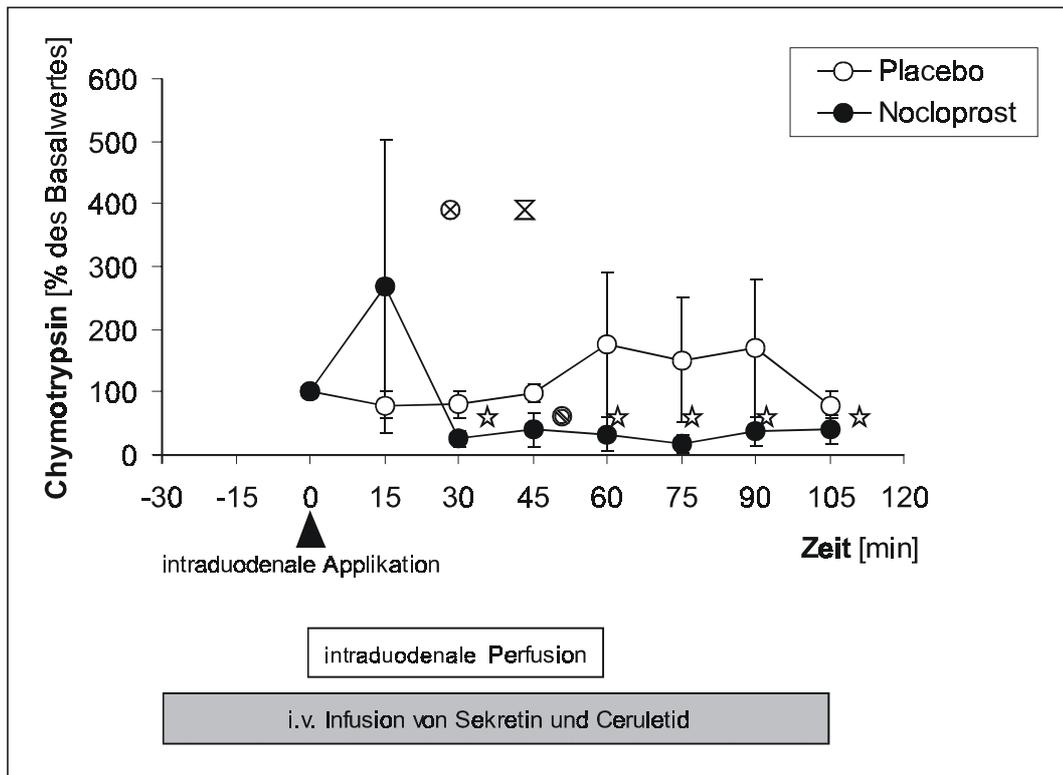


Abb. 4: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Chymotrypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost®- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost® oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Sekretin (0,2 U/kg/h) und Ceruletid (15 ng/kg/h) wurden im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten drei Sammelperioden (-30 min bis 0 min) entsprechend 100% definiert (n = 6, MW ± SEM).

- ☆ p < 0,05 im Vergleich zum Basalwert
- ⊙ p < 0,10 im Vergleich zum Basalwert
- ⊗ p < 0,05 Placebo im Vergleich zu Verum
- ⊗ p < 0,10 Placebo im Vergleich zu Verum

Die Chymotrypsinflussrate zeigte in Bezug auf die basale Flussrate 30 min nach duodенaler Nocloprost®-Applikation einen signifikanten Abfall der Flussrate um 75%. 45 min nach Nocloprost®-Applikation war kurzfristig eine statistisch nicht signifikante Abnahme der Chymotrypsinflussrate zu verzeichnen.

Hier war jedoch noch ein Trend zu erkennen (p = 0,08). 60 min nach Nocloprost®-Applikation zeichnete sich ein signifikanter Abfall der Enzymflussrate ab. Der signifikante Abfall dauerte bis zum Ende der Studiendauer bei 105 min an. Bei den Chymotrypsinflussraten in Bezug auf die basale Enzymflussrate nach duodенaler Placeboapplikation war kein signifikanter Abfall der Enzymflussraten zu erkennen.

Betrachtet man die Chymotrypsinflussraten nach duodенaler Placeboapplikation im Vergleich mit den Flussraten nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so lagen die Flussraten nach Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als nach Placeboapplikation. 30 min nach Medikamentenapplikation zeichnete sich ein signifikanter Enzymflussratenabfall ab. Bei 45 min entsprach der Abfall der Enzymflussrate nur noch einem Trend ($p = 0,08$). Im weiteren Verlauf der Studie konnte kein weiterer statistisch signifikanter Flussratenabfall mehr beobachtet werden

3.1.4 Trypsin

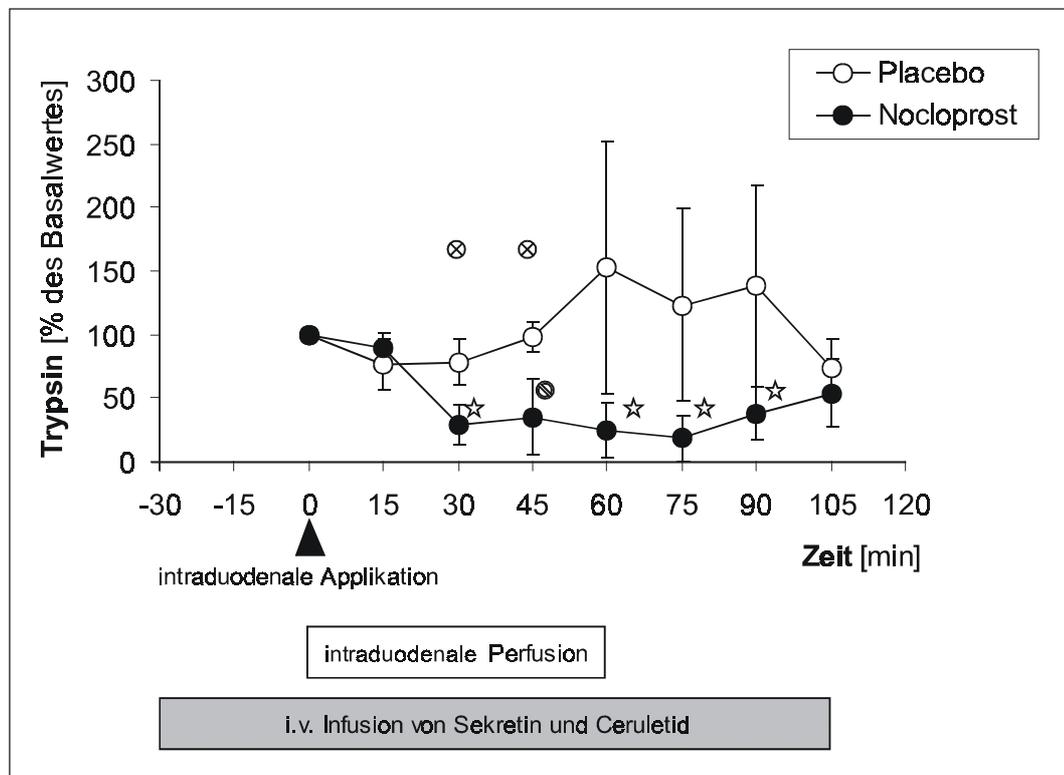


Abb. 5: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Trypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost®- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost® oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Sekretin (0,2 U/kg/h) und Ceruletid (15 ng/kg/h) wurden im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten drei Sammelperioden (-30 min bis 0 min) entsprechend 100 % definiert (n = 6, MW ± SEM).

- ☆ $p < 0,05$ im Vergleich zum Basalwert
- ⊙ $p < 0,10$ im Vergleich zum Basalwert
- ⊗ $p < 0,05$ Placebo im Vergleich zu Verum

Die Trypsinflussrate zeigte in Bezug auf die basale Flussrate 30 min nach duodенaler Nocloprost®-Applikation einen signifikanten Abfall der Flussrate um 71%. 45 min nach Nocloprost®-Applikation war kurzfristig eine statistisch nicht signifikante Abnahme der Trypsinflussrate zu verzeichnen.

Hier war jedoch ein Trend zu erkennen ($p = 0,09$). 60 min nach Nocloprost®-Applikation zeichnete sich wieder ein signifikanter Abfall der Enzymflussrate ab. Der signifikante Abfall dauerte bis zum Ende der Studiendauer bei 105 min an. Maximal war der Flussratenabfall bei 75 min. Hier fiel die Flussrate um 82% ab. Bei den Trypsinflussraten in Bezug auf die basale Enzymflussrate nach duodенaler Placebo-Applikation war kein signifikanter Abfall der Enzymflussraten zu erkennen.

Betrachtet man die Trypsinflussraten nach duodенaler Placebo-Applikation im Vergleich mit den Flussraten nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so lagen die Flussraten nach Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als die nach Placebo-Applikation. 30 min nach Medikamentenapplikation zeichnete sich ein signifikanter Enzymflussratenabfall ab, der insgesamt 30 min anhielt. Im weiteren Verlauf der Studie konnte kein weiterer, statistisch signifikanter Flussratenabfall mehr beobachtet werden

3.2 Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE2-Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen mit Ceruletid und Sekretin stimulierte, proximale Dünndarmmotilität

