

**Aus der Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie
der Universität Würzburg**

Direktor: Professor Dr. med. Christoph-Thomas Germer

**Roux-en-Y Magenbypass vermittelte Änderung der entereoinsulinären Achse
Quantifizierung der Effektgröße auf den Glukosestoffwechsel**

**Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

vorgelegt von

Laura Rotzinger

aus Würzburg

Würzburg, Dezember 2018

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Florian Seyfried
Korreferent bzw. Korrefentin: Univ.-Prof. Dr. med. habil. Martin Faßnacht-Capeller
Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 24.06.2020

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Adipositas	1
1.2	Diabetes mellitus Typ 2	4
1.2.1	Pathophysiologie und Klinik	4
1.2.2	Therapie	6
1.3	Bariatrische Chirurgie	7
1.3.1	Entwicklung	7
1.3.2	Metabolische Chirurgie	10
1.3.3	Bedeutung der translationalen Forschung	12
1.4	Fragestellung	13
2	Material und Methoden	14
2.1	Genehmigung des Versuchsvorhabens	14
2.2	Versuchstiere	14
2.3	Versuchsgruppen	14
2.4	Versuchsprotokoll	15
2.5	Operationstechniken	16
2.5.1	Narkose und Analgesie	16
2.5.2	operativer Zugang	16
2.5.3	Roux-en-Y Magenbypass	17
2.5.4	Scheinoperation	17
2.6	Perioperatives Konzept	18
2.7	Messung des circadianen Rhythmus	19
2.8	Oraler Glukosetoleranztest	19
2.8.1	Insulin-ELISA	20
2.8.2	GLP-1 ELISA	20
2.9	Organasservierung und Analytik	20
2.9.1	Terminale Anästhesie	20
2.9.2	Organentnahme	21
2.9.3	Histologie	21
2.9.4	RT-qPCR	24
2.10	Statistik	25
3	Ergebnisse	27
3.1	Körpergewicht	27
3.2	Nahrungsaufnahme	28
3.3	Circadiane Rhythmik	29
3.4	Viszerales Fett	30
3.5	Glukosetoleranz	31
3.5.1	Glukose	31
3.5.2	Insulin	32
3.5.3	GLP-1	33
3.6	Pankreas Auswertung	34
3.6.1	Immunhistochemie	34
3.6.2	GLP-1 Rezeptor Expression	36
3.6.3	PDX-1 Rezeptor Expression	37
4	Diskussion	38
5	Zusammenfassung	46

6	Abkürzungsverzeichnis	47
7	Abbildungsverzeichnis	48
8	Literaturverzeichnis.....	49

1 Einleitung

1.1 Adipositas

Die pandemieartige weltweite Ausbreitung der Adipositas ist eines der drängendsten sozioökonomischen Probleme des 21. Jahrhunderts. Dabei nimmt die Prävalenz der Adipositas weiter stetig zu.¹⁻³

So war im Jahr 2013 weltweit jeder dritte Erwachsene übergewichtig oder adipös. In Deutschland waren 2012 rund 16,2% der Frauen und 16,7% der Männer adipös.⁴

Als Gründe für die steigende Prävalenz spielen unter anderem epigenetische und genetische Faktoren eine Rolle. Die Hauptgründe sind jedoch in den sich rasant ändernden äußeren Umständen zu suchen.^{5,6}

Epigenetisch beeinflussen beispielsweise der Ernährungszustand der Mutter während der Schwangerschaft und die frühkindliche Ernährung erheblich die spätere Gewichtsentwicklung des Kindes.^{5,6} Überdies konnten bereits 200 Gene, Genmarker und Chromosomenregionen identifiziert werden, deren Träger eine erhöhte Prädisposition für Übergewicht aufweisen.⁷

Als wesentliche Ursachen gelten jedoch der einfache und stetige Zugang zu billigen, hochkalorischen Nahrungsmitteln und das Absinken der täglichen körperlichen Aktivität.^{5,6}

In den westlichen Industrienationen hängt die Prävalenz der Adipositas eng mit dem sozioökonomischen Status zusammen. So scheinen ein hohes Einkommen, Bildungsniveau und eine gute Gesundheitsversorgung präventiv für Übergewicht zu sein.^{2,6,8}

Adipositas ist definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts.⁹ Dies resultiert vereinfacht, wenn die Energiezufuhr den Energieverbrauch übersteigt.¹⁰ Dabei hat sie an sich keinen Krankheitswert. Dieser wird erst durch ihre Begleiterkrankungen, wie beispielsweise Diabetes mellitus Typ 2 (DMT2) und Herz-Kreislaufkrankheiten

bedingt.^{6,10} Einen Überblick über die Begleiterkrankungen und Risiken der Adipositas gibt Tabelle 1.

Kardiovaskuläre Krankheiten	Respiratorische Krankheiten	Metabolische Erkrankungen
Koronare Herzkrankheit	Dyspnoe	Hyperlipidämie
Cerebrovaskuläre Krankheiten	Schlafapnoe	Diabetes mellitus
Krampfadern	Hypoventilationssyndrom	Insulinresistenz
Tiefe Beinvenenthrombose		Zyklusstörungen
Gastrointestinale Erkrankungen	Maligne Tumorerkrankungen	Sonstige
Fettleber und Leberzirrhose	Mammakarzinom	Schwangerschaft
Hämorrhoiden	Endometriumkarzinom	Stress
Hernien	Prostatakarzinom	Arthritis und Knochenmasse
Kolorektales Karzinom	Zervixkarzinom	
Gallensteine		

Tabelle 1: Adipositas-assoziierte Erkrankungen und Risiken⁷

Des Weiteren ist die Lebensqualität der Betroffenen oft durch reduzierte körperliche Belastbarkeit, vermindertes Selbstwertgefühl und psychische Probleme herabgesetzt.^{10,11} Adipöse Menschen haben beispielsweise ein um 55% erhöhtes Risiko eine Depressionen oder andere psychische Störungen zu entwickeln als Normalgewichtige.^{6,11} Folgen sind oft sozialer Rückzug oder Ausgrenzung.⁶ Während adipöse Menschen oft als willensschwach oder faul stigmatisiert werden, konnten sowohl auf verhaltensbezogener als auch neurologischer Ebene Parallelen zwischen übermäßiger Nahrungsaufnahme und einer Suchterkrankung gezogen werden.^{12,13}

Adipositas ist weltweit ein erhebliches sozioökonomisches Problem.¹⁴ Sie bedingt hohe Arztkosten, krankheitsbedingte Fehlzeiten und stellt mit ihren assoziierten Begleiterkrankungen das fünft häufigste Todesrisiko dar.^{6,15}

In den USA sind ungefähr 21% der Gesundheitsausgaben auf sie zurückzuführen.²

Die Einteilung der Adipositas erfolgt anhand des Körpermasseindex (BMI, KG (kg)/ Körpergröße² (m²)) in sechs Gewichtsklassifikationen (siehe Tabelle 2).

