

Meinen lieben Eltern gewidmet

Medizinische Fakultät  
der  
Universität - Hamburg

Aus der Abteilung für Innere Medizin  
des Israelitischen Krankenhauses  
(Direktor: Prof. Dr. med. P. Layer)

Pankreassekretion und Freisetzung gastrointestinaler Hormone im Nüchternzustand und  
während endogener und exogener Stimulation sowie Sham Feeding Test bei Typ I-  
Diabetikern

Inaugural - Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades der Medizin durch die Medizinische Fakultät  
der Universität Hamburg

Vorgelegt von  
Marlene Kenter  
aus Mettmann  
2002

Dekan: Prof. Dr. Dr. med. U. Beisiegel  
1. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Greten  
2. Gutachter: Prof. Dr. med. T von Schrenck

Tag der mündlichen Prüfung: 29.10.2002

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einführung und Problemstellung</b>	<b>1</b>
1.1 Einführung	1
1.2. Die pankreatische insulo-acinäre Achse	2
1.3. Insulin und exokrine Pankreasfunktion	3
1.4. Exokrine Pankreasfunktion bei insulinabhängigem Diabetes mellitus	4
1.5. Die neuro-hormonale Steuerung des Verdauungssystems	5
1.6. Der vagale Einfluß auf das Verdauungssystem	12
1.7. Zielsetzung der Arbeit	15
<b>2. Methodik</b>	<b>16</b>
2.1. Patienten und Probanden	16
2.2. Perfusion mit inerten Markern	18
2.3. Experimentelles Protokoll	19
2.4. Analysen	24
2.5. Statistische Methoden	28
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>29</b>
3.1. Interdigestive Pankreasenzymsekretion	29
3.2. Endogen stimulierte Pankreasenzymsekretion	29
3.3. Exogen stimulierte Pankreasenzymsekretion	29
3.4. Zusammenfassende Darstellung	30
3.5. Pankreasenzymsekretion in Abhängigkeit von der Diabetesdauer	34
3.6. Pankreasenzymsekretion in Abhängigkeit von der Diabeteseinstellung	37
3.7. Neurohormonale Antwort auf Sham Feeding Test	38
<b>4. Diskussion</b>	<b>47</b>
4.1. Veränderungen der exokrinen Pankreasfunktion bei Diabetes mellitus	47
4.2. Einfluß der Diabetesdauer auf die exokrine Pankreasfunktion	52
4.3. Einfluß der Diabeteseinstellung auf die exokrine Pankreasfunktion	53
4.4. Mögliche intermediäre Mechanismen	54

<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>64</b>
Dank	76
Lebenslauf	78

# **1. Einführung und Problemstellung**

## **1.1 Einführung**

Beim Diabetes mellitus sind gastrointestinale Störungen wie oesophageale Dysmotilität, Gastroparese, Diarrhoe und Obstipation mit einer Prävalenz von bis zu 76% für eines der Symptome (Locke, G.R. (1995)) beschrieben worden und werden oft als Folgen einer autonomen Neuropathie angesehen. Allerdings treten gastrointestinale Symptome nicht immer in Kombination mit abnormer Motilität auf und die Häufigkeit der Symptome ist höher als die Häufigkeit der autonomen Neuropathie; dies spricht gegen die Annahme, daß die autonome Polyneuropathie einzige Ursache gastrointestinaler Beschwerden bei Diabetikern ist.

Bei der Ätiologie des juvenilen Diabetes geht man heute zumeist davon aus, daß es sich um einen autoimmunen oder infektiös (viral) bedingten Entzündungsprozeß handelt.

Durch diesen Prozeß werden die Inselzellen zerstört, und es kommt zur klinischen Manifestation des Diabetes, allerdings erst nach Zerstörung von über 90% der  $\beta$ -Zellen, da das Pankreas eine sehr hohe Reservekapazität hat. Ob bei diesem Prozeß auch das exokrine Pankreas geschädigt wird, ist bislang noch unklar. Es gibt allerdings Hinweise auf eine solche Schädigung jedoch auch hier führt erst eine Zerstörung von über 90 % der Drüse zu einer klinisch manifesten Maldigestion (DiMagno, E. P. et al. (1973)).

Ziel dieser Studie war es, den Einfluß des juvenilen Diabetes mellitus auf die exokrine Pankreasfunktion und auf die gastrointestinale Hormonausschüttung bei vagaler Stimulation zu untersuchen.

## **1.2. Die pankreatische insulo-acinäre Achse**

Man fand in den letzten drei Jahrzehnten Hinweise darauf, daß es wichtige funktionelle Interaktionen zwischen exokrinem und endokrinem Pankreas gibt (Bank, S. (1972)).

Henderson J.R. (1969) stellte die Hypothese auf, daß durch Verteilung der Inselzellen innerhalb des exokrinen Pankreasgewebes die Kontaktfläche zwischen exo- und endokrinem Gewebe deutlich erhöht wird, und dieses einen evolutionären und funktionellen Selektionsvorteil darstellt.

Tatsächlich haben die Acinuszellen, die unmittelbar neben den Inselzellen liegen, eine charakteristische Morphologie. Jarotzky beobachtete schon 1899 an Pankreata von Ratten, daß die direkt den Inselzellen benachbarten exokrinen Zellen eine große Zahl von Zymogengranula enthalten. Hellmann und Wallgren beschrieben 1962, daß diese so genannten Halos in übergewichtigen, hyperinsulinämischen Mäusen größer sind und nach Zerstörung der  $\beta$ -Zellen durch Alloxan fast völlig verschwinden. Diese Beobachtung führte zu der Annahme, daß die Proteinsyntheserate in den peri-insulären Zellen von der Insulinkonzentration abhängig ist.

Für das Vorkommen erhöhter Konzentrationen von Insulin im peri-insulären Blut spricht der Aufbau des Blutgefäßsystems des Pankreas. Sowohl Fujita et al. (1973) als auch Henderson und Frazer (1981) waren in der Lage bei verschiedenen Spezies zu zeigen, daß das Pankreas ein acinäres portales System besitzt, bei welchem das zuführende Blut durch die Vasa afferentia zunächst die Langerhans'schen Inseln erreicht. Die Gefäße teilen sich in der Inselperipherie in Kapillaren auf, welche dann ein Gefäßknäuel innerhalb der Inseln bilden. Aus diesen Kapillarnetzen fließt das Blut durch die Vasa efferentia in das Kapillarnetz des exokrinen Pankreas. Durch den direkten Abfluß des Blutes von den Inselzellen zu den Acini, gelangen die in den Inselzellen gebildeten Hormone über das Blut direkt an das exokrine Gewebe. Dadurch ist ihre Konzentration im Blut des exokrinen Gewebes, vor allem peri-insulär, um ein vielfaches höher als im Körperkreislauf. Diese Beobachtungen führen zu der Annahme, daß die Hormone im venösen Blut aus den Inselzellen eine essentielle Rolle bei der Regulation des exokrinen Pankreas spielen und legen nahe, daß es bei Patienten mit Diabetes mellitus zu einer geänderten Regulation der exokrinen Pankreassekretion kommen kann.

### **1.3. Insulin und exokrine Pankreasfunktion**

In Tierexperimenten ist der Effekt von Insulin auf die Syntheseleistung der pankreatischen Acinuszellen gut untersucht worden. In Ratten mit Alloxan- oder Streptozotocin- induziertem Diabetes fand man den Gehalt an Amylase, aber nicht an Trypsin oder Chymotrypsin signifikant reduziert (Snook, J.T. (1968); Duan, et al. (1989)). Palla et al. beschrieben 1968 als erste, daß die Sekretion von Amylase in Mäusepankrea mit Alloxan-Diabetes eine Woche nach Diabetesinduktion nur noch ein Zehntel der normalen Sekretion betrug. Dieser Effekt ließ sich durch tägliche Injektion von Insulin wieder rückgängig machen. Durch Variation der Diät der Mäuse fanden sie heraus, daß Insulin die Aufnahmefähigkeit der exokrinen Zellen für Glukose steuert und die Glukosekonzentration in den Zellen die entscheidende Regelgröße für die Amylasesekretion ist. Außerdem wiesen sie eine Zunahme der Chymotrypsinkonzentration durch Insulin nach und führten dies auf eine erhöhte Aufnahme von Proteinen zurück. Soeling und Unger fand (1972), daß in den exokrinen Zellen sowohl die Aufnahme von  $^3\text{H}$  Leucin und dessen Einbau in die Amylase, als auch die Synthese von Amylase messenger RNA durch Insulin gesteigert werden kann. Dies läßt vermuten, daß die Regulation der Amylaseaktivität durch Insulin auf der Stufe der Transkription stattfindet. Dabei reichen minimale Konzentrationen von Insulin aus, um die Proteinbiosynthese der Acinuszellen zu 50% aufrecht zu erhalten (Adler und Kern (1975)).

Die Hypothese, daß Insulin die acinäre Zellfunktion mitreguliert, wird auch durch die Tatsache gestützt, daß man sowohl in vitro als auch in vivo Insulinrezeptoren an den Acinuszellen nachweisen konnte (Sankaran et al. (1981); Bergeron, et al. (1980)). Diese Rezeptoren regulieren den Membrantransport von Glucose, die Proteinbiosynthese von Amylase und die Empfindlichkeit der Membran für CCK (Korc et al. (1981); Otsuki et al. (1982); Williams et al. (1985)). Korc et al. folgerten aus diesen Ergebnissen 1981, daß die Verminderung der Amylasesekretion im Darm von Insulin-defizienten Organismen zu einer verminderten Kohlenhydratabsorption und Glukoseutilisation aus Stärke führt. Sie sahen dies als einen weiteren Mechanismus des Organismus, die Glukosehomoeostase zu regulieren.



Insulinmangel bei Ratten geht desweiteren mit einem Verlust an Sensitivität der Pankreasacini für Cholecystokinin einher. Es konnte nachgewiesen werden (Otsuki, et al. (1984)), daß diabetische Ratten an den CCK- Rezeptoren etwa doppelt so viel CCK binden wie normal, der sekretorische Effekt jedoch geringer ist. Es wird angenommen, daß die verminderte Sensitivität der Acini auf einen Verlust der Fähigkeit des CCK-Rezeptors, eine intrazelluläre Antwort hervorzurufen, zurückzuführen ist. Auch dieser Effekt ließ sich durch Gabe von Insulin vollständig zurückführen. Mössner et al. konnten 1984 zeigen, daß die Zahl der acinären Insulinrezeptoren bei gesunden Mäusen im Vergleich zu diabetischen Mäusen herunterreguliert ist.

Zusammenfassend lassen sich viele Hinweise dafür finden, daß Insulin direkt an der Regulation des exokrinen Pankreas und speziell an der Sekretion von Amylase beteiligt ist. Allerdings bleibt zu beachten, daß fast alle experimentellen Daten an Tiermodellen in vivo oder vitro erhoben wurden. Die Rolle des Insulins für die Regulation der menschlichen exokrinen Pankreassekretion wurde bisher noch nicht im Detail erforscht.

#### **1.4. Exokrine Pankreasfunktion bei insulinabhängigem Diabetes mellitus**

In Untersuchungen am Tier und auch am Menschen fanden verschiedene Arbeitsgruppen, daß die exokrine Pankreasfunktion bei Typ I-Diabetes verändert ist.

Chey et al. beschrieben 1963 eine Verminderung der Amylasefreisetzung nach Stimulation der Pankreassekretion durch einen Sekretin-Pankreozymin(Caerulein)-Test (= SC-Test) bei Patienten mit Typ I-Diabetes. Auch andere Pankreasenzyme wie Lipase, Chymotrypsin und Trypsin, sowie Bikarbonat wurden bei Patienten mit Typ I-Diabetes während eines SC-Tests als vermindert beschrieben (Domschke et al. (1975); Frier et al. (1976); Vacca et al. (1964); Lankisch et al. (1982); Skrah et al. (1981)).

Über einen möglichen Zusammenhang zwischen der exokrinen Pankreasfunktion und dem Alter des Patienten bei Diagnosestellung, bzw. Dauer oder Schwere des Diabetes gibt es widersprüchliche Studien.

Einige Gruppen (Chey et al. (1963), Domschke et al. (1975), Vacca et al. (1964); Lankisch et al. (1982)) fanden keinen Zusammenhang zwischen der Dauer des Diabetes und dem Insulinverbrauch einerseits und Störungen der exokrinen Pankreasfunktion andererseits. Andere stellten eine Verschlechterung der exokrinen Pankreasfunktion bei langer Dauer und früher Diagnosestellung des Diabetes mellitus fest (Skrah et al. (1981), Frier et al. (1976)). Auch im Hinblick auf den Einfluß der Diabeteseinstellung auf die exokrine Funktion gibt es widersprüchliche Daten. Domschke et al. (1975) stellten fest, daß die Gabe der individuellen Insulindosis der Patienten vor Versuchsbeginn keinen Einfluß auf die exokrine Pankreasfunktion hatte. Frier et al. (1978) zeigten eine signifikante Korrelation zwischen der Höhe des C-Peptids und der exokrinen Pankreasfunktion bei juvenilem Diabetes. Die Arbeitsgruppe stellte fest, daß bei partiell erhaltener endogener Insulinproduktion, d.h. bei hohem C-Peptid, eine nahezu normale exokrine Pankreasfunktion nachweisbar war; ein Verlust der endogenen Insulinproduktion mit niedrigem C-Peptid-Wert allerdings mit einer gestörten exokrinen Pankreasfunktion einherging. Da hierbei nicht nur die Amylase, sondern auch andere Enzyme vermindert waren, handelt es sich nicht um eine selektive Störung der Amylasesynthese (Palla et al. (1968)), sondern um eine komplexe Störung der gesamten exokrinen Pankreasfunktion. Für die Regulation der exokrinen Pankreassekretion spielen nicht nur Hormone des endokrinen Pankreas eine Rolle. Von zum Teil größerer Bedeutung sind neuro-hormonale intestinale Mediatoren

### **1.5. Die neuro-hormonale Steuerung des Verdauungssystems**

Regulierende Peptide mit parakriner oder endokriner Wirkung sind von zentraler Wichtigkeit bei der Koordinierung und Kontrolle der gastrointestinalen Funktion (Layher et al. (1990)/(1993), Keller et al. (1997)). Die Steuerung der gastrointestinalen Funktionen erfolgt durch komplexe Interaktionen neuro-hormonaler Mediatoren.

Die Pankreasenzymsekretionsantwort auf eine Mahlzeit wird beim Menschen vor allem durch Cholecystokin (CCK) und das cholinerge System vermittelt. Die CCK-Wirkung erfolgt dabei durch Interaktion mit dem cholinergen Nervensystem (Adler et al. (1991)).

**Tabelle1.****Hauptwirkungsort und Hauptwirkung einiger gastrointestinaler Peptidhormone.**

<b>Peptide</b>	<b>Haupt-Bildungsort</b>	<b>Hauptwirkung</b>
GLP-1 (Glucagon-like peptide-1)	L-Zellen / Dünndarm	Stimulation der Insulinsekretion Hemmung der Magenentleerung
Somatostatin	D-Zellen /Magen und Pankreas	Parakrine Hemmung von Gastrin, H <sup>+</sup> und Pankreassekretion
PP (Pankreatisches Polypeptid)	Pankreas / PP-Zellen	Hemmung der Pankreassekretion
Motilin	EC-Zellen/ Dünndarm	Indirekte Stimulation der Darmmotilität
PYY (Peptid YY)	L-Zellen Ileum bis Rektum	Indirekte hormonelle Hemmung des Pankreas

**1.5.1. Einfluß von Somatostatin auf die exokrine Pankreasfunktion**

Nach Aufnahme einer Mahlzeit kommt es zu einer Zunahme der Plasmakonzentration von Somatostatin im peripheren Blut (Tsuda et al. (1981)). Dieser Anstieg ist auf eine vermehrte Freisetzung von Somatostatin aus Magen, Duodenum, Dünndarm und Pankreas sowohl während der gastralen als auch der intestinalen Phase der Mahlzeit zurückzuführen (V.d.Ohe et al. (1992)). Schusdziarra et al. konnten 1979 nachweisen, daß Säure im Magen oder im Duodenum ein starker Stimulus für die antrale und pankreatische Somatostatinfreisetzung ist. Mehrere Arbeitsgruppen haben Hinweise darauf gefunden, daß die Somatostatin produzierenden D-Zellen des Pankreas eine parakrine Kontrolle auf die Inselzellsekretion ausüben (Reichling, S.(1984), Lucey, M.R.(1986), Garry, et al.(1988), Gerich, J.E. (1982)). Samols et al. zeigten 1995, daß die Somatostatinproduktion des Pankreas lokal von Glucagon und Insulin reguliert wird, und sie nahmen an, daß Somatostatin die exokrine Pankreasfunktion moduliert. Holst et al. beschäftigten sich 1982 mit dem Einfluß des autonomen Nervensystems auf die D-Zell-Sekretion in isolierten Pankreata von Schweinen. Sowohl vagale Stimulation als auch die Gabe von Acetylcholin hemmte die Somatostatinfreisetzung deutlich, gleichzeitig kam es zu einem Anstieg der Sekretion von Pankreatischem Polypeptid, Glucagon und Insulin. Dieser Effekt konnte durch Gabe von Atropin rückgängig gemacht werden, und es kam sogar zu einem leichten Anstieg der Somatostatinsekretion. Außerdem

finden Holst et al. heraus, daß auch das sympathische Nervensystem Einfluß auf die Somatostatinsekretion hat. Die Aktivierung von alpha-1 Rezeptoren führte zu einem Abfall, die Aktivierung der beta-adrenergen Rezeptoren zu einem Anstieg der Somatostatinsekretion. Somatostatin hemmt in hohen Konzentrationen alle gastrointestinalen und pankreatischen exo- und endokrinen Funktionen (Arimura et al. (1981), McIntosh et al. (1978), Schusdziarra et al. (1980)). Andere Arbeitsgruppen verwendeten physiologische Dosen von Somatostatin und stellten fest, daß durch die Gabe dieser geringeren Konzentrationen die gastrointestinalen und pankreatischen Funktionen nicht komplett gehemmt, sondern eher verzögert wurden (Johansson et al. (1981), Zyznar et al. (1981), Rampliere et al. (1982)). Aus diesen Ergebnissen folgerte Schusdziarra 1983, daß ein Anstieg von Somatostatin bei Nahrungsaufnahme eine überschießende Antwort des Gastrointestinaltraktes verhindert, aber keinesfalls alle exo- und endokrinen Pankreasfunktionen unterdrückt.

### **1.5.2. Einfluß des Pankreatischen Polypeptides auf das Pankreas**

Im Pankreas finden sich Pankreatisches Polypeptid (= PP) produzierende Zellen nicht nur in den Langerhans'schen Inseln, sondern auch im exokrinen Parenchym und im Endothel der Ausführungsgänge. Dabei variiert die Verteilung von Spezies zu Spezies. Die physiologische Rolle von PP ist noch nicht völlig geklärt, aber eine Beteiligung an der Regulation der exokrinen Pankreasfunktion ist wahrscheinlich.

Bei Nahrungsaufnahme regen cephalere Stimulation, Darmwanddehnung und Nährstoffe im Darmlumen die Freisetzung von PP an. Dabei führen die ersten beiden Stimuli über eine Vagusreizung zur PP-Freisetzung (Schwartz et al. (1976)/(1978), Glaser et al. (1979), Taylor et al. (1978)). Die PP-Freisetzung in Antwort auf vagale Stimulation kann somit als Mittel zur Überprüfung bzw. Ausschluß einer autonomen Neuropathie genutzt werden. Die Vermittlung der Stimulation durch Nährstoffe ist bislang noch nicht völlig geklärt. Layer et al. beschrieben 1989, daß bei Typ II-Diabetikern, der erwartete Anstieg von PP als Antwort auf einen kalorienfreien Volumenreiz nicht mehr vorhanden war. Sie führten dies auf eine Störung des vagalen Reflexbogens zurück und sahen dies als frühes Symptom der autonomen Polyneuropathie an. Krarup et al. studierten 1983 die PP-Freisetzung unter Hypoglykämiebedingungen bei insulinabhängigen Diabetikern mit und ohne residuale Insulinproduktion. Dabei fanden sie heraus, daß die PP-Antwort bei Patienten ohne eigene Insulinproduktion signifikant vermindert war. Dies könnte nach Meinung der Autoren auf eine

subklinische autonome Neuropathie zurückzuführen sein. Studien von Rasmussen et al. 1993 ergaben, daß der PP-Anstieg als Antwort auf eine Mahlzeit bei Patienten mit Typ I-Diabetes, unabhängig von kurzfristigen metabolischen Änderungen, vermindert ist.

### **1.5.3. Einfluß von Motilin auf den Gastrointestinaltrakt**

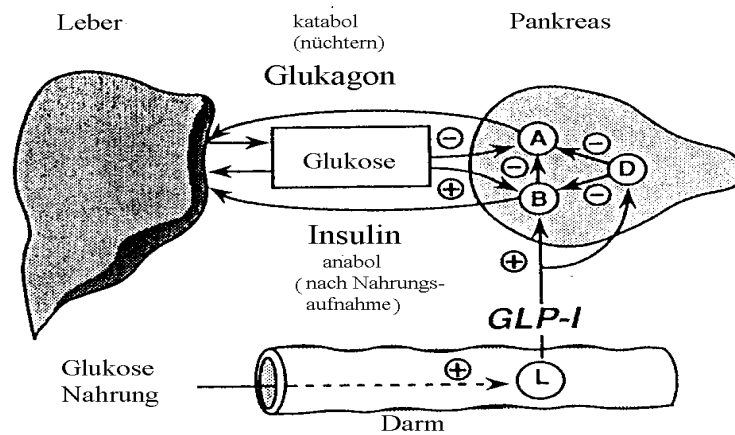
Motilin wird durch enterochromaffine Zellen im Duodenum und oberen Jejunum, zum Teil auch im oberen Ileum produziert (Pears et al. (1974)). Motilin wurde zuerst durch Itoh et al. 1976 als ein Hormon identifiziert, welches in Hunden die interdigestive gastrointestinale Kontraktionsaktivität reguliert und an der Auslösung von 'Migrierenden Motor Komplexen' im oberen Gastrointestinaltrakt beteiligt ist. Imura et al. beschrieben 1980 eine zyklische Freisetzung des Motilins im Nüchternzustand. Nach einer Mahlzeit beobachteten sie zunächst einen Anstieg des Motilins, welcher gefolgt wurde durch einen langsamen stetigen Abfall unter die Nüchternwerte. Außerdem stimuliert Motilin bei Hunden die Freisetzung von PP (Mochiki et al. (1997)). Dieser Effekt konnte komplett durch Gabe von Anticholinergika und Serotoninrezeptoren - Blockern, sowie durch Vagotomie, verhindert werden. Motilin scheint demnach die Freisetzung von PP über vagale, cholinerge Bahnen sowie über Serotoninrezeptoren zu beeinflussen.

Imura et al. (1980) konnte bei Patienten mit Typ I-Diabetes nüchtern eine signifikante Erhöhung der Motilinkonzentration beobachten. Nilsson et al. fanden 1995 eine enge Korrelation zwischen erhöhtem Plasma-Motilinspiegel und vagaler Dysfunktion. Patienten mit autonomer Neuropathie zeigten eine signifikante Erhöhung der Motilinwerte im Gegensatz zu Patienten ohne Neuropathie. Sie stellten daraufhin die Hypothese auf, daß eine normale Nervus-Vagus-Funktion die Freisetzung von Motilin hemmt, und daß dieser Mechanismus durch die autonome Neuropathie geschädigt wird. Hohe Plasma-Motilinspiegel bei Patienten ohne klinische Zeichen der Neuropathie werteten sie als Zeichen einer subklinischen autonomen Polyneuropathie. Auch die Arbeitsgruppe von Takahiko Kawagishi et al. beschrieb 1993 einen Zusammenhang zwischen erhöhten Motilinwerten und autonomer Polyneuropathie. Sie fanden heraus, daß bei Diabetikern, bei denen die Entleerung von festen Nahrungsmitteln aus dem Magen verlangsamt ist (diabetische Gastroparese) eine hohe Konzentration an Motilin nachweisbar ist. Die Magenentleerung ließ sich aber mit einem Prokinetikum verbessern. Daraus folgerten sie, daß die diabetische Gastroparese nicht durch die erhöhten Plasma-Motilinspiegel selbst verursacht wird, sondern vielmehr die Erhöhung

der Motilinwerte ein sekundäres Phänomen darstellt. Da zur optimalen Stimulation der Pankreasenzymsekretion ein ungestörter gastrointestinaler Transit erforderlich ist, haben veränderte Plasmamotilinspiegel möglicherweise indirekt Einfluß auf die Pankreasenzymsekretion. Hinweise auf eine direkte Beeinflussung des exokrinen Pankreas durch Motilin liegen bisher nicht vor.