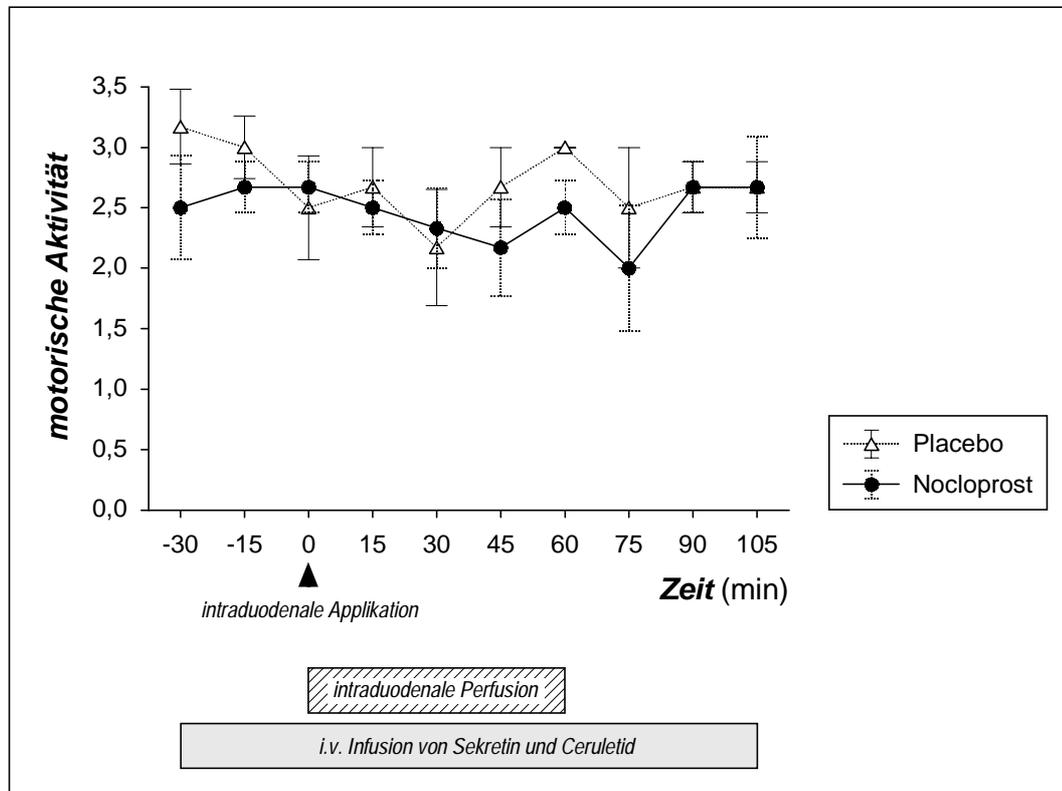


Abb. 6: Motorische Aktivität des proximalen Dünndarms (MW \pm Standardfehler). Nach dem in Kapitel 2.5 beschriebenen Schema wurden die Kontraktionen pro Zeitintervall zur statistischen Auswertung in einem Punktesystem bewertet. Die Anzahl der Kontraktionen ist dargestellt unter dem Einfluss von Nocloprost® im Vergleich mit Placebo. Die intraduodenale Nocloprost- oder Placeboperfusion erfolgte im Zeitintervall 0 bis 60 min. Sekretin und Ceruletid wurden im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert (n = 6).

Das digestive Motilitätsmuster wurde nicht durch Nocloprost® unterbrochen. Es traten unter Nocloprosteeinfluss keine Phase-III-Komplexe auf. Lediglich bei einem Probanden kam es 11 min nach Absetzen der Nocloprost®-Perfusion zu einem Phase-III-Komplex.

Es kam zu keiner Veränderung der Kontraktionsfrequenz unter Nocloprost®-Einfluss.

Zusammenfassend war zu beobachten, dass nach Nocloprost®-Applikation unter exogener Stimulation mit Sekretin und Ceruletid die Pankreasenzymsekretion um 60-80% im Vergleich zum Basalwert abnahm. Betrachtet man die Flussraten nach duodенaler Placeboapplikation im Vergleich mit den Flussraten nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so lagen die Flussraten nach

Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als die Mittelwerte nach Placeboapplikation. Statistische Signifikanz bzw. ein Trend konnte ebenfalls bei allen Enzymen, allerdings nicht in allen Sammelperioden, beobachtet werden.

Bezüglich der Motilität kam es ebenfalls zu keiner wesentlichen Änderung der Kontraktionsfrequenz. Das digestive Motilitätsmuster wurde nicht durch Nocloprost® unterbrochen. Es traten unter Nocloprost®-Einfluss keine Phase-III-Komplexe auf.

3.3 Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE2 - Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen mit Carbachol stimulierte Pankreasenzymsekretion

3.3.1 Amylase

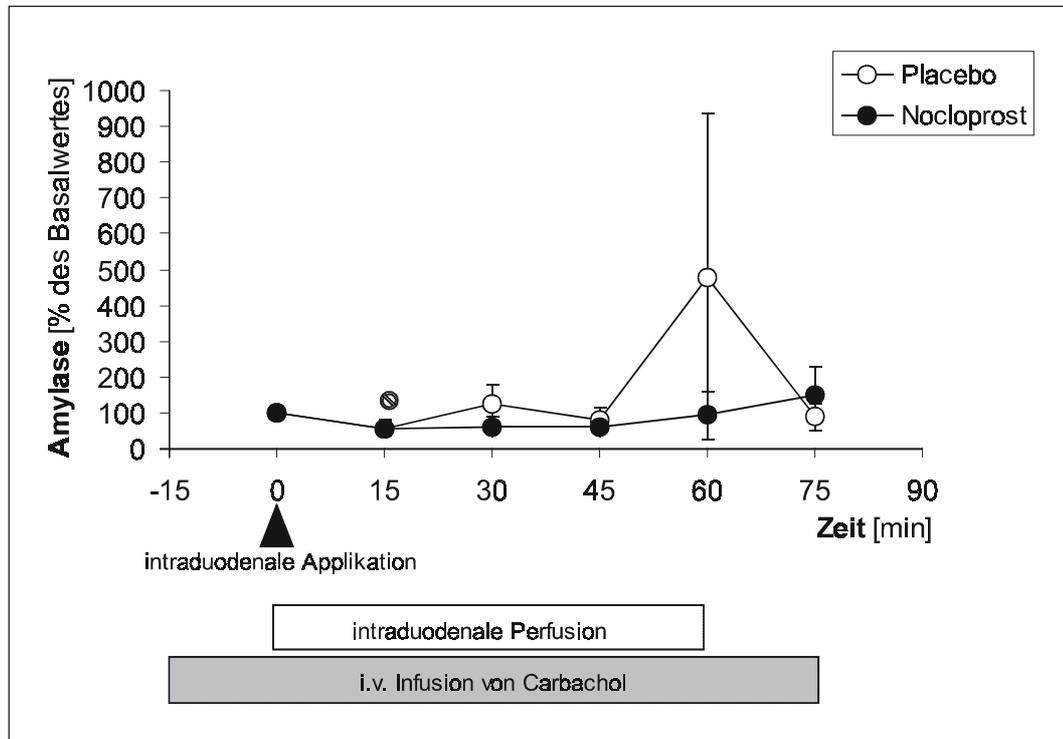


Abb. 7: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Amylaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost®- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost® oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Carbachol (4 µg/kg/h) wurde im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten vier Sammelperioden (-45 min bis 0 min) entsprechend 100% definiert (n = 5, MW ± SEM).

⊗ p<0,10 im Vergleich zum Basalwert

Unter Nocloprost® und Placebo ergab sich eine gleichförmige Amylaseflussrate. Auch in Bezug auf die basale Enzymflussrate der Amylase zeigte sich weder nach duodenaler Placebo- noch nach duodenaler Nocloprost®-Applikation eine signifikante Änderung der Enzymflussraten.

Der Kurvenverlauf unter Nocloprost®-Einfluss zeigte einen fast identischen Verlauf zu der Kurve unter Placebo-Einfluss.

Im Zeitintervall 45 – 60 min fiel ein hoher Ausreißerwert für die Amylaseflussrate unter Placebo-Einfluss auf. Dies lag an den hohen Flussratewerten eines Pro-

banden und spiegelte nicht das repräsentative Verhalten der Enzymflussrate in diesem Messintervall wieder.

3.3.2 Lipase

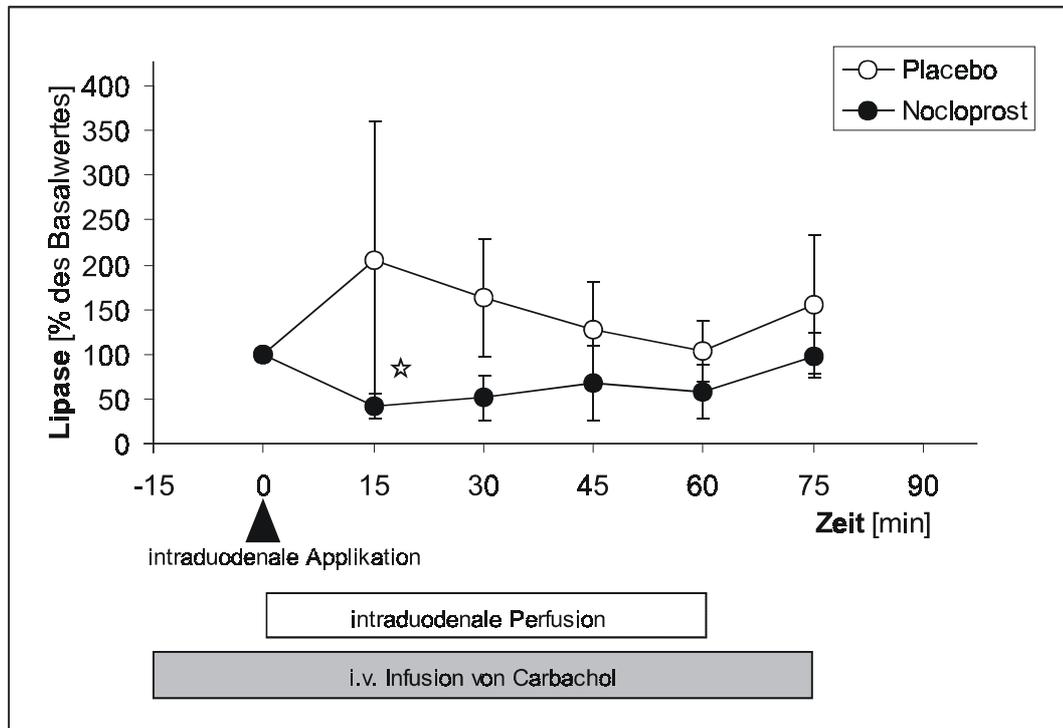


Abb. 8: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Lipaseflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost®- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost® oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Carbachol (4 µg/kg/h) wurde im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten vier Sammelperioden (-45 min bis 0 min) entsprechend 100% definiert (n = 5, MW ± SEM).

☆ p<0,05 im Vergleich zum Basalwert

Unter Nocloprost® und Placebo ergab sich ebenfalls wie bei der Amylase eine gleichförmige Lipaseflussrate. Lediglich in Bezug auf die basale Lipaseflussrate zeigte sich 15 min nach Nocloprost®-Applikation ein signifikanter Abfall der Enzymflussrate um 74% (p = 0,0077). Bereits 30 min nach Nocloprost®-Applikation fand sich jedoch kein signifikanter Abfall der Lipaseflussrate mehr.