Mit der Prävalenzdauer und Grad der Adipositas steigt das Risiko für Folgeerkrankungen und Mortalität.^{7,16}

Gewichtsklassifikation	BMI (kg/m²)	Mortalitätsrisiko
Untergewicht	<18,5	
Normalgewicht	18,5-24,9	sehr niedrig
Übergewicht (Präadipositas)	25,0-29,9	niedrig
Adipositas Grad I	30,0- 34,9	moderat
Adipositas Grad II	35,0-39,9	hoch
Adipositas Grad III (morbide Adipositas)	≥40	sehr hoch

Tabelle 2: Gewichtsklassifikation^{7,10,17,18}

Hier ist jedoch zu beachten, dass der BMI nur eine quantitative und keine qualitative Aussage über das Körpergewicht macht und somit keine Abschätzung über den individuellen Krankheitsgrad liefern kann.^{16,17,19}

In einer Studie von Tomiyama et al.²⁰, in welcher der Blutdruck, die Triglyzeride, das Cholesterol, die Glukose, die Insulinresistenz und das C-reaktive Protein in unterschiedlichen Gewichtsklassifikationen gemessen wurde, zeigte sich, dass 29% der Adipösen metabolisch gesund, 30% der Normalgewichtigen jedoch metabolisch nicht gesund waren.²⁰⁻²²

Andere klinische Stagingsysteme wie beispielsweise das Edmonton Obesity Staging System (EOSS) beziehen daher den klinischen, mentalen und funktionellen Status Adipöser mit ein, um eine Therapienotwendigkeit zu prüfen.²³

1.2 Diabetes mellitus Typ 2

1.2.1 Pathophysiologie und Klinik

DMT2 ist eine chronisch degenerative Erkrankung, welche durch eine dauerhaft erhöhte Serumglukosekonzentrationen aufgrund von Insulinresistenz und relativem oder absolutem Insulinmangel gekennzeichnet ist.^{10,24}

Insulin ist ein lebenswichtiges anaboles Peptidhormon, das von endokrinen β -Zellen innerhalb der Langerhansinseln des Pankreas synthetisiert und sezerniert wird. Neben dem wichtigsten Stimulus, einer erhöhten Serumglukosekonzentration, wird die Insulinausschüttung unter anderem durch Inkretine angeregt. Dies sind Hormone, welche intestinal sezerniert werden und die nahrungsabhängige Insulinausschüttung beeinflussen. Der Hauptvertreter dieser hormonellen Gruppe ist das Glukagon-ähnliche-Peptid 1 (GLP-1).²⁵

Über spezifische Rezeptoren sorgt Insulin für die Aufnahme von Glukose, Aminosäuren und Fettsäuren in Muskel-, Fett- und Leberzellen. Bei vermindertem Ansprechen der Körperzellen auf Insulin spricht man von einer Insulinresistenz.^{26,27} Der Hauptrisikofaktor hierfür ist die Adipositas.²⁸

In einem prädiabetischen Stadium gleicht der Körper die Resistenz durch höhere Insulinspiegeln aus und hält so eine euglykämische Stoffwechsellage aufrecht.²⁹ In adipösen, nicht diabetischen Individuen konnte gezeigt werden, dass in diesem Stadium das β -Zellvolumen vergrößert ist.

Können die β -Zellen nicht mehr genug Insulin sezernieren um die Resistenz zu kompensieren, kommt es je nach Ausprägung des Sekretionsdefizits und der Insulinresistenz zu einer gestörten Glukosetoleranz bzw. zum DMT2 mit chronischer Hyperglykämie (siehe Tabelle 3).^{29,30} Man spricht hierbei von einem relativem Insulinmangel. Sind die Insulinreserven in einem fortgeschrittenem Krankheitsstadium erschöpft, geht der relative in einen absoluten Insulinmangel über.³¹

Der Entität des Diabetes mellitus Typ 1 liegt ein anderer Pathomechanismus zugrunde. Hier werden die β -Zellen durch das eigene Immunsystem zerstört. Die Folge ist ein absoluter Insulinmangel.^{24,26}

Ob dem Sekretionsdefizit der β -Zellen beim DMT2 ein angeborener Defekt oder eine funktionelle Störung zugrunde liegt, ist noch nicht hinreichend geklärt.²⁶ Als sicher gilt jedoch, dass der DMT2 als chronisch degenerative Erkrankung zu progredientem β -Zellschaden und Apoptose führt. Histologisches Äquivalent sind eine reduzierte relative β -Zellmasse und Amyloidablagerungen in den Langerhansinseln.^{28,32,33} Auch konnte gezeigt werden, dass β -Zellen die Fähigkeit zur kompensatorischen Proliferation bei manifestem DMT2 verlieren.²⁶ Um eine gestörte Glukosetoleranz (IGT) oder einen manifesten DMT2 zu diagnostizieren, wird der Nüchternblutzuckerspiegel bestimmt oder ein oraler Glukosetoleranztest (OGTT) durchgeführt. Eine Übersicht der diagnostischen Richtwerte zur Feststellung eines DMT2 gibt Tabelle 3.

Stadium	Nüchtern-Plasmaglukose venös	Orale Glukosetoleranztest
Diabetes	≥ 126 mg/dl	2h-Wert ≥ 200 mg/dl
Abnorme Nüchtern-Glukose (impaired fasting glucose=IFG)	100-125 mg/dl	gestörte Glukosetoleranz (impaired glucose tolerance=IGT) 2h-Wert 140-199 mg/dl
Normal	<100 mg/dl	2h-Wert < 140mg/dl

Tabelle 3: Diagnostische Richtwerte zur Feststellung eines DMT2¹⁰

Patienten mit IGT haben ein hohes Risiko einen DMT2 oder kardiovaskuläre Krankheiten zu entwickeln und sollten daher engmaschig kontrolliert werden.³⁴ Oftmals bleibt ein DMT2 jahrelang unerkannt, da er sich langsam entwickelt und besonders in frühen Stadien keine typischen Symptome hervorruft.^{24,34}

Typische Folgen eines lange bestehenden DMT2 ohne adäquate Therapie sind unspezifische Makroangiopathien und diabetesspezifische Mikroangiopathien. Zu Ersteren zählen die koronare Herzkrankheit, die periphere arterielle Verschlusskrankheit und der ischämische Hirninfarkt. Bei den diabetesspezifischen Mikroangiopathien sind besonders die diabetische Nephropathie, welche bei DMT2 in bis zu 20% der Fälle zu einer terminalen Niereninsuffizienz führt, und die Retinopathie, welche für 30% der Erblindungen in Deutschland verantwortlich ist, zu nennen.¹⁰

Oft ist der ausschlaggebende Faktor für die Entstehung eines DMT2 eine Fehlernährung mit Übergewicht und Adipositas. So sind ca. 80% der Typ 2 Diabetiker übergewichtig oder adipös.¹⁰ Dabei steigt mit dem Grad des Übergewichts das Risiko für die Entstehung eines DMT2.^{3,35,36}

1.2.2 Therapie

Therapeutisches Ziel des DMT2 ist eine möglichst optimale Einstellung des Blutzuckerspiegels sowie die Verhinderung von Sekundärkomplikationen und Endorganschäden. Die Therapie des zumeist chronisch progredient verlaufenden DMT2 bedarf einer stetigen individuellen Anpassung und kann je nach Bedarf als Stufenkonzept erweitert werden.^{10,37}

Grundsäulen zur Verbesserung der Insulinresistenz bei Patienten mit Adipositas assoziiertem DMT2 sind kalorische Restriktion und körperliche Bewegung.^{10,38} Interventionsstudien zeigten, dass die Manifestation eines DMT2 durch Gewichtsnormalisierung und regelmäßige körperliche Aktivität aufgehalten werden kann.¹⁰

Als Mittel der ersten Wahl zur medikamentösen Behandlung übergewichtiger Diabetiker gilt das Biguanid Metformin. Dieses Medikament stellt eine günstige und erfolgversprechende Behandlungsoption dar und verhindert im Gegensatz zu alternativen medikamentösen Therapien wie Sulfonylharnstoffe oder Insulin die Gewichtszunahme.³⁷

Im nächsten Schritt wird Metformin mit einem weiteren oralen Antidiabetikum kombiniert. In der Regel ist dies ein Sulfonylharnstoff, welches durch Hemmung von Kaliumkanälen zu einer erhöhten Empfindlichkeit der Zellen gegenüber Glukose führt oder ein GLP-1 basiertes Antidiabetikum (siehe Kapitel 1.3.2). Hier kommen sowohl Dipeptidylpeptidase 4 (DPP-4) Inhibitoren zum Einsatz, welche den Abbau von GLP-1 verzögern als auch GLP-1 Analoga.¹⁰

Sind die endogenen Insulinreserven erschöpft, muss eine Insulinsubstitutionstherapie begonnen werden.^{10,37}

Bei Patienten mit morbider Adipositas sind die meisten konservativen und medikamentösen Ansätze mittel- bis langfristig erfolglos, weil keine zufriedenstellende Diabeteskontrolle zu erreichen ist.^{17,39,40}

Für diese Patientengruppe sind konservative Therapieansätze auf lange Sicht nicht ausreichend.^{17,39,40} Da dieses Kollektiv jedoch ein dramatisch erhöhtes Mortalitätsrisiko⁷ hat, wurde eine neue Behandlungsmodalität etabliert, auf die im Folgenden eingegangen wird.