#### **1.5.4. Einfluß des GLP-1 auf die gastrointestinale Funktion und das Pankreas**

GLP-1 (= Glucagon-like peptide-1) wird von den L-Zellen im unteren Jejunum und Ileum nach Aufnahme von kohlenhydrat- oder fettreichen Mahlzeiten sezerniert (Layer et Holst (1993), Layer et al (1993)). GLP-1 ist die potenteste insulinotrope Substanz, welche zur Zeit bekannt ist (Kreyman et al. (1987), Orskov et al. (1996)). Man vermutet, daß GLP-1 zusammen mit GIP (= Gastrointestinales Inhibitorisches Peptid) für den 'Inkretin'-Effekt verantwortlich ist. 'Inkretin' ist ein Synonym für einen hormonalen Faktor aus dem Darmtrakt, welcher die Insulinfreisetzung steigert. Die Beobachtung, daß nach oraler Glukosezufuhr mehr Insulin freigesetzt wird als nach einer iv. Glukoseinfusion bei gleichen Blutzuckerspiegeln führte zu der Annahme eines Vermittlers der Insulinsekretion im Magendarmtrakt. Dieser Effekt des GLP-1 wurde bei Ratten von Wang et al. (1995) durch Versuche mit einem GLP-1 Rezeptorblocker bestätigt. Postprandial fanden sie eine deutlich verminderte Insulinausschüttung nach Gabe des Blockers. Fehmann et al. (1994) fanden an isolierten menschlichen Pankreata, daß GLP-1 die Insulinsekretion stimuliert, dieser Effekt allerdings glukoseabhängig ist. Außerdem untersuchten sie noch den Einfluß von GLP-1 auf die Sekretion von PP, Somatostatin und Glukagon. Hierbei wurden die Somatostatin- und PP-Sekretion unabhängig von der Glukosekonzentration gesteigert.



**Abb.1** Modell der GLP-1 Wirkung. (aus Habener, J.F. 1993)

Nährstoffe im Darmlumen (z. B. Glukose, Nahrung) stimulieren die Freisetzung von GLP-1, dieses erhöht die glukoseabhängige Sekretion von Somatostatin und Insulin und inhibiert die Freisetzung von Glukagon. Die Hemmung der Glukagonfreisetzung erfolgt zum einen durch GLP-1 Rezeptoren an den Glukagonproduzierenden A-Zellen, zum anderen indirekt durch die parakrine Inhibition des Insulins. Insulin erhöht als anaboles Hormon die Aufnahme von Glukose durch Leber, Muskel- und Fettgewebe während der Nahrungsaufnahme. Glukagon fördert als kataboles Hormon die Glukoseproduktion und Freisetzung in diesen Geweben.

D'Alessio et al. fanden (1995) mit Hilfe eines intravenösen Glukosetoleranztests heraus, daß GLP-1 in vivo nicht nur die Insulinausschüttung erhöht, sondern auch den Glukoseabfall unabhängig vom Insulin beeinflusst. Dieser direkte Effekt könnte durch einen vermehrten Einbau der Glukose in Glykogen durch Muskelzellen und Leber oder eine verminderte Glukosefreisetzung aus der Leber hervorgerufen werden. Auch die Beobachtung, daß die Gabe von GLP-1 bei Typ I-Diabetikern, welche eine gestörte Insulinproduktion haben, eine signifikante Senkung des Blutglukosespiegels hervorruft, deutet darauf hin, daß GLP-1 die Glukosekonzentration auch unabhängig von Insulin senkt (Wettergren et al. (1994); Dupre et al. (1995)).

Der Einfluß des Nervus Vagus auf die GLP-1 Freisetzung ist bislang noch unklar. Es lassen sich gesteigerte Afferenzen und Efferenzen des Nervus Vagus bei intraportaler Injektion von GLP-1 feststellen (Nakabayashi et al. (1996)). Die Sekretion von GLP-1 wird nicht durch einen Sham Feeding Test (Cephale Stimulation des gastrointestinalen Systems durch Kauen und Schmecken ohne Aufnahme von Nährstoffen in den Verdauungstrakt) beeinflusst (Orskov et al. (1996)). Allerdings unterdrückt die Infusion von GLP-1 während eines Sham Feeding Tests die Magensäuresekretion, ohne daß es zu einer Veränderung der Somatostatin- und Gastrinkonzentration kommt (Layer et al. (1995)). GLP-1 hat in physiologischen Dosen auch

einen hemmenden Effekt auf die Pankreasenzymsekretion (Franke et al. (1996)) und hemmt die intestinale Motilität. Dies deutet daraufhin, daß GLP-1 Teil eines komplexen Steuerungssystems aus neuronalen und humoralen Faktoren ist, welches Einfluß auf die Magensäuresekretion hat.

#### **1.5.5. Die Rolle des PYY bei der Verdauungsregulation**

PYY (= Peptid YY) ist ein Hormon des Darms, welches von den L-Zellen vornehmlich nach fettreichen Mahlzeiten im Ileum und Colon freigesetzt wird. Es besteht aus 36 Aminosäuren und weist eine große Homologie mit PP und dem Neuropeptid Y auf. Das Peptid wurde auch in den Pankreata mehrerer Säugetiere, einschließlich der Maus, gefunden. Dort wurde es z.T. in den gleichen Zellen, die auch PP und Glukagon produzieren, gefunden (Nakabayashi et al (1996)).

Böttcher et al. beschrieben 1994, daß in Alloxan-diabetischen Mäusepankreaata die Immunoreaktivität von PYY ansteigt. Außerdem zeigten sie, daß PYY die Sekretion von Insulin nach Glukosegabe bei Mäusen signifikant reduziert und zu einer Vasokonstriktion im isoliert perfundierten Pankreas führt. Ahrén und Larsson konnten diesen Effekt 1996 allerdings beim Menschen nicht nachweisen. PYY wird als Antwort auf die Aufnahme einer fett- und kohlenhydratreichen Mahlzeit ausgeschüttet und hemmt die gastrale und pankreatische Sekretion (Holst et al. (1983), Arimura et al. (1981), McIntosh et al. (1978), Grandt et al. (1996) ) und die Magenentleerung (Grandt et al. (1995)). Die Wirkung des PYY auf den Magen kann durch Gabe von säureblockierenden Medikamenten komplett aufgehoben werden und durch eine angesäuerte Mahlzeit teilweise wiederhergestellt werden (McIntosh et al. (1978)). Diese Tatsache deutet auf eine physiologische Rolle der Magensäure in der postprandialen Freisetzung des PYY hin.

Die Wirkung von PYY auf die Pankreassekretion ist bisher noch umstritten. Es gibt Hinweise, daß supraphysiologische und physiologische PYY-Spiegel die Pankreasenzymsekretion hemmen (Grandt et al. (1995)). PYY wird hauptsächlich eine Funktion als Enterogastron zugeschrieben, welches vor allem nach fetthaltigen Mahlzeiten im Dünndarm gebildet wird und als Inhibitor der gastralen Säureproduktion und Motilität wirkt.



## **1.6. Der vagale Einfluß auf das Verdauungssystem**

Beim Menschen und verschiedenen Tieren sind Nahrungsbestandteile starke Stimulantien der Pankreasenzymsekretion. Sowohl neuronale als auch hormonale Wirkungsmechanismen sind an dieser pankreatischen Antwort auf intestinale Stimulation beteiligt. Bei niedrigen Mengen von Aminosäuren, Fettsäuren und Salzsäure sind enteropankreatische, cholinerge und vago-vagale Reflexe die wichtigsten Vermittler der Enzymantwort. Hormone, wie Cholecystokinin, spielen vor allem eine Rolle bei der Antwort auf große Mengen von Nährstoffen oder Säure (Singer et al. (1991), Adler et al. (1991), Layer et al. (1993)/(1992)). Magensäure ist der Hauptregulator der postprandialen pankreatischen Bikarbonatsekretion und des Sekretins, welches durch Säure freigesetzt wird. Sekretin ist wahrscheinlich das wichtigste physiologische Hormon für die Regulation der Bikarbonatsekretion. Sein Effekt wird durch die Wirkung von extrinsischen (Nervus Vagus) und intrinsischen (intrapankreatischen) cholinergen Nerven und die Freisetzung anderer Hormone, wie Cholecystokinin unterstützt. Unter physiologischen Bedingungen wird die pankreatische Antwort auf eine Mahlzeit wahrscheinlich durch ein Zusammenspiel von neuronalen und hormonalen Mechanismen gesteuert. Diese Interaktion ist zur Zeit allerdings erst teilweise bekannt.

Die interdigestive Pankreassekretion zeigt periodische Aktivitätsschwankungen in enger Korrelation mit der interdigestiven Motilität. Ob das adrenerge Nervensystem an der Regulation der Enzymsekretion während des Nüchternzustandes beteiligt ist, ist noch unklar. Layer et al. fanden 1992, daß die Trypsinsekretion beim Menschen durch Gabe von Alpha-Rezeptorantagonisten nicht aber durch Gabe von Beta-Antagonisten gesteigert werden konnte. Die alpha-adrenergen Rezeptoren könnten direkt an den Acinuszellen wirken oder auch indirekt über enterale oder zentrale Nerven, Freisetzung regulatorischer Peptide oder durch Veränderungen des Blutflusses.

Eine Einteilung des digestiven Verdauungszustandes in eine cephale, gastrale und intestinale Phase ist möglich. Adler et al. beschrieben 1991, daß die pankreatische Antwort auf eine Mahlzeit durch Gabe von Atropin (cholinerg Antagonist) komplett aufgehoben, dagegen durch Gabe eines CCK-Antagonisten (Loxiglumide) nur zu 60% aufgehoben wurde. Diese Beobachtungen unterstützen die Annahme, daß die Pankreassekretion vor allem unter cholinerg Kontrolle steht und CCK eine überwiegend modulierende Funktion hat. Darüber

hinaus wirkt CCK zumindest beim Menschen wohl nicht direkt am Pankreas, sondern über Aktivierung von CCK-Rezeptoren auf cholinergen Nervenfasern.

### **1.6.1. Autonome Neuropathie bei Typ I-Diabetes**

Die autonome Polyneuropathie ist eine verbreitete Spätkomplikation des Diabetes. Die kardiovaskulären Konsequenzen sind gut dokumentiert und sind auf die gestörten parasympathischen und sympathischen Reflexe zurückzuführen. Gastrointestinale Komplikationen wie die diabetische Gastroparese treten bei langjährigem Diabetes mellitus gehäuft auf und stehen im Zusammenhang mit einer autonomen Neuropathie (Mearin et Malagelada (1995), Buysschaert et al. (1985), Hossdorf et al. (1988), Camilleri (1996)). Buysschaert et al. (1985) beschrieben darüber hinaus eine verminderte Bikarbonat- und PP-Antwort auf einen Sham Feeding Test (vagale Stimulation) bei Diabetikern mit kardialer autonomer Neuropathie.

**Tabelle 2.**Mediatoren und ihre Wirkung in den verschiedenen digestiven Phasen

<b>Digestive Phase</b>	<b>Ausgangsort der Stimulation</b>	<b>Initiatoren</b>	<b>Informationsvermittler</b>	<b>Sekretionsprodukte</b>
cephale Phase	Gehirn (afferente Impulse)	Vorstellung, Anblick, Geruch und Kauen von Speisen	1.Nn. vagi 2.Gastrinfreisetzung aus dem Antrum durch Vagus	Bikarbonat ↑↑ (mäßige Stimulation) Enzyme ↑↑ (starke Stimulation)
gastrale Phase	Magen	1.Dehnung  2. proteinhaltige Nahrung, Peptide, Aminosäuren	1.vago-vagale gastropankreatische Reflexe  2. Gastrinfreisetzung	Bikarbonat (↑) (wenig Stim.) Enzyme ↑↑ (starke Stim.) Bikarbonat (↑) (wenig Stim.) Enzyme ↑↑ (starke Stim.)
intestinale Phase	Duodenum und proximaler Dünndarm	HCL  Peptide, Aminosäuren  Fettsäuren	Sekretin, Vago-vagale, enteropankreatische Reflexe, CCK-Freisetzung  vago-vagale Reflexe, CCK-Freisetzung  vago-vagale Reflexe, CCK-Freisetzung	Bikarbonat ↑↑↑ (sehr starke Stim.) Enzyme ↑ (mäßige Stim.) Bikarbonat ↑ (mäßige Stim.) Enzyme ↑↑ (starke Stim.) Bikarbonat ↑(↑) (mittlere Stim.) Enzyme ↑↑ (starke Stim.)

entnommen (Singer et al. 1987)

## **1.7. Zielsetzung der Arbeit**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Pankreasenzymsekretion bei abgestufter endogener und exogener Stimulation sowie die Freisetzung neurohormonaler Mediatoren unter diesen Bedingungen und zusätzlich bei cephaler Stimulation bei Typ1-Diabetikern detailliert zu untersuchen. Im einzelnen sollten folgende Fragen geklärt werden:

1. ob die Pankreasenzymsekretion bei Typ I-Diabetikern in Abhängigkeit vom Stimulationszustand der Bauchspeicheldrüse verändert ist. Aus diesem Grunde erfolgte die Bestimmung der Lipase- und Amylase zunächst im Nüchternzustand, dann unter leichter und stärkerer endogener Stimulation, zuletzt unter maximaler exogener Stimulation bei Typ1-Diabetikern im Vergleich zu Gesunden.
2. ob die Plasmakonzentrationen regulativer gastrointestinaler Peptidhormone (GLP-1, Somatostatin, Motilin, PP und PYY) bei Typ I-Diabetikern verändert sind und ob eine subklinische autonome Neuropathie die Ausschüttung der gastrointestinalen Peptidhormone beeinflusst. Dies käme als Ursache einer veränderten Pankreasenzymsekretion bei Typ1-Diabetikern in Frage.

## **2. Methodik**

### **2.1. Patienten und Probanden**

Bei allen Versuchspersonen (Gesunden und Patienten) handelt es sich um freiwillige Probanden, die vor Beginn der Untersuchung eingehend über Wesen und Zweck der Studie informiert wurden und ihr schriftliches Einverständnis gaben. Die Voraussetzung für die Teilnahme an den Experimenten war ein guter Allgemeinzustand. Die untersuchten sechs gesunden Personen waren zwischen 21 und 35 Jahren alt (Durchschnittsalter 28 Jahre) und hatten keine wesentlichen, insbesondere gastrointestinalen Erkrankungen, in ihrer Vorgeschichte, nahmen keine Medikamente ein und wiesen einen normalen körperlichen Untersuchungsbefund auf. Die untersuchten zwölf Patienten mit Diabetes mellitus waren zwischen 24 und 43 Jahre alt (Durchschnittsalter 30 Jahre). Sie hatten einen insulinpflichtigen (Typ I) Diabetes mellitus, mit einer Dauer von 1 bis 29 Jahren (mittlere Dauer 12 Jahre) und mit unterschiedlichem Insulinbedarf. Alle Diabetiker befanden sich in einem guten Allgemeinzustand und hatten keine wesentlichen Begleiterkrankungen. Die Ausschlusskriterien beinhalteten gastrointestinale Vorerkrankungen, abdominelle Voroperationen, sonstige Pankreaserkrankungen, Einnahme von Pharmaka mit Beeinflussung von Motilität oder Sekretion des oberen Gastrointestinaltraktes, hepatobiliäre Erkrankungen, Blutungsneigung, Alter unter 18 und über 65 Jahren und Schwangerschaft. Während der Studiendauer verblieben die Probanden für ca. 10 Stunden in den Räumen der gastroenterologischen Abteilung des Universitätsklinikums Essen. Nahrungskarenz und Nikotinkarenz wurde 9 Stunden vorher eingehalten. Die Patienten mit Diabetes spritzten wie gewohnt ihre individuelle Dosis des Verzögerungsinsulins am Vorabend des Versuchstages, ansonsten wurde schon 8 Stunden vor Versuchsbeginn und während der Studie auf eine Gabe von Insulin verzichtet.

Alle Untersuchungen am Menschen wurden von der zuständigen Ethikkommission der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Essen genehmigt.

### 2.1.1. Diabetiker

**Tabelle 3.**

<b>Patienten</b>	<b>Alter</b>	<b>Diabetesdauer</b>	<b>HbA<sub>1</sub></b>	<b>Folgeschäden</b>
<b>S.R</b>	34 Jahre	29 Jahre	7,8 %	Diabet. Katarakt
<b>E.S.</b>	28 Jahre	1 Jahre	6,7 %	Keine
<b>K.H.</b>	41 Jahre	7 Jahre	9,2 %	Keine
<b>G.F.</b>	25 Jahre	1 Jahre	5,3 %	Keine
<b>S.T.</b>	40 Jahre	13 Jahre	11,4 %	Keine
<b>K.W.</b>	32 Jahre	11 Jahre	10,3 %	Keine
<b>L.G.</b>	43 Jahre	20 Jahre	11,2 %	Fußgangrän, PNP
<b>K.A</b>	35 Jahre	10 Jahre	16,4 %	Keine
<b>C.P.</b>	30 Jahre	21 Jahre	15 %	Kribbelparästhesien
<b>Z.M.</b>	30 Jahre	16 Jahre	8,8 %	Retinopathie
<b>S.H</b>	24 Jahre	6 Jahre	8,6 %	Keine
<b>B.P.</b>	32 Jahre	8 Jahre	9,4 %	Keine

### 2.1.2. Kontrollgruppe

**Tabelle 4.**

<b>Probanden</b>	<b>Alter</b>	<b>HbA<sub>1</sub></b>
<b>B.I.</b>	35 Jahre	5,3 %
<b>N.K.</b>	32 Jahre	5,6 %
<b>P.R.</b>	24 Jahre	6,3 %
<b>S.O.</b>	28 Jahre	5,1 %
<b>A.G.</b>	25 Jahre	5,4 %
<b>A.D.</b>	30 Jahre	6,0 %
<b>B.W.</b>	23 Jahre	6,4 %

## **2.2. Perfusion mit inerten Markern**

### **2.2.1. Essentielle Aminosäurelösung**

Zur schwachen endogenen Stimulation wurde eine essentielle Aminosäurelösung (EAS) Aminosteril KE 10% kohlenhydratfrei (Fresenius AG, Bad Homburg, Bundesrepublik Deutschland) verwendet. Die Menge der essentiellen Aminosäuren betrug in g/l: L-Isoleucin 4,67, L-Leucin 7,06, L-Lysin 5,97, L- Methionin 4,1, L-Phenylalanin 4,82, L-Threonin, 4,21, L-Tryptophan 1,82, L-Valin 5,92 mit nicht essentiellen Aminosäuren ad 100g). Die Lösung enthielt 0,411 kcal/ml, der pH-Wert lag bei 5,6, die Osmolalität betrug 533 mmol/kg. Diese EAS-Lösung wurde im digestiven Teil zur endogenen Stimulation in aufsteigender Konzentration gegeben. Dabei wurde die Lösung zunächst 90 Minuten 1:3 verdünnt (0,411kcal/min) und dann über 90 Minuten konzentriert (1,23kcal/min) infundiert. Die Verdünnung erfolgte mit physiologischer Kochsalzlösung. Die EAS-Lösung wurde mit einem Infusomaten (Braun Melsungen AG) in das Duodenum durch die Perfusionsstelle in Höhe der Papilla Vateri (45cm) mit einer Geschwindigkeit von 180 ml/h perfundiert.

### **2.2.2. Sekretin- und Caerulein-Lösung**

Für den SC-Test wurde Sekretin 1 IE /kg KG (Sekretolin Diagnosticum, Hoechst AG, Frankfurt am Main, Deutschland) und Caerulein (entspricht Pankreozymmin als CCK-Analogen) 75ng/kgKG (Takus 5µg, Pharmiacia, GmbH Erlangen, Deutschland) individuell abgemessen und auf 50 ml aufgezogen. Diese Lösung wurde dann intravenös über die Verweilkanüle mittels eines Perfusors in einer Geschwindigkeit von 50 ml/h infundiert. Diese Lösung führte zur maximalen exogenen Stimulation des Pankreas.

### **2.2.3. Markertechnik**

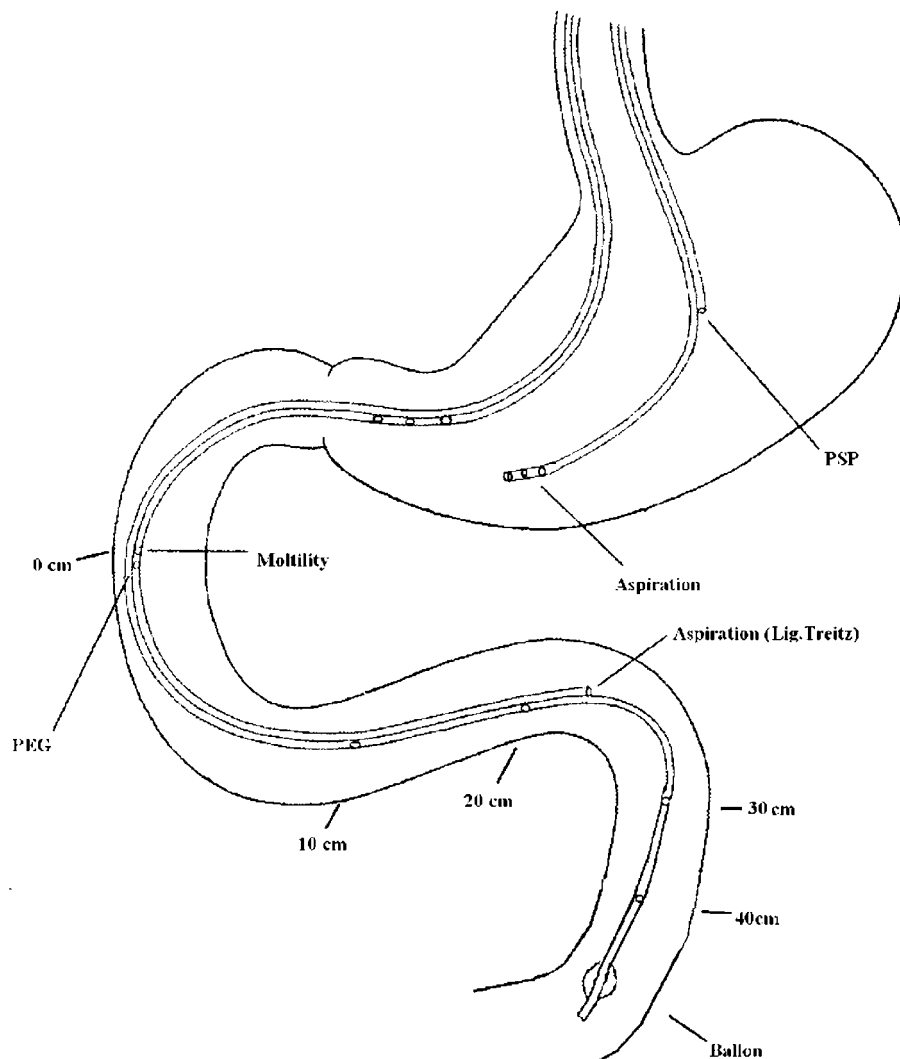
Die Anwendung nicht absorbierbarer, aber wasserlöslicher Markersubstanzen in gastroenterologischen Absorptions- und Sekretionsstudien ist sinnvoll, weil bei der Aspiration von Magen- und Darminhalt selbst bei optimaler Sondenlage Sammelfehler entstehen, da, unvermeidbar, ein unbestimmter Teil des Magen- bzw. Darmsaftes im Lumen verbleibt. Durch die Markerdilution kann dieser Sammelfehler korrigiert werden. Die hier verwendeten Verdünnungsmarker waren Phenolsulphthalein (PSP; Phenol Red research grade, Serva Feinbiochemica, Heidelberg, Bundesrepublik Deutschland) und Polyethylenglykol (PEG, Polyethylen-glycol 4000, Koch- Light Ltd., Haverhill, Suffolk, England). Die Perfusion des PSP erfolgte 75 cm oberhalb der Spitze der Multilumensonde im Antrum (1ml/min 250µg/min) und die Perfusion des PEG im Duodenum in Höhe der Papilla Vateri (45 cm) (3ml/min, 45mg/min). Die Marker vermischen sich beim Transit zwischen Perfusions- und Aspirationsstelle homogen mit dem Lumeninhalt und werden auf diese Weise verdünnt. Die tatsächliche Volumenflußrate an der Aspirationsstelle kann über den Verdünnungsfaktor aus der Konzentrationsabnahme des Markers im Aspirat im Vergleich zum Perfusat berechnet werden. Go et al. entwickelten 1970 diese Methode der Perfusion gastraler und duodener Marker beim Menschen, um simultan die totale Sekretion des Magens und des Duodenums getrennt messen zu können.