3.3.3 Chymotrypsin

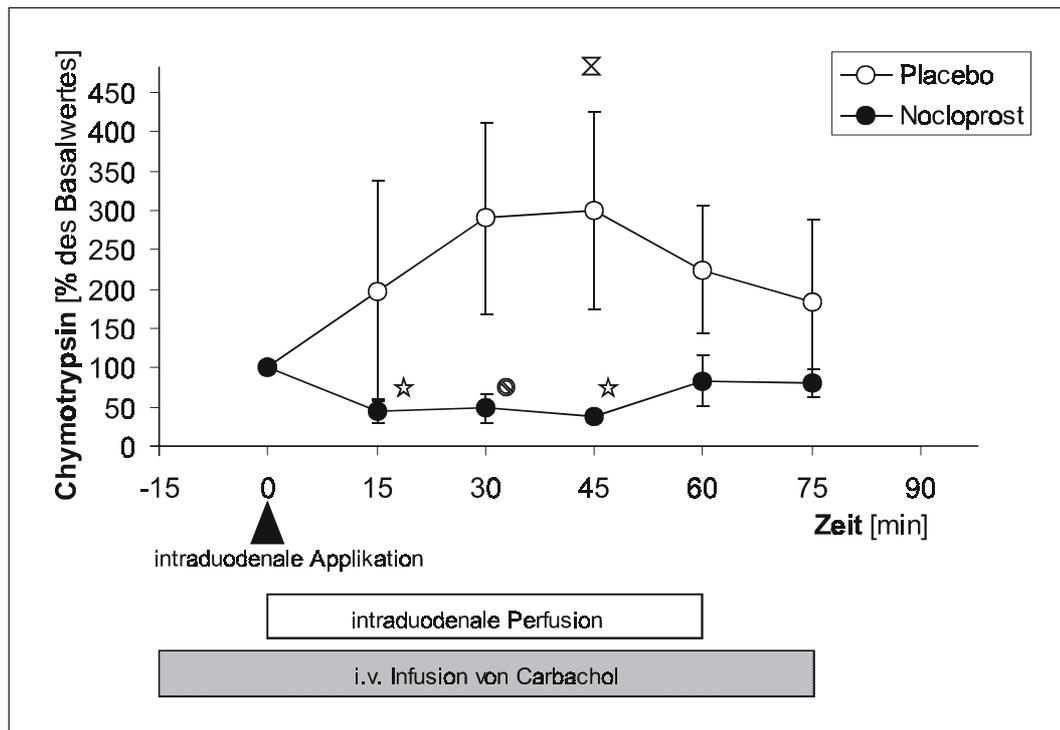


Abb. 9: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Chymotrypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost®- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost® oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Carbachol (4 µg/kg/h) wurde im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten vier Sammelperioden (-45 min bis 0 min) entsprechend 100% definiert (n = 5, MW ± SEM).

- ☆ p<0,05 im Vergleich zum Basalwert
- ⊙ p<0,10 im Vergleich zum Basalwert
- X p<0,10 Placebo im Vergleich zu Verum

Die Chymotrypsinflussrate zeigte in Bezug auf die basale Flussrate bereits 15 min nach duodенaler Nocloprost®-Applikation einen signifikanten Abfall der Flussrate um 56% bei (p = 0,016). 30 min nach Nocloprost®-Applikation war kurzfristig eine statistisch gerade nicht mehr signifikante Abnahme der Chymotrypsinflussrate zu verzeichnen (p = 0,07). Im weiteren Verlauf kam es 45 min nach Nocloprost®-Applikation zu einem erneuten signifikanten Abfall der Flussrate von 62%. Nach 60 min stiegen die Flussraten dann wieder an.

Bei den Chymotrypsinflussraten in Bezug auf die basale Enzymflussrate nach duodенaler Placebo-Applikation war kein signifikanter Abfall der Enzymflussraten zu erkennen.

Betrachtet man die Chymotrypsinflussraten nach duodенaler Placebo-Applikation im Vergleich mit den Flussraten nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so ließ sich 45 min nach Medikamentapplikation eine tendenziell niedrigere Enzymflussrate unter Nocloprost® erkennen ($p = 0,07$). Die Flussraten lagen nach Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als die nach Placebo-Applikation. Die Unterschiede waren aber über den gesamten Studienverlauf nicht signifikant.

3.3.4 Trypsin

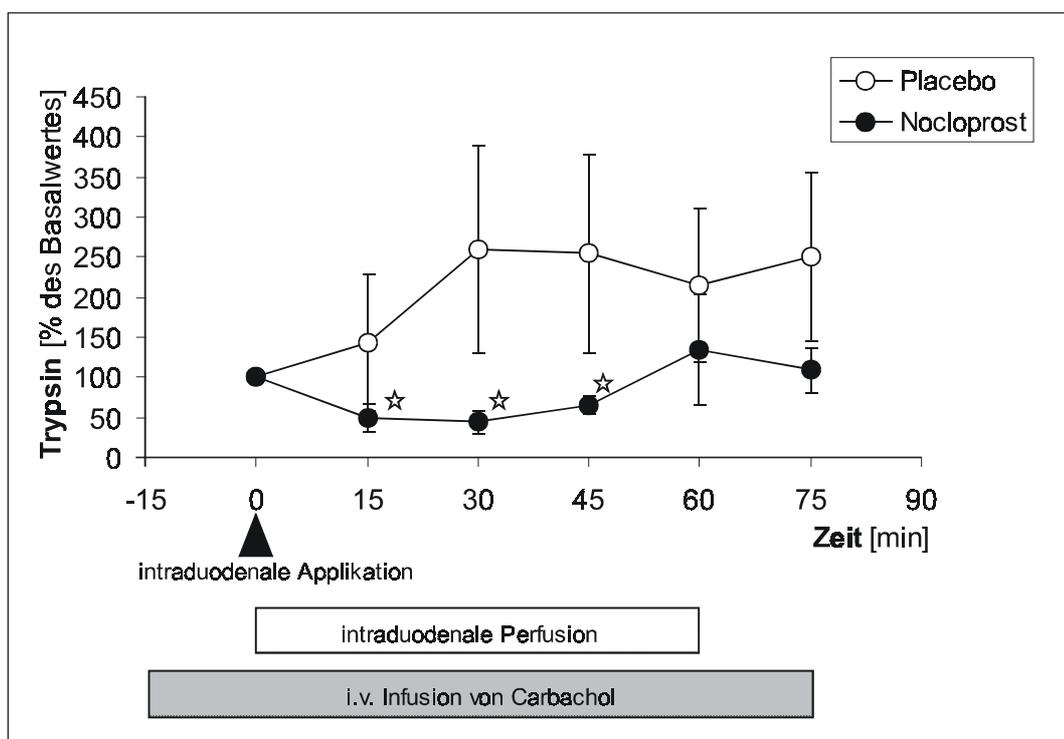


Abb. 10: Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die duodenale Trypsinflussrate (in Prozent des Basalwertes) im Vergleich zu Placebo. Die intraduodenale Nocloprost®- (200 µg) oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Zusätzlich wurden 200 µg Nocloprost® oder Placebo im Zeitintervall 0 bis 60 min duodenal perfundiert. Carbachol (4 µg/kg/h) wurde im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert. Der abgebildete 0-Wert stellt die basale Enzymflussrate dar. Er wurde als Mittelwert der Enzymflussraten der ersten vier Sammlerperioden (-45 min bis 0 min) entsprechend 100% definiert ($n = 5$, $MW \pm SEM$).

☆ $p < 0,05$ im Vergleich zum Basalwert

Die Trypsinflussrate zeigte in Bezug auf die basale Flussrate 15 min nach duodенaler Nocloprost®-Applikation einen signifikanten Abfall der Flussrate um 51%. Der signifikante Abfall dauerte nach Nocloprost®-Applikation 45 min an. Nach 60 min stiegen die Flussraten dann wieder an. Bei den

Trypsinflussraten in Bezug auf die basale Enzymflussrate nach duodенaler Placeboapplikation war kein signifikanter Abfall der Enzymflussraten zu erkennen.

Betrachtet man die Trypsinflussraten nach duodенaler Placebo-Applikation im Vergleich mit den Flussraten nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so lagen auch hier die Flussraten nach Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als nach Placebo-Applikation. Die Unterschiede waren über den gesamten Studienverlauf nicht signifikant.

3.4 Wirkung des i.d. applizierten Prostaglandin PGE2 - Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen mit Carbachol stimulierte, proximale Dünndarmmotilität

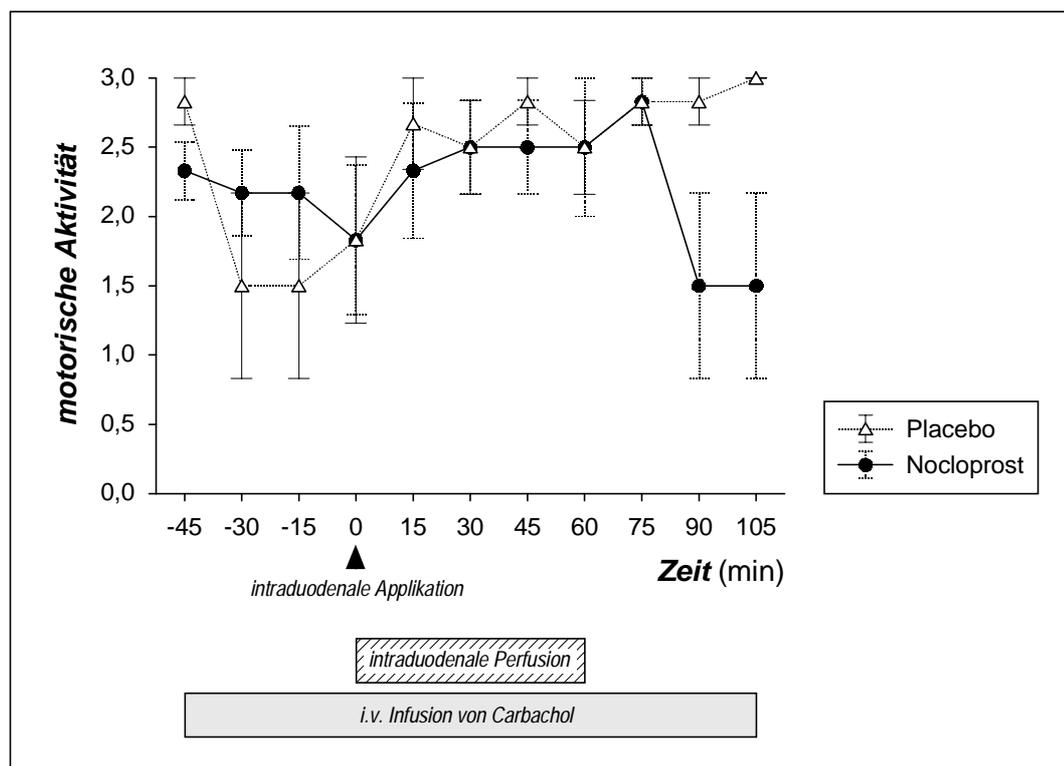


Abb. 11: Motorische Aktivität des proximalen Dünndarms (MW ± Standardfehler). Nach dem in Kapitel 2.5 beschriebenen Schema wurden die Kontraktionen pro Zeitintervall zur statistischen Auswertung in einem Punktesystem bewertet. Die Anzahl der Kontraktionen ist dargestellt unter dem Einfluss von Nocloprost® im Vergleich mit Placebo. Die intraduodenale Nocloprost- oder Placebobolusapplikation erfolgte bei 0 min. Die intraduodenale Nocloprost®- oder Placeboperfusion erfolgte im Zeitintervall 0 bis 60 min. Carbachol wurde im gesamten Zeitintervall i.v. appliziert (n = 5).