1.3 Bariatrische Chirurgie

1.3.1 Entwicklung

Die bariatrische Chirurgie umfasst verschiedene Operationsverfahren, die durch die anatomische Umstellung des Gastrointestinaltraktes eine Nahrungsrestriktion und Malabsorption vermitteln und so eine relevante und nachhaltige Gewichtsreduktion erzielen sollen.^{41,42} Die Komponente der Nahrungsrestriktion besteht aus einer Verkleinerung des Magenvolumens, was zu einem vorzeitigen Sättigungsgefühl und einer verringerten Nahrungsaufnahme führt. Bei malabsorptiven Verfahren wird die funktionelle Dünndarmpassage verkürzt. Hierdurch wurde eine Minderaufnahme von Makronährstoffen angenommen.⁴³ Mittlerweile werden diese Theorien bei den aktuell gängigen Operationsverfahren als historisch angesehen, da die Effektgröße dieser beiden Mechanismen auf die Gewichtsabnahme und Verbesserung von Begleiterkrankungen als eher untergeordnet angesehen wird.^{44,45} Vielmehr wird vermutet, dass durch die Umstellung des Gastrointestinaltraktes die komplexe Regulation der Energiehomöostase durch übergeordnete Mechanismen nachhaltig günstig beeinflusst wird.⁴⁶

Heute wird die bariatrische Chirurgie zumeist laparoskopisch mit einer niedrigen perioperativen Morbidität und Mortalität vorwiegend in zertifizierten Zentren durchgeführt.^{47,48} Die in Deutschland am häufigsten durchgeführten Verfahren sind der laparoskopische Schlauchmagen und der laparoskopische

Roux-en-Y Magenbypass. Das Magenband spielt derzeit nur noch eine untergeordnete Rolle.⁴⁹

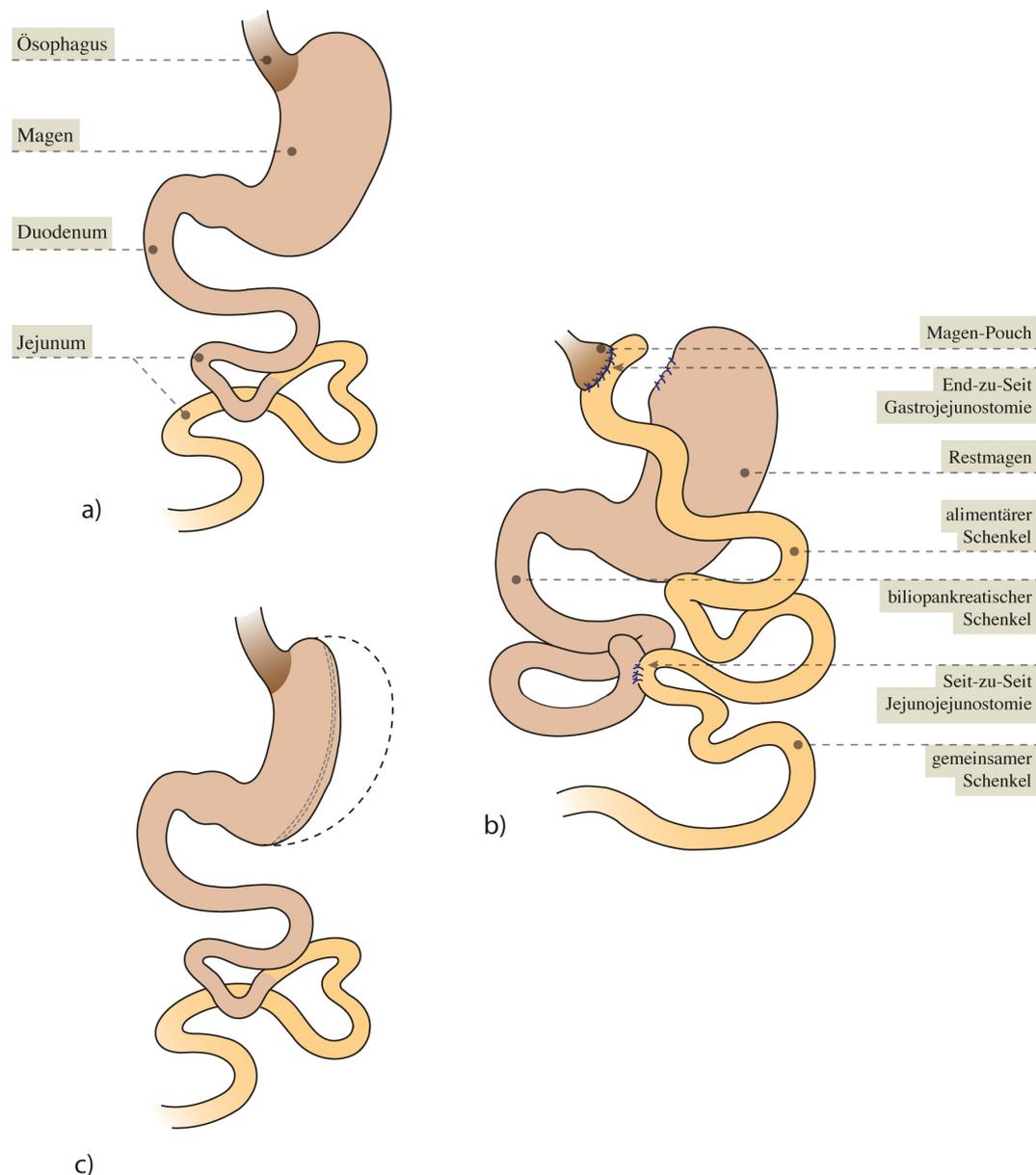


Abbildung 1: Anatomie des Gastrointestinaltrakts a) nativ, b) nach Roux-en-Y Magenbypass, c) nach Magenschlauch⁵⁰

Beim Roux-en-Y Magenbypass wird ein kleiner Magenpouch (<20ml) gebildet und der Restmagen sowie der proximale Dünndarm vom Nahrungsfluss ausgeschlossen (siehe Abbildung 1). Daraus ergeben sich folgende Veränderungen⁵¹⁻⁵⁴: (i) Verkleinerung des in der Nahrungspassage befindlichen

Magenanteils; (ii) schneller Eintritt von nichtverdauter Nahrung in das mittlere Jejunum; (iii) Abwesenheit von Nahrung im Magen und proximalen Dünndarm, dadurch (iv) direkter Kontakt von unverdünnter Galle mit der Mukosa des proximalen Dünndarms; (v) vermehrte Sekretion von GLP-1 aus den enteralen L-Zellen; (vi) vagale Manipulation und (vii) Änderung des im Darm angesiedelten Mikrobioms.⁵¹⁻⁵⁴

Derzeit ist die bariatrische Chirurgie die effektivste Therapie für Patienten mit morbidem Adipositas.¹⁷ Sie führt zu nachhaltigem, klinisch relevantem Gewichtsverlust, steigert die Lebensqualität und verbessert Begleiterkrankungen.^{55,56}

Studien konnten zeigen, dass bariatrische Operationen der Entwicklung eines DMT2 in Patienten mit gestörter Glukosetoleranz vorbeugen.⁵⁷ Bei bereits bestehendem DMT2 verhindern bariatrische Operationen das Fortschreiten der Krankheit, sorgen bei ungefähr 40% der Patienten für eine langfristige Remission und halbieren auf lange Sicht die Inzidenz mikrovaskulärer Komplikationen.^{56,58}