### **2.3. Experimentelles Protokoll**

Um 7 Uhr morgens am Versuchstag wurden die Patienten/Probanden zunächst mit einer oro-jejunalen Multilumensonde, deren Spitze hinter dem Treitz'schen Band in das Jejunum plaziert wurde, intubiert. Eine oro-gastrale Sonde (Anderson tube) wurde zusätzlich im Magen positioniert, um während des gesamten Versuchs den Magensaft zu aspirieren und dessen Menge zu bestimmen. Die speziell für diese Studie entworfene und angefertigte oro-jejunale Polyvinylsonde setzte sich aus 12 Kathetern (Clear Vinyl Tubes, Dural Plastics, Dural, N.S.W 2158 Australia) von unterschiedlicher Länge und Kalibern zusammen und besaß von der vorderen Zahnreihe aus nach aboral eine Länge von ca. 135 cm; die Gesamtlänge der flexiblen Sonde betrug 185 cm. Der Innendurchmesser betrug bei den Aspirationsschläuchen 2,0 mm, bei den Perfusionskathetern 1,0 mm und bei den Motilitätskathetern 0,96 mm. Am distalen



Ende der Sonde war ein aufblasbarer Ballon mit einem Gewicht aus Wolfram (8 Gramm) angebracht. Durch die Wolframmarkierungen an der Spitze sowie im Verlauf der Sonde konnte die korrekte Sondenlage mittels kurzer Durchleuchtungen kontrolliert werden. Der Ballon an der Sondenspitze konnte mit Luft gefüllt werden, um so die Passage der Sonde durch das Darmlumen zu beschleunigen. Eine Aspirationsstelle zur Gewinnung von Chymusproben befand sich im distalen Duodenum (bei 25 cm von der Sondenspitze); eine Öffnung zur Perfusion nicht resorbierbarer Markersubstanz (PEG 3 ml/min) befand sich im Duodenum in Höhe der Papilla Vateri, 20 cm proximal von der Aspirationsstelle des Duodenalsekrets. Im Magen (75 cm von der Sondenspitze) befand sich eine weitere Öffnung zur Perfusion mit Phenolsulphthalein (PSP 1 ml/min). Acht zusätzliche Katheter wurden mit sterilem Wasser perfundiert und dienten der Registrierung der intestinalen Motilität auf verschiedenen Ebenen des Darmes. Mit Hilfe der gastrointestinalen Intubation von mehrlumigen Polyvinylsonden in definierte Abschnitte des Magen-Darm-Traktes ist es möglich, unter fast physiologischen Voraussetzungen, in bestimmte Abschnitte des Gastrointestinaltraktes Test- und Markerlösungen zu perfundieren sowie Magen- und Darminhalte zu aspirieren. Simultan zu den Aspirations- und Perfusionsvorgängen erlaubte die Multilumensonde die intraluminale Druckregistrierung im Antrum an 3 Aufnahmepunkten und an 5 weiteren Druckaufnahmepunkten im Verlauf von Duodenum und Jejunum mittels einer kontinuierlichen Perfusion mit destilliertem Wasser (0,2 ml/min) über ein low-compliance-Stahlkapillarsystem. Die Ergebnisse der Motilitätsaufzeichnung werden in dieser Doktorarbeit im Ergebnisteil nicht dargestellt.



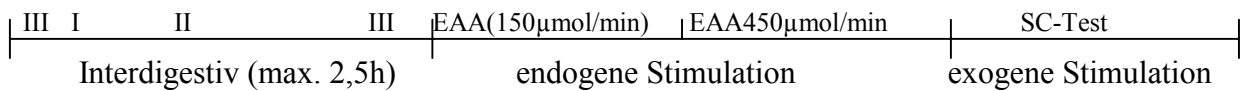
*Abb.2 Multilumensonde*

### **2.3.1. Erster Untersuchungstag (intestinale Intubation)**

Nachdem die korrekte Lage der Sonde durch radiologische Kontrolle verifiziert werden konnte, wurden die Perfusionspumpen zur Motilitätsmessung justiert und mit den zugehörigen Ansatzkopplungen der 8 Motilitätskatheter verbunden. Über das low-compliance-Stahlkapillarsystem wurde durch langsame (0,2 ml/min) Dauerperfusion eine Wassersäule bis ins Darmlumen kontinuierlich aufrecht erhalten (Arndorfer et al. (1977)).

Die intraluminalen Druckschwankungen als Maß der motorischen Aktivität des jeweiligen Darmabschnitts wurden dann durch mechano-elektrische Transducer in Spannungsschwankungen umgesetzt, vorverstärkt und mit einem Achtkanal-Registriergerät (Sensor Medics, Essen, Bundesrepublik Deutschland) aufgezeichnet. Über die duodenale Perfusionsstelle in Höhe der Papilla Vateri wurde kontinuierlich Polyethylenglykol 4000 (PEG 15 g/l) als Markersubstanz für die intraluminale Verdünnung mit einer konstanten Geschwindigkeit von 3 ml/min während des gesamten Versuchs infundiert. Über die zweite Perfusionsstelle (75 cm von der Sondenspitze) wurde Phenolsulphthalein (1ml/min) als Marker für die gastrale Sekretion infundiert. Die Motilitätsaufzeichnung und Perfusion begannen mit dem Auftreten einer Phase III der Motilität. Es wurde mit Hilfe der maschinellen Dauersaugvorrichtung (Sog von ca. -20 cm H<sub>2</sub>O) Magensaft und Duodenalsekret daueraspiriert. Das so gewonnene Duodenalsekret wurde auf Eis gesammelt. Durch manuelle Luftinsufflation in den duodenalen Aspirationsschlauch wurde rückständiges Sekret vom vorhergehenden Intervall ausgespült und somit Fehlbestimmungen verhindert. Die Menge des gewonnenen Sekrets wurde in 15 minütigen Intervallen bestimmt. Nach der pH-Messung und Bicarbonat-Bestimmung wurden bis zu 15 ml eingefroren, um später die Pankreasenzyme zu bestimmen. Außerdem wurden im interdigestiven Teil in jeder Motilitätsphase, im digestiven Teil alle 45 Minuten 15 ml Blut (venös) zur Bestimmung der Blutzuckerspiegel und gastrointestinaler Hormone entnommen. Nach Zentrifugation und entsprechender Aufbereitung wurden diese Serumproben eingefroren und in das Physiologische Institut der Universität Kopenhagen geschickt und dort die Hormone PYY, GLP-1, PP, Motilin und Somatostatin bestimmt.

Der erste (interdigestive) Teil des Versuchs dauerte von Phase III bis zur nächsten Phase III (Ende eines regulären interdigestiven Zyklus) oder maximal 2,5 Stunden. Danach begann die duodenale Perfusion mit essentieller Aminosäurelösung in aufsteigender Konzentration von zunächst 150µmol/min auf anschließend 450µmol/min, jeweils über 90 Minuten. Der dritte Teil des Experiments schloß sich direkt an den letzten Teil des digestiven Abschnitts an und bestand aus einem modifizierten Sekretin-Cerulein-Test (=SC-Test) (Sekretin 1 IE/kgKG, Caerulein 75ng/kgKG über eine Stunde). Die Sonden wurden nach diesem Untersuchungsteil entfernt und, nach einer Beobachtungsphase von mindestens einer halben Stunde und einer Mahlzeit, durften die Probanden, bzw. Patienten nach Hause gehen.

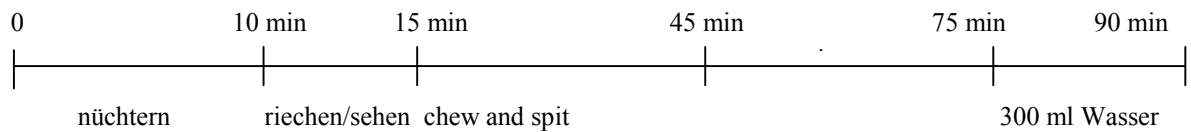


I -III = Motilitätsphasen I - III;

*Während des Versuches alle 15 Minuten Aspiration von Duodenalsaft; Blutzuckerkontrollen und Blutabnahmen alle 45 Minuten.*

### **2.3.3. Zweiter Untersuchungstag (Sham Feeding Test)**

9 der 12 Diabetiker und alle Normalprobanden nahmen an diesem zweiten Teil des Versuches teil. Seit dem ersten Teil der Studie waren mindestens 2 Wochen vergangen. Der Versuchsteil basierte auf dem Protokoll des modifizierten Sham Feeding Tests. Als Mahlzeit diente ein Weichbrötchen mit Hackfleisch, Salat, Tomaten und Remouladefüllung (Big Mac (212g), Mac Donalds) mit 42g Kohlenhydraten, 26g Fett, 26g Eiweiß und 505 kcal, bzw. 2115 Joule. Die Studie wurde jeweils am Vormittag durchgeführt, wobei die Patienten seit dem vorhergehenden Tag 22 Uhr nüchtern waren und außer ihrem Verzögerungsinsulin am Vorabend kein Insulin gespritzt hatten. Dieser Versuchsteil dauerte 1,5 Stunden; es wurden alle 15 Minuten aus einer venösen Verweilkanüle, die während des Versuchs mit NaCl gespült wurde, 10 ml Blut zur Bestimmung gastrointestinaler Hormone und des Blutzuckerspiegels entnommen. Gestartet wurde mit einer Blutentnahme zum Zeitpunkt 0. Während dieser Zeit befand sich die Mahlzeit in einem anderen Raum, so daß sie weder gerochen noch gesehen werden konnte. 10 Minuten nach der ersten Blutabnahme wurde die Speise in den Versuchsraum gebracht und der Proband aufgefordert zu riechen und sie zu betrachten. Nach einer erneuten Blutabnahme begann die Person den Burger zu kauen und wieder auszuspucken, wobei der anwesende Untersucher darauf achtete, daß nichts herunter geschluckt wurde („chew- and spit“-Technik). Dieses Prozedere wurde über einen Zeitraum von 30 Minuten fortgeführt und währenddessen 2 Blutproben entnommen. Nach einer Wartezeit von 30 Minuten und 2 weiteren Blutabnahmen, tranken die Versuchspersonen 300ml Wasser. Nach weiteren 15 Minuten und der letzten Blutprobe war auch dieser Versuchsteil abgeschlossen.



während des Versuchs alle 15 Minuten Blutabnahmen und Blutzuckerkontrollen.

## **2.4. Analysen**

Den Daten der gemessenen Parameter liegen Doppelbestimmungen zugrunde. Nur in wenigen Ausnahmefällen zwangen zu kleine Volumina zu Einfachbestimmungen oder zu Analysen von Verdünnungsreihen. Die duodenalen Chymusproben wurden unmittelbar nach der Entnahme bei -20 Grad tiefgefroren. Am Tag der Enzymbestimmung wurden sie dann im kalten Wasserbad aufgetaut und direkt wieder auf Eis gelagert.

Aus einem Probenröhrchen wurden bei ausreichender Probenmenge nacheinander Lipase und Amylase bestimmt. Die Aktivitätsverluste dieser Enzyme sind unter den genannten Versuchs- und Lagerungsbedingungen minimal (Legg und Spencer, (1975)).

### **2.4.1. Pankreasenzyme**

#### **2.4.1.1. Lipase**

Zur Bestimmung der Lipaseaktivität wurden die Proben 1 : 300 verdünnt. In dieser Verdünnung lagen die Werte meist im optimalen Meßbereich des Gerätes.

Die Bestimmung der Lipase erfolgte mit einem Testkit der FA. Boehringer Mannheim SYS 3 1127985, das für Serumlipasebestimmungen vorgesehen ist. Die Methode wurde von Ziegenhorn et al (1979) beschrieben und ist zur Messung der Lipaseaktivität im menschlichen Duodenalsaft geeignet (Steinbach (1986)). Die Lipase katalysiert die Reaktion:



Die Trübungsabnahme wurde im UV Bereich (340nm) gemessen. Die Aktivität der Lipase wurde [in Units/l] nach der Formel berechnet:

Aktivität des Standards / [E1-E2 des Standards] x [E1-E2 der Probe] x Verdünnung der Probe.

### 2.4.1.2. Amylase

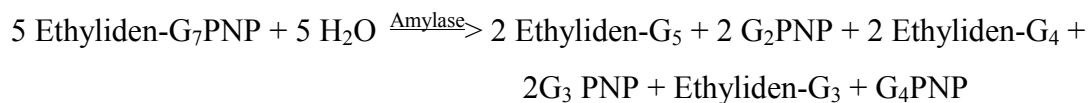
Die Proben wurden vor der Bestimmung der Amylase - Aktivität 1: 100 verdünnt. Mit dieser Verdünnung erhielt man meist Werte im optimalen Meßbereich des Meßgerätes.

Die Amylase-Aktivität des Duodenalsafts wurde mit Hilfe des Testkits für Serum-Amylase MPR 3 der Firma Boehringer, Mannheim im Cobas BIO (Hoffmann - La Roche) gemessen.

Die Methode wurde von Rauscher et al. (1986) und Kruse-Jarres et al. (1989) beschrieben. Sie basiert auf einem enzymatischen Farbttest mit 4,6-Ethyliden (G<sub>7</sub>)-p-nitrophenyl (G<sub>1</sub>)-α, D-maltoheptaosid (Ethyliden-G<sub>7</sub>-PNP) als Substrat (PNP= p-Nitrophenol; G = Glucose).

Das Prinzip dieses Tests beruht auf der Tatsache, daß Amylase die Reaktion von 5 Ethyliden-G<sub>7</sub>PNP zu 2 Ethyliden-G<sub>5</sub> und 2 G<sub>3</sub>PNP katalysiert. Dieses kann dann von einem anderen Enzym der α-Glukosidase zu PNP und Glukose abgebaut werden. Das entstehende PNP ist photometrisch aktiv und über die Extinktionszunahme bei 405 nm kann auf die Menge an entstehendem PNP und damit auf die Menge der Amylase zurückgeschlossen werden.

Testprinzip (vereinfacht):



(PNP = p-Nitrophenol, G = Glucose)

## 2.4.2. Marker

### 2.4.2.1. Phenolsulphthalein (PSP)

Der pH-Indikator Phenolsulphthalein (PSP) (Fa. Serva, Heidelberg) wurde als nicht resorbierbarer Volumenmarker zur Bestimmung des tatsächlich sezernierten Magensaftvolumens genutzt. Die Bestimmung des PSP erfolgte nach der Methode von Allen (1950), Schedl und Clifton (1961). In alkalischer Lösung vollzieht der pH-Indikator PSP einen Farbumschlag von farblos nach rot. Um die Intensität der roten Farbe photometrisch bei 520, 560 und 600 nm erfassen zu können, wurde den Chymusproben ein alkalischer Boratpuffer beigefügt. Die gemessenen Extinktionen verhielten sich dem (Magensaft -) Sekretionsvolumen umgekehrt proportional. Zur Messung wurden je 2 x 150 µl Magensaftprobe in die Plastikhütchen des COBAS BIO gegeben. Mit jedem Karussell wurden zwei PSP Standards mitgeführt, sie waren nach dem Versuch aus der Infusionsflasche mit

dem restlichen PSP abgefüllt worden. Danach wurden 2 ml des Boratpuffers (pH 9,2; 6,2g Borsäure und 7,46g Kaliumchlorid wasserfrei in 1 Liter destilliertem Wasser auf den entsprechenden pH eingestellt) und 11 ml destilliertes Wasser in die Vertiefung des Reagenztablets gegeben. Das Gerät pipettierte nun 260 µl des verdünnten Boratpuffers und 2 µl der Probe in die Plastikkuvetten des Photometerkarussells und bestimmte die Extinktionen bei 520, 560 und 600 nm. Die phenolrot-spezifische Extinktion ließ sich aus den gemessenen Werten dann nach folgender Formel berechnen:

$$E(\text{Phenolrot}) = E(560\text{nm}) - [E(520\text{nm}) + E(600\text{nm})] / 2$$

Die Berechnung für das sezernierte Magenvolumen/min (MV) ergab sich dann aus folgender Formel:

$$\text{MV (ml/min)} = [E(\text{PSP-Standard}) / E(\text{PSP-Probe})] \times \text{Infusionsvolumen (ml/min)}$$

#### 2.4.2.2. Polyethylenglykol (PEG)

Zur Quantifizierung des duodenalen Sekretionsvolumens (= Volumenoutput) wurde die Konzentration von Polyethylenglykol (PEG) photometrisch bestimmt. Die Bestimmung erfolgte nach der Methode von Buxton und Crocket (1979):

Trichloressigsäure 30% (TCA) bildet gemeinsam mit Gummi arabicum (25mg/l) und Calciumionen (5% CaCl<sub>2</sub>; 50g CaCl<sub>2</sub>/l) eine Emulsion mit PEG. Eventuell interferierende Proteine wurden mit kaltem 72% Aceton nach der "cold-aceton-methode" ausgefällt (Buxton et al, (1979)). Zu 1,75 ml eisgekühltem Aceton wurde unter permanentem Schütteln 250 µl Chymusprobe tropfenweise hinzugegeben. Aus diesem Ansatz wurden wiederum 250 µl entnommen und langsam mit 1,75 ml Gummiarabicum versetzt, schließlich wurde diesem Ansatz noch 2 ml eisgekühltes TCA zugesetzt und das Ganze gut geschüttelt (Vortex-Schüttelgerät). Diese Mischung wurde dann 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die spektrophotometrische Messung erfolgte nach erneutem Durchmischen bei 650 nm. Standardproben, die der jeweiligen Infusionsmarkerlösung nach dem Versuch entnommen worden waren, wurden analog behandelt. Die Berechnung der Flußrate erfolgte abschließend nach der folgenden Formel:

$$\text{Volumensekretion (ml/min)} = E(\text{Standard}) / E(\text{Probe}) \times \text{Infusionsvolumen (ml/min)}$$

Von den Pankreasenzymen wurden nach den oben beschriebenen Verfahren zunächst die Aktivitäten (U/l) im Duodenalsaft ermittelt. Die Sekretionsraten ergaben sich dann durch Multiplikation mit der Flußrate.

### **2.4.3. pH-Wert und. Bicarbonat**

Der pH - Wert der Magen - und Duodenalproben wurde mit Hilfe eines Gerätes der Fa. Radiometer Copenhagen, ABL System 600, nach einer Routinemethode bestimmt. Die Konzentration des Bicarbonats wurde ebenfalls mit ABL System (Radiometer Copenhagen) nach einer Routinemethode bestimmt.

### **2.4.4. Blutproben**

Die Blutproben (10-15 ml) wurden im 1. Teil (interdigestiv) des Experiments in jeder Motilitätsphase, im 2. und 3. Teil (endogene und exogene Stimulation) alle 45 Minuten und am 2. Tag während des Sham Feeding Tests alle 15 Minuten entnommen und zusammen mit 200 ml Aprotinin (Trasylol; Bayer AG, Leverkusen, Bundesrepublik Deutschland) in EDTA-Röhrchen gegeben. So wurden sie zunächst in Eiswasser gesammelt und nach Beendigung des Experimentes kühl zentrifugiert. Das Plasma wurde vorsichtig von dem Blutkuchen abpipettiert und auf 6 bzw. 4 Plastikröhrchen verteilt und bei -20° C tiefgefroren. Auch während des Transportes nach Kopenhagen wurde die Kühlkette nicht unterbrochen. Die Bestimmung von Peptid YY (PYY), Glukagon-like Peptid (GLP-1), Somatostatin (SST), Pankreatischem Polypeptid (PP) und Motilin im Plasma erfolgte mittels Radio-Immuno-Assays bei Herrn Prof. J.J. Holst in der Abteilung für Medizinische Physiologie der Universität Kopenhagen in Dänemark. Die Messung der PYY-Immunoreaktivität erfolgte nach einer etablierten Methode mittels in Kaninchen erzeugtem Antiserum (Holst und Bersani (1991)). Der Variationskoeffizient innerhalb des Assays lag unter 5 %. Die Antikörper richten sich gegen das N-terminale Ende von PYY des Schweins, dabei zeigt das Antiserum eine 100%-ige Kreuzreaktivität mit menschlichem PYY, jedoch treten keine Kreuzreaktionen mit menschlichem PP oder NPY in Konzentrationen bis 500 pmol/l auf. Die Bestimmungsgrenze des Assays lag unter 1 pmol/l. Die GLP-1 Plasmakonzentration wurde mittels GLP-1-Antiserum bestimmt (Orskov et al. (1991)). Der Antikörper zeigte keine Kreuzreaktivität mit anderen Peptiden der Glukagon-Sekretin-Familie. Die Bestimmungsgrenze für GLP-1 im Plasma lag bei einem Wert kleiner als 5 pmol/l. Der Variationskoeffizient innerhalb des Assays war kleiner 8%.



## **2.5. Statistische Methoden**

Um von den Ergebnissen der Experimente mit unseren Patienten auf Eigenschaften der Grundgesamtheit Rückschlüsse ziehen zu können, verwendeten wir den Student t-Test. Wir gingen dabei von 2 unverbundenen Stichproben (Normalprobanden, Patienten) aus, wobei die quantitative Stichprobe als normalverteilt angenommen werden konnte.

Die Wahrscheinlichkeit einer Nullhypothese wurde hier ab einem Signifikanzniveau von 5% verworfen.

Die Daten sind alle als Mittelwerte +/- SE wiedergegeben, wenn sie nicht anders gekennzeichnet sind.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Interdigestive Pankreasenzymsekretion**

Es wurde im interdigestiven Teil unserer Studie die Enzymsekretion über den Zeitraum einer Zyklusdauer (Phase III bis Phase III, maximal 2,5 Stunden) untersucht, um die basale Sekretion von Pankreasenzymen bei Typ 1 Diabetikern im Vergleich zu Gesunden messen zu können. Die Enzymsekretion in der Nüchternphase war bei den Diabetikern teilweise vermindert. Es fielen beim Vergleich mit den gesunden Probanden keine Veränderungen der Amylasesekretion auf, die Lipasesekretion hingegen war bei den Diabetikern signifikant erniedrigt (s. Abb.3).

#### **3.2. Endogen stimulierte Pankreasenzymsekretion**

Die Enzymsekretion der Diabetiker war während der schwachen endogenen Stimulation mit essentiellen Aminosäuren (150 µm) nicht signifikant verschieden von der Sekretion bei den Gesunden. Sowohl die Amylase- als auch Lipase-Sekretion war in der Gruppe der Diabetiker im Mittel nur etwas geringer (s. Abb. 3).

Die Lipase- und Amylasesekretion der Diabetiker war unter moderater endogener Stimulation mit essentiellen Aminosäuren nur geringfügig niedriger als die der Kontrollgruppe, signifikante Unterschiede fanden sich nicht (s. Abb.3 und 5).

#### **3.3. Exogen stimulierte Pankreasenzymsekretion**

Durch die einstündige intravenöse Infusion von Sekretin (1 IE/kgKG) und Caerulein (75 ng/kgKG) erfolgte eine maximale exogene Stimulation des Pankreas. In diesem Versuchsteil fand sich bei den Diabetikern eine signifikant geringere Lipasesekretion im Vergleich mit den Gesunden.