Nocloprost® zeigte unter exogener Stimulation mit Carbachol keinen Einfluss auf die motorische Aktivität. Nocloprost® unterbrach nicht das digestive Motilitätsmuster und induzierte keine Phase-III-Komplexe.

Zusammenfassend war zu beobachten, dass es unter exogener Stimulation mit Carbachol bei allen Enzymen bis auf Amylase nach duodенaler Nocloprost®-Applikation zu einem kurzfristigen teilweise nur 15 min dauernden, statistisch signifikanten Flussratenabfall in Bezug auf die basale Flussrate kam. Die Abnahme der Enzymsekretion unter Carbachol war im Vergleich mit der Abnahme der Enzymsekretion unter Sekretin und Ceruletid tendenziell schwächer und kürzer.

Betrachtet man die Flussraten nach duodенaler Placebo-Applikation im Vergleich mit den Flussraten nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so lagen die Flussraten nach Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als die Mittelwerte nach Placebo-Applikation. Die Unterschiede waren aber nicht statistisch signifikant.

Bezüglich der Motilität zeigte Nocloprost® unter exogener Stimulation mit Carbachol keinen Einfluss auf die motorische Aktivität. Nocloprost® unterbrach nicht das digestive Motilitätsmuster und induzierte keine Phase-III-Komplexe.

4. Diskussion

4.1 Wirkung von Prostaglandinen auf die exokrine Pankreassekretion

Frühere Studien zur Wirkung von Prostaglandinen auf die exokrine Pankreassekretion ergeben sehr unterschiedliche, teils sogar widersprüchliche Befunde. Offensichtlich besteht bezüglich der Wirkung eine starke Abhängigkeit von der Art des Prostaglandins, der Dosierung, der Spezies und dem Studiendesign bzw. Applikationsmodus.

PGE₂ intraduodenal appliziert, hemmt bei Ratten die Pankreasenzymsekretion *in vivo* [21]. Bei Hunden hemmt PGE₁ bei intravenöser Gabe die basale und exogen stimulierte Volumen- und Bikarbonatsekretion, stimuliert hingegen die Pankreasenzymsekretion [75]. Eine starke Hemmung der interdigestiven und exogen stimulierten Volumen- und Bikarbonatsekretion bei Hunden durch intragastral und intraduodenal appliziertes PGE₂, wird außerdem von ROSENBERG *et al.* gezeigt [72]. Die intravenöse Gabe von PGE₂ führt zu einer leichten Stimulation der Nüchternsekretion von Bikarbonat beim Hund, während es unter exogener und endogener Stimulation zu einer starken Hemmung dieser Parameter nach intravenöser Applikation von PGI₂ kommt [48]. PGI₂ hat hingegen keine Wirkung auf die exokrine Sekretion des perfundierten Hundepankreas, während PGE₂ unter den selben Bedingungen eine Hemmung der Sekretion bewirkt [41]. PGE₁ und PGE₂ hemmen beim Meerschweinchen auch die CCK-stimulierte Amylaseausschüttung aus isolierten Pankreasazini; die Carbachol-stimulierte Amylaseausschüttung wird ebenfalls, jedoch weniger stark reduziert [98]. Demzufolge scheinen PGE₁ und PGE₂ die exokrine Pankreassekretion des Meerschweinchens direkt, d.h. auf Ebene der Pankreasazini zu hemmen.

Vergleichbare Befunde erheben OGAMI *et al.* bei der Ratte. Auch bei dieser Spezies hemmt PGE₂ die Sekretin- sowie die CCK-stimulierte Amylaseausschüttung aus isolierten Pankreasazini und hat damit eine direkte, inhibitorische Wirkung auf Organebene [66]. CASE und SCATCHERD demonstrieren *in vivo* bei der Katze, dass es nach intraarterieller Applikation von PGE₁ und PGE₂ zu einem Blutdruckabfall mit einer verminderten Pankreasdurchblutung und einer Hemmung der Pankreasenzymsekretion kommt. Im Gegensatz hierzu hat PGE keinen Effekt auf die Enzymsekretion der isolierten Pankreasacini. Sie nehmen an, dass der beschriebene *in vivo*-Effekt möglicherweise mit der reduzierten Pankreasdurchblutung im Zusammenhang stehen könnte [12]. 1995

zeigen MASUDA *et al.* [59], dass PGE₂ nach intragastraler Applikation die exokrine Pankreassekretion bei der Ratte steigert, nach intravenöser Applikation jedoch hemmt. Die gesteigerte Pankreassekretion lässt sich auch nicht durch die Gabe von CCK- oder Sekretin-Antagonisten, noch durch eine beidseitige Vagotomie beeinflussen. Sie ist jedoch vollständig durch die Gabe von Atropin aufgehoben. Die Autoren nehmen hier an, dass die i.g. Wirkung des PGE₂ über einen peripher-gastro-pankreatischen Reflexmechanismus erfolgt. SAUTERAU *et al.* demonstrieren in einer Studie, dass PGE₂ nach intravenöser und intracerebroventriculärer Gabe bei der Ratte die Volumen- und Bikarbonatsekretion hemmt. Die maximale Hemmung ergibt sich nach gleichzeitiger i.v. und i.v.c. Injektion, wobei nach alleiniger i.c.v. Applikation die hemmende Wirkung drei bis fünf mal größer ist, als nach i.v. Applikation. Weiterhin stellen sie fest, dass PGE₂ die Cholezystokinin stimulierte Pankreasproteinsekretion hemmt, die Volumen- und Bikarbonatsekretion jedoch nicht verändert [79]. Prostaglandine, insbesondere PGE₂, scheinen demzufolge bei Tieren eine überwiegend hemmende Wirkung auf die endogen und exogen stimulierte Pankreassekretion zu haben. Diese kann sowohl die Volumen- und Bikarbonatsekretion als auch die Enzymsekretion betreffen und wird bei intragastraler, intraduodenaler, intravenöser und intracerebroventriculärer Applikation beobachtet. Als Mechanismus kommen also einerseits sowohl systemische Effekte wie eine Verminderung der Pankreasdurchblutung [12] als auch ein zentraler Angriff [79] und die Auslösung peripher gastro- bzw. duodeno-pankreatischer Reflexe [59] in Frage. Außerdem scheinen Prostaglandine auch direkt an den Pankreasazini angreifen zu können [66].

Auch Untersuchungen am Menschen ergeben uneinheitliche Befunde. PGE₂ hemmt die Sekretin stimulierte Bikarbonat- und Enzymsekretion bei intravenöser Gabe [3]. Oral verabreichtes PGE₂ scheint unter exogener Stimulation mit Sekretin in Kombination mit steigenden Dosen CCK keinen signifikanten Einfluss auf die exokrine Pankreassekretion zu haben [77], während in anderen Studien die endogen stimulierte, exokrine Pankreassekretion gehemmt [25] bzw. die exogen mit Sekretin stimulierte Enzymsekretion sogar stimuliert wird [47]. Bei duodenaler Applikation hemmt PGE₂ die endogen stimulierte Pankreasenzymsekretion [93].

Zusammenfassend wird bislang überwiegend auch beim Menschen Inhibition der exokrinen Pankreassekretion durch PGE₂ beobachtet. Die Befunde sind aber unheitlich, zum Teil widersprüchlich und es besteht Klärungsbedarf. Insbesondere bei gastral Applikation ist die Datenlage allerdings uneinheitlich.

Die hier vorgestellte Studie zeigt, dass es unter submaximaler Stimulation mit Ceruletid und Sekretin nach duodенaler Nocloprost®-Applikation zu einer statistisch signifikanten Abnahme der Sekretion aller Enzyme im Vergleich zum Basalwert kommt.

Die Hemmung der Sekretion durch Nocloprost® ist bei allen Enzymen deutlich ausgeprägt. Das heißt, sie beträgt mehr als 50% im Vergleich zum Basalwert und hält auch über das Ende der intraduodenalen Nocloprost®-Perfusion hinaus an. Betrachtet man die Enzymsekretion nach duodенaler Placebo-applikation im Vergleich mit der Enzymsekretion nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so liegen die arithmetischen Mittelwerte der Flussraten nach Nocloprost®-Applikation zu jedem Zeitpunkt niedriger als nach Placebo-Applikation. Statistische Signifikanz bzw. ein Trend kann ebenfalls bei allen Enzymen allerdings nicht in allen Sammlerperioden beobachtet werden. Möglicherweise wird das Signifikanzniveau wegen des kleinen Stichprobenumfangs (n = 6) verfehlt.

Auch unter exogener Stimulation mit Carbachol lässt sich bei allen Enzymen bis auf die Amylase nach duodенaler Nocloprost®-Applikation eine signifikante Hemmung der Sekretion beobachten. Diese ist aber schwächer ausgeprägt (weniger als 50%) und hält kürzer an, als unter der Stimulation mit Sekretin und Ceruletid. Betrachtet man die Enzymsekretion nach duodенaler Placebo-Applikation im Vergleich mit der Enzymsekretion nach duodенaler Nocloprost®-Applikation, so liegt die Enzymsekretion nach Nocloprost®-Applikation wiederum zu jedem Zeitpunkt niedriger als nach Placebo-Applikation. Die Unterschiede sind aber nicht statistisch signifikant. Demzufolge ist die hemmende Wirkung von PGE₂ auf die exogen stimulierte Pankreasenzymsekretion des Menschen abhängig vom Stimulationsmodus. Dies lässt Rückschlüsse auf mögliche Wirkmechanismen zu (s. 4.3).