Aus diesem Grund ist die Verbesserung metabolischer Krankheiten bei besagten Operationen oft nicht mehr nur ein positiver Nebeneffekt, sondern das primäre Ziel des Eingriffs. Hierdurch entstand der Begriff der „metabolischen Chirurgie“.⁵⁹

Bevor eine bariatrische Operation in Betracht gezogen werden kann, ist laut Leitlinie eine differenzierte endokrinologische Abklärung, eine physiologische Evaluation, eine professionelle Ernährungsberatung, sowie ein langfristiger konservativer Therapieversuch mittels multimodaler konservativer Therapieansätzen gefordert.^{16,60,61}

Ist die konservative Therapie unzureichend oder von vorneherein nicht erfolgsversprechend (primäre Indikation), sollte nach Ausschluss einer Kontraindikation eine bariatrische Operation in Betracht gezogen werden.^{16,60}

Die nach aktueller S3-Leitlinie gültigen Kriterien zur Indikation bariatrischer/metabolischer Operationen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Primäre Indikation:

- BMI > 50kg/m²
- Besonders schwere Begleit- und Folgekrankheiten
- Persönliche psychosoziale Umstände, die keinen Erfolg einer Lebensstiländerung in Aussicht stellen

Nach erschöpften konservativen Behandlungsmöglichkeiten:

- Adipositas Grad III (BMI ≥ 40 kg/m²)
 - Adipositas Grad II (BMI ≥ 35 und < 40 kg/m²) mit erheblichen Komorbiditäten (z.B. DMT2)
 - Adipositas Grad I (BMI > 30 und < 35 kg/m²) bei Patienten mit DMT2 (Sonderfälle)
-

Tabelle 4: Indikationen für adipositaschirurgische Eingriffe gemäß dem BMI nach interdisziplinärer S3-Leitlinie ^{16,60}

1.3.2 Metabolische Chirurgie

Es ist unumstritten, dass die bariatrische Chirurgie, allen voran der Roux-en-Y Magenbypass, derzeit den konservativen Therapieoptionen in der Behandlung des Adipositas-assoziiertem DMT2 überlegen ist und damit die effektivste Behandlungsoption für diese Patienten darstellt.^{38,40,62,63}

Der Roux-en-Y Magenbypass verbessert die Glukosekontrolle in 80% der Fälle, erhöht die Insulinsensitivität und verbessert die β -Zellfunktion. Nach einem Jahr führt er abhängig von der ursprünglichen Insulinresistenz und residualen Insulinsekretion in bis zu 75% zu einer Remission des DMT2.⁶⁴⁻⁶⁶

Es wurde beobachtet, dass die Verbesserung der glykämischen Kontrolle nach Roux-en-Y Magenbypass bereits vor einem signifikantem Gewichtsverlust eintritt.^{67,68}

Dies legt nahe, dass die antidiabetische Wirkungsweise des Roux-en-Y Magenbypass über Effekte der erreichten Nahrungsumstellung und des Gewichtsverlusts hinausgeht.⁶⁹ Diese Hypothese wird weiter durch die Beobachtung gestützt, dass der antidiabetische Effekt des Roux-en-Y Magenbypasses größer ist als bei anderen bariatrischen Operationen ^{38,54} oder bei diätinduziertem Gewichtsverlust.⁷⁰

Dies führte zu der Vermutung, dass nicht der Gewichtsverlust und die kalorische Restriktion prädominant in der Verbesserung der Glukosetoleranz nach Roux-en-Y Magenbypass sind, sondern Magenbypass-spezifische Gewichtsabnahme-unabhängige Faktoren.^{65,70}

Es wurde propagiert, dass diese Effekte auf einer erhöhten Ausschüttung von anorektisch wirkenden Enteropeptidhormonen beruhen. Hierbei wurden insbesondere Inkretine untersucht, welche für 50% der postprandialen Insulinausschüttung verantwortlich sind und nach Roux-en-Y Magenbypass bei Nahrungs- oder Glukoseaufnahme in fünf bis zehnfach höherer Konzentration vorliegen als bei nichtoperierten Patienten.⁶⁶

Das am besten erforschte Inkretin ist GLP-1. Es wird von enteralen L-Zellen, deren Dichte vom proximalen Jejunum bis zum Dickdarm zu nimmt⁷¹, sezerniert, wenn diese durch orale Aufnahme von Glukose und Fetten neuronal, hormonell oder durch direkten Kontakt stimuliert werden. Es verlangsamt die Magenentleerung, vermindert den Appetit, inhibiert die Glukagonfreisetzung, stimuliert die Proinsulingenexpression und die Nahrungsaufnahme-abhängige Insulinsekretion.^{66,72} Wegen dieser engen Beziehung von GLP-1 sezernierenden L-Zellen und endokriner Pankreasfunktion, spricht man von der entero-insulinären Achse.⁷³ Der Umstand, dass bei oraler Aufnahme von Glukose mehr Insulin ausgeschüttet wird als bei intravenöser Gabe, da hier die enteralen L-Zellen nicht stimuliert werden und somit keine GLP-1 vermittelte Insulinausschüttung erfolgt, wird als Inkretineffekt bezeichnet.^{25,66}

Des Weiteren stimuliert GLP-1 über spezifische GLP-1 Rezeptoren (GLP-1 R) am Pankreas die Expression des Transkriptionsfaktors pankreatisch-duodenale-Homeobox 1 (PDX-1).^{74,75} Über diesen sorgt es für β -Zellproliferation, Regeneration der Langerhansinseln und wirkt antiapoptotisch auf β -Zellen.^{66,76}

Heute werden GLP-1 Analoga erfolgreich in der Behandlung des DMT2 eingesetzt. Sie senken den HbA1c, ein Langzeitmarker für den Blutglukosespiegel⁷⁷ und verringern das Körpergewicht über komplexe Mechanismen.⁷⁸⁻⁸⁰

Der Grund weshalb eine höhere postprandiale Inkretinantwort nach Roux-en-Y Magenbypass zu verzeichnen ist als bei nichtoperierten Probanden, liegt in der

veränderten Anatomie. Durch Ausschaltung des Großteils des Magens und des proximalen Dünndarms kommen die L-Zellen im distalen Dünndarm früher mit unverdaulichem Nahrungsbrei in Verbindung.⁸¹ Die Stimulation der L-Zellen mit konsekutiver Ausschüttung von Inkretinen erfolgt apikal durch langkettige Fettsäuren (long-chain fatty acids, LCFA) und kurzkettige Fettsäuren (short-chain fatty acids, SCFA) über spezielle Fettsäurerezeptoren (free fatty acid receptors 1-4)^{71,82}, durch Glukose über verschiedene Glukosetransporter (insbesondere Glukosetransporter 2, GLUT2 und Natrium/Glukose Cotransporter 1, SGLT1)⁸³ und Proteine⁸³. Basolateral erfolgt die Regulation über Melanocortin-4-Rezeptoren (MC4R), welche unter anderem durch α -Melanozyten-stimulierendes Hormon (α -MSH) stimuliert werden⁸⁴ und einen G-Protein gekoppelten Gallensäurerezeptor (TGR-5 Rezeptor), welche durch Gallensäuren aktiviert werden⁸⁵.

Diese Erkenntnisse werfen die Frage auf, ob die Änderung der entero-insulinären Achse einen quantifizierbaren biologischen Effekt auf die Verbesserung der Glukosetoleranz nach Roux-en-Y Magenbypass hat oder ob Gewichtsabnahme und kalorische Restriktion die prädominanten Faktoren darstellen.