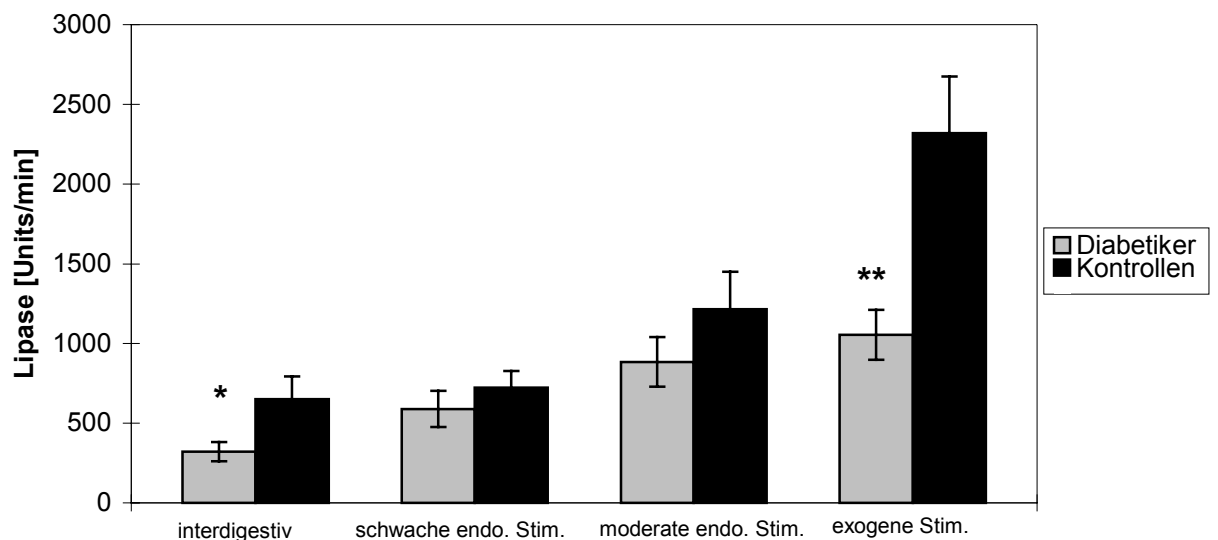
Die Amylasesekretion war zwar ebenfalls geringer als bei den Gesunden, der Unterschied war jedoch nicht signifikant (s. Abb. 3 und 5).

### 3.4. Zusammenfassende Darstellung

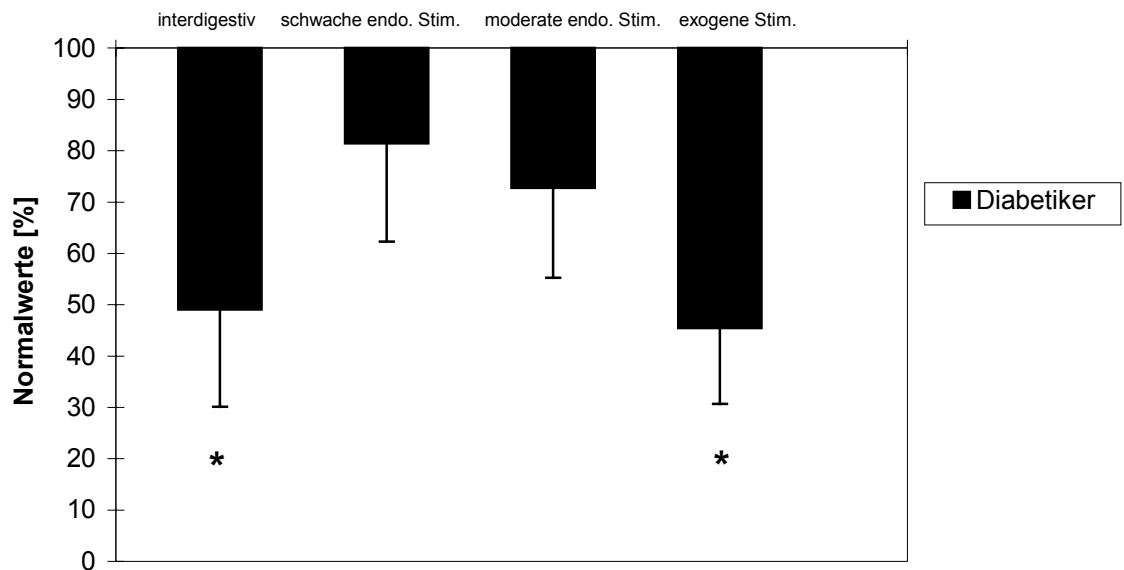
Ziel des vorliegenden Teils der Studie war es, die Pankreasenzymsekretion der Patienten mit Typ I-Diabetes in unterschiedlichen Funktionszuständen des Pankreas zu studieren. Deshalb wurde die Sekretion von Amylase und Lipase zunächst im Nüchternzustand über eine gesamte Zykluslänge, dann bei schwacher und moderater endogener Stimulation durch intraduodenale Infusion essentieller Aminosäuren und schließlich bei maximaler exogener Stimulation durch Sekretin und Caerulein gemessen. Diese graduelle Steigerung der Stimulationsintensität ermöglichte detaillierte Aussagen über die Pankreasfunktion der Diabetiker.

#### 3.4.1. Lipase

Es fand sich im Versuchsverlauf ein stetiger Anstieg der Lipasesekretion. Die Maximalwerte der Lipasesekretion wurden in beiden Gruppen (Gesunde und Patienten) während des SC-Tests erreicht. Eine signifikant niedrigere Lipasesekretion bei den Diabetikern fand sich interdigestiv ( $p = 0,029$ ) und während exogener Stimulation ( $p = 0,0027$ ) (s.Abb. 3).



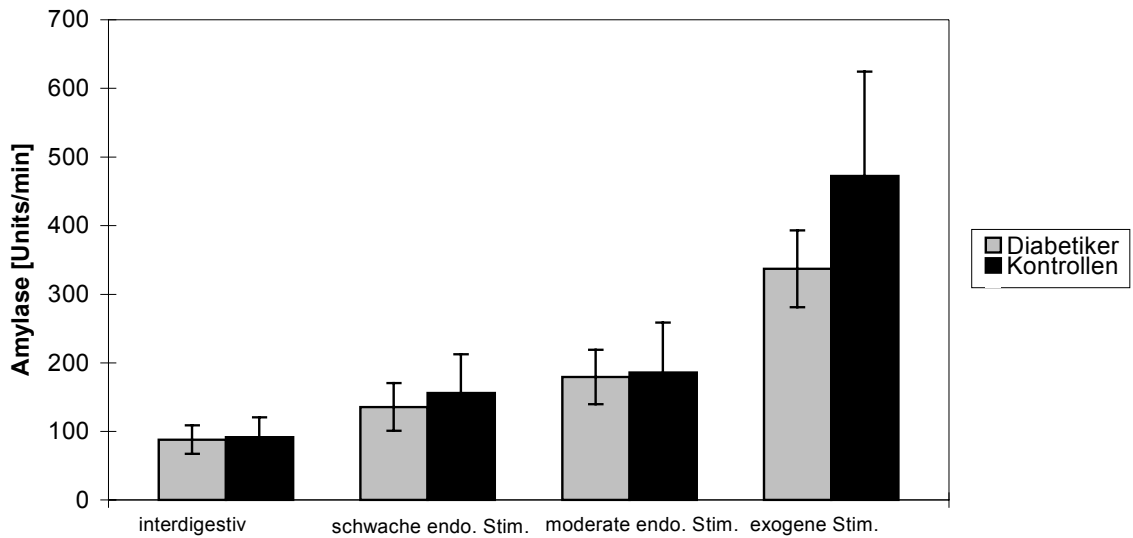
**Abb.3** Verlauf der Lipasesekretion bei Typ I-Diabetikern ( $n = 12$ ) im Vergleich mit Gesunden ( $n = 6$ ) interdigestiv und während graduerter endogener und exogener Stimulation; Mittelwerte  $\pm$  SE, \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,005$ .; Stim. = Stimulation, endo. = endogene



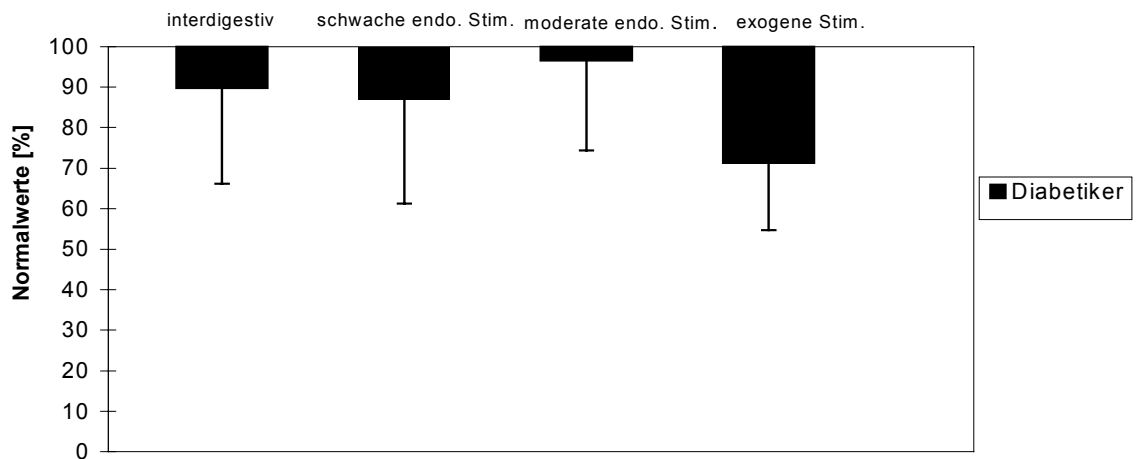
**Abb.4** Verhältnis zwischen der Lipasesekretion von Typ I-Diabetikern zu Gesunden unter graduerter Stimulation (Mittelwerte  $\pm$  SE, Lipasewerte der Probanden =100%)

### 3.4.2. Amylase

Sowohl die Diabetiker als auch die Normalprobanden zeigten im Verlauf des Versuchs einen stetigen Anstieg der Amylasesekretion, entsprechend der graduierten Steigerung der Stimulation (s.Abb.5). Allerdings zeigte sich diese Steigerung zwischen endogener und exogener Stimulation bei den Probanden deutlicher als bei den Patienten. So kam es bei den Probanden zu einem 2,5-fachen Anstieg der Werte unter maximaler Stimulation gegenüber den Nüchternwerten. Bei den Diabetikern dagegen erreichten die Werte nur das 1,8-fache. Die Differenz zwischen den Mittelwerten von Patienten und Probanden nahm vom interdigestiven Versuchsteil bis zum Versuchsteil mit starker endogener Stimulation ab und nahm bei maximaler Pankreasstimulation durch den modifizierten SC - Test wieder deutlich zu, signifikante Unterschiede fanden sich aber unter diesen Versuchsbedingungen nicht.



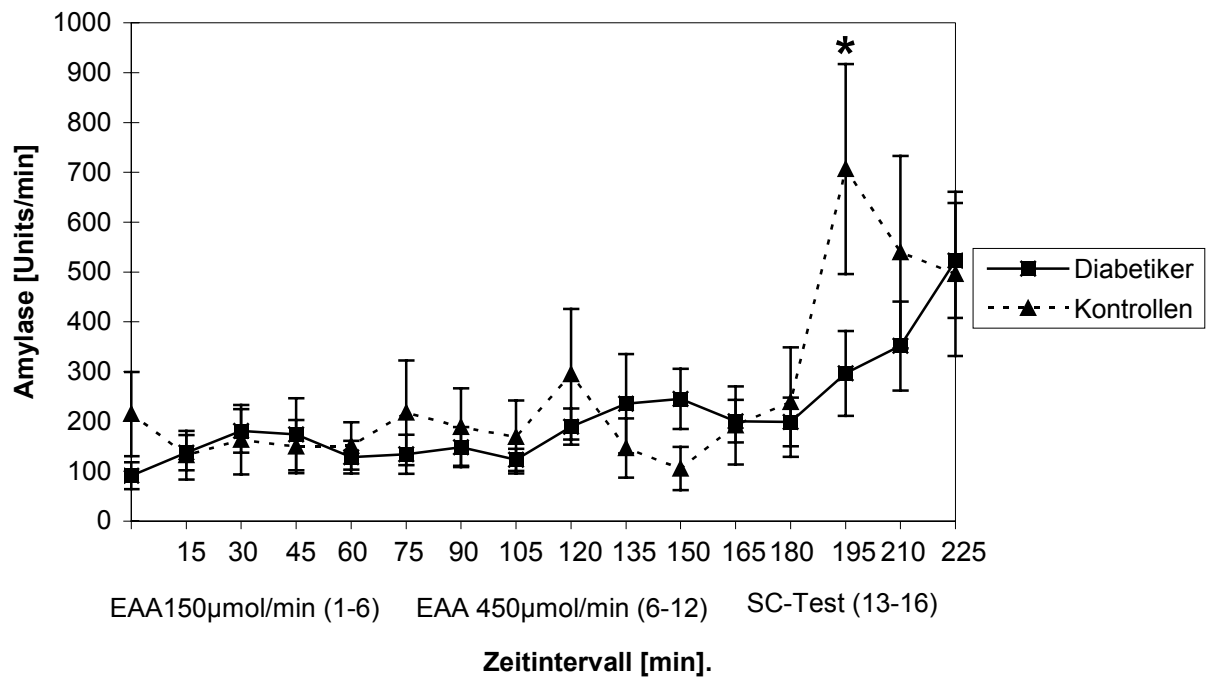
**Abb.5** Verlauf der Amylasesekretion bei Typ I-Diabetikern ( $n = 12$ ) im Vergleich mit Gesunden ( $n = 6$ ) interdigestiv und während graduerter endogener und exogener Stimulation; Mittelwerte  $\pm$  SE, Stim. = Stimulation, endo = endogene



**Abb.6** Verhältnis zwischen der Amylasesekretion von Typ I-Diabetikern zu Gesunden unter graduerter Stimulation (Mittelwerte  $\pm$  SE, Lipasewerte der Probanden = 100%).

Der Verlauf des Enzymanstiegs während des modifizierten SC- Testes unterscheidet sich wesentlich bei Diabetikern und Kontrollen. Während die Amylasesekretion der Diabetiker

unter maximaler exogener Stimulation kontinuierlich ansteigt, erreicht die Sekretion bei den Kontrollen schon nach 30 Minuten (Probe 14) ihr Maximum.



**Abb.7** Verlauf der Amylasesekretion bei Typ I-Diabetikern ( $n = 12$ ) im Vergleich mit Gesunden ( $n = 6$ ) während graduerter endogener und exogener Stimulation; \*  $p < 0,01$  vs. Kontrollen.

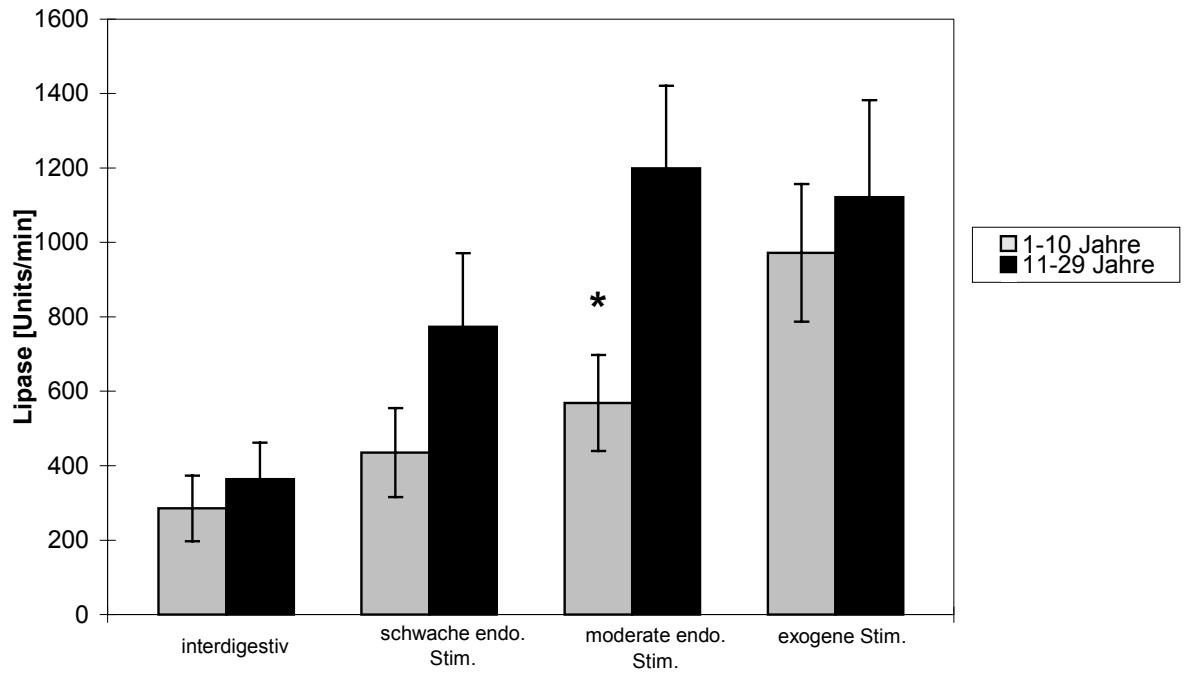
### **3.5. Pankreasenzymsekretion in Abhängigkeit von der Diabetesdauer**

Die Typ I-Diabetiker wurden in eine Gruppe mit kürzerer Diabetesdauer (1-10 Jahre, Mittelwert 5,5 Jahre, n = 6 Patienten) und eine Gruppe mit längerer Diabetesdauer (11-29 Jahre, Mittelwert 18,3 Jahre, n = 6 Patienten) unterteilt. Dann wurde die mittlere Enzymsekretion während der verschiedenen Stimulationszustände verglichen, um Aufschluß darüber zu bekommen, ob die Veränderungen der Pankreasenzymsekretion mit der Erkrankungsdauer korrelieren.

Der Vergleich der Lipasesekretion ergab im Fastenzustand, bei schwacher endogener Stimulation und im modifizierten SC-Test ähnliche Lipasewerte bei beiden Patientengruppen unabhängig von der Diabetesdauer ( $p = 0,56$ ). Lediglich bei moderater endogener Stimulation des Pankreas waren die Lipasewerte der Kurzzeit-Diabetiker (Gruppe A) signifikant erniedrigt ( $p = 0,034$ ) (s. Abb. 8).

Dabei wurde eine verminderte Amylasesekretion in allen Stimulationsphasen bei der Gruppe mit kürzerer Diabetesdauer (Gruppe A) im Vergleich mit der Gruppe mit längerer Diabetesdauer (Gruppe B) beobachtet. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war während der interdigestiven Phase ( $p = 0,049$ ) und während des SC - Testes ( $p = 0,022$ ) signifikant (s. Abb. 9).

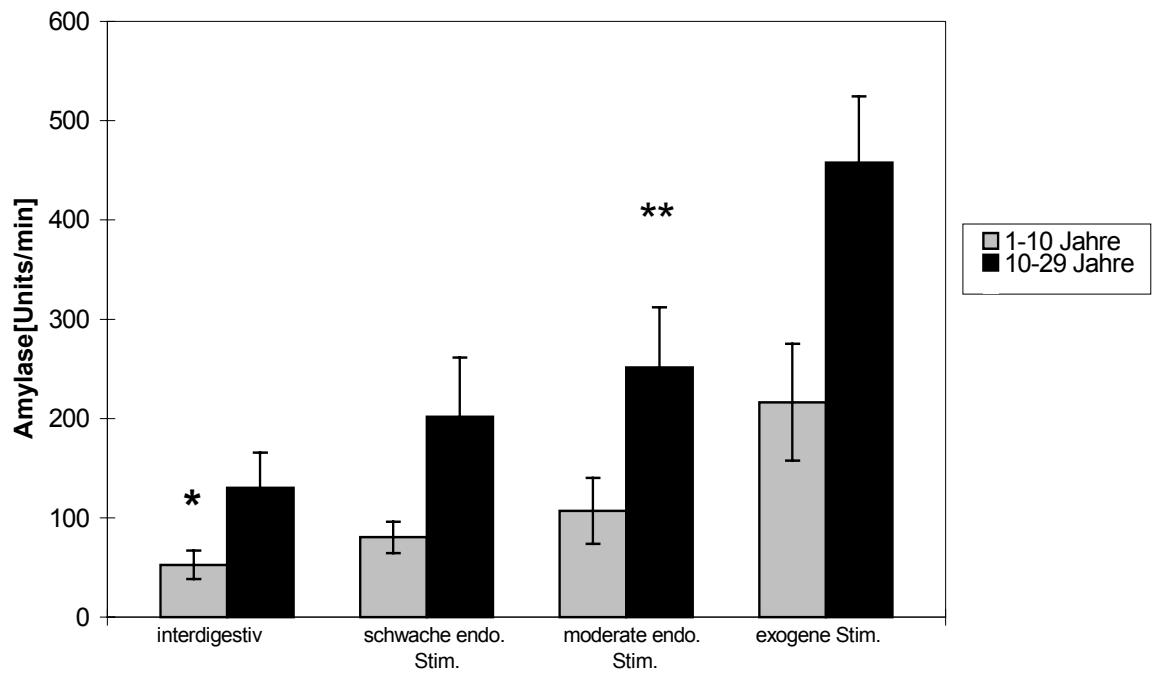
### 3.5.1. Lipase



**Abb. 8** Vergleich der Lipasesekretion der Diabetiker mit 1-10 und 11-29 Jahren Diabetesdauer, interdigestiv und während graduiertter endogener und exogener Stimulation; Mittelwerte  $\pm$  SE, \* $p < 0,05$ ; Stim. = Stimulation, endo = endogene



### 3.5.2. Amylase



**Abb. 9** Vergleich der Amylasesekretion der Diabetiker mit 1-10 und 11-29 Jahren Diabetesdauer, interdigestiv und während graduerter endogener und exogener Stimulation; Mittelwerte  $\pm$  SE, \* $p < 0,05$  (interdigestiv), \*\* $p = 0,022$  (exogene Stimulation); Stim. = Stimulation, endo = endogene.

### **3.6. Pankreasenzymsekretion in Abhängigkeit von der Diabeteseinstellung**

Um einen möglichen Einfluß der Diabeteseinstellung der Patienten auf ihre Enzymsekretion zu erfassen, wurde von jedem Patienten der HbA<sub>1</sub>-Wert bestimmt. Entsprechend diesem wurden die Diabetiker in zwei Gruppen zu jeweils 6 Patienten eingeteilt. Gruppe I bestand aus Patienten mit einem HbA<sub>1</sub> Wert zwischen 5,5% und 10% , zur Gruppe II wurden Patienten mit einem HbA<sub>1</sub>-Wert zwischen 10% und 16,5% zugeordnet. Die Enzymmittelwerte der beiden Patientengruppen wurden dann einander gegenüber gestellt und verglichen, dabei wurden die verschiedenen Stimulationsstufen des Versuchs berücksichtigt (s. Tab.5).