4.2 Wirkung von Prostaglandinen auf die intestinale Motilität

Auch in Bezug auf die intestinale Motilität ergeben frühere Studien zur Wirkung von Prostaglandinen stark variierende Ergebnisse. So induziert PGE₂ beim Hund vor einer Testmahlzeit p.o. oder i.v. appliziert Phase III-Komplexe, anstelle eines typischen, postprandialen Motilitätsmusters. Nach intracerebroventrikulärer Applikation eines Prostaglandinantagonisten vor einer Testmahlzeit

wird weder durch p.o. noch durch i.v. appliziertes PGE₂ Phase III-Komplexe induziert. Die Autoren gehen hierbei von einem zentral vermittelten Effekt aus [88]. BUENO *et al.* [10] zeigt an gefütterten Ratten, dass PGE₂ nach i.v. und intracerebroventrikulärer Gabe Phase III-Komplexe induziert. Eine dosisabhängige Abnahme in der Frequenz des MMC beim nüchternen und gefütterten Hund nach i.v. und intraarterieller Applikation von PGE₂ und PGI₂ beschreiben THOR *et al.* [91]. In vivo zeigt PGE₂ bei der Ratte einen regulatorischen Effekt auf die gastrointestinale Motilität auf zentralnervösem Weg [28]. 1992 belegt eine Studie von BURAKOFF *et al.* [11], dass PGE₂ in vivo beim Kaninchen in niedriger Dosierung eine Abnahme der motorischen Aktivität des Dickdarms bewirkt. Hingegen kommt es bei höherer Dosierung zu einer Stimulation der motorischen Aktivität. PGE₂ verursacht eine Erregung der Längsmuskelschicht und eine Entspannung der Ringmuskelschicht an präpariertem Meerschweinchenileum, was 1968 in einer Untersuchung von SCHOLLES *et al.* gezeigt wird [80]. Ähnliche Befunde können DE SAEDELEER *et al.* demonstrieren. In vitro beim Meerschweinchen hat PGE₂ alpha einen schwachen, kontrahierenden Effekt auf die duodenale und jejunale Längsmuskelschicht. Weiterhin beobachtet er, dass in vivo die antrale, motorische Aktivität gehemmt wird [18]. ROSENKRANZ *et al.* dokumentieren durch eine Studie, dass bei der Ratte nach PGE₂-Applikation der intestinale Farbstofftransit verlängert ist [74]. Schließlich belegen Untersuchungen, dass PGE₂ beim Hund eine Phase-III, die einen mit PGE₂ perfundierten Dünndarmabschnitt erreicht, aufhebt [29].

Prostaglandine scheinen bei Tieren überwiegend eine Hemmung der endogen stimulierten, digestiven Motilität zu bewirken. Hierbei haben insbesondere PGE₂-Analoga nach oraler, intravenöser und intracerebroventriculärer Applikation eine regulative Wirkung auf Phase III-Komplexe [10, 88]. Als Wirkmechanismus der Prostaglandine könnte ein zentral vermittelter Effekt in Frage kommen [28, 88]. Allerdings scheinen Prostaglandine auch direkt an Ring- und Längsmuskelschichten des Darms anzugreifen [18, 80]. Weiterhin scheint der inhibitorische Effekt der Prostaglandine im Zusammenhang mit einer Zunahme der Mesenterialgefäßdurchblutung zu stehen [91].

Untersuchungen am Menschen ergeben auch bezüglich der Prostaglandinwirkung auf die intestinale Motilität uneinheitliche Befunde. PGE₂ verlängert die intestinale Transitzeit beim Menschen [64]. Im Gegensatz dazu beschleunigt PGE₁ den oroökalen Transit [86]. Dies erklärt die unangenehmen Nebenwirkungen wie Diarrhoe und krampfartige, abdominelle Beschwerden bei Einsatz von PGE₁-Analoga in der Ulcusprävention.

Hinweise darauf, dass eine systemische Wirkungsweise für die Prostaglandine in Betracht kommt, gibt eine Studie von Holtmann *et al.* Er appliziert gesunden Probanden Nocloprost p.o. und registriert eine Verkürzung der ösophagealen Kontraktionen. Da der Kontakt beim oral applizierten Nocloprost mit dem Ösophagus nur etwa 10 bis 15s beträgt, kommen neben den lokal an der Schleimhaut vermittelten Effekten auch systemische Effekte in Betracht [39]. Weiterhin ist bekannt, dass PGE₂ den duodenogastralen Reflux beim Menschen bei gleichzeitig signifikanter Reduktion der Frequenz und Amplitude der antralen Kontraktionen während der Phase II fördert [23]. DUCROTTE *et al.* [24] zeigen, dass die Wirkung von Prostaglandinen auf die interdigestive Motilität beim Menschen dosisabhängig ist und die Dauer der interdigestiven Phasen beeinflusst. HOLTSMANN *et al.* [38] zeigen 1990, dass PGE₁ signifikant die Umstellung des interdigestiven Motilitätsmusters nach exogener Stimulation durch Sekretin und CCK verzögert: Sekretin und CCK i.v. appliziert, erzeugen ein postprandiales Motilitätsmuster. Nach Vorbehandlung mit PGE₁ i.g. trat das postprandiale Motilitätsmuster erst mit deutlicher Verzögerung auf. Außerdem zeigt auch diese Studie, dass Motilitätsphänomene, die der Phase III entsprechen, unter PGE₁ i.g. im Vergleich zu Placebo häufiger beobachtet werden.

Auch hier scheint PGE Einfluss auf Kontrollmechanismen zu haben, die den Wechsel zwischen interdigestivem und digestivem Motilitätsmuster steuern.

VON DER OHE *et al.* [93] zeigen auf, dass das PGE₂-Analogon Nocloprost® bei intraduodener Applikation nach endogener Stimulation und im interdigestiven Zustand duodenale Phase III-Komplexe induziert und die Dauer des interdigestiven Zyklus durch Verkürzung der Phase II-Dauer vermindert. Die Verbindung zwischen interdigestiver Pankreassekretion und den Motilitätsphasen wird allerdings nicht gestört und die Phase III bleibt dabei unbeeinflusst. VANTRAPPEN *et al.* stellen nach intraduodener PGE₁-Applikation im interdigestiven Zustand fest, dass PGE₁ nicht die Charakteristika der duodenalen Phase III-Komplexe beeinflusst [92].

Die hier vorgestellte Studie zeigt, dass unter exogener Stimulation mit Sekretin und Ceruletid oder Carbachol durch das intraduodenal applizierte PGE₂-Analogon Nocloprost® die Kontraktionsfrequenz im proximalen Dünndarm nicht beeinflusst wird. In beiden Studien unterbricht Nocloprost® nicht das digestive Motilitätsmuster. Nocloprost® induziert keine Phase-III-Komplexe. Demzufolge hat die intraduodenale Nocloprost®-Applikation unterschiedliche Effekte auf die endogen und exogen stimulierte, intestinale Motilität. Dies lässt Rückschlüsse auf mögliche Regulationsmechanismen zu (s. 4.3).

4.3 Mögliche Regulationsmechanismen

4.3.1 Pankreassekretion

Beim Menschen ist der Wirkmechanismus der Prostaglandine auf die exogen stimulierte, exokrine Pankreassekretion und gastrointestinale Motilität bei duodенaler Applikation noch weitgehend ungeklärt. Als mögliche Mechanismen von PGE₂ diskutiert man:

- eine Verminderung der Pankreasdurchblutung, die dann zu einer Hemmung der Pankreassekretion führt [12],
- einen zentralen Angriff [79],
- die Auslösung eines peripher gastro- bzw. duodeno-pankreatischen Reflexes [59],
- eine direkte, das heißt auf Ebene der Pankreasazini, hemmende Wirkung auf die exokrine Pankreassekretion [59].

Ein hier neu diskutierter, möglicher Wirkmechanismus der Prostaglandine auf die exokrine Pankreassekretion könnte in einer Interaktion mit dem cholinergen Nervensystem bestehen. Die Pankreassekretion wird beim Menschen im Wesentlichen neuronal über das cholinerge System und hormonell insbesondere über das gastrointestinale Hormon Cholezystokinin reguliert. Im Tiermodell wirkt Cholezystokinin über spezifische CCK-A-Rezeptoren bei der Ratte direkt an der Azinuszelle [97]. Auch bei der menschlichen fetalen und kindlichen Pankreasazinuszelle kann mRNA für den CCK-A und CCK-B-Rezeptor nachgewiesen werden. Bei der adulten Pankreasazinuszelle des Menschen besteht aber eine Prädominanz für den CCK-B-Rezeptor [65], der dem Gastrinrezeptor gleichzusetzen ist und nur bei sehr hohen Dosen von CCK aktiviert wird. Daten von ADLER *et al.* [1] lassen vermuten, dass Cholezystokinin auch über das cholinerge System interagiert. ADLER *et al.* demonstrieren, dass die stimulierende Wirkung von Cholezystokinin auf die Pankreassekretion durch den Cholezystokinin-Antagonisten Loxiglumid blockiert wird. Zum anderen stellen ADLER *et al.* fest, dass durch Gabe des Anticholinergikums Atropin die endogen stimulierte Pankreassekretion stärker (60-70%) gehemmt wird, als durch den Cholezystokinin-Antagonisten Loxiglumid. Eine Kombination beider Substanzen bewirkt eine fast vollständige Hemmung der Pankreassekretion.

Theoretisch wäre solch eine Interaktion von PGE₂ mit dem cholinergen System beim Menschen ebenfalls denkbar, zumal PGE₂ bei verschiedenen Tierspezies die Acetylcholinfreisetzung aus parasymphatischen Nervenfasern hemmt [97, 95, 73].

Generell bewirkt PGE₂ in der hier vorgestellten Studie eine Hemmung der Pankreasenzymsekretion, die nach exogener Stimulation mit Ceruletid und Sekretin deutlich stärker ausfällt und länger andauert, als nach Stimulation mit Carbachol. Bei Stimulation mit Carbachol wird das menschliche Pankreas direkt auf Ebene der Pankreasazini über Muscarinrezeptoren stimuliert. Da PGE₂ in der Lage ist, die menschliche Pankreasenzymsekretion auch bei direkter Stimulation mit Carbachol zu hemmen, muss es demzufolge einen direkten Angriff von PGE₂ am Pankreas geben. Nach den vorliegenden Daten kommen hierfür zwei Mechanismen in Frage: Zum einen hemmt PGE₂ bei der Katze [12] und PGI₂ beim Hund [82] die Pankreasdurchblutung. Beim Menschen ist eine Verminderung der Pankreasdurchblutung durch PGE₂ bisher nicht nachgewiesen, könnte aber die Hemmung der Pankreasenzymsekretion trotz direkter Stimulation durch Carbachol erklären.

Zum anderen könnte hierfür auch eine direkte Interaktion von PGE₂ mit der Azinuszelle über spezifische Rezeptoren verantwortlich sein. So hemmt PGE₁ und PGE₂ beim Meerschweinchen und bei der Ratte die Amylaseausschüttung aus isolierten Pankreasazini [66, 98]. Dies ist für die menschliche Pankreasazinuszelle bislang nicht nachgewiesen worden. Allerdings hat man auf der humanen Pankreaszelle eine prostaglandinrezeptorspezifische (EP₃) mRNA nachgewiesen [50]. Demzufolge wäre auch beim Menschen eine Hemmung über spezifische Rezeptoren auf der Pankreasazinuszelle denkbar.