1.3.3 Bedeutung der translationalen Forschung

Durch die experimentelle Forschung an Tiermodellen konnten während des letzten Jahrzehnts weitreichende Erkenntnisse zur Wirkungsweise der bariatrischen Chirurgie gewonnen werden.^{86,87}

So können in der translationalen Forschung chirurgische Verfahren, Versuchsgruppen und zeitliche Abläufe standardisiert und somit reproduzierbar gemacht werden.⁸⁸ Kontrollgruppen, die sich in definierten Einflussfaktoren unterscheiden, wie im Folgendem beispielsweise eine artifizielle Nahrungsrestriktion gegenüber spontaner Nahrungsaufnahme nach Intervention, erlauben eine genaue Vergleichbarkeit.⁸⁹

Zudem ermöglichen Tiermodelle eine Erweiterung der Untersuchungsmethoden wie invasive Interventionen und Probeentnahmen.⁹⁰

Mittlerweile sind verschiedene Tiermodelle etabliert um den Roux-en-Y Magenbypass und die konsekutiv veränderten hormonellen Mechanismen auf den DMT2 zu erforschen.⁸⁸

1.4 Fragestellung

In einem kontrollierten Versuchssetting mit adipösen männlichen Zucker (*fa/fa*) bzw. schlanken (*fa/+*) Ratten als Kontrollen sollte die zu erwartende Verbesserung der diabetischen Stoffwechsellage nach Roux-en-Y Magenbypass quantifiziert werden. Zielgröße hierfür war ein OGTT mit Messung der Serumglukose-, GLP-1 und Insulinspiegel.

Des Weiteren sollte anhand von immunhistochemischen und molekularen Untersuchungen der Langerhansinseln des Pankreas festgestellt werden, ob ein relevanter β -Zell protektiver Effekt nach Roux-en-Y Magenbypass vorliegt.

Alle Zielgrößen wurden sowohl nach Roux-en-Y Magenbypass als auch nach reiner Gewichtsreduktion durch Nahrungsrestriktion erhoben, um die für den Magenbypass-spezifischen von den rein nahrungsrestriktiven Effekten auf den DMT2 abzugrenzen.

2 Material und Methoden

2.1 Genehmigung des Versuchsvorhabens

Alle Experimente entsprachen den Tierschutzrichtlinien der Europäischen Union und wurden zuvor durch den Tierschutzausschuss der Regierung von Unterfranken, Bayern, Deutschland überprüft und genehmigt (Lizenznummer 55.2-2531.01.72/12).

2.2 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden sechs Wochen alte, männliche Zucker (*fa/fa*) Ratten (Charles River France) verwendet, welche als adipöses, nicht insulinabhängiges DMT2 Modell dienten. Diese Tiere zeichnen sich durch einen genetisch bedingten hypothalamischen Leptinrezeptordefekt (*lep^{fr}*) aus, welcher zu einer Hyperphagie führt. Folglich entsteht Adipositas mit einer Glukosetoleranzstörung, Hyperinsulinämie und Hyperlipidämie.⁹¹ Neben einer hepatischen weisen diese Ratten auch eine periphere Insulinresistenz auf.^{92,93} Als schlanke Kontrolltiere dienten Zucker (*fa/+*) Ratten. Die Tiere wurden bei konstanter Temperatur (22°C) bei einem 12h-Hell/Dunkel-Rhythmus gehalten. Falls nicht anders im Versuchsprotokoll angegeben, hatten die Ratten freien Zugang zu Wasser und Nahrung (Purina 5008 Lab diet, Purina Mills, USA).

2.3 Versuchsgruppen

Die Ratten wurden nach ihrem Ausgangsgewicht randomisiert und in folgende Gruppen aufgeteilt:

Versuchsgruppe	Abkürzung	Genotyp	Anzahl	Intervention	Fütterung	Funktion
lean control	lean	fa/+	6	keine	ad libitum	gesunde, schlanke Kontrollen
sham ad libitum	sham	fa/fa	5	Scheinoperation	ad libitum	adipöse, kranke Kontrollen
Roux-en-Y gastric bypass operated	RYGB	fa/fa	11	Roux-en-Y Magenbypass	ad libitum	Quantifizierung der magenbypassspezifischen Effekte auf die Glukosetoleranz
body weight matched sham	BWM	fa/fa	5	Scheinoperation	durch limitiertes Futterangebot Anpassung des Gewichts an den Mittelwert der RYGB Gruppe am jeweiligen Tag, entsprechend dem circadianen Rhythmus der Nahrungsaufnahme morgens $\frac{1}{3}$, abends $\frac{2}{3}$	Quantifizierung der reinen gewichtsabnahmebedingten Effekte auf die Glukosetoleranz

Tabelle 5: Versuchsgruppen

2.4 Versuchsprotokoll

Männliche sechs Wochen alte Zucker (*fa/fa*) Ratten wurden für insgesamt sechs Wochen vor Intervention in Gruppen gehalten und hatten freien Zugang zu einer Standarddiät (Purina 5008 Lab diet, Purina Mills, USA). Während dieser Zeitspanne entwickelten die Tiere Adipositas und konsekutiv eine gestörte Glukosetoleranz. Das Körpergewicht, aufgrund dessen die randomisierte Zuordnung zu den verschiedenen Versuchsgruppen (siehe Kapitel 2.3) erfolgte, wurde wöchentlich ermittelt. Drei Tage vor der Operation wurden die Tiere in Einzelkäfige gesetzt, um die individuelle Nahrungsaufnahme zu messen. Der Tag der Operation galt als Tag 0.

Die Tiere wurden täglich, jeweils morgens (7:00-8:30 Uhr) gewogen (Kern PCB 6000-0 Tisch-Waage, Wiegebereich 1-6000g). Die Nahrungsaufnahme der einzelnen Tiere wurde ermittelt, indem das Futter täglich gewogen wurde. Die Differenz zum Vortag ergab jeweils die individuell verzehrte Futtermenge. Die BWM Gruppe erhielt soviel Futter, dass ihr Körpergewicht dem Durchschnitt der RYGB Gruppe entsprach. Um die natürliche Nahrungsaufnahme möglichst unverfälscht zu imitieren, wurde nach der circadianen Rhythmik morgens $\frac{1}{3}$ abends $\frac{2}{3}$ der Gesamtfuttermenge gegeben. Zur Ermittlung der circadianen Rhythmik der Nahrungsaufnahme wurde an Tag 10 und 15 über 24h alle zwei Stunden die Nahrungsaufnahme der RYGB, BWM und lean Gruppe gemessen.

In allen Gruppen wurde an Tag 27 ein OGTT durchgeführt. Die Organentnahme erfolgte an Tag 29. In der lean Gruppe wurde Tag 0 entsprechend dem durchschnittlichen Alter der anderen Gruppen an Tag 0 gewählt. Abbildung 2 zeigt eine Übersicht des Versuchsablaufs.

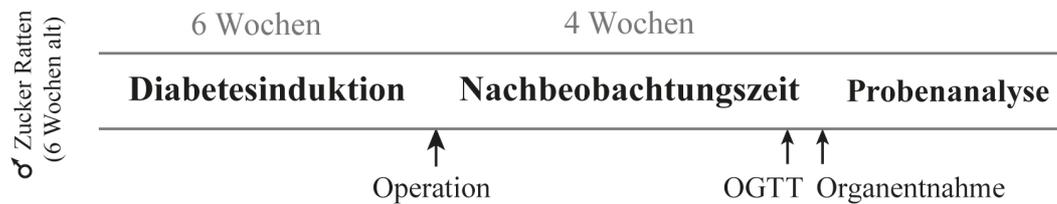


Abbildung 2: Versuchsablauf

2.5 Operationstechniken

2.5.1 Narkose und Analgesie

Die Narkose wurde durch eine Atemmaske mit Isofluran (1,8-3,5 %) und O₂ (1,2-1,8l/min) eingeleitet und aufrechterhalten. Die Narkosetiefe wurde durch einen Schmerzreiz am Fuß des Tieres überprüft. Erst wenn dieser keine reflektive Bewegung mehr auslöste, wurde mit dem Eingriff begonnen. Zur Analgesie wurde Carprofen (5 mg/kg KG) subkutan verabreicht. Auf ein Antibiotikum wurde verzichtet, um das intestinale Mikrobiom für weitere Untersuchungen nicht zu beeinflussen. Um eine Hypothermie zu vermeiden, wurden die Tiere während der Operation auf einer Wärmeplatte platziert.