**Tabelle 5**

Mittlere Amylase- und Lipasesekretion in Abhängigkeit von der Diabeteseinstellung

<b><u>Patienten</u></b>	<b><u>Enzym</u></b>	<b><u>Interdigestiv</u></b> <b><u>[Units/min]</u></b>	<b><u>EAA (150µmol/min)</u></b> <b><u>[Units/min]</u></b>	<b><u>EAA (450µmol/min)</u></b> <b><u>[Units/min]</u></b>	<b><u>SC –Test</u></b> <b><u>[Units/min]</u></b>
<b>Gruppe I</b>	<b>Amylase</b>	58,26 ± 17,44*	111,38 ± 22,05	155,64 ± 42,09	303,63 ± 91,11
<b>Gruppe II</b>	<b>Amylase</b>	146,56 ± 41,95	177,94 ± 92,24	230,19 ± 73,65	383,86 ± 47,61
<b>Gruppe I</b>	<b>Lipase</b>	287,74 ± 92,91	553,23 ± 159,51	807,39 ± 183,74	1085,65 ± 249,46
<b>Gruppe II</b>	<b>Lipase</b>	378,81 ± 62,72	651,30 ± 168,98	990,76 ± 287,60	1015,32 ± 190,31

Mittelwerte ± SE, Gruppe I (Mittelwert HbA<sub>1</sub> = 7.97%) und Gruppe II (Mittelwert HbA<sub>1</sub> = 12.86%), \* p<0,05 Gruppe I vs. Gruppe II

Es zeigte sich insgesamt keine wesentliche Assoziation zwischen der Güte der Diabeteseinstellung und der Pankreasenzymsekretion bei den Typ I-Diabetikern

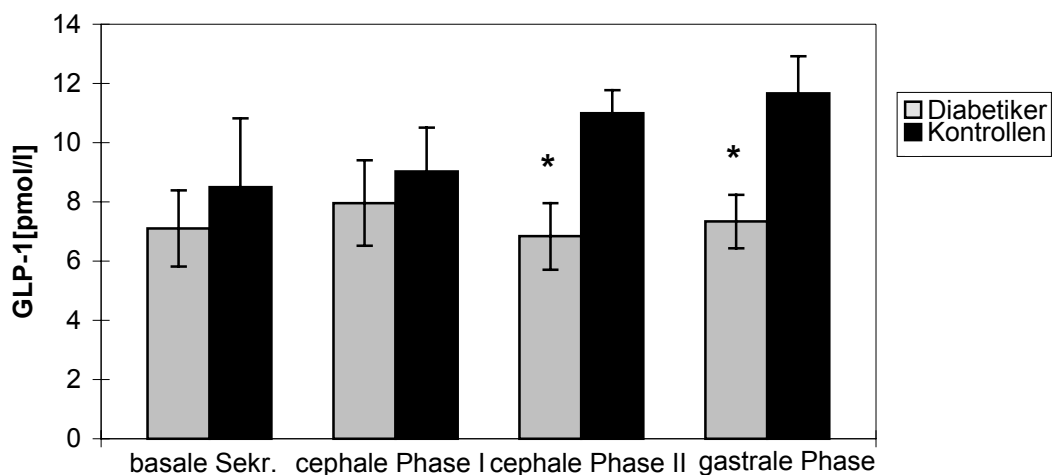
### **3.7. Neurohormonale Antwort auf Sham Feeding Test**

Der Sham Feeding Test wurde in vier Stimulationsphasen unterteilt. In aufsteigender Stimulationsstärke wurde der Versuch in eine basale, eine schwache cephal (cephale Phase I), eine starke cephal (cephale Phase II) und eine gastrale Phase eingeteilt

#### **3.7.1. Ergebnisse**

##### **3.7.1.1. GLP-1**

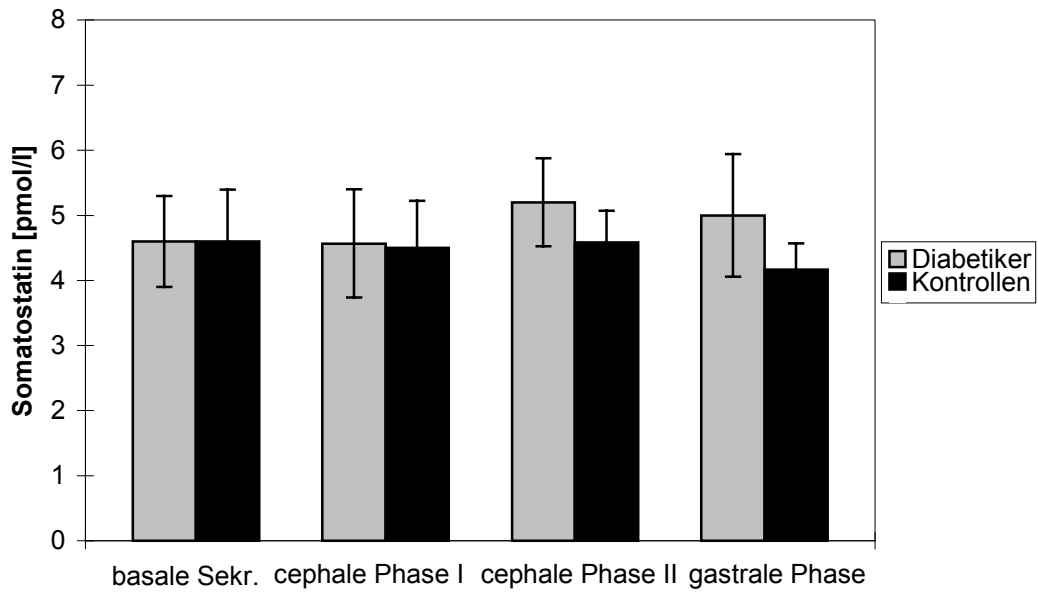
Die Konzentration von GLP-1 wurde in den 7 Blutproben bestimmt und die Mittelwerte der einzelnen Phasen (s.o.) gebildet. Die Mittelwerte der GLP-1 Konzentration bei den Diabetikern waren während der basalen Sekretion und in der cephalen Phase I nicht signifikant verschieden von denen der Kontrollgruppe. Eine signifikante Verminderung der Mittelwerte bei den Diabetikern wurde erst in der cephalen Phase II und der gastralen Phase deutlich (s. Abb. 10).



**Abb.10** Mittelwerte der GLP-1 Plasmakonzentration der Diabetiker  $\pm$  SE während des Sham Feeding Tests im Vergleich zu den Gesunden, \* $p < 0,05$ .

### 3.7.1.2. Somatostatin

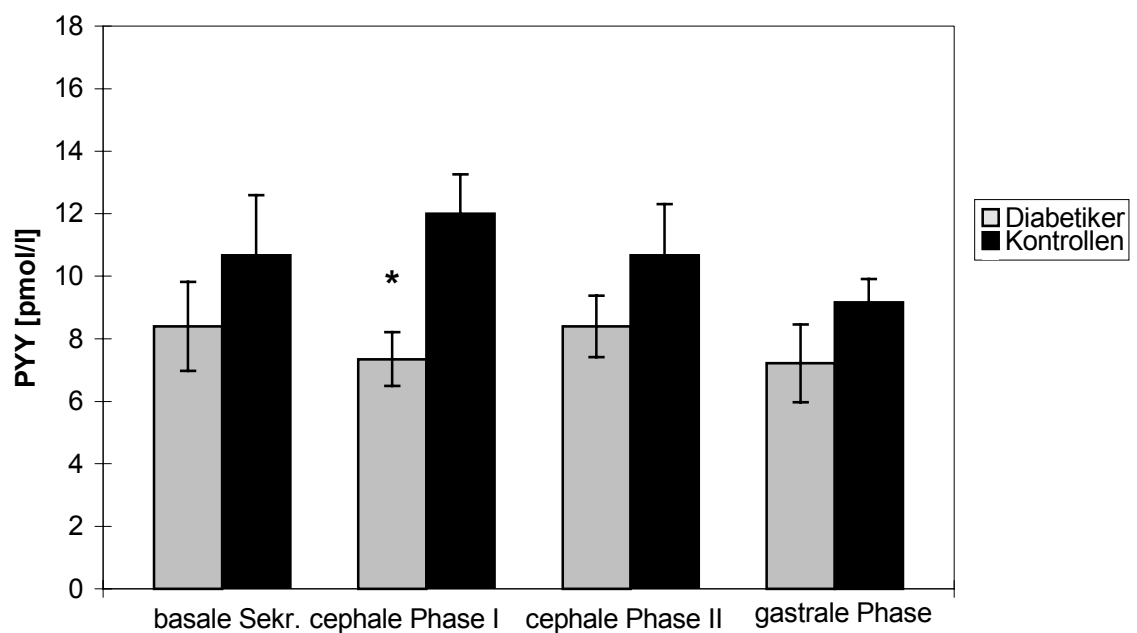
Der Vergleich der Somatostatinplasmakonzentrationen ergab während des Sham Feeding Tests keine signifikanten Unterschiede zwischen Diabetikern und Kontrollen. Die Werte der Diabetiker lagen geringfügig über denen der Probanden (s.Abb.11).



**Abb. 11** Mittelwerte der Somatostatinplasmakonzentration der Diabetiker  $\pm$  SE während des Sham Feeding Tests im Vergleich zu den Gesunden.

### 3.7.1.3. PYY

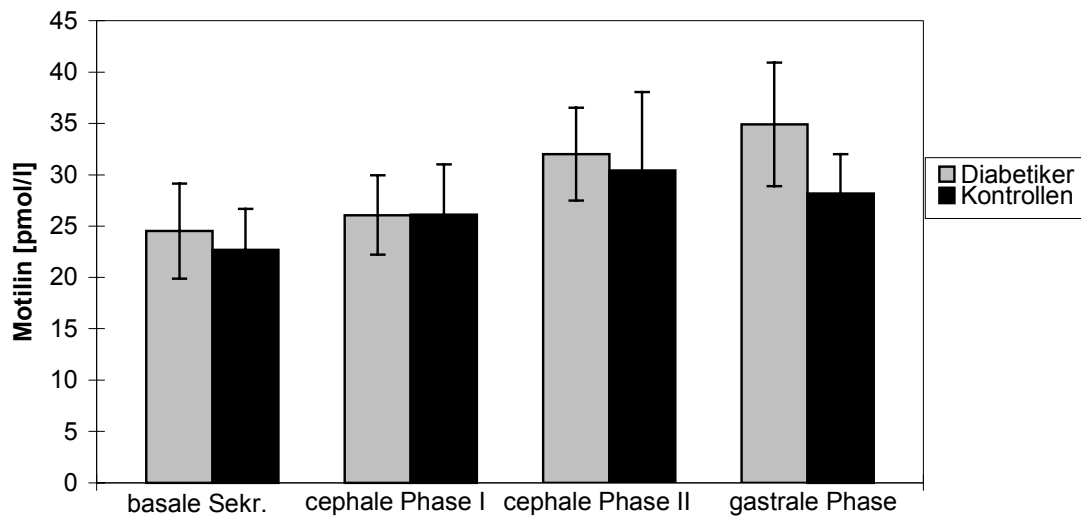
Die basale Sekretion von PYY war bei den Diabetikern im Vergleich zur Kontrollgruppe nur geringfügig verringert. In der darauffolgenden cephalen Phase I war die PYY-Konzentration in der Gruppe der Diabetiker jedoch signifikant vermindert. Dieser Unterschied war allerdings in der cephalen Phase II und der gastralen Phase nicht mehr in gleicher Höhe nachweisbar.



**Abb.12** Mittelwerte der PYY-Plasmakonzentration der Diabetiker  $\pm$  SE während des Sham Feeding Tests im Vergleich zu den Gesunden \* $p < 0,01$ .

### 3.7.1.4. Motilin

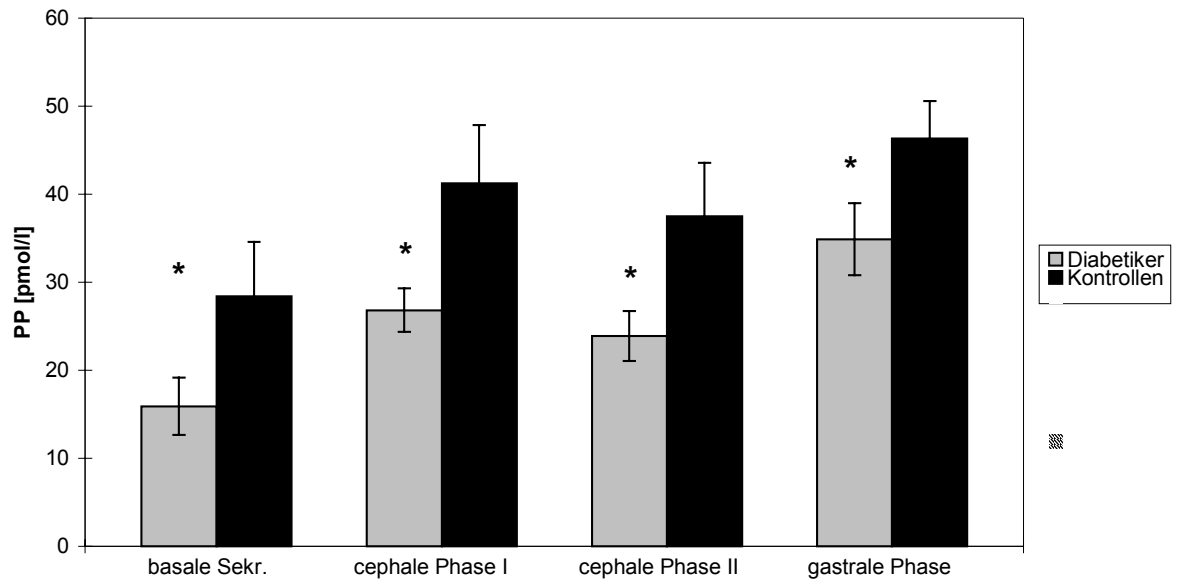
Wie beim Somatostatin konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Motilinwerten der Gesunden und den Werten der Diabetiker während des Sham Feeding Tests festgestellt werden. Allerdings fiel auf, daß die basalen Werte, sowie die Werte der gastralen Phase und cephalen Phase II der Diabetiker geringfügig über den Werten der Kontrollgruppe lagen (s.Abb.13).



**Abb. 13** Mittelwerte der Motilinplasmakonzentration der Diabetiker  $\pm$  SE während des Sham Feeding Tests im Vergleich zu den Gesunden.

### 3.7.1.5 Pankreatisches Polypeptid (PP)

Die Plasmakonzentrationen des Pankreatischen Polypeptids der Diabetiker waren während aller Phasen des Sham Feeding Tests signifikant geringer als die PP-Werte der Probanden.



**Abb. 14** Mittelwerte der PP-Plasmakonzentration der Diabetiker  $\pm$  SE während des Sham Feeding Tests im Vergleich zu den Gesunden  $*p \leq 0,05$ .

### 3.7.2. Freisetzung der Peptidhormone in Abhängigkeit von der Diabetesdauer

#### 3.7.2.1. Ergebnisse

Wie schon bei den Pankreasenzymuntersuchungen wurden die Diabetiker in 2 Gruppen unterteilt und die Mittelwerte der verschiedenen Phasen miteinander verglichen. Die Gruppe A der Kurzzeit-Diabetiker bestand aus Patienten mit einer Diabetesdauer von 1 - 10 Jahren (Mittelwert 5,5 Jahre, n = 6), die Gruppe der Langzeit-Diabetiker wurde von Patienten mit einer Erkrankungsdauer zwischen 11 und 29 Jahren (Mittelwert 18,3 Jahre, n = 6) gebildet. Dabei ergab der Vergleich der Plasmahormonkonzentrationen von GLP-1, Somatostatin und PYY keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Bei diesen Hormonen lagen die Werte der Kurzzeit-Diabetiker jedoch insgesamt geringfügig über denen der Langzeit-Diabetes-Gruppe.

#### Tabelle 6

Mittlere Hormonplasmakonzentrationen in Abhängigkeit von der Diabetesdauer

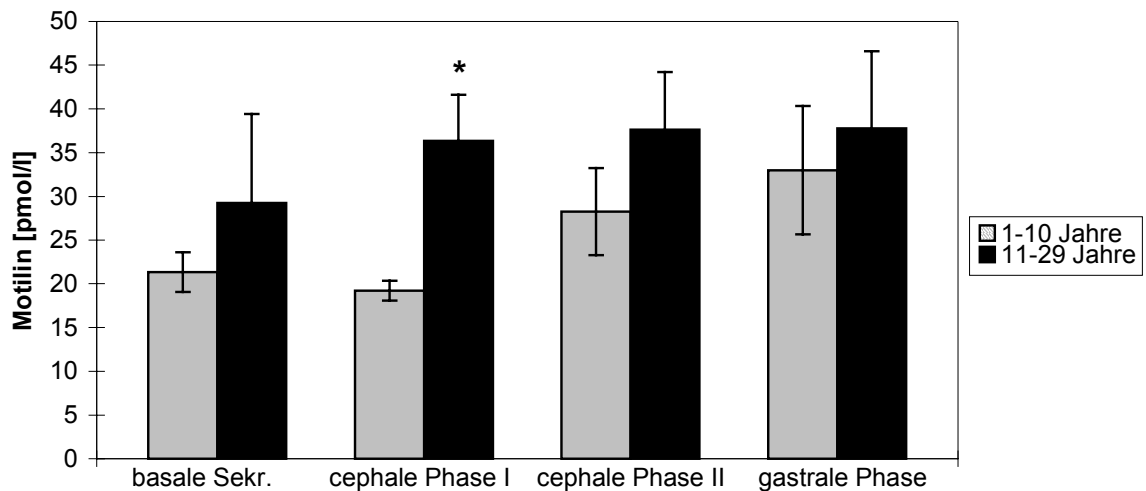
<b>Hormon [pmol/l]</b>	<b>Patienten</b>	<b>Basale Sekr</b>	<b>Cephale Phase I</b>	<b>Cephale Phase II</b>	<b>Gastrale Phase</b>
<b>GLP-1</b>	<b>1 - 10 Jahre</b>	8,00 ± 1,62	9,06 ± 2,14	8,00 ± 1,71	9,00 ± 1,49
	<b>11 - 29 Jahre</b>	5,75 ± 1,11	5,58 ± 1,58	5,38 ± 1,55	6,25 ± 2,02
<b>Somato- statin</b>	<b>1 - 10 Jahre</b>	4,67 ± 0,33	4,39 ± 0,26	5,17 ± 0,31	4,75 ± 0,73
	<b>11 - 29 Jahre</b>	4,5 ± 0,21	4,83 ± 0,45	5,25 ± 0,26	5,00 ± 0,33
<b>PYY</b>	<b>1 - 10 Jahre</b>	8,83 ± 2,30	7,25 ± 1,03	9,25 ± 1,50	8,5 ± 1,20
	<b>11 - 29 Jahre</b>	7,75 ± 1,31	7,5 ± 1,70	7,13 ± 0,83	4,67 ± 2,52

*Mittelwerte ± SE der Gruppe A (Kurzzeit-Diabetiker) und B (Langzeit-Diabetiker).*



### 3.7.2.2. Diabetesdauer und Motilin

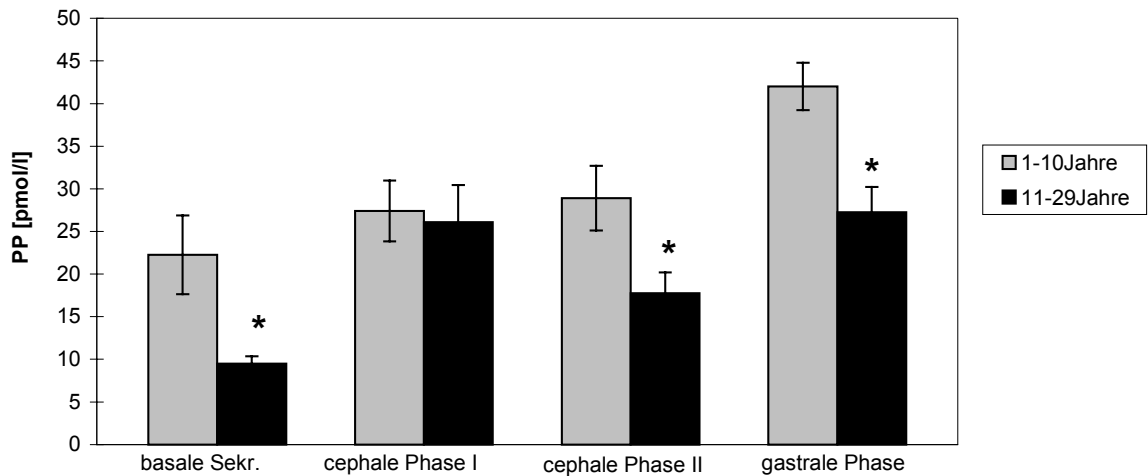
Die Motilinwerte der Patienten mit längerer Diabetesdauer waren während des gesamten Sham Feeding Tests höher als die Werte der Kurzzeit-Diabetiker. In der cephalen Phase I war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen signifikant ( $p = 0,0047$ ) (s.Abb.15).



**Abb. 15** Vergleich der Motilinplasmakonzentration der Diabetiker mit 1-10 und 11-29 Jahren Diabetesdauer während des Sham Feeding Tests; Mittelwerte  $\pm$  SE, \* $p < 0,05$  vs. Kurzzeit-Diabetiker.

### 3.7.2.3. Diabetesdauer und Pankreatisches Polypeptid (PP)

Die PP-Werte der Patienten mit längerer Diabetesdauer waren während des gesamten Sham Feeding Tests niedriger als die Werte der Kurzzeit-Diabetiker. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war schon bei der basalen Sekretion signifikant (\* $p = 0,05$ ), auch während der cephalen Phase II und der gastralen Phase fanden sich signifikant erniedrigte PP-Werte in der Gruppe der Langzeit-Diabetiker gegenüber der Gruppe der Kurzzeit-Diabetiker.



**Abb. 16** Vergleich der PP- Plasmakonzentration der Diabetiker mit 1-10 und 11-29 Jahren Diabetesdauer während des Sham Feeding Tests; Mittelwerte  $\pm$  SE, \* $p < 0,05$  vs. Kurzzeit-Diabetiker.

### 3.7.3. Freisetzung der Peptidhormone in Abhängigkeit von der Diabeteseinstellung

#### 3.7.3.1. Ergebnisse

Die Diabetiker wurden, wie schon im ersten Versuchsteil, in Gruppen nach ihren HbA<sub>1c</sub>-Werten eingeteilt. Der Gruppe I (n = 6) wurden alle Diabetiker mit einem HbA<sub>1c</sub>-Wert unter 10% zugeordnet (Mittel = 7,97%), zur Gruppe II (n = 6) gehörten nur Diabetiker mit einem HbA<sub>1c</sub>-Wert über 10% (Mittel = 12,86%).

Der Vergleich der beiden Diabetikergruppen mit guter bzw. schlechter Diabeteseinstellung ergab hinsichtlich der Hormonwerte keine signifikanten Unterschiede.

**Tabelle 7**

Mittlere Hormonplasmakonzentrationen in Abhängigkeit von der Diabetesdauer

<b>Hormon [pmol/l]</b>	<b>Patienten</b>	<b>Basale Sekr.</b>	<b>Cephale Phase I</b>	<b>Cephale Phase II</b>	<b>Gastrale Phase</b>
<b>GLP-1</b>	<b>Gruppe I</b>	7,67 ± 2,29	7,78 ± 2,45	7,90 ± 2,04	8,17 ± 1,29
	<b>Gruppe II</b>	6,25 ± 1,38	7,50 ± 2,33	5,50 ± 1,62	5,50 ± 1,50
<b>Somato- statin</b>	<b>Gruppe I</b>	4,50 ± 0,33	4,50 ± 0,33	5,08 ± 0,30	4,83 ± 0,40
	<b>Gruppe II</b>	4,75 ± 0,48	4,67 ± 0,49	5,37 ± 0,31	5,25 ± 0,48
<b>PYY</b>	<b>Gruppe I</b>	9,00 ± 2,31	7,06 ± 1,00	8,50 ± 1,65	8,33 ± 1,15
	<b>Gruppe II</b>	7,50 ± 1,19	7,79 ± 1,72	8,25 ± 0,60	5,00 ± 2,78
<b>Motilin</b>	<b>Gruppe I</b>	28,33 ± 6,48	23,78 ± 5,38	33,33 ± 6,85	37,17 ± 7,81
	<b>Gruppe II</b>	18,75 ± 2,32	29,50 ± 3,30	30,00 ± 1,76	31,50 ± 7,58
<b>PP</b>	<b>Gruppe I</b>	15,00 ± 3,01	26,53 ± 4,17	25,70 ± 5,55	37,50 ± 7,57
	<b>Gruppe II</b>	16,75 ± 6,79	27,17 ± 4,78	21,75 ± 4,33	31,75 ± 3,20

**Tab. 7** Mittelwerte ± SE der verschiedenen Hormone bei Diabetikern mit unterschiedlich guter Diabeteseinstellung während des Sham Feeding Tests

## 4. Diskussion

### 4.1. Veränderungen der exokrinen Pankreasfunktion bei Diabetes mellitus

Es gibt zahlreiche Hinweise darauf, daß die Funktion des exokrinen Pankreas über die insulino-aziniäre Achse durch die Inselzellhormone reguliert wird. Dem Insulin scheint eine besondere stimulatorische Rolle zuzukommen (Adler und Kern, (1975), Palla ,J.-C. (1968), Snook, J.T., (1968)).

Bei Patienten mit Typ 1 Diabetes kommt es zu einer Atrophie der B-Zellen des Pankreas und konsekutiv zu einem absoluten Mangel an Insulin. Veränderungen der exokrinen Pankreasfunktion bei Typ I-Diabetikern zu untersuchen, war ein Ziel unserer Studie. Um die exokrine Pankreassekretion von insulinpflichtigen Diabetikern in verschiedenen physiologischen Zuständen beurteilen zu können, erfolgte die Messung der Lipase- und Amylasewerte während graduierter endogener und exogener Stimulation des Pankreas.