Die Hemmung der Pankreassekretion durch PGE₂ unter der Stimulation mit Carbachol scheint aber geringer zu sein und weniger lang anzuhalten, als mit Sekretin-Ceruletid. Die Pankreasenzymsekretionshemmung ist nicht bei allen Enzymen gleichstark ausgeprägt (50-70%) und hält maximal über 45 min nach Beginn der i.d. Nocloprost®-Gabe an. Bei Sekretin-Ceruletid ist die Hemmung in der Regel bei allen Enzymen stärker (70-85%) und hält länger über mindestens 75 min nach Beginn der Perfusion über die gesamte Perfusionsdauer an. Es scheint also noch einen zusätzlichen Mechanismus zu geben, über den PGE₂ die exokrine Pankreassekretion hemmt: Die Stimulation der menschlichen Pankreassekretion durch Cholezystokinin erfolgt überwiegend über das cholinergene Nervensystem. Somit kommt als Ursache für die stärker ausgeprägte Hemmung der Pankreassekretion unter Stimulation mit Ceruletid und Sekretin eine Interaktion von PGE₂ und dem cholinergen System in Frage. Hierfür spricht, dass PGE₂ bei verschiedenen Tierspezies die Acetylcholinfreisetzung aus parasymphatischen Nervenfasern hemmt [87, 95, 73].

Ein weiteres Modell, was die stärker ausgeprägte Hemmung der Pankreassekretion unter Sekretin und Ceruletid gegenüber dem Carbachol erklärt, wäre, dass die Stimulation durch Sekretin und Ceruletid insgesamt schwächer ist, als durch Carbachol und sich deshalb leichter hemmen lässt. Dagegen spricht, dass unter Placebo die Enzymflussraten in einem vergleichbaren Bereich liegen.

Zusammenfassend lässt sich aus den vorliegenden Daten schließen, dass PGE₂ bei der i.d. Applikation über zwei periphere Mechanismen die menschliche Pankreas-enzymsekretion hemmt: Zum einen über einen direkten Angriff am Pankreas und zum anderen indirekt durch Interaktion mit dem cholinergen Nervensystem

4.3.2 Intestinale Motilität

In Bezug auf die intestinale Motilität ist der Wirkmechanismus der Prostaglandine bei stark variierenden Studienergebnissen ebenfalls zum größten Teil ungeklärt. Auch hier kommen als Mechanismen möglicherweise einerseits sowohl zentral vermittelte Effekte in Frage [28, 39, 88] als auch ein direkter Angriff an Ring- und Längsmuskelschichten des Darms [18, 80]. Ähnlich wie auch bei der Pankreasenzymsekretion scheint die Wirkung von der Art, der Dosis und dem Stimulationsmodus abhängig zu sein. Insgesamt scheinen PGE₂ eine hemmende Wirkung auf die gastrointestinale Motilität zu haben und für die Regulation der Phase-III-Komplexe von Bedeutung zu sein. Bei sehr ähnlichem Versuchsaufbau zeigen VON DER OHE *et al.* [93], dass das i.d. applizierte PGE₂-Analogon Nocloprost[®] die endogen stimulierte Motilität unterbricht, indem es Phase-III-Komplexe induziert. Im Gegensatz dazu hatte Nocloprost[®] in der hier vorliegenden Studie keinen Effekt auf die mittels Sekretin-Ceruletid und Carbachol exogen stimulierte, motorische Aktivität und induziert keine Phase-III-Komplexe. Demzufolge ist eine direkte Wirkung von i.d. PGE₂ auf die intestinale Motilität unwahrscheinlich. Vielmehr scheinen indirekte Mechanismen für die Auslösung von Phase-III-Komplexen bei i.d. Applikation von Nocloprost[®] während endogener Stimulation, verantwortlich zu sein. Denkbar ist sowohl eine Modulation der Freisetzung hormonaler, als auch neuraler Mediatoren. Hierzu fehlen aber aussagekräftige Untersuchungen.

5. Zusammenfassung

Hintergrund: Intraduodenal (i.d.) appliziertes PGE2 hemmt die endogen stimulierte Pankreasenzymsekretion des Menschen und unterbricht das digestive Motilitätsmuster durch Induktion von Phase-III-Komplexen. Unklar ist, auf welcher Ebene PGE2 die Enzymsekretion und Motilität beeinflusst. Diskutiert werden zentral, peripher oder direkt am Pankreas angreifende Mechanismen. Ziel dieser Untersuchung war es, die Wirkung des PGE2-Analogons Nocloprost® auf die submaximal exogen stimulierte Pankreassekretion und Dünndarmmotilität beim Menschen zu prüfen. Insbesondere sollte die Studie klären, auf welcher Ebene PGE2 die exokrine Sekretion und Motilität beeinflusst.

Methodik: Nach Intubation mit einer oro-jejunalen Multilumensonde zur Mark-erperfusion, Chymusaspiration und intestinalen Manometrie erhielt jeder Proband in randomisierter Reihenfolge, einfach blind, placebokontrolliert Nocloprost® i.d. (Bolus 200µg, Perfusion 200µg über 60 min). Exogen wurde mit Ceruletid (15ng/kg/h) und Sekretin (0,2U/kg/h) i.v. stimuliert. An einem zweiten Studientag wurde mit Carbachol (4µg/kg/h) i.v. stimuliert. Intraluminale Enzymflussraten sowie die Motilität wurden über die gesamte Studiendauer analysiert.

Ergebnisse: Unter Stimulation mit Ceruletid-Sekretin zeigte sich nach Nocloprost®-Applikation ein anhaltender Abfall der Enzymflussraten (über ca. 75 min) um 70-85% ($p < 0,05$) in Bezug auf die basale Flussrate. Unter Carbacholstimulation bewirkte Nocloprost® eine 50-70% Hemmung ($p < 0,05$) der Enzymsekretion, die aber nur kurz (über ca. 45 min) anhielt. Unter Placebo kam es weder bei Stimulation mit Ceruletid-Sekretin noch bei Carbachol zu einer Änderung der Enzymflussraten. Hinsichtlich der Motilität induzierte Nocloprost® weder unter Sekretin-Ceruletid noch unter Carbachol Phase-III-Komplexe und es veränderte die motorische Aktivität nicht.

Schlussfolgerung: Demzufolge scheinen zwei periphere Mechanismen zur Hemmung der Pankreasenzymsekretion durch PGE2 beizutragen:

1. ein direkter Angriff am Pankreas und
2. ein indirekter durch Interaktion mit dem cholinergen System.

Die Induktion von Phase-III-Komplexen durch i.d. appliziertes PGE2 bei endogener Stimulation scheint demgegenüber auf indirekten Mechanismen zu beruhen, da Phase-III-Komplexe bei exogener Stimulation nicht auftreten.

6. Literaturverzeichnis

1. ADLER G, BEGLINGER C, BRAUN U, REINSHAGEN M, KOOP I, SCHAFMAYER A, ROVATI L, ARNOLD R (1991)
Interaction of cholinergic system and cholecystokinin in regulation of endogenous and exogenous stimulation of pancreatic secretion in man.
Gastroenterology **100**: 537-543
2. ANANGNOSTIDES A, CHADWICK VS, SELDEN AC, MATON P N (1984)
Sham feeding and pancreatic secretion, evidence for direct vagal stimulation of enzymoutput.
Gastroenterology **87**: 109-11
3. ANGELINI G, ROSA B, COVI M, VAONA B, BOVO B, BAZZOLI MG, CALIARI S, BROCCO G, CAVALLINI G (1981)
Effect of graded doses of PGE₂ on pancreatic exocrine secretion of bicarbonate, chymotrypsin and cyclic nucleotides during i.v. infusion of secretin in man.
Hepatogastroenterology **28**(4): 213-5
4. ARNDORFER RC, STEF JJ, LINEHAN JH, HOGAN W J (1977)
Improved infusion system for intraluminal esophageal manometry.
Gastroenerology **73**: 23-27
5. BENNET A, HENSBY CN, SANGER GJ, STAMFORD I F (1981)
Metabolites of arachidonic acid formed by human gastrointestinal tissues and their action on muscle layers.
Br J Pharmacol **74**: 435-444
6. BERNFELD P (1955)
Alpha-amylases. In: Colowick CO, Kaplan NO (Eds.) *Methods of enzymology*.
New York, Vol 1, S. 149-58
7. BICKEL M (1981)
Effect of 16,16-dimethyl prostaglandin E₂ on gastric mucus gel thickness.
Prostaglandins **21** Suppl: 63-5

8. BOUTSEN Y, ESSELINCKX W (1999)
Novel non-steroidal ant-inflammatory drugs.
Acta Gastroenterol Belg **62**(4): 421-4
9. BOX GEP, HUNTER WG, HUNTER JS (1978)
Statistic for experimenters.
In Wiley & Sons, New York
10. BUENO L, FARGEAS MJ, FIORAMONTI J, PRIMI MP (1985)
Central control of intestinal motility by prostaglandins: a mediator of the actions of several peptides in rats and dogs.
Gastroenterology **88**: 1888-1894
11. BURAKOFF R, PERCY WH (1992)
Studies in vivo and in vitro on effects of PGE₂ on colonic motility in rabbits.
Am J Physiol **262**(1 PT 1): G23-9
12. BUXTON TB, CROCKET JK, MOORE WLIII, MOORE WLJR., RISSING JP (1979)
Protein precipitation by acetone for analysis of polyethylene glycol in intestinal perfusion fluid.
Gastroenterology **76**: 820-824
13. CASE RM, SCATCHERD T (1972)
Prostaglandin action on pancreatic blood flow and on electrolyte and enzyme secretion by exocrine pancreas in vitro and in vivo.
J Physiol (London) **226**: 393-405
14. CARLSON LA, EKELUND LG, ORO L (1969)
Circulatory and respiratory effects of different doses of prostaglandin E₁ in man.
Acta Physiol Scand **75**(1): 161-9
15. CLARK WMC, LUBS HA (1917)
The colorimetric determination of hydrogen ion concentration and its application in bacteriology.
J Bact **2**, 1