2.5.2 operativer Zugang

Das Abdomen wurde rasiert und desinfiziert. Als operativer Zugang wurde eine Medianlaparotomie gewählt.

2.5.3 Roux-en-Y Magenbypass

Abbildung 1 illustriert die anatomische Rekonfiguration nach Roux-en-Y Magenbypass. Zunächst wurde das Treitz'sche Band identifiziert. 15 cm aboral erfolgte die Transsektion des Jejunums. Der orale Anteil bildete anschließend den biliopankreatischen, der Aborale den alimentären bzw. den gemeinsamen Schenkel. Nach Identifikation des ileocaecalen Übergangs wurde der biliopankreatische Schenkel durch eine Seit-zu-Seit Jejunostomie mit dem Jejunum 25 cm oral der Ileocaecalklappe verbunden. Die blinden Enden wurden mit Einzelknopfnähten (Prolene 6-0) übernäht.

Es folgte die Darstellung und Mobilisierung des gastroösophagealen Übergangs unter subtiler Präparation mit Schonung des linksgastrischen Gefäß-Nervenbündels. Hierzu wurden die linken Magengefäße vorsichtig nach aboral geschoben. Durch Transsektion des Magens kurz unterhalb des gastroösophagealen Übergangs wurde ein kleiner Magenpouch geformt (ca. 2-5 % des ursprünglichen Magenvolumens) und der Restmagen mit Einzelknopfnähten (Prolene 5-0) verschlossen. Der Pouch wurde durch eine End-zu-Seit Gastrojejunostomie mit dem aboralen Ende des Jejunums verbunden (Prolene 7-0), um den alimentären Schenkel zu bilden.

Um den Darm vor Austrocknung zu schützen, wurde er während der Operation wiederholt mit 0,1 ml 0,9% NaCl beträufelt. Zuletzt wurde die Bauchwand mit fortlaufender Naht (Prolene 4-0) und die Haut mit Einzelknopfnähten (Prolene 6-0) verschlossen.

2.5.4 Scheinoperation

Der gastroösophageale Übergang wurde in gleicher Art und Weise wie bei dem Roux-en-Y Magenbypass mobilisiert. Anschließend wurden zwei Einzelknopfnähte zwischen Vor- und Hauptmagen in die Magenvorderwand (Prolene 7-0) gesetzt, welche alle Magenschichten erfassten. Zusätzlich wurden das Caecum und der gesamte Dünndarm mobilisiert und abgemessen, bevor 25

cm oral der Ileocaecalklappe antimesenterial zwei Stiche (Prolene 7-0) in die Serosa des Jejunums gesetzt wurden.

Die Bauchwand wurde mit fortlaufender Naht (Prolene 4-0) und die Haut mit Einzelknopfnähten (Prolene 5-0) verschlossen.

2.6 Perioperatives Konzept

Ab dem dritten präoperativen Tag wurden die Ratten einzeln gehalten, um die individuelle Nahrungsaufnahme ermitteln zu können. Die Tiere wurden sechs Stunden vor der Operation nüchtern gelassen und auf Gitter gesetzt, um zu vermeiden, dass sie aufgrund ihrer genetisch bedingten Hyperphagie die Einstreu fraßen (Operationstechnik siehe Kapitel 2.5). Ab Tag 1 hatten die Tiere freien Zugang zu Wasser.

Es erfolgte der graduelle Kostaufbau. Hierzu erhielten die Ratten am ersten Tag Agar, am zweiten Schmelzflocken und am dritten alle drei Stunden 12h lang 1g feste Nahrung. Während dieser Phase wurde den Tieren routinemäßig morgens und abends 2-3 ml 0,9% NaCl und 2,5 mg/kg KG Carprofen als Analgetikum und Antiphlogistikum gespritzt. Bei Schmerzzeichen wurden täglich bis zu 2,5 mg/kg KG Carprofen zusätzlich verabreicht.

Ab dem vierten Tag erhielt jedes Tier der BWM Gruppe die individuell angepasste Nahrungsmenge, um das Durchschnittsgewicht der RYBG Gruppe am entsprechenden Tag zu erreichen. Die Fütterung wurde an den zeitlichen und quantitativen Verlauf der Nahrungsaufnahme der restlichen Gruppen über den Tag angepasst, um die natürliche Nahrungsaufnahme möglichst genau zu imitieren. Entsprechend dieser circadianen Rhythmik wurden morgens $\frac{1}{3}$ und abends $\frac{2}{3}$ der individuellen Nahrungsmenge verabreicht. Die restlichen Tiere hatten ab diesem Zeitpunkt freien Zugang zu Futter. Nach dem Kostaufbau wurden alle Tiere wieder in normale Einstreu gesetzt.

2.7 Messung des circadianen Rhythmus

Die Nahrungsaufnahme wurde für 24 h alle zwei Stunden gemessen. Während der Dunkelphase wurde eine Rotlichtlampe verwendet, um den Tag-Nacht-Rhythmus der Tiere nicht zu stören.

Hiermit sollte die Verteilung der Nahrungsaufnahme über den Tag eruiert werden, um die spätere BWM Fütterung möglichst präzise an die physiologische circadiane Rhythmik anzupassen.

2.8 Oraler Glukosetoleranztest

Auf eine orale Gavage mittels Kanüle wurde beim OGTT verzichtet, um eine Verletzung der oberen Anastomose und eine Aspiration aufgrund des kleinen Pouchvolumens zu vermeiden. Die Ratten wurden für acht Stunden nüchtern gesetzt. Anschließend erfolgte die Fütterung mit einer 25%igen Glukoselösung (10 ml/kg KG) aus kleinen Flaschen, welche sie innerhalb von fünf Minuten tranken. Um sicherzustellen, dass die Tiere in einer bestimmten Zeit diese definierte Menge an Glukoselösung konsumierten, wurde vor dem eigentlichen Test zweimal ein Testlauf durchgeführt. Der Fütterungszeitpunkt wurde auf Beginn der Dunkelphase (19:00-23:00 Uhr) gelegt, da hier zum einen der Großteil der physiologischen Nahrungsaufnahme erfolgt (siehe Kapitel 3.3) und zum anderen, da in dieser Zeit der höchste Gallensäurefluss besteht⁹⁴, was einen relevanten Einfluss auf die Glukosetoleranz haben könnte.^{95,96}

Anschließend wurde die Blutzuckermessung zum Zeitpunkt 0 (t_0) und die Blutentnahme (100 μ l) durch eine Inzision der Schwanzvene durchgeführt.

Dies erfolgte bewusst erst nach der Fütterung, um sicherzugehen, dass die Tiere nicht aufgrund des Stresses das Trinken verweigerten. Hierdurch wurde ein möglich falsch hoher erster Wert in Kauf genommen. Die Messung und Abnahme wurde nach 15 min (t_{15}), 30 min (t_{30}), 60 min (t_{60}) und 120 min (t_{120}) wiederholt. Der Blutzuckerwert wurde mit einem Blutzuckermessgerät (CONTOUR XT, Bayer, Messbereich 10 bis 600 mg/dl) bestimmt. Das entnommene Blut wurde in Eppendorf-Cups mit EDTA und einem Dipeptidyl-Peptidase-4 Inhibitor 10 min

bei 8000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und bei -80°C eingefroren.

2.8.1 Insulin-ELISA

Es wurde ein Insulin-ELISA mit Ultrasensitive Rat Insulin ELISA (Merckodia AB, Schweden 10-1251-10) entsprechend dem Herstellerprotokoll durchgeführt.

2.8.2 GLP-1 ELISA

GLP-1 wurde mittels GLP-1 Total ELISA (EMD Millipore, kit #EZGLP1T-36K) entsprechend dem Herstellerprotokoll ermittelt.