Es wurde eine signifikante Verminderung der Lipasesekretion der Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zur Kontrollgruppe sowohl interdigestiv als auch während exogener Stimulation durch den SC-Test gefunden. Die Amylasesekretion war zwar bei den Patienten während des gesamten Versuchs geringer als bei der Kontrollgruppe der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Bei Korrelation der Enzymwerte mit der Diabetesdauer von weniger bzw. mehr als 10 Jahren, beobachteten wir signifikant niedrigere Werte in der Patientengruppe mit einer Diabetesdauer <10 Jahren sowohl bei der interdigestiven und der exogen stimulierten Amylasesekretion als auch bei der Lipasesekretion während starker endogener Stimulation.

Tierexperimentell konnte eine verminderte Amylasefreisetzung bei Streptozotocin- bzw. Alloxan-diabetischen Ratten festgestellt werden (Adler und Kern, (1975), Palla, J.-C.(1968), Snook, J.T. (1968)).

Korc et al. (1981) und Otsuki et al. (1982) konnten außerdem zeigen, daß dieser Effekt durch die Gabe von Insulin wieder reversibel ist. Dieses führten Unger und Söling 1971 auf die Beeinflussung der Transkription des Amylase-Gens durch Insulin zurück.

Mehrere Arbeitsgruppen beschrieben eine verminderte interdigestive und stimulierte Pankreasenzymsekretion bei insulinabhängigen Diabetikern (Chey et al. (1963), Frier et al. (1976), Lankisch et al. (1982), Domschke et al. (1975), Vacca et al. (1964), Skrha et al. (1981)). Allerdings beobachteten diese Arbeitsgruppen vor allem eine reduzierte Sekretion von Pankreasamylase, jedoch keine signifikante Verminderung der Lipasesekretion.

Im Gegensatz hierzu zeigte sich in unserer Studie die Amylasesekretion zwar in allen Versuchsteilen erniedrigt, die Differenz zu der Kontrollgruppe war aber nicht signifikant.

Dagegen fanden wir eine stark verminderte Lipasesekretion im Nüchternzustand und unter exogener Stimulation durch Sekretin und Pankreozymin. Auch Lankisch et al. (1982) beschrieben verminderte Lipasewerte bei Patienten mit juvenilem Diabetes. Semakula et al. beobachteten bei ihren Studien das Vorkommen sowohl von erniedrigten als auch von erhöhten Lipasewerten bei den Patienten.

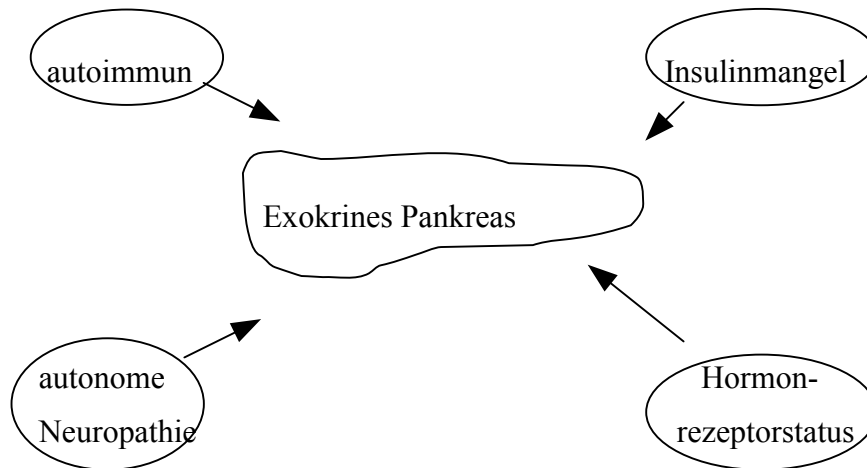
#### **4.1.1. Bedeutung der Hypoinsulinämie für die exokrine Pankreasfunktion**

Als Ursache für die Verminderung der Enzymsekretion wurden verschiedene Hypothesen aufgestellt. Domschke et al. sahen 1975 die Unterbrechung der endokrin-exokrinen Interaktion im Pankreas und das Fehlen des trophischen Effekts des Insulins bei Typ I-Diabetikern als Erklärung für die verminderte Amylasesekretion an. Sie stellten die Hypothese auf, daß durch systemische Gabe von Insulin nicht die hohen lokalen Konzentrationen im exokrinen Pankreasgewebe erreicht werden können, welche für eine normale Enzymsekretion erforderlich sind. Damit unterstützen sie Hendersons Hypothese von 1969, daß die hohe lokale Konzentration von Insulin bedingt durch das azinäre-portale-System und die Verteilung der B-Zellen im Pankreas für die Regulation der exokrinen Pankreasfunktion entscheidend ist.

In der vorliegenden Studie wurde eine zwar niedrigere, aber nicht signifikant verminderte Amylasesekretion bei Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zu Gesunden gefunden.

Tierexperimente haben gezeigt, daß die Amylasesekretion direkt unter Insulineinfluß steht. Die Insulintherapie bei Diabetikern könnte einer Verminderung der Amylasesekretion durch Insulinmangel entgegenwirken und so die ausreichende Amylasemenge im Fastenzustand und unter Stimulation gewährleisten. Dies widerspricht allerdings der Hypothese einer parakrinen Wirkung des Insulins über das acino-portale System von Domschke et al.. Ein zweiter Erklärungsansatz betrifft die Lokalisation der Amylase produzierenden Zellen im Pankreas. Es

wurde beschrieben, daß sich diese Zellen besonders im Inselzellen-umgebenden exokrinen Gewebe befinden. Die Beobachtung von Foulis et Stewart (1984), daß die Inseln mit einer residualen Insulinproduktion von normalem exokrinen Gewebe umgeben sind, könnte eine verminderte Zerstörung der Amylase produzierenden Zellen erklären.



Aetiopathogenese der exokrinen Pankreasinsuffizienz bei Diabetes mellitus

( frei nach Gröger und Layer (1995))

#### **4.1.2. Bedeutung immunologischer Phänomene für die Pankreasenzymsekretion bei Diabetes mellitus**

Ein anderer Erklärungsansatz ist eine simultane Schädigung des exokrinen und endokrinen Pankreasgewebes bei der Entstehung des Diabetes mellitus. Bei Patienten mit Typ I-Diabetes wurden Verfettung, Fibrosierung und Gewichtsreduktion sowohl der B-Zellen als auch des exokrinen Pankreas beschrieben (Nakanishi et al. (1993), Löhr et Klöppel (1986), Doniach et Morgan, (1973)). Gepts beschrieb 1965 bei 50% der Patienten mit einer Diabetesdauer von mehr als 2 Jahren ein verkleinertes Pankreas, allerdings nicht bei einer Krankheitsdauer von weniger als 6 Monaten. Foulis et Stewart konnten 1984 bei Patienten mit kurzer Diabetesdauer (< 6 Monate) normales exokrines Gewebe in der Umgebung von noch insulinproduzierenden Inselzellen nachweisen, kleinere atrophische Acini wurden in der Umgebung von Inselzellen ohne Insulinproduktion gefunden.

Foulis et Stewart beschrieben auch ein hohes Vorkommen von Insulinitis in Pankreata von Kindern mit einer Diabetesdauer unter zwei Jahren, diese konnte bei Pankreata von Kindern mit einer Diabetesdauer über 2 Jahren nicht mehr festgestellt werden. Es waren nur Inseln betroffen, welche B-Zellen enthielten, Inseln mit ausschliesslich D-Zellen, PP-Zellen, und A-Zellen zeigten keine Entzündung. Dandona et al. (1984) fanden eine verminderte Enzymsekretion bei Patienten mit neu aufgetretenem insulinabhängigem Diabetes mellitus Typ I. Diese Studien sprechen eher für eine simultane Schädigung des exokrinen und endokrinen Pankreas durch einen autoimmunologischen Prozeß und / oder eine virale Infektion als Ursache für die exokrine Pankreasdysfunktion bei Typ I-Diabetikern.

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Studien sprechen eher für eine simultane Schädigung des exogenen und endogenen Pankreasgewebes - z.B. durch einen autoimmunologischen Prozeß -, da die Enzymwerte der Langzeit-Diabetiker im Vergleich zu den Diabetikern mit kürzerer Diabetesdauer (<10 Jahren) höher waren. Die verbesserte Enzymsekretion bei längerer Diabetesdauer läßt auf eine mögliche Regeneration des exokrinen Pankreas bei Abnahme der inflammatorischen Aktivität mit zunehmender Dauer des Diabetes schließen (Foulis et Stewart, (1984)) .

Die Verminderung der Lipasesekretion, sowohl im interdigestiven Zustand als auch während des modifizierten SC-Tests, allerdings nicht unter schwacher und starker endogener

Stimulation läßt verschiedene Erklärungsansätze zu. In den bisher durchgeführten Studien wurde die Enzymsekretion nur im interdigestiven Zustand oder nach exogener Stimulation durch einen modifizierten SC-Test untersucht. Die Enzymsekretion während abgestufter endogener Stimulation wurde bisher nicht untersucht.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie könnten durch eine Schädigung der exokrinen Pankreaszellen nach einer simultanen Schädigung des exokrinen und endokrinen Pankreas bei der Entstehung des juvenilen Diabetes durch einen autoimmunologischen Prozeß und / oder eine virale Infektion erklärt werden.

Die nahezu normale Lipasesekretion während der endogenen Stimulation läßt eine weitgehend normale Enzymsekretion auch unter physiologischen - digestiven - Bedingungen vermuten und erklärt den subklinischen Verlauf der Pankreasaffektion. Bei maximaler Pankreasstimulation reicht die verbliebene endogene Sekretionskapazität dann jedoch nicht mehr aus, und es zeigt sich ein signifikanter Unterschied zu den Normalprobanden.

#### **4.1.3. Bedeutung der autonomen Neuropathie für die exokrine Pankreasfunktion**

Die Aktivierung vagaler cholinergischer Fasern ist der bedeutsamste Mechanismus zur Steigerung der Pankreasenzymsekretion bei endogener Stimulation (Adler et al. (1992)). Deshalb ist auch eine gestörte Reizübertragung durch den Nervus Vagus bei autonomer Neuropathie als Ursache für die verminderte Enzymantwort denkbar. Die verminderte PP-Antwort im Sham Feeding Test spricht für eine Schädigung des Nervus Vagus und wird im Kapitel 4.4.1 ausführlicher diskutiert.



## **4.2. Einfluß der Diabetesdauer auf die exokrine Pankreasfunktion**

Es erscheint logisch, daß mit zunehmender Diabetesdauer die exokrine Pankreasfunktion der Diabetiker schlechter wird und somit die Enzymsekretion im Duodenalsaft abnimmt. Unsere Ergebnisse zeigten im Gegensatz zu einigen anderen Arbeitsgruppen (Chey et al. (1963), Domschke et al. (1975), Lankisch et al. (1982)) jedoch, daß sowohl die Lipase- als auch die Amylasewerte der Diabetiker mit einer Dauer von 1-10 Jahren signifikant niedriger als die der Patienten mit 11-29 Jahren Diabetesdauer waren; daß also mit längerer Diabetesdauer die Enzymsekretion wieder zunimmt. Frier fand 1976 ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Diabetesdauer und Verminderung der Enzymsekretion. Er beobachtete eine gerade gegensinnige Korrelation und beschrieb eine zunehmende Verminderung der Amylase- und Trypsinsekretion mit steigender Diabetesdauer. Allerdings wies der Aufbau der Studie einige Mängel auf, so wurde die Kontrollgruppe aus Patienten mit Magenschmerzen unklarer Genese rekrutiert, und die Enzymsekretion ohne Verwendung eines Verdünnungsmarkers abgeschätzt. Diese Mängel könnten die unterschiedlichen Ergebnisse von Frier erklären.

Als Erklärung für die vorliegenden Ergebnisse könnte die langsame Regeneration des exokrinen Pankreasgewebes nach vormaliger Zerstörung durch einen das endokrine und exokrine Pankreas betreffenden Entzündungsprozeß dienen (Foulis et al. (1984)). Bei der Amylasesekretion ließ sich unter graduierter Stimulation eine stetige Zunahme der Differenz zwischen den beiden Gruppen beobachten, welche dann im SC - Test einen signifikanten Wert erreichte. Dieser Verlauf könnte sich aus der großen funktionellen Residualkapazität des Pankreas erklären, welche dafür verantwortlich ist, daß erst eine Zerstörung von über 90% des Gewebes zu einer klinisch apparenten Verminderung der Enzymsekretion und zur Maldigestion führt (Lankisch et al. (1973); Di Magno et al. (1972)).

Bei dem Verlauf der Mittelwerte der Lipase in den einzelnen Phasen fällt auf, daß es bei den Diabetikern mit längerer Diabetesdauer zu einem steilen Anstieg der Sekretion mit einem Maximum im Versuchsteil mit stärkerer endogener Stimulation kommt. Hier ist der Unterschied zwischen den beiden Diabetikergruppen signifikant. Danach kommt es zu einem Abfall der Lipasesekretion in der Gruppe der 'Langzeit-Diabetiker'.

Eine mögliche Erklärung wäre zum einen - wie schon bei der Amylasesekretion - die langsame Regeneration des exokrinen Pankreasgewebes nach vormaliger Zerstörung durch einen das endokrine und exokrine Pankreas betreffenden Entzündungsprozeß, zum anderen wäre eine Hochregulation von Rezeptoren zusätzlich zur Verminderung der exokrinen Zellzahl denkbar, welche zu einem beschleunigten Anstieg der Lipasesekretion aber auch zu einer Erschöpfung des Systems bei maximaler exogener Stimulation führen kann.

### **4.3. Einfluß der Diabeteseinstellung auf die exokrine Pankreasfunktion**

Sowohl Domschke et al. (1975) als auch Chey et al. (1963) fanden, daß die Enzymsekretion der Diabetiker unabhängig vom Insulinverbrauch war. Domschke verglich sogar die Enzymwerte der Patienten unter 24h Insulinkarenz mit denen 2h nach Insulingabe und konnte keine Veränderungen feststellen.

Der HbA<sub>1</sub>-Wert diente als Parameter für die Diabeteseinstellung in den letzten Wochen vor Versuchsbeginn der vorliegenden Studie. Es fand sich außer einer signifikant verminderten Amylasesekretion bei den Patienten mit besserer Diabeteseinstellung im interdigestiven Zustand auch bei dieser Studie kein Einfluß der Diabeteseinstellung auf die exokrine Pankreasfunktion.

#### **4.4. Mögliche intermediäre Mechanismen**

Unter physiologischen Bedingungen wirken zahlreiche stimulatorische und inhibitorische Regulationsmechanismen auf die Pankreassekretion. Es finden sich nervale, hormonale und parakrine Mediatoren der Pankreassekretion. Die Pankreassekretionsantwort auf eine Mahlzeit kann in eine cephal, gastrale und intestinale Phase gegliedert werden. Unter physiologischen Bedingungen überlappen sich diese einzelnen Phasen.

Nach heutigem Kenntnisstand stellen die Nn. Vagi die wesentlichsten (wenn auch nicht ausschließlichen) Vermittler für eine zentrale Stimulation der Pankreassekretion dar (Adler et al. (1991)). Koop et al. beobachteten einen Anstieg der PP-Konzentration während eines modifizierten Sham Feeding Tests und fanden außerdem, daß durch Gabe von Propanolol der frühe steile Anstieg der PP-Konzentration nicht aber der später erfolgende prolongierte Anstieg verhindert wird. Katschinski et al. (1991) untersuchten den Einfluß des Sham Feeding Tests auf Pankreassekretion, PP-Konzentration und antrale Motilität, sie stellten fest, daß durch die Chew and Spit-Technik alle untersuchten Parameter anstiegen und, daß durch die Gabe eines Cholecystokin (CCK)-Antagonisten die PP-Konzentration und antrale Motilität, nicht aber die Pankreasenzymsekretion vermindert wurde.

Ziel des modifizierten Sham Feeding Tests im Rahmen der vorliegenden Studie war es, den Einfluß des Diabetes auf die Freisetzung relevanter regulatorischer gastrointestinaler Peptidhormone bei vagaler Stimulation zu beleuchten und so gleichzeitig die Funktion des N. Vagus zu erfassen.

##### **4.4.1. Pankreatisches Polypeptid**

Schwartz et al. beschrieben 1979 einen steilen Anstieg der PP-Konzentration während des modifizierten Sham Feeding Testes, welcher durch Gabe von Atropin oder Vagotomie komplett reversibel war.

Die prolongierte PP-Antwort nach einer Mahlzeit konnte allerdings nur durch Vagotomie und Antrektomie komplett aufgehoben werden (Schwartz, T.W. (1976)). Für die starke vagale Kontrolle des frühen PP-Anstiegs spricht auch die Tatsache, daß eine PP-Antwort auf eine

Mahlzeit schon nach wenigen Minuten erfolgt (Schwartz, T.W. (1983)). Koop et al. bestätigten diese Beobachtungen und fanden, daß die frühe Phase der PP-Sekretion nach cephaler Stimulation zusätzlich durch adrenerge Mechanismen moduliert wird (siehe auch Abschnitt 4.4.5).

Adrian et al. fanden 1977 widersprüchliche Befunde. Vagotomie führte bei ihren Versuchen zu einer fehlenden PP-Antwort nach Hypoglykämie; die PP-Antwort auf eine Mahlzeit wurde jedoch nicht signifikant vermindert. Schwartz stellte außerdem heraus, daß nach einem modifizierten Sham Feeding Versuch bei gesunden Probanden die PP-Konzentration noch über Stunden hinweg erhöht blieb, auch wenn der Versuch selber nur 15 Minuten dauerte. Diese prolongierte Erhöhung ließ sich auch nach selektiver Vagotomie nach einer gewissen Regenerationszeit wieder feststellen. Es ist deshalb vermutet worden, daß man die postprandiale PP-Freisetzung in eine initiale cephalere Phase, welche komplett unter vagaler Kontrolle steht, und eine folgende intestinale Phase, in welcher Peptidhormone wahrscheinlich die cholinerge Regulation der PP-Freisetzung modulieren, einteilen kann.

Hossdorf et al. untersuchten 1988 Patienten mit Typ I-Diabetes mit oder ohne diabetische Polyneuropathie. Nach Gabe einer Mahlzeit blieben die postprandialen PP- Werte in der Gruppe der Patienten mit Diabetes mellitus und autonomer Polyneuropathie niedrig. Die autonome Polyneuropathie war anhand von abnormen Pulsfrequenzvariationen während tiefer Inspiration und Valsalva Manöver festgestellt worden. Die basalen PP-Werte der Diabetiker und der gesunden Kontrollgruppe waren dagegen nicht signifikant verschieden.

Buyschaert et al. (1985) bestätigten diese Befunde in ihren Studien. Außerdem fanden sie vergleichbare PP-Anstiege nach einer Pentagastrin-Infusion (ein nicht-vagaler Stimulus der PP-Sekretion) sowohl bei den Diabetikern mit als auch bei denen ohne autonome Polyneuropathie im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe. Dieses zeigte, daß die PP-produzierenden Zellen auch bei Diabetikern mit autonomer Polyneuropathie bei nicht neuralem Reiz zur PP- Ausschüttung fähig sind. Allerdings rekrutierten Buyschaert et al. ihre Patienten aus Typ I- und Typ II-Diabetikern. Auch Rasmussen et al. fanden 1995 eine Verminderung der postprandialen PP-Freisetzung bei Typ I-Diabetikern, zusätzlich stellten sie heraus, daß diese Verminderung unabhängig von kurzfristigen metabolischen Änderungen, wie Hyperglykämie, war.

Glasbrenner et al. stellten im Gegensatz dazu 1995 eine Erhöhung der basalen sowie der postprandialen PP-Werte bei Diabetikern ohne autonome Polyneuropathie fest. Bei Patienten mit autonomer Polyneuropathie waren die PP-Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe unverändert. Als Ursache für diese Befunde sahen sie die fehlende Korrelation zwischen PP- und Cholecystokin-Anstieg bei Diabetikern an.

In einer weiteren Untersuchung bestätigten Glasbrenner et al. (1995) bestätigten sie allerdings die Befunde von Hossdorf et al. (1988), und berichteten über eine Erniedrigung der PP-Werte bei Patienten mit Diabetes mellitus während eines modifizierten Sham Feeding Versuches. Wie schon andere Arbeitsgruppen zuvor stellten sie fest, daß bei Diabetikern mit autonomer Polyneuropathie der Anstieg der PP-Konzentration während eines modifizierten Sham Feeding Versuchs deutlich niedriger war als bei Patienten ohne Polyneuropathie. Allerdings konnten sie keine direkte Korrelation zwischen der Stärke der Erniedrigung der PP-Konzentration und der autonomen Polyneuropathie feststellen. Meneilly erhielt 1996 bei seinen Studien an Menschen mit autonomer Polyneuropathie ohne Diabetes mellitus widersprüchliche Ergebnisse: Er fand eine Korrelation zwischen einer fehlenden PP-Antwort auf Hypoglykämie und einer subnormalen Pulsvariation auf Valsalva-Manöver als Zeichen einer autonomen Polyneuropathie.

Krarpup et al. untersuchten 1983 Patienten mit Typ I-Diabetes mellitus in Bezug auf den Einfluß einer residualen B-Zellfunktion auf den PP-Anstieg während einer Hypoglykämie. Sie fanden, daß der PP- Anstieg bei Patienten ohne residuale B-Zellfunktion signifikant niedriger als bei Patienten mit residualer B-Zellfunktion ist.

Layer et al. beschrieben 1989 einen moderaten Anstieg der PP-Konzentration nach der Ingestion von 200 ml Wasser bei gesunden Probanden. Dieser Anstieg war bei Patienten mit nicht-insulinpflichtigem Diabetes mellitus nicht vorhanden

Zur Funktion des Pankreatischen Polypeptids ist wenig bekannt. Henderson et al. beobachteten 1980, daß PP ein starker Inhibitor der exokrinen Pankreasfunktion - besonders der Sekretion von Bikarbonat und Trypsin - ist.

In der vorliegenden Studie wurden erniedrigte PP-Plasmakonzentrationen bei Diabete mellitus sowohl basal als auch während des Sham Feeding Tests und nach Ingestion von 300ml Wasser beobachtet. Dies bestätigt die Ergebnisse der oben genannten Studien, welche eine Verminderung der PP-Werte bei Patienten mit Diabetes mellitus sowohl basal als auch nach cephaler Stimulation beschrieben.

Ursachen könnten zum einen die Schädigung des Reflexbogens sein, welcher zur PP-Freisetzung führt, zum anderen läßt sich eine Dysfunktion der PP-sezernierenden Zellen nicht ausschließen. Es wird allgemein eine vagale Steuerung der frühen PP-Freisetzung postuliert (Schwartz et al. (1979) Adler et al. (1991)); eine autonome Polyneuropathie mit einer Schädigung des Nervus Vagus, wie sie bei Diabetikern häufig auftritt, könnte demnach für die von uns beobachtete Erniedrigung der PP-Freisetzung verantwortlich sein. Klinisch hatten nur zwei unserer Patienten Zeichen einer Polyneuropathie, beide gehörten zur Gruppe mit längerer Diabetesdauer, die übrigen Patienten boten weder Symptome einer peripheren noch einer autonomen Neuropathie.

Die Beobachtungen, daß die Patienten mit längerer Diabetesdauer (>10 Jahre) signifikant niedrigere PP-Werte basal, während der cephalen Phase II und der gastralen Phase im Vergleich mit den Diabetikern mit kürzerer Diabetesdauer (<10 Jahre) hatten, deuten auf einen Zusammenhang zwischen den von uns gefundenen erniedrigten Werten und einer eventuell vorhandenen subklinischen autonomen Neuropathie hin, da die Wahrscheinlichkeit einer autonomen Polyneuropathie mit zunehmender Diabetesdauer größer wird.

#### **4.4.2. GLP - 1**

GLP - 1 wird von vielen Arbeitsgruppen als das Inkretin angesehen, welches bei oraler Glukoseaufnahme zur gesteigerten Insulinproduktion führt ( Fehmann H.C. et al. (1995), Orskov et al. (1992)/(1996), D'Alessio et al.(1995), Wettergren et al. (1994), Holst et al. (1994), Kreymann et al. (1987)). Ein Einfluß des Diabetes auf die Konzentration des GLP -1 wäre also bei einer solch engen Verbindung zum endokrinen Pankreas nicht verwunderlich. Tatsächlich konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Diabetikern und Kontrollgruppe in den Proben 15 bzw. 30 Minuten nach der Beendigung des Chew and Spit Versuchs (cephale Phase II) und nach Ingestion von 300 ml Wasser (gastrale Phase) gefunden werden. Bei der Kontrollgruppe konnte in diesen Phasen ein leichter Anstieg der GLP – 1-Konzentration beobachtet werden. Dieser blieb bei den Diabetikern aus. Der Anstieg war mit einem Mittel von 2 pmol/l allerdings viel geringer ausgeprägt als der Anstieg, welcher z.B. von Orskov et al. (1996) 30min nach einer Mahlzeit beschrieben wird.