16. CUTHBERT MF (1969)
Effect on airways resistance of prostaglandin E1 given by aerosol to healthy and asthmatic volunteers.
Br Med J **20**;4(685): 723-6
17. DANNHARDT G (2000)
COX-2-selektive Antirheumatika (Vortrag im pharmazeutisch-lebensmittelchem. Kolloquium der Uni Münster).
Deutsche Apotheker Zeitung **140**. Jahrgang: 2173-74.
18. DE SAEDELEER V, WECHSUNG E, HOUVENAGHEL A (1992)
Influence of PGF2 alpha on gastrointestinal activity in the conscious piglet.
Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **45**(1): 71-5
19. DI MAGNO EP, LAYER P (1993)
Human exocrine pancreatic secretion. In: Go VW L et al (eds.) The Pankreas.
New York:Raven Press, Biology, Pathobiology and Disease. 2 Ed. S 275-300,
20. DING M, KINOSHITAY, KISHI K, NAKATA H, HASSAN S, KAWANAMI C, SUGIMOTO Y, KATSUYAMA M, NEGISHI M, NARUMIYA S, ICHIKAWA A, CHIBA T (1997)
Distribution of prostaglandin E receptors in the rat gastrointestinal tract.
Prostaglandins **53**(3): 199-216
21. DODI G, SANTORO MG, JAFFE BM (1978)
Effekt of a synthetic PGE2 on exocrine and endocrine pancreatic function in the rat.
Surgery **83**: 206-213
22. DOMSCHKE S, DOMSCHKE W (1979)
Pankreasfunktionsanalyse
In: Domschke W, Koch H (Hrsg) Diagnostik in der Gastroenterologie, Methodik und Bewertung.
Thieme, Stuttgart, S. 201-209
23. DOOLEY CP, MELLO WD, VALENZUELA JE (1985)
Effect of aspirin and prostaglandin E2 on interdigestive motility complex and duodenogastric reflux in man.
Dig Dis Sci **30**: 513-521

24. DUCROTTE P, PARENT B, MASLIAH C, JOUBERT M, COLIN R, DENIS P (1990)
Effect of enprostil on duodenojejunal motility in man.
Aliment Pharmacol Therap **4**: 73-81
25. EKELUND K, JOHANSSON C, NYLANDER B (1977)
Effects of 16,16 dimethyl prostaglandin E2 on food-stimulated pancreatic secretion and output of bile in man.
Scan J Gastroenterol **12**(4): 457-60
26. EYSSELEIN VE, MEISSEN H, HESSE W, SINGER MV, GOEBELL H (1987)
Hemmung der mahlzeitstimulierten Magensäuresekretion und Gastrinfreisetzung durch ein neues, synthetisches Prostaglandin-E2-Derivat.
Med Klin **82**: 224-228
27. Fachinformation zu Cytotec®200 von Heumann (1997)
Bundesverband der pharmazeutischen Industrie e.V. Fachinfo-Service
28. FARGEAS MJ, FIORAMONTI J, BUENO L (1984)
Prostaglandin E2 : a neuro-modulator in central control of gastrointestinal motility and feeding behaviour by calcitonin.
Science **225**: 1050-1052
29. FRANTZIDES CT, LIANOS EA, WITTMANN D, GREENWOOD B, EDMISTON CE (1992)
Prostaglandins and modulation of small bowel myoelectric activity.
Am J Physiol **262** (3 Pt 1): G488-97
30. FUNG HB, KIRSCHENBAUM HL (1999)
Selective cyclooxygenase-2-inhibitors for the treatment of arthritis.
Clin Ther **21**(7): 1131-57
31. GILL RC, KELLOW JE, WINGATE DL (1987)
The migrating complex at home.
Gastroenterology **92**: A1405
32. GO VLW, HOFMANN AF, SUMMERSKILL WHJ (1970)
Pankreozymin bioessay in man based on pancreatic enzyme secretion potency of specific amino acids and other digestive products.
J Clin Invest **49**: 1558-1564

33. GO VLW, HOFMANN AF, SUMMERSKILL WHJ (1970)
Simultaneous measurements of total pancreatic, biliary and gastric outputs in man using perfusion technique.
Gastroenterology **58**: 321-328
34. GOEBELL H, KLOTZ U, NEHLSSEN B, LAYER P (1993)
Oroileal transit of slow release 5-aminosalicylic acid.
Gut **34**: 669-675
35. HAWKEY CJ (1998)
Progress in prophylaxis against nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated ulcers and erosions. Omeprazole NSAID Steering Committee.
Am J Med 30:**104**(3A): 67S-74S; discussion 79S-80S
36. HOMMA T, MALIK KU (1982)
Effect of prostaglandins on pancreatic circulation in anesthetized dogs.
J Pharmacol Exp Ther **222**(3): 623-8
37. HOBBSLEY M, SELEN W (1969)
Use of an inert marker (Phenol red) to improve accuracy in gastric secretion studies.
Gut **10**: 787-795
38. HOLTMANN G, KÖLBEL CBM, LAYER P, BUSSE U, BOEKSTEGERS A, GOEBELL H (1990)
Effekt of the Prostaglandin E1 Analogue Rioprostil on upper gastrointestinal motility in humans.
Gastroenterology **98**: A360
39. HOLTMANN G, KÖLBEL CBM, EWERS M, GIESE A, LAYER P (1993)
Wirkung des Prostaglandin- E2-Analogons Nocloprost auf die Motilität und Säureclearance des tubulären Ösophagus beim Menschen.
Med Klin **88**: 2-4
40. HUMMEL BC (1955)
A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin.
Canad J Biochem **37**: 1393-97

41. IWATSUKI K, CHIBA S (1982)
Effects of prostacyclin and prostaglandin E₂ on the secretion of pancreatic juice in dog.
Clin Exp Pharmacol Physiol **9**(5): 495-8
42. KATSCHINSKI M, DAHMEN G, REINSHAGEN M, BEGLINGER C, KOOP H, NUSTEDE R, ADLER G (1992)
Cephalic stimulation of gastrointestinal secretory and motor responses in humans.
Gastroenterology **103**: 383-391
43. KELLER J, RÜNZI M, GOEBELL H, LAYER P (1997)
Duodenal and ileal nutrient deliveries regulate human intestinal motor and pancreatic responses to a meal.
Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol) **35**: G632-G637
44. KELLER J, GROGER G, CHERIAN L, GUNTHER B, LAYER P (2001)
Circadian coupling between pancreatic secretion and intestinal motility in humans.
Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol) **280**(2): G273-8
45. KELLOW JE, BORODY TJ, PHILLIPS SF, TUCKER RL, HADDAD AC (1986)
Human interdigestive motility : variations in pattern from oesophagus to colon.
Gastroenterology **91**: 386-395
46. KONTUREK S J (1977)
Intestinal mechanisms regulating gastric secretion.
Prog Gastroenterol **3**: 395-437
47. KONTUREK SJ, KWIECIEN N, SWIERCZEK S, OLEKSY J (1977)
Effekt of methylated PGE₂ analogs given orally on pancreatic response to secretion in man.
Am J Dig Dis **22**(1): 16-9
48. KONTUREK SJ, TASLER J, JAWOREK J, CIESZKOWSKI M, PAWLIK W (1980)
Prostacyclin inhibits pancreatic secretion.
Am J Physiol **238**(6): G531-6

49. KONTUREK JW, HENGST K, KONTUREK SJ, DOMSCHKE W (1997)
Epidermal growth factor in gastric ulcer healing by nocloprost, a stable prostaglandin E2 derivat.
Scand J Gastroenterol **32**(10): 980-4
50. KOTANI M, TANAKA I, OGAWA Y, USUI T, MORI K, ICHIKAWA A, NARUMIYA S, YOSHIMI T, NAKAO K (1995)
Molecular cloning and expression of multiple isoforms of human prostaglandin E receptor EP3 subtype generated by alternative messenger RNA splicing:multiple second messenger systems and tissue-specific distributions.
Mol Pharmacol **48**(5): 869-79
51. LANGENBACH R, MORHAM SG, TIANO HF, LOFTIN CD, GHANAYEM BI, CHULADA PC, MAHLER JF, LEE CA, GOULDING EH, KLUCKMANN KD, KIM HS, SMITHIES O (1995)
Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration.
Cell **83**: 483-492
52. LAYER P, SINGER MV, EYSSELEIN VE (1987)
Einfluss des circadianen Rhythmus auf die Motilität.
Z Gastroenterol **25**: 69-73a
53. LAYER P, SINGER MV (1989)
Regulation der Pankreasfunktion durch den proximalen und distalen Dünndarm.
Z Gastroenterol **27**: 19-21
54. LAYER P, CHAN ATH, GO VLW, DI MAGNO EP (1988)
Human pancreatic secretion during phase II antral motility of the interdigestive cycle.
Am J Physiol **254**: G249-253
55. LAYER P, PESCHEL S, SCHLESINGER T, GOEBELL H (1990)
Human pancreatic secretion and intestinal motility : effekt of ileal nutrient perfusion.
Am J Physiol **258**: G196:G201

56. LAYER P (1992)
Physiologie der Motilität des oberen Gastrointestinaltraktes
In: Goebell H, Layer P (Hrsg) Störungen der Motilität des oberen Gastrointestinaltraktes.
Springer, Berlin Heidelberg, New York (S 1-11)
57. LEGG EF, SPENCER AM (1975)
Studies on the stability of pancreatic enzymes in duodenal fluid to storage temperature and pH.
Clinica Chimica Acta **65**: 175-179
58. MALAGELADA JR, GO VLW, SUMMERSKILL WHJ (1979)
Different gastric, pancreatic and biliary responses to solid-liquid or homogenized meals.
Dig Dis Sci **24**: 101-110
59. MASUDA M, MIYASAKA K, FUNAKOSHI A (1995)
Cholinergic stimulatory effect of intragastric administration of a prostaglandin E2 analogue on pancreatic exocrine secretion in conscious rats.
Pankreas **10**(4): 395-400
60. MEYER JH, KELLY GA (1976)
Canine pancreatic responses to intestinally perfused proteins and protein digests.
Am J Physiol **231**: 682-691
61. MILLER LJ, CLAIN JE, MALAGELADA JR, GO VLW (1979)
Control of human postprandial pancreatic exocrine secretion. A function of the gastroduodenal region.
Dig Dis Sci **24**: 150-154
62. MORIMOTO K, SUGIMOTO Y, KATSUYAMA M, OIDA H, TSUBOI K, KISHI K, KINISHITA Y, NEGISHI M, CHIBA T, NARUMIY S, ICHIKAWA A (1997)
Cellular localization of mRNAs for prostaglandin E receptor subtypes in mouse gastrointestinal tract.
Am J Physiol **272**(3 Pt 1): G681-7
63. NEUMANN U, ZIEGENHORN J (1979)
In: Masson (édit):Comptes rendue du 4e Colloque de Pont-à-Mousson, 1978, Biologie Prospective, Paris