2.9 Organasservierung und Analytik

2.9.1 Terminale Anästhesie

Die terminale Anästhesie erfolgte vier Wochen nach der jeweiligen Operation. Sie wurde auf die Dunkelphase gelegt, da im Anschluss die Organentnahme erfolgte und die Sekretion der gastrointestinalen Hormone und die Glukoseregulation der circadianen Rhythmik unterliegen.^{94,96}

Die Tiere erhielten nach vierstündigem Fasten eine definierte Testmahlzeit von 3g normalem Futter. Nach 45 min wurde die Anästhesie mit Isofluran (3,5-5,0 %) und O₂ (1,2l-1,8l/min) in einer Narkosebox eingeleitet und mittels Atemmaske aufrechterhalten. Im Anschluss an eine Exsanguination wurden nach Bestätigung des Todes durch einen Herzschnitt die Organe entnommen.

2.9.2 Organentnahme

Nach sicherem Tod des Tieres wurden innerhalb von 45 min folgende Organe standardisiert entnommen und in CryoTubes (Nunco Thermo Scientific, CryoTube Vials) asserviert: Pankreaskopf in RNAlater zur molekularen Untersuchung, Pankreasschwanz in 4 %igem Paraformaldehyd zur immunhistochemischen Untersuchung. Zudem wurde das retroperitoneale und epididymale Fett einer Körperhälfte nach einem standardisierten Protokoll entfernt, indem zuvor der Darm entnommen und das Retroperitoneum dargestellt wurde. Die Aorta diente als mediale, die Faszia transversalis als laterale und der Musculus psoas als dorsale Begrenzung des Sektionsbereichs.⁹⁰ Anschließend wurde das entnommene Gewebe gewogen (Kern Feinwaage ABJ, Wägebereich 10 mg-220 g).

2.9.3 Histologie

Immunhistochemie

Die Pankreata wurden für 24-30 h in 4 % Paraformaldehyd bei Raumtemperatur fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet. Aus den Blöcken wurden 2 µm dicke Schnitte angefertigt, welche auf Aminopropylethoxysilane-beschichtete Objektträger aufgezogen wurden.

Die Wässerung erfolgte in einer absteigenden Alkoholreihe. Zur Antigen-Demaskierung wurden die Schnitte für 5 min in 10 mmol/l Natrium-Citrat-Puffer (pH 6,0) in einer Mikrowelle bei 600 W erhitzt. Nach einer Spülung mit destilliertem Wasser wurde die Hemmung der Peroxidase durch Inkubation in 3 % H₂O₂ in Methanol für 10 min durchgeführt. Anschließend wurden die Schnitte in PBS gewaschen und für 10 min mit 1 % Ziegenserum und 3 % BSA/PBS inkubiert. Über Nacht erfolgte eine weitere Inkubation bei 4°C in Anti-Insulin-Antibody (clone IN-05, stock solution: 1 mg/ml; Exbio, Vestec, Czech Republic) in Antibody-Verdünnungsmittel (EnVision™ FLEX Antibody Diluent, DAKO, Hamburg, Germany).

Für die Färbung wurde 3,3'Diaminobenzidin (DAB, DAKO) hinzugefügt und mit Hematoxylin gegengefärbt. Zuletzt wurden die Schnitte erneut mit destilliertem Wasser gewaschen und in Aquatex (MerckMillipore, Germany) eingebettet. Es wurden je zwei repräsentative Schnitte aus drei verschiedenen Ebenen des Pankreasschwanzes (siehe Abbildung 3) eingescannt und ausgewertet.

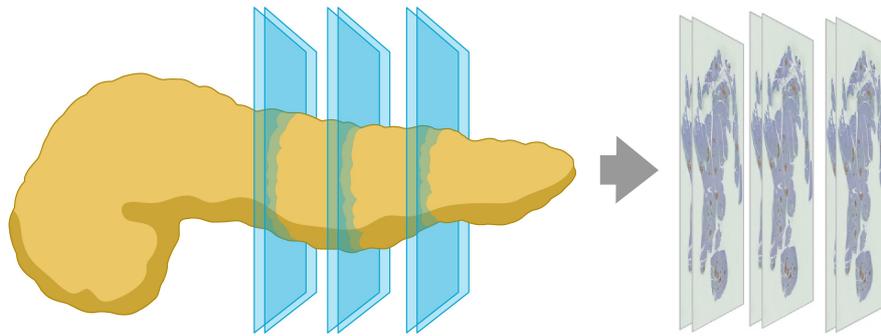


Abbildung 3: Histologische Schnittführung Pankreas⁹⁷

Auswertung

Die Schnitte wurden mit Keyence BZ 9000 Generation II Viewer in 4-facher Vergrößerung im Hellfeld CH4 mit Einzelfusionstechnik gescannt und anschließend mit BZII Analysator zusammengesetzt.

Die Pankreasfläche wurde mit BZ-II Hybrid-Zell-Zähler Analysator im Hellfeld mittels Helligkeitsextraktion 145 ausgewertet. Die Bildränder wurden entfernt (siehe Abbildung 4).

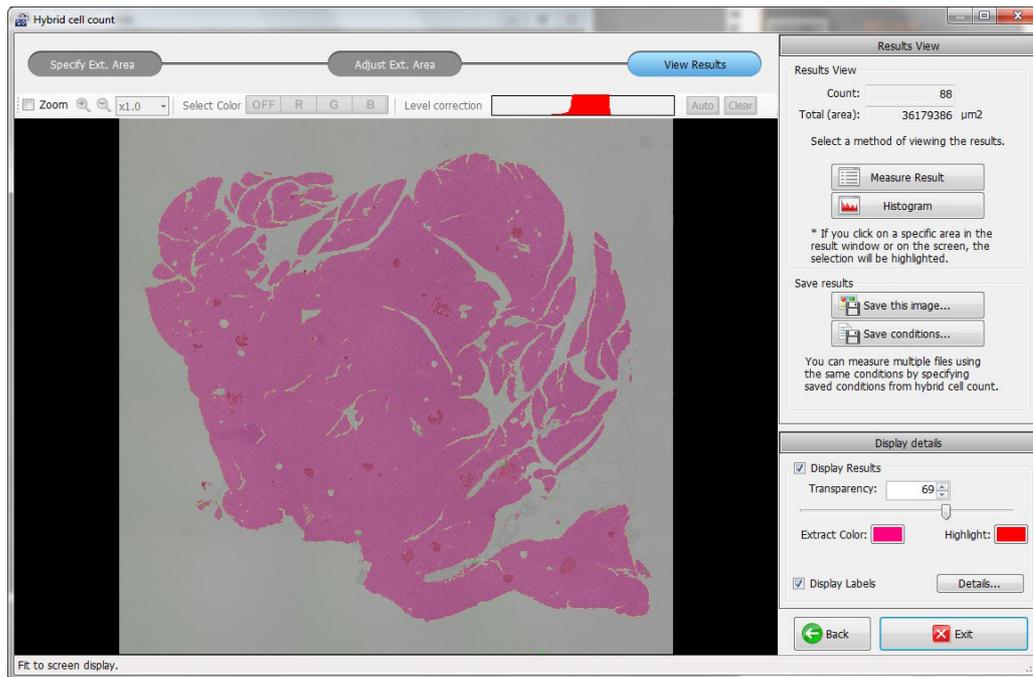


Abbildung 4: Auszug Quantifizierung der Pankreasfläche

Die Langerhansinsel­fläche wurde mit BZ-II Hybrid-Zell-Zähler Analysator im Hellfeld mittels Farbextraktion Farbtoleranz 42-48, Lückenfüllung 2-10 ausgewertet (siehe Abbildung 5).