Es bleibt bisher unklar, welcher Mechanismus für die Vermittlung dieses postprandialen GLP-1 Anstieges verantwortlich ist. Orskov et al. (1996) nimmt an, daß dieser hauptsächlich

durch die Anwesenheit von unverdauten Nahrungsbestandteilen im unteren Jejunum oder Ileum ausgelöst wird. Allerdings widerspricht die Tatsache, daß GLP-1-Anstiege schon 5 Minuten nach der Aufnahme einer Mahlzeit von Hermann. et al. (1995) beobachtet wurden, dieser Annahme. Zu diesem Zeitpunkt ist das Vorkommen von Nährstoffanteilen in diesen Darmabschnitten unwahrscheinlich.

Zusätzlich könnte die GLP-1-Freisetzung hormonell oder neuronal stimuliert werden. Für letzteres würde ein Anstieg des GLP-1 während des Sham Feeding Tests sprechen. Der Anstieg in der Kontrollgruppe ist jedoch zu gering, um eine entscheidende Rolle der cephalen Stimulation bei der Freisetzung des GLP-1 darzustellen. Die von Hermann et al. (1995) beobachtete Atropin-Unabhängigkeit der GLP-1-Freisetzung spräche ebenso dagegen, wie das von Nauck M. (1995) beobachtete Phänomen, daß die GLP-1- Freisetzung auch durch Reanastomosen des Jejunums ( mit Unterbrechung aller Nervenstränge) nicht beeinflusst wird.

Die signifikante Verminderung der GLP-1-Plasmakonzentration bei Patienten mit Typ I Diabetes mellitus könnte ihre Ursache auch in einer verminderten Empfindlichkeit gegenüber einem durch die Nahrungsaufnahme ausgelösten Stimulus haben. Sowohl durch die Hyperglykämie und den endogenen Insulinmangel der Diabetiker, als auch eine mögliche Erhöhung von unverdauten Nahrungsbestandteilen im Jejunum bei verminderter Enzymsekretion (siehe erster Versuchsteil), könnte ein verstärkter Reiz auf die L- Zellen zur GLP-1-Produktion und -Freisetzung ausgeübt werden. Eine verminderte bzw. nicht vorhandene Antwort auf einen sehr schwachen Reiz könnte somit durch eine Herunterregulation der Rezeptoren dieser Zellen erklärt werden

#### **4.4.2. PYY**

PYY ist ein ileocolisches Peptid, von welchem bekannt ist, daß es die postprandiale und Cholecystokinin induzierte exokrine Pankreassekretion bei Ratten hemmt (Robinson et al. (1996)). Dieser Effekt konnte allerdings durch Adrian et al. (1985) und Grandt et al. (1995) beim Menschen nicht bestätigt werden, sie fanden aber, daß die Pentagastrin-stimulierte Magensäuresekretion und Pepsinfreisetzung durch PYY signifikant vermindert wurde.

Auch die Inhibition der glukosestimulierten Insulinsekretion durch PYY, welche bei Versuchstieren gefunden wurde (Bertrand et al. (1992)), konnte bei Studien am Menschen mit iv. PYY-Gabe nicht bestätigt werden. Allerdings konnte ein parakriner Effekt des PYY auf intra-insuläre Regulationsmechanismen oder ein Einfluß auf die insulinotrope Wirkung

anderer Insulinanaloga nicht ausgeschlossen werden, da lediglich die Wirkung von intravenös verabreichtem PYY auf die Insulinausschüttung untersucht wurde.

Die bei den Versuchstieren beschriebenen Wirkungen des PYY würden einen Einfluß des Diabetes mellitus auf die PYY-Sekretion erwarten lassen. Aus diesem Grunde wurde in der vorliegenden Studie die PYY-Sekretion sowohl im ersten Versuchsteil unter verschiedenen Stimulationsintensitäten als auch während des Sham Feeding Tests untersucht.

Der Sham Feeding Test zeigte eine signifikante Verminderung der PYY-Sekretion in der cephalen Phase I bei der Gruppe der Typ I Diabetiker .

In dieser Phase wurde ein Reiz auf den Nervus Vagus durch Riechen und Schmecken der Speise ausgeübt. FU- Cheng fand 1995, daß der Nervus Vagus und nikotinerge Synapsen eine große Rolle bei der schnellen postprandialen PYY-Freisetzung bei Ratten spielen.

Eine Schädigung des Nervus Vagus durch eine autonome Polyneuropathie der Diabetiker würde demnach eine Erklärung für die von uns beobachtete signifikante Minderung der PYY-Werte unter vagaler Stimulation darstellen. Allerdings spräche sowohl die normale PYY-Sekretion in der gastralen Phase des Versuchs, als auch der fehlende Einfluß von Diabetesdauer und -einstellung gegen eine solche Hypothese. Pedersen-Bjergaard et al. beschrieben jedoch in ihrer Veröffentlichung von 1996, daß die PYY Konzentration beim Menschen nicht durch Dehnung des Magens beeinflusst würde. Sie fanden einen starken Anstieg von PYY nach einer kohlenhydrat- bzw. proteinreichen Mahlzeit. Eine fettreiche Mahlzeit hatte nur einen weniger ausgeprägten Anstieg zur Folge. Diese Ergebnisse könnten den fehlenden Anstieg in der gastralen Phase mit akalorischer Dehnung des Magens durch Wasser erklären. Insgesamt ist die Rolle des PYY bei der menschlichen Verdauung bislang noch unzureichend erforscht. Erst eine genaue Klärung der Freisetzungsmechanismen und der Wirkung des PYY auf das Pankreas, kann eine Erklärung für die in der vorliegenden Studie beobachtete Verminderung der PYY- Sekretion bei Patienten mit Typ I Diabetes mellitus erbringen.



#### **4.4.3. Somatostatin**

Beim Sham Feeding Test konnte in keiner der 4 Phasen eine signifikante Veränderung der Somatostatinkonzentration - weder bei Patienten noch Probanden - festgestellt werden. D'Alessio beschrieb schon 1989, daß die Somatostatinsekretion des Magen-Darm-Trakts nicht durch Aufnahme von Wasser stimuliert werden konnte. Diese Beobachtung wird durch den fehlenden Anstieg in der gastralen Phase der hier vorliegenden Studie bestätigt.

Schusdziarra faßte 1983 den Einfluß des Nervus Vagus auf die Somatostatinsekretion bei verschiedenen Spezies zusammen; Versuche mit Hunden, welche eine Mahlzeit sehen und riechen, aber nicht fressen konnten, ergaben zwar einen kurzen Anstieg der Plasmaspiegel von Insulin und Glukagon, die Somatostatinkonzentration blieb jedoch unverändert. Diese Unabhängigkeit von der vagalen Stimulation würde nach den hier zuvor gezeigten Ergebnissen auch auf den Menschen zutreffen.

Schusdziarra beschrieb ebenfalls 1983, daß mehrere Arbeitsgruppen einen hemmenden Einfluß des Somatostatins auf die exokrine und endokrine Pankreasfunktion nachgewiesen haben. Die Beobachtung einer im Vergleich zu Normalprobanden unveränderten Somatostatinkonzentration bei den Typ I-Diabetikern, unabhängig von Dauer und Einstellung des Diabetes mellitus, läßt jedoch Somatostatin als Mediator der verminderten Enzymproduktion des exokrinen Pankreas unwahrscheinlich erscheinen.

#### **4.4.4. Motilin**

Beim Sham Feeding Test konnte von uns ein Anstieg der Plasma-Motilinwerte während der ersten und zweiten cephalen Phase des Versuchs beobachtet werden. Die Werte der Patienten lagen dabei nicht signifikant über denen der Probanden. Die Aussage von Imura et al. 1980, welcher erhöhte Motilinwerte bei Diabetikern fand, konnte somit grundsätzlich nicht bestätigt werden. Sein Patientenkollektiv bestand jedoch aus Patienten mit Altersdiabetes. In der cephalen Phase I, während des 'Chew and Spit-Versuchs', konnte eine signifikante Erhöhung des Plasma-Motilinwerte bei den Patienten mit längerer Diabetesdauer beobachten werden. Sowohl Kawagishi et al. (1993) als auch Nilsson et al. (1995) beobachteten erhöhte Motilinwerte bei Diabetikern mit autonomer Polyneuropathie. Dabei fand Kawagishi

interessanterweise eine negative Korrelation zwischen der Erhöhung der Motilinwerte und der Magenentleerungsgeschwindigkeit. Er begründete dies damit, daß die reaktive Erhöhung des Motilins vom Ausmaß der Gastroparese abhängig sei.

Die Erhöhung der Plasma-Motilinspiegel könnte auf eine autonome Neuropathie zurückzuführen sein, da diese mit steigender Diabetesdauer an Häufigkeit und Intensität zunimmt. Hiermit im Einklang steht auch die verminderte PP-Antwort während des Sham Feeding Versuchs, welche ebenfalls als Hinweis auf eine Schädigung des Nervus Vagus durch eine subklinische diabetische autonome Polyneuropathie angesehen werden kann.

## Resümee

Es ist beschrieben worden, daß die Pankreasenzymsekretion bei Patienten mit insulin-abhängigem Diabetes mellitus sowohl interdigestiv als auch während eines modifizierten SC-Tests vermindert ist. Über den Zusammenhang zwischen Alter der Patienten bei Diagnosestellung, Dauer und Einstellung des Diabetes und den Veränderungen der exokrinen Pankreasfunktion gibt es widersprüchliche Studien.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die exokrine Pankreasfunktion bei insulinpflichtigen Diabetikern detailliert in Abhängigkeit vom Stimulationszustand (nüchtern, endogen und exogen stimuliert) und der Dauer und Einstellung des Diabetes mellitus zu untersuchen. Um die Ursache einer veränderten exokrinen Pankreasfunktion genauer beurteilen zu können, untersuchten wir außerdem verschiedene gastrointestinaler Hormone unter cephaler und gastraler Stimulation.

Es wurden gesunde, nüchterne Probanden und Patienten mit Typ I-Diabetes mit einer oro-jejunalen Multilumensonde intubiert, über die eine kontinuierliche, manometrische Motilitätsmessung, Perfusion von Test- und Markerlösungen und Aspiration von Lumeninhalt aus Magen und Duodenum erfolgte. Im aspirierten Darmsekret wurden die Pankreasenzyme Amylase und Lipase gemessen.

Im zweiten Versuchsteil wurde ein modifizierter Sham Feeding Test mit 'Chew and Spit-Technik einer definierten Mahlzeit durchgeführt. In den regelmäßig gewonnenen Plasmaproben wurden die Hormone Pankreatisches Polypeptid, Motilin, Peptid YY, Somatostatin und Glukagon-like Peptide-1 bestimmt.

Es zeigte sich eine signifikante Verminderung der Lipasesekretion der Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zur Kontrollgruppe sowohl interdigestiv als auch während exogener Stimulation durch den SC-Test. Die Amylasesekretion war zwar bei den Patienten während des gesamten Versuchs geringer als bei der Kontrollgruppe, der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Bei Korrelation der Enzymwerte mit der Diabetesdauer von weniger bzw. mehr als 10 Jahren, fanden sich signifikant niedrigere Werte in der Patientengruppe mit einer Diabetesdauer <10 Jahren sowohl bei der interdigestiven Amylasesekretion und während des SC-Tests als auch bei der Lipasesekretion während starker endogener Stimulation.

Während des Sham Feeding Tests konnte ein leichter Anstieg der GLP-1 Konzentration in der Kontrollgruppe beobachtet werden. Dieser fehlte bei den Patienten mit Diabetes mellitus

nahezu vollständig, der Unterschied war nach cephaler Stimulation und Ingestion von 300ml Wasser signifikant.

Die PP-Konzentrationen waren während des gesamten Sham Feeding Tests bei den Patienten signifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe. Bei der Korrelation mit der Diabetesdauer fanden sich signifikant erniedrigte PP-Werte bei den 'Langzeit-Diabetikern (>10 Jahre Diabetesdauer) sowohl basal als auch nach cephaler bzw. gastral Stimulation. Außerdem waren die Motilinwerte in der Gruppe mit längerer Diabetesdauer erhöht.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen damit die Befunde verschiedener anderer Arbeitsgruppen, daß die exokrine Pankreassekretion bei Typ I-Diabetes vermindert ist. Es konnte durch abgestufte Stimulation gezeigt werden, daß die verschiedenen Pankreasenzyme hiervon in Abhängigkeit vom Stimulationszustand (endogen/exogen) in unterschiedlichem Ausmaß betroffen sind: die Lipasesekretion deutlicher als die der Amylase.

Die Verbesserung der Pankreassekretion bei Diabetikern mit längerer Diabetesdauer könnte auf eine simultane Schädigung des exokrinen und endokrinen Pankreas durch einen möglicherweise zurückliegenden autoimmunologischen Prozeß und eine anschließende langsame Regeneration des exokrinen Pankreasgewebes hindeuten.

Die gefundenen Veränderung der Plasmakonzentrationen des PP, GLP-1 und Motilin, sprechen am ehesten für eine Schädigung des Nervus Vagus im Rahmen einer diabetischen autonomen Polyneuropathie.

In welchem Rahmen verschiedene Ursachen bei der Entstehung der exokrinen Dysfunktion bei Diabetikern zusammenhängen, erfordert weitere Studien über die pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen exokriner Pankreasfunktion und Diabetes mellitus.

## 5. Zusammenfassung

### Hintergrund und Ziele:

Die bisher veröffentlichten Befunde zur exokrinen Pankreasfunktion bei Diabetikern sind widersprüchlich, lassen aber eine verminderte exokrine Pankreasfunktion vermuten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die exokrine Pankreasfunktion detailliert in Abhängigkeit vom Stimulationszustand des Pankreas und unter Berücksichtigung von Diabetesdauer und -einstellung zu untersuchen. Darüber hinaus erfolgte die Bestimmung gastrointestinaler Hormone (PP, PYY, SST, Motilin), welche als mögliche Mediatoren in Betracht kommen.

### Methodik:

12 Patienten mit Typ I-Diabetes mellitus (IDDM) und 6 gesunde Probanden wurden am ersten Versuchstag mit einer Multilumensonde intubiert. Diese Sonde ermöglichte die Perfusion mit Test- und Markerlösungen sowie die Aspiration von Duodenalininhalt zur quantitativen Bestimmung der Pankreasenzymsekretion. Die exokrine Pankreassekretion wurde nüchtern, nach endogener (essentielle Aminosäurelösung) und exogener (SC-Test) Stimulation untersucht.

Am zweiten Versuchstag wurde ein modifizierter Sham Feeding Test mit einer definierten Mahlzeit und regelmäßiger Entnahme von Plasmaproben zur Hormonbestimmung durchgeführt.

### Ergebnisse:

**Pankreasenzymsekretion:** Die Lipasesekretion war interdigestiv und während des SC-Tests bei den Patienten signifikant niedriger als bei den Normalpersonen. Bei der Amylasesekretion fand sich dagegen kein signifikanter Unterschied. Bei der Untersuchung der Enzymwerte in Abhängigkeit von der Diabetesdauer fanden sich signifikant niedrigere Lipase- und Amylasewerte in der Gruppe der Kurzzeit-Diabetiker (mittlere Diabetesdauer <10 Jahre). Bezüglich der Diabeteseinstellung (HbA1-Werte) fand sich keine Auswirkung auf die Pankreasenzymsekretion.

**Hormone:** Die PP-Werte waren bei den Diabetikern signifikant vermindert. Die Untersuchung der PP-Werte in Abhängigkeit von der Diabetesdauer ergab eine signifikante Verminderung der PP-Werte in der Langzeit-Diabetikergruppe (mittlere Diabetesdauer >10 Jahren). Desweiteren waren PYY in der cephalen Phase und GLP-1 in der cephalen und gastralen Phase des Sham Feeding Tests bei den Typ I-Diabetikern signifikant erniedrigt. SST- und Motilinwerte zeigten keine deutlichen Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollen.

### Schlußfolgerung:

- Die Studie zeigt, daß es im Verlauf des Typ I-Diabetes zu Veränderungen des Pankreasenzymmusters kommt mit unterschiedlicher Beeinträchtigung der Enzymsekretion in Abhängigkeit vom Stimulationszustand des Pankreas und der Diabetesdauer.
- Die verminderten PP-Werte in Antwort auf cephale Stimulation bei den Diabetikern weisen auf eine gestörte N.vagus-Funktion hin. Die zusätzlich veränderte PYY Freisetzung könnte durch diese Dysfunktion mitbedingt sein.

## Literaturverzeichnis

**Adler, G., Kern, H.F. (1975):**

Regulation of exocrine pancreatic secretory process by insulin in vivo.  
Horm. Metab. Res. 7: 290 - 296

**Adler, G., Beglinger, CH., Braun, U., Reinshagen, M., Koop, I., Schafmayer, A., Rovati, L., Arnold, R. (1991):**

Interaction of the cholinergic system and the cholecystokinin in the regulation of endogenous and exogenous stimulation of pancreatic secretion in humans.  
Gastroenterology 100: 537 - 543

**Adrian, T.E., Savage, A.P., Sagor, G.R., Allen, J.M. Bacarese-Hamilton, A.J., Tatmoto, K., Polak, J.M., Bloom, A.R. (1985):**

Effect of peptide YY on gastric, pancreatic and biliary function in humans.  
Gastroenterology 89: 494 - 499

**Ahren, B., Larsson, H. (1996):**

Peptide YY does not inhibit glucose-stimulated insulin secretion in humans  
Europ. J. Endocrinol. 134: 362 - 365

**Allan, W.M. (1950):**

A simple method for analyzing complicated absorption curves in the colorimetric determination urinary steroids.  
Clin. Endocrinol. 10: 71 - 83

**Arimura A., Fishback J.B. (1981):**

Somatostatin: regulation of secretion  
Neuroendocrinology 33: 246 - 256

**Arndorfer, R.C., Stef, J.J., Dodds, W.J., Linehan, J.H., Hogan, W.J. (1977):**

Improved infusion system for intraluminal esophageal manometry.  
Gastroenterology 73: 23 - 27

**Bank, S. (1972):**

Pancreatic endocrine-exocrine relationship in health and disease.  
Scand. J. Gastroenterol. 7: 503 - 507.

**Bergeron, J.J.M., Rachubinski, R., Searle, N., Sikstrom, R., Borts, D. (1980):**

Radio-autographic visualization of in vivo insulin binding to the exocrine Pankreas.  
Endocrinology 107: 1069 - 1079

**Bertrand, G., Gross, R., Roye, M., Ahren, B., Ribes, G. (1992):**

Evidence for a direct inhibitory effect of PYY on insulin secretion in rats  
Pankreas 7: 595 - 600

**Böttcher, G., Ekman, R., Lundqvist, G., Ahren, B., Sundler, F. (1994):**

Pancreatic peptide YY in alloxan diabetic mice.

Pankreas 9: 469 - 474

**Bonner-Weir, S., Orci, L. (1982):**

New perspectives on the microvascular system of the islets of Langerhans in the rat.

Diabetes 31: 883 - 889

**Buxton, T.B., Crocket, J.K., Moore, W.L., Moore, W.I. jr., Rissing, J.P. (1979):**

Protein precipitation by acetone for the analysis of polyethylene glycol in intestinal perfusion fluid.

Gastroenterology 76: 820 – 824

**Buyschaert, M., Donickier, J., Dive, A., Ketelslegers, J.M., Lampert, A.E. (1985):**

Gastric acid and pancreatic polypeptide response to sham feeding test are impaired in diabetic subjects with autonomic neuropathy.

Diabetes 34: 1181 - 1185

**Camilleri, M. (1996)**

Gastrointestinal problems in diabetes.

Endocrin. Metab. Clin. N. Am. 25: 361 - 378

**Chey, W.Y., Shay, H., Shuman, C.R. (1963):**

Exogenic pancreatic secretion in diabetes mellitus.

Ann. Intern. Med. 59: 812 - 821

**D'Alessio, D.A., Sieber, C., Beglinger, C., Ensinnck, J.W. (1989):**

A physiologic role for somatostatin 28 as a regulator of insulin secretion.

Clin. Invest 84: 857 - 862

**D'Alessio, D., Prigeon, R.L., Ensinnck, J.W. (1995):**

Enteral enhancement of glucose disposition by both insulin-dependent and insulin-independent processes.

Diabetes 44: 1433 – 1437

**Dandona, P., Freedman, D.B., Perkins, J., Foo, Y., Katrak, A., Mikhailidis, D.P.,**

**Rosalki, S.B., Becker, A.G. (1984):**

Exocrine pancreatic function in diabetes mellitus.

Clin. Pathol. 37: 302 - 306

**DiMagno, E.P., Go, V.L.W., Summerskill, W.H.J. (1973):**

Intraluminal and postabsorptive effects of aminoacids on pancreatic enzyme secretion.

Lab. Clin. Med. 82: 241 - 248

**Domschke, W., Tympner, F., Domschke S., Demling, L. (1975):**

Exocrine pancreatic function in juvenile diabetes.