64. NICHOLL CG, CAROLAN G, SEVELIUS H, BLOOM SR (1989)
Effect of enprostil on gastric emptying, intestinal transit time and postprandial release of gastrointestinal peptides.
Digestion **43**: 47-55
65. NISHIMORI I, KAMAKURA M, FUJIKAWA-ADACHI K, NOJIMA M, ONISHI S, HOLLINGSWORTH MA, HARRIS A (1999)
Cholecystokinin A and B receptor mRNA expression in human pancreas.
Pancreas **19**(2): 109-13
66. OGAMI Y, KIMURA T, NAWATA H (1990)
Role of prostaglandin E2 in stimulus-secretion coupling in rat exocrine pancreas.
Pancreas **5**(5): 598-605
67. PAWLOW J, SCHUMOVA-SIMANOWSKAJA E (1889)
Innervation der Magendrüsen beim Hunde.
Centralbl f Physiol, Leipzig und Wien, iii, 113
68. REES WDW, MALAGELADA JR, MILLER LJ, GO VLW (1982)
Human interdigestive and postprandial gastrointestinal motor and gastrointestinal hormone patterns.
Dig Dis Sci **27**(4): 321-329
69. RICK W, STEGBAUER HP (1970)
Alpha Amylase
In: Bergmeyer HU (Hrsg) *Methoden der enzymatischen Analyse*.
Verlag Chemie, Weinheim, 2. Aufl, S. 848
70. ROBERT A, STOWE DF, NEZAMIS JE (1971)
Prevention of duodenal ulcers by administration of prostaglandin E2 (PGE2).
Scand J Gastroenterol **6**(4): 303-5
71. ROBERT A (1976)
Antisecretory, antiulcer, cytoprotective and diarrheogenic properties of prostaglandins.
Adv Prostaglandin Thromboxane Res **2**: 507-20

72. ROSENBERG V, BIEZUNSKI D, GONDA M, DREILING DA, RUDICK J, ROBERT A (1976)
Influence of a synthetic prostaglandin analog on pancreatic secretion.
Surgery **79**(5): 509-14
73. ROSENFELD GC (1986)
Prostaglandin E2 inhibition of secretagogue-stimulated [¹⁴C] aminopyrine accumulation in rat parietal cells: a model for its mechanism of action.
J Pharmacol Exp Ther **237**(2): 513-8
74. ROSENKRANZ RP, FISHER PE, TURKE ML, PERRY MR, WONG AG, WREN DL, COOPER GF, SMITH WL (1989)
Effect of the natural and unnatural isomers and degradation products of enprostil on gastric acid secretion and gastrointestinal motility in the rat.
Arzneim-Forsch/Drug Res **39**: 1568-71
75. RUDICK J, GONDA M, DREILING D A , JANOWITZ HD (1971)
Effects of prostaglandin E1 on pancreatic exocrine function.
Gastroenterology **60**: 271-277
76. RUTGEERTS P, VANTRAPPEN G, HIELE M, GHOOS Y, ONKELINX C (1991)
Effects on bowel motility of misoprostol administered before and after meals.
Aliment Pharmacol Ther **5**(5): 533-42
77. SAAD C, DOOLEY CP, VALENZUELA JE (1987)
Effekt of 15(R),15-methyl prostaglandin E2 and indometacin on pancreatic secretion in man.
Dig Dis Sci **32**: 487-493
78. SAKAMOTO C (1998)
Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology.
J Gastroenterol **33**(5): 618-24
79. SAUTERAU D, CHOVET M, CHARIOT J, TSOCAS A, ROZE C (1989)
Central and peripheral effects of prostaglandin E2 and enprostil on exocrine pancreatic secretion in rats.
Pankreas **4**: 210-218

80. SCHIEBER S (1999)
Mit NO zum „Superaspirin“? In Verbindung mit Stickoxid könnte das erfolgreichste Medikament aller Zeiten seine schädlichen Nebenwirkungen verlieren.
Spektrum der Wissenschaft Juli 1999, S 26, Beitragstyp Monats-spektrum
81. SHOLES GB, ELEY KG, BENNET A (1968)
Effect of prostaglandins on intestinal motility.
Gut **9**(6): 726
82. SCHOLKENS BA, SCHOLTHOLT J, BECKER R, JUNG W, SPETH O (1982)
Influence of prostacyclin on regional blood flow distribution in anesthetized dogs.
Arch Int Pharmacodyn Ther **260**(2): 244-54
83. SHA AA, FITZGERALD DJ, MURREY FE (1999)
Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and gastrointestinal toxicity: current issues.
Ir J Med Sci **168**(4): 242-5
84. SILVERSTEIN FE, GRAHAM DY, SENIOR R, DAVIES W, STRUTHERS R, BITTMANN MR, GEIS GS (1995)
Misoprostol reduces serious gastrointestinal complications in patients with rheumatoid arthritis receiving non steroidal antinflammatory drugs.
Intern Med **123**: 241-249
85. SOERGEL KH (1968)
Inert markers.
Gastroenterology **54**: 449-452
86. SOFFER EE, LAUNSBACH J (1993)
Effect of misoprostol on postprandial intestinal motility and orocecal transit time in humans.
Dig Dis Sci **38**(5): 851-855
87. SPICUZZA L, GIEMBYCZ MA, BARNES PJ, BELVISI MG (1998)
Prostaglandin E2 suppression of acetylcholine release from parasympathetic nerves innervating guinea-pig trachea by interacting with pronstanoid receptors of the EP3-subtype.
Br J Pharmacol **123**(6): 1246-52

88. STAUMONT G, FIORAMONTI J, FREXINOS J, BUENO L (1990)
Oral prostaglandin E analogues induce intestinal migrating motor complexes after a meal in dogs.
Gastroenterology **98**: 888-93
89. TAKEUCHI K, UKAWA H, KATO S, FURUKAWA O, ARAKI H, SUGIMOTO Y, ICHIKAWA A, USHIKUBI F, NARUMIYA S (1999)
Impaired duodenal bicarbonate secretion and mucosal integrity in mice lacking prostaglandin E-receptor subtype EP(3).
Gastroenterology **117**(5): 1128-35
90. TAKEUCHI K, UKAWA H, FURUKAWA O, KAWAUCHI S, ARAKI H, SUGIMOTO Y, ISHIKAWA A, USHIKUBI F, NARUMIYA S (1999)
Prostaglandin E receptor subtypes involved in stimulation of gastroduodenal bicarbonate secretion in rats and mice.
J Physiol Pharmacol **50**(2): 155-167
91. THOR P, KONTUREK JW, KONTUREK SJ, ANDERSON JH (1985)
Role of prostaglandin in control of intestinal motility.
Am J Physiol **248**: G353-G359
92. VANTRAPPEN G, JANSSENS J (1989)
Effect of rioprostil, 600 micrograms, on the interdigestive myoelectrical activity of the humans small intestine.
Scand J Gastroenterol Suppl **164**: 133-8, discussion 138-9
93. VON DER OHE M, LAYER P, KROMAT J, GOELLELL H (1990)
Effect of the intraduodenal prostaglandin (PG) E₂-analogue nocloprost on gastrointestinal motility and pancreatic secretion in humans.
Gastroenterology **98**: A229
94. WALLACE JL, MCKNIGHT W, DEL SOLDATO P, BAYDOUN AR, CIRINO G (1995)
Anti-thrombotic effects of a nitric oxide-releasing, gastric-sparing aspirin derivative.
J Clin Invest **96**(6): 2711-8

95. WALTERS EH, O'BYRNE PM, FABBRI LM, GRAF PD, HOLTZMAN MJ, NADEL JA (1984)
Control of neurotransmission by prostaglandins in canine trachealis smooth muscle.
J Appl Physiol **57**(1): 129-34
96. WHITTLE BJ, MONCADA S, VANE JR (1978)
Comparison of the effects of prostacyclin (PGI₂), prostaglandin E₁ and D₂ on platelet aggregation in different species.
Prostaglandins **16**(3): 373-88
97. WILLIAMS JA, SANKARAN H, KORC M, GOLDFINE ID (1981)
Receptors for cholecystokinin and insulin in isolated pancreatic acini: hormonal control of secretion and metabolism.
Fed Proc **40**(10): 2497-502
98. ZUCKER KA, BILCHIK AJ, MODLIN IM, ADRIAN TE (1989)
Prostaglandin E analogue inhibition of pancreatic enzyme secretion
Pancreas **4**(6): 708-14

Danksagungen

Herrn Prof. Dr. Peter Layer danke ich für die Überlassung des Themas dieser Doktorarbeit und für wertvolle Anregungen, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. H. Goebell, ehemaliger Direktor der Abteilung für Gastroenterologie der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Essen, danke ich für seine Förderung der Studien.

Frau Dr. Jutta Keller danke ich sehr für ihre stetige Unterstützung und hilfreiche Kritik der Arbeit.

Frau Leela Cherian danke ich sehr für die ausgesprochen kompetente und freundliche Unterstützung bei der technischen Durchführung der Sondenversuche und der Betreuung der Probanden.

Meinem Mitdoktoranden, Herrn Tuan Truong, danke ich für seine zuverlässige und hilfsbereite Mitarbeit bei unseren Studien.

Ich danke unseren Probanden, die durch ihre gute Kooperation zum Gelingen der Studien beitrugen.

LEBENS LAUF

Name: Christine Stockhofe, geb. Walther
Geburtsdatum: 27.02.1963
Geburtsort: Münster
Eltern: Renate und Gottfried Walther
Konfession: evangelisch
Familienstand: verheiratet

SCHULISCHE AUSBILDUNG

1970 – 1974 Grundsulbesuch in Neunkirchen
1974 – 1983 Gymnasium Antoniuskolleg in Neunkirchen

ANSCHLIESSENDE AUSBILDUNG

04/84 - 03/87 Ausbildung zur Krankenschwester Krankenhaus Siegburg

STUDIUM

04/87 - 09/87 Biochemie an der Universität Tübingen
10/87 - 09/89 Medizin an der Ruhr-Universität Bochum
10/89 - 04/93 Medizin an der Universität-GH Essen
04/93 - 05/94 Praktisches Jahr am Prosper Hospital in Recklinghausen, Lehrkrankenhaus der Universität Bochum

BERUF

06/94 - 12/95 Ärztin im Praktikum in den Abteilungen der inneren Medizin und Geburtshilfe - Gynäkologie im St.Sixtus Hospital in Haltern
12/95 - 12/99 Assistenzärztin in der Abteilung Geburtshilfe-Gynäkologie im St. Sixtus Hospital in Haltern
05/00 - 04/01 Assistenzärztin in der Praxis für Gynäkologie und Geburtshilfe von Dr. med. Petra Denker in Lembeck
30.06.01 erfolgreiche Facharztprüfung im Fach Gynäkologie und Geburtshilfe
seit 01.02.02 kassenärztliche Niederlassung als Fachärztin in Marl

Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe und dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Haltern, den