Dig. Dis. Sci. 20: 309 - 312

**Doniach, I., Morgan, G. (1973):**

Islets of Langerhans in insulin dependent diabetes mellitus.  
Clin. Endocrinol. 2: 233 - 248

**Duan, R.D., Erlanson-Albertsson, C. (1989):**

Pancreatic lipase and colipase activity increases in pancreatic acinar tissue of diabetic rats.  
Pankreas 4: 329 - 334

**Dupre, J., Behme, M.T., Hramiak, I.M., McFarlane, P., Williamson, M.P., Zabel, P., McDonald, T.J. (1995):**

Glucagon-like peptide-1 reduces postprandial glycaemic excursions in IDDM.  
Diabetes 44: 626 - 630

**Fehmann, H.C., Hering, B.J., Wolf, M.J., Brandhorst, H., Brandhorst, D., Bretzel, R.G., Frederlin, K., Göke, B. (1995):**

The effects of glucagon-like peptide-1 on hormone secretion from isolated human pancreatic islets.  
Pankreas 11: 196 - 200

**Ferner, H. (1942):**

Beiträge zur Histobiologie der Langerhans'schen Inseln des Menschen mit besonderer Berücksichtigung der Silberzellen und ihrer Beziehung zum Pankreasdiabetes.  
Virchows Arch. 309: 87 - 136

**Foulis, A.K., Stewart, J.A. (1984):**

The pancreas in insulin dependent diabetes mellitus, insulin contents of islets, insulinitis and associated changes in the exocrine acinar tissue.  
Diabetologia 26: 456 - 461

**Franke A., Keller J., Holst J.J., Goebell H., Layer P.(1996)**

Glucakon - like - peptide – 1 decreases human endogenously stimulated exocrine pancreatic secretion.  
Pancreas 13 (4): 436

**Frazer, P.A., Henderson, J.R. (1980):**

The arrangement of endocrine and exocrine pancreatic microcirculation preserved in the living rabbit.  
Q. J. Exp. Physiol. 65: 151 - 158

**Frier, M., Saunders, J.H.B., Wormsley, K.G., Bouchier, A.D. (1976):**

Exocrine pancreatic function in juvenile-onset diabetes mellitus.  
Gut 17: 685 - 691

**Frier, B.M., Faber, O.K., Binder, C., Elliot, H.L. (1978):**

The effect of residual insulin secretion on exocrine pancreatic function in juvenile-onset diabetes mellitus.  
Diabetologia 14: 301 - 304



**Fu-Cheng, X., Anini, Y., Chariot, J., Castex, N., Galmiche, J.P. Roze, C. (1997):**  
Mechanisms of peptide YY release induced by an intraduodenal meal in rats: neural regulation by proximal gut.  
Pflugers-Arch. 433: 571 – 579

**Fujita, T. (1973):**  
Insulo-acinar portal system in the horse pancreas.  
Arch. Histol. Jpn. 35: 161 - 171

**Garry, D.J., Garry, M.G., Williams, J.A., Mahonea, W.C., Sorenson, R.L. (1989):**  
Effects of islet hormones on amylase secretion and localization of somatostatin binding sites.  
Am. J. Physiol. G897 - 904

**Gepts, W. (1965):**  
Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus.  
Diabetes 14: 619 - 633

**Gerich, J.E. (1981):**  
Somatostatin and diabetes.  
Am. J. Med. 70: 619 - 626

**Glasbrenner, B., Dominguez, E., Riepl, R.L. Vetsi, A., Malfertheiner, P. (1995):**  
Cholecystokinin and pancreatic polypeptide release in diabetic patients with and without neuropathy.  
Dig. Dis.Sci. 40: 406 - 411

**Glaser, B., Floyed, F.J., Vinik, A., Fajans, S.S., Pek, S., (1979):**  
Evidence for extra vagal cholinergic dependence of pancreatic polypeptide response to beef ingestion in man.  
Clin. Res. 27: 366A

**Go, V.L.W., Hofmann, A.F., Summerskill, W.H.J. (1970):**  
Simultaneous measurements of total pancreatic, biliary and gastric outputs in man using a perfusion technique.  
Gastroenterology 58: 321 - 328

**Gröger, G., Layer, P. (1995):**  
Exocrine pancreatic function in diabetes mellitus.  
Europ. J. Gastrol. Hepatol. 7: 740 - 447

**Habener, J.F. (1993):**  
The incretin notion and its relevance to diabetes.  
Endocrinol. Metab. Clin. of N. Am. 7: 740 - 751

**Hellman, B. Wallgren, A. Petersson, B. (1962):**  
Cytological characteristics of the exocrine pancreatic cells with regard to their position in relation to the islets of Langerhans.  
Acta Endocr. 39: 465 - 473

**Henderson J.R. (1969):**

Why are the islets of Langerhans?  
Lancet 2: 469 – 470

**Henderson J.R., Daniel, P.M. (1979):**

A comparative study of the portal vessels connecting the endocrine and exocrine pancreas with a discussion of some functional implications.  
J. Exp. Physiol. 64: 151-158

**Henderson, J.R., Daniel, P.M. Frazer, P.A. (1981):**

The Pankreas as a single organ.  
Gut 22: 158 – 167

**Herrmann, C., Göke, R., Richter, G., Fehmann, HC., Arnold, R., Göke, B. (1995)**

GLP-1 and glucose-dependent insulin releasing PP - levels in response to nutrients.  
Digestion, 56(2):117-126

**Holst, JJ., Knuhtsen, S., Jensen, S.L., Fahrenkrug, J., Larsson, L.I., Nielsen, O.V. (1983):**

Interrelation of nerves and hormones in stomach and pancreas  
Scand.J. Gastroenterol.82: 85 - 99

**Holst, J.J. (1994)**

Glucagon-like peptide 1: A newly discovered gastrointestinal hormone.  
Gastroenterology 107: 1848 - 1855

**Holst, J.J., Bersani, M. (1997):**

Assays for peptide products of somatostatin gene expression.  
Methods in Neuroscience 5: 3 - 22  
New York, Academic Press

**Hossdorf, Th., Wagner, M., Hoppe, H.W. (1988):**

Pancreatic polypeptide response to food in type 1 diabetics with and without diabetic autonomic neuropathy.  
Hepato-Gastroenterol. 35: 237 - 241

**Imura, H., Seino, Y., Kozaburo, M., Itoh, Z., Yanaihara, N. (1980):**

Plasma motilin levels in normal subjects and patients with diabetes mellitus and certain other diseases. Fasting levels and responses to food and glucose.  
Endocrinol. Japan. 1: 151 - 155

**Itoh, Z., Honda, R., Hiwatashi, K., Couch, E.F. (1976):**

Motilin induced mechanical activity in the canine alimentary tract.  
Scand. J Gastroenterol. Suppl. 39: 93 - 110

**Jarotzky, A.J. (1899):**

Über die Veränderungen in der Größe und im Bau der Pankreaszellen mit einigen Arten der Inanition.  
Virchows Arch. 156: 409 - 429

**Johansson, C., Kollberg, B., Efendic, S., Uvans-Wallensten, K. (1981):**

Effects of graded dose of gallbladder emptying and pancreatic enzyme output after oral glucose in man.

Digestion 22: 126 - 137

**Katschinski, M., Dahmen, G., Reinshagen, M., Beglinger, C., Koop, H., Nustede, R., Arnold, R., Adler, R. (1992):**

Cephalic stimulation of gastrointestinal secretory and motor responses in humans.

Gastroenterology 103(2):383-91

**Kawagishi, T., Nishizawa, Y., Okuno, Y., Sekuya, K., Morii, H., (1993):**

Effects of cisapride on gastric emptying of indigestible solids and plasma motilin concentration in diabetic autonomic neuropathy.

Am. J. Gastroenterol. 88: 933 - 938

**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. 272: G632 - G637

**Koop, H., Arnold, R., Creutzfeldt, W. (1984):**

Pancreatic polypeptide and gastrin release during sham feeding test in man.

Digestion 30: 47 - 52

**Korc, M., Iwamoto, Y., Sankaran, H. Williams, J.A., Goldfine, I.D., (1981):**

Insulin action in pancreatic acini from streptozotocin-treated rats: stimulation of protein synthesis.

Am. J. Physiol. 240: G56 - G62

**Krørup, T., Madsbad, S., Hilsted, J., Christensen, N.J., Sestoft, L., Schwartz T.W. (1983):**

Response of pancreatic polypeptide to hypoglycemia in insulin-dependent diabetics with and without residual  $\beta$ -cell function.

Clin. Endocrinol. 18: 31 - 36

**Kreymann, B., Williams, G., Ghatei, M.A., Bloom, S.R. (1987):**

Glucagon-like peptide-1 7-36: A physiological incretin in man.

Lancet 2: 1300 - 1304

**Lankisch, P.G. (1973)**

Functioning reserve capacity of the exocrine pancreas.

New. Eng. J. Med. 288, 813

**Lankisch, P.G., Manthey, G., Otto, J., Koop, H., Talaulicar, M., Willms, B. (1982):**

Exocrine pancreatic function in insulin-dependent diabetes mellitus.

Digestion 25: 211 - 216

**Layer, P., Chan, A.T.H., Go, V.L.W., Zinsmeister, A.R. DiMagno, E.P. (1992):**  
Adrenergic modulation of interdigestive pancreatic secretion in humans.  
Gastroenterol. 103: 990 - 993

**Layer, P., Chan, A.T.H., GO, V.L.W., Zinsmeister, A.R., DiMagno, E.P. (1993)**  
Cholinergic regulation of phase II interdigestive pancreatic secretion in humans.  
Pancreas 8: 181 - 188

**Layer, P., Go, V.L.W., DiMagno, E.P.(1989):**  
Carbohydrate digestion and release of pancreatic polypeptide in health and diabetes mellitus.  
Gut 30: 1279 – 1284

**Layer, P., Peschel S., Schlesinger T., Goebell H. (1990)**  
Human pancreatic secretion and intestinal motility: effects of ileal nutrient perfusion.  
Am. J. Physiol. 258: G196-G201

**Layer, P., Gröger, G., Grandt, D., Cherian, L. (1993)**  
Koregulator der zyklischen interdigestiven Pankreassekretion beim Menschen.  
Med. Klin. 88: 15 - 17

**Layer, P., Holst, JJ. (1993)**  
GLP-1: A humoral mediator of the ileal brake in humans?  
Digestion 54: 385

**Layer, P., Schlesinger, T., Gröger, G., Goebell, H. (1993)**  
Modulation of human periodic interdigestive gastrointestinal motor and pancreatic function by the ileum.  
Pancreas 8: 426 - 432

**Layer, P., von der Ohe, M.R., Holst, JJ., Jansen, J.B.M.J., Grandt, D., Holtmann, G., Goebell, G. (1997)**  
Altered postprandial motility in chronic pancreatitis: role of malabsorption.  
Gastroenterology 112: 1624 - 1634

**Legg, E.F., Spencer, A.M. (1975):**  
Studies on the stability of pancreatic enzymes in duodenal fluid to storage temperature and pH.  
Clinica Chemica Acta 65: 175 - 179

**Löhr, M., Klöppel, G. (1987):**  
Residual insulin positivity and pancreatic atrophy in relation to duration of chronic type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus and microangiopathy.  
Diabetologia 30: 757 - 762

**Locke, G.R. (1995):**  
Epidemiology of gastrointestinal complications of diabetes mellitus.  
Eur. J. Gastroenterol. hepatol.7: 711 - 716

**Lucey, M.R. (1986):**

Endogenous somatostatin and the gut.  
Gut 27: 457 – 467

**Maochiki, E., Inui, A., Satoh, M., Mizumoto, A., Itoh, Z. (1997):**

Motilin a biosignal controlling release of pancreatic polypeptide via vagus in fasted dogs.  
Am. J. Physiol. 272: G224 - G232

**McIntosh C., Arnold R., (1978):**

The radioimmunoassay and physiology of somatostatin in the pancreas and gastrointestinal tract.  
Z. f. Gastroenterologie 16: 330 - 340

**Mearin, F., Malagelada, J.R. (1995):**

Gastroparesis and dyspepsia in patients with diabetes mellitus.  
Europ. J. Gastrol. Hepatol. 7: 717 - 723

**Meneilly, G.S. (1996):**

Pancreatic polypeptide responses to hypoglycaemia in aging and diabetes.  
Diabetes Care 19: 544 - 546

**Mössner, J., Logsdon, C.D., Goldfine, I.D., Williams; J.A. (1984):**

Regulation of pancreatic acinar cell insulin receptor by insulin.  
Am J. Physiol. 10: G155 - G160

**Nakabayashi, H., Nishizawa, M., Nakagawa, A., Takeda, R., Nijima, A. (1996):**

Vagal hepatopancreatic reflex effect evoked by intraportal appearance of GLP-1.  
Am. J. Physiol. 271: E808 - 810

**Nakanishi, K., Kobayashi, T., Miyashita, H., Okubo, M., Sugimoto, T., Murase, T., Kosaka, K., Hara, M. (1993):**

Relationships among residual  $\beta$ -cells, exocrine pancreas and islet cell antibodies in insulin dependent diabetes mellitus  
Metabolism 42: 196 - 203

**Nauck, M. (1995):**

Release of GLP-1 after oral glucose in patients with upper and lower gut resections.  
Gut Suppl. 37: A123

**Nilsson, H., Bergström, B., Lilja, B., Juul-Möller, S., Carlsson, J., Sundkvist, G., (1995):**

Prospective study of autonomic nerve function in type 1 and type 2 diabetic patients: 24 hour heart rate variation and plasma motilin levels disturbed in parasympathetic neuropathy.  
Diabetic Med. 12: 1015 - 1021

**Orskov, C., Holst, J.J. (1987):**

Radio-immunoassays for glucagon-like peptides 1 and 2.  
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 47: 165 - 174

**Orskov, C., Wettergren, A., Holst, J.J. (1996):**

Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day.

Scand. J. Gastroenterol. 31: 665 - 670

**Otsuki, M., Goldfine, I.D., Williams, J.A. (1984):**

Diabetes in the rat is associated with a reversible postreceptor defect in cholecystokinin action.

Gastroenterology 87: 882 - 887

**Otsuki, M., Williams, J.A. (1982):**

Effect of diabetes mellitus on the regulation of enzyme secretion by isolated rat pancreatic acini.

Clin. Invest. 70: 148 – 156

**Palla, J.C., Ben Abdeljlil, A., Desnuelle, P. (1968):**

Effects on the rate of biosynthesis of some pancreatic enzymes.

Gut 9: 254A

**Pearse, A.G:E., Polak, J.M., Bloom, S.R., Adams, C., Dryburgh, J.R., Brown, J.C., (1974):**

Enterochromaffin cells of the mammalian small intestine as the source of motilin.

Virchows Arch. B. Cell Path.16: 111 - 120

**Pedersen-Bjergaard, U., Host, U., Klbaek,H., Schifter, S., Rehfeld, J.F., Faber, J., Christensen, N.J. (1996)**

Influence of meal composition on postprandial peripheral plasma concentrations of vasoactive peptides in man.

Scand. J. Clin. Lab. Invest. 56: 497 - 503

**Rasmussen, M.H., Carstensen, H., List, S., Schwartz, T.W., Hilsted, J. (1993):**

Impaired pancreatic polypeptide response to a meal in type 1 diabetic patients: vagal neuropathy or islet cell dysfunction.

Acta Endocrinol.128: 221 - 224

**Reichling, S. (1983):**

Somatostatin.

Engl. J. Med. 309: 1495 - 1501

**Rambliere, R., Sonquet, JC., Forichon, J., Cohen, R., Bebin, B., Rion, JP., Chayvialle, JA. (1982):**

Proceedings IV International Symposium on Gastrointestinal Hormones, Stockholm.

**Robinson, D.C., Rudnicki, M., Tito, J.M., Gold, M.S. (1996):**

Inhibition of unstimulated exocrine pancreatic secretion by peptide YY in the rat.

World J. Surg. 20: 208 - 214

**Samols, E., Stagner, JI. (1996):**

Intra islet cell-cell interactions and insulin secretion.  
Diabetes Rev. 4/2: 207 - 223

**Sankaran, H., Iwamoto, Y., Korc, M., Williams, J.A., Goldfine, I.D., (1981):**

Insulin action in pancreata from streptozotcin-treated rats: Binding of <sup>125</sup>I Insulin to receptors.  
Am. J. Physiol. 240: G63 - G68

**Schedl, H., Clifton, J.A. (1961):**

Small intestinal absorption of steroids.  
Gastroenterology 41: 425 - 432

**Schusdziarra V., Harris V., Arimura A., Unger R.H. (1979):**

Evidence for a role of splanchnic somatostatin in the homeostasis of ingested nutrients.  
Endocrinology 104: 1705 – 1708

**Schusdziarra V. (1980):**

Somatostatin—a regulatory modulator connecting nutrient entry and metabolism.  
Horm. Metab. Res. 12: 563 - 577

**Schusdziarra V. (1983):**

Somatostatin: physiological and pathophysiological aspects.  
Scand. J. Gastroenterol. 82: 69 - 84

**Schwartz T.W., Rehfeld, J.F., Larson, L.I., Stadil, F. Chance, R.E., Moon, N. (1976):**

Pancreatic-polypeptide response to food in duodenal-ulcer patients before and after vagotomy.  
Lancet 1: 1102 - 1105

**Schwartz T.W., Stenquist, B., Olbe, L. (1979):**

Cephalic phase of pancreatic-polypeptide secretion studied by sham feeding test in man.  
Scand. J. Gastroenterol. 14: 313 - 320

**Schwartz, T.W. (1983):**

Pancreatic polypeptide: A hormone under vagal control.  
Gastroenterology 85: 1411 - 1425

**Sergeyeva, M.A. (1938):**

Microscopic changes in the pancreatic gland of the cat produced by sympathetic and parasympathic stimulations.  
Anat. Rec. 71: 319 - 336

**Singer, M.V., Niebel, W., Layer, P. (1987):**

Nervale Kontrolle der Bauchspeicheldrüsensekretion.  
Gastroenterol. 25: 33 - 43

**Skrha, J., Stephan, J., Havaranek, T., Skrha, F., Bouchier, A.D. (1981):**

Isoamylase in diabetes mellitus.  
Diabetologia 20: 129 - 133

**Snook, J.T. (1968):**

Effect of diet, adrenalectomy, diabetes and actinomycin D on exocrine pancreas.  
Am. J. Physiol. 215: 1329 - 1333

**Sölling, H.D., Unger, K.O. (1972):**

The role of insulin in the regulation of alpha amylase synthesis in the rat pancreas.  
Europ. J Clin. Invest. 2: 199 - 212

**Taylor, I.L., Feldmann, M., Richardson, C.T. Walsh, J.H. (1978):**

Gastric and cephalic stimulation of human pancreatic polypeptide release.  
Gastroenterology 75: 432 - 437

**Thiel, A. (1954):**

Untersuchungen über das Gefäßsystem des Pankreasläppchens.  
Zellforsch. 39: 355 - 372

**Tsuda K., Sakurai H., Seino Y., Seino S., Tangiawa K., Kuznuya H., Imura H. (1981):**

Somatostatin-like immunoreactivity in human peripheral plasma measured by radioimmunoassay following affinity chromatography.  
Diabetes 30: 471 - 474

**Vacca, J.B., Henke, W.J., Knight, W.A. (1964):**

The exocrine pancreas in diabetes mellitus.  
Ann. Intern. Med. 61: 242 - 247

**Von der Ohe, M., Layer, P., Wollny, C., Ensinck, J.W., Peeters, T.L., Beglinger C., Goebell H. (1992)**

Somatostatin-28 and coupling of human interdigestive intestinal motility and pancreatic secretion.  
Gastroenterology 103: 974 - 981

**Wang, Z., Wang, R.M., Owji, A.A., Smith, D.M., Ghatei, M.A., Bloom, S.R., (1995):**

Glucagon-like peptide-1 is a physiological incretin in rat.  
J. Clin. Invest. 95: 417 - 421

**Wettergren, A., Petersen, H., Orskov, C., Christiansen, J., Sheikh, S.P., Holst, J.J. (1994):**

Glucagon-like Peptide-1 7-36 amide and peptideYY from the L-cell of the ileal mucosa are potent inhibitors of vagally induced gastric acid secretion in man.  
Scand. J. Gastroenterology 29: 501 - 505

**Williams, J.A., Goldfine, I.D. (1985):**

The insulin-pancreatic acinar axis.  
Diabetes 34: 980 - 986

**Zyznar E., Pietri A., Harris V., Unger R.H. (1981):**

Evidence for the hormonal status of somatostatin in man.  
Diabetes 30: 883 - 886



## **Dank**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. P. Layer für die Überlassung des Themas und die kontinuierliche Betreuung der Arbeit durch wertvolle Hilfestellungen bei der Planung und Durchführung der Experimente und anregende Ratschläge bei der Auswertung der Ergebnisse.

Herrn Prof. Dr. med. H. Goebell, ehem. Direktor der Abteilung für Gastroenterologie der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Essen, danke ich sehr herzlich für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Unterstützung der Studien.

Besonders herzlich möchte ich mich bei Frau Dr. med. G. Gröger für ihre geduldige und umsichtige Unterstützung in allen Belangen dieser Arbeit bedanken. Durch ihre beharrliche Hilfe und Ihren Zuspruch, sowie durch viele Anregungen bei der Durchführung und Auswertung der Experimente war sie eine entscheidende Kraft, die diese Studien möglich machten. Außerdem waren Ihre Hilfestellungen bei der Erstellung des Manuskriptes absolut unersetzlich.

Meiner Kollegin und Freundin Dr. Corinna Schweflinghaus danke ich für die zuverlässige und freundschaftliche Zusammenarbeit während der vielen Versuche und der nächtelangen Laboranalysen. Durch ihren Einsatz und ihre Geduld machte sie es leichter die vielen Unwegsamkeiten der Wissenschaft besser zu ertragen.

Mein großer Dank gilt auch den Mitarbeitern der gastroenterologischen Abteilung. Frau L. Cherian stand uns mit geschickter und tatkräftiger Unterstützung während der Versuche zur Seite. Sie half weitsichtig und zuvorkommend aus organisatorischen Schwierigkeiten bis zum Schluß der Arbeit.

Frau E. Schoppe vermittelte uns einige Routinemethoden im gastroenterologischen Labor und half auch tatkräftig bei der Bewältigung der Analysen.

Herrn Prof. Dr. med. J.J. Holst und seinen Mitarbeitern danke ich für die Erstellung der Hormonanalysen unserer Studie und für die freundliche Aufnahme in sein Haus bei der Übergabe der Proben.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Jutta Keller, die trotz vieler Wartezeiten auf Korrekturen und Rückmeldung meinerseits nie die Geduld verlor und maßgeblich an Inhalt und Form der Dissertation beteiligt war.

Mein besonderer Dank gilt meinem Ehemann Dr. rer. nat. Olli Fazio, der in Krisenzeiten den Computern vor dem Rauswurf aus dem Fenster und mich vor einem Nervenzusammenbruch bewahrte.

Außerdem danke ich Anke Pauschardt, die unermüdlich mit Rat und Tat an meiner Seite oder am anderen Ende des Hörers stand und sich sehr um Form und Ausdruck der Doktorarbeit verdient gemacht hat.

Schließlich danke ich unseren Probanden, die durch ihre Kooperation erst die tatsächliche Durchführung dieser Studie ermöglichten.

## **Lebenslauf**

Am 23.03.1973 wurde ich als drittes Kind meiner Eltern Hildegard und Johannes Kenter in Mettmann geboren. Nach vier Jahren städtischer Grundschule St. Johannes in Erkrath besuchte ich seit 1983 das Gymnasium am Neandertal in Erkrath, wo ich 1992 das Abitur bestand.

Im Sommersemester 1992 begann ich mit dem Studium der Humanmedizin an der Universität Essen. Seit 1996 war ich in der gastroenterologischen Abteilung der Medizinischen Klinik für meine Promotion tätig. Im Rahmen eines vom Klinikum Essen organisierten Austausches verbrachte ich 4 Wochen in einer Abteilung für Wiederherstellungschirurgie in Nishny Nowgorod / Rußland. Außerdem konnte ich im Rahmen von verschiedenen Famulaturen die gastroenterologische Klinik von Prof. Eysselein in Los Angeles /USA und die neurologische Abteilung der University of North Carolina kennenlernen.

Nach Abschluß des 3. Staatsexamens im April 1999 begann ich im Juli 1999 als Ärztin im Praktikum und später als Assistenzärztin in der Inneren Abteilung des evangelischen Krankenhauses in Mettmann zu arbeiten.

**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.

**Abstracts**

Gröger G., Bertram C., Kenter M., Cherian L., Goebell H., Layer P.  
Changes in pancreatic enzyme patterns in patients with insulin-dependent diabetes mellitus.  
AGA, Washington May 11 – 14 1997  
Gastroenterology (1997) 112 (Suppl. 4): A446

Gröger G., Kenter M., Bertram C., Cherian L., Goebell H., Layer P.  
Changing exocrine pancreatic function during the long-term course of insulin-dependent diabetes mellitus.  
United European Gastroenterology Week, Birmingham, October 1997  
Gut (1997) 41 (Suppl. 3): A242

Gröger G., Keller J., Bertram C., Kenter M., Goebell H., Layer P.  
Pancreatic enzyme responses are altered in patients with insulin-dependent diabetes mellitus.  
European Pancreatic Club Lüneburg 1999  
Digestion (1999) 60: 378

Gröger G., Keller J., Bertram C., Kenter M., Goebell H., Layer P.  
Veränderungen der exokrinen Pankreasfunktion bei Diabetes mellitus Typ I.  
Tagung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten, Leipzig, September 1999  
Z. Gastroenterol (1999) 37: A188

Gröger G., Bertram C., Kenter M., Cherian L., Goebell H., Layer P.,  
Veränderungen der Dünndarm-Motilität im Langzeit - Verlauf des Diabetes mellitus Typ I.  
Tagung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten, Leipzig, September 1999  
Z. Gastroenterol (1999) 37: A398

Gröger G., Keller J., Kenter M., Schweflinghaus C., Cherian L., Goebell H., Layer P.  
Changes in small intestinal motility during the long-term course of insulin-dependent diabetes mellitus.  
American Gastroenterology Association, San Diego, May 2000  
Gastroenterology (2000) 118 (Suppl. 4): A382

Kenter M., Gröger G., Schweflinghaus C., Cherian L., Goebell H., Holst J.J., Layer P.  
Modified sham - feeding in patients with type 1 diabetes mellitus. Changes in PP - and PYY – plasma levels.  
Gut (2000) 47 (Suppl. 3): A205

Gröger G., Kenter M., Schweflinghaus C., Cherian L., Goebell H., Holst J.J., Layer P.  
Changes in PYY – plasma levels in insulin-independent diabetes mellitus  
United European Gastroenterology Week, Amsterdam, November 2001  
Gut (2001) 49 (Suppl 3): A11444

Groeger G., Kenter M., Schweflinghaus C., Cherian L., Goebell H., Holst JJ., Layer P.  
Motilin and small intestinal motility: Changes in the long – term course of insulin – dependent  
diabetes mellitus.

United European gastroenterology Week, Amsterdam, November 2001

Gut (2001) 49 (Suppl. 3) A1277