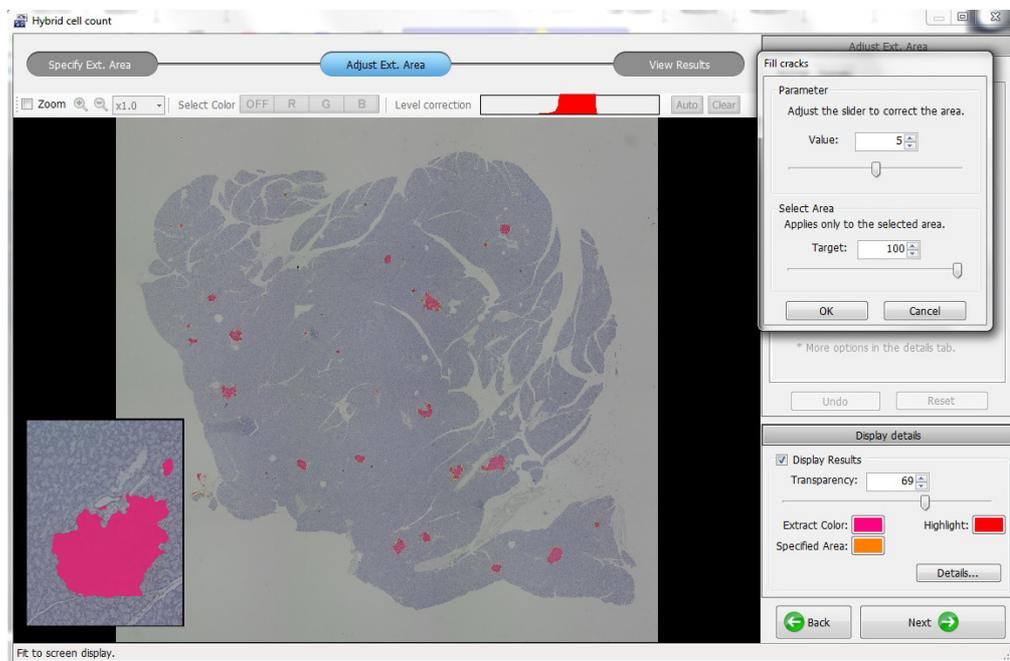


Abbildung 5: Auszug Quantifizierung der Langerhansinsel­fläche

Die β -Zell-Fläche wurde mit BZ-II Hybrid-Zell-Zähler Analysator Hellfeld mittels Farbextraktion Farbtoleranz 25-40 ohne Lückenfüllung, um die degenerativen Prozesse nicht zu erfassen, ausgewertet (siehe Abbildung 6).

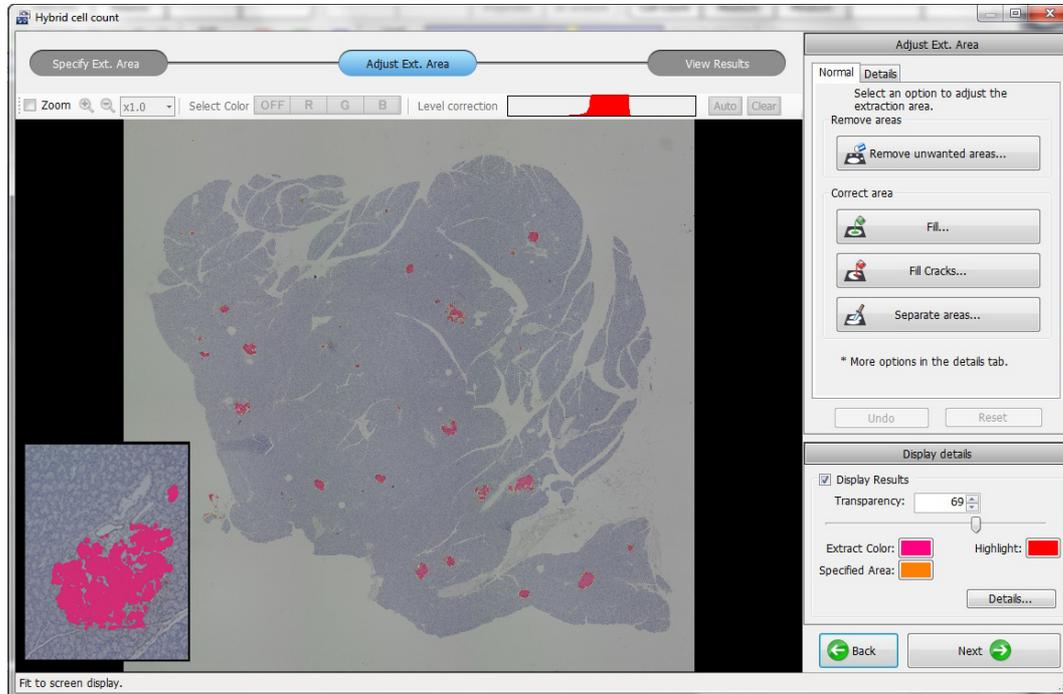


Abbildung 6: Auszug Quantifizierung der β -Zell-Fläche

2.9.4 RT-qPCR

Die Gesamt-RNA aus einer Million Zellen homogenisierten Pankreasgewebes wurde mittels Trizol (Invitrogen Life Technologies, Darmstadt, Germany) isoliert und in verschiedenen Arbeitsschritten aufgearbeitet (siehe Chomczynski P., Sacchi N., 1987⁹⁸). Die Qualität der gewonnenen RNA wurde mit der lab-on-chip-Technologie über Kapillarelektrophorese (Experion; Bio-Rad) überprüft und die Konzentration bei 260 nm mit einem NanoDrop 2000c Spektralphotometer (Thermo Scientific, NanoDrop Technologies) bestimmt.

Die Erststrang-cDNA Synthese wurde mit dem iScript synthesis kit von BioRad in einer Verdünnung von 1:5 für 5 min bei 25°C, für 30 min bei 42°C und für 5 min bei 85°C durchgeführt.

Für die quantitative PCR (qPCR) wurde ein MESA Green qPCR Master Mix Kit (Eurogentec) für SYBR Green, welches die Meteor Taq hotstart DNA Polymerase (Eurogentec GmbH, Köln, Germany) enthält, verwendet. Das Protokoll sah folgende Zyklen vor: 5 min bei 95°C (1 Zyklus), 15 s bei 95°C, 60 s bei 60°C (40 Zyklen) und 5 min bei 72°C (1 Zyklus). Die Expression von GLP-1 und PDX-1 wurden mit der $\Delta\Delta C_q$ -Methode auf die beiden Referenzgene β 2-Mikroglobulin und β -Aktin normalisiert. Die qPCR Reaktion wurde in einem C-1000 Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories) und der CFX96 Software Version 3.0 durchgeführt.

Symbol	Primersequenz (5' → 3')	Zugangs-ID (PubMed)
GLP-1-R	vorwärts: ACC ACT GCA CAG ACC CAA GTC rückwärts: TCT CCA GCT CTT GGA GTC TTT CTT	NM_012728.1
PDX-1	vorwärts: CAA AGC TCA CGC GTG GAAAA rückwärts: AGG CTG TAC GGG TCC TCT TA	NM_022852.3
β-Aktin	vorwärts: CGG CAA TGA GCG GTT CC rückwärts: TGC CAC AGG ATT CCA TAC CC	NM_031144.2
B2M2	vorwärts: CCG TGA TCT TTC TGG TGC TT rückwärts: ATT TGA GGT GGG TGG AAC TG	NM 012512.2

Tabelle 6: Informationen zu den Primerpaaren bei der RT-qPCR ⁹⁹⁻¹⁰¹

2.10 Statistik

Die statistische Analyse wurde mit SPSS 17.0 und GraphPad PRISM Version 7 durchgeführt. Normalität der Studienvariablen wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov Test überprüft. Kontinuierliche Variablen mit Normalverteilung werden im Folgenden als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes der Durchschnittswerte (standard error of the mean, SEM) dargestellt, Nicht-normalverteilte als Median und Interquartilsabstand. Gewichtsveränderungen wurden unter Verwendung verallgemeinerter Schätzungsgleichungen (generalized estimating equations, GEE) analysiert. Beim OGTT wurde die Fläche

unter der Kurve (area under the curve, AUC) für Glukose, Insulin und GLP-1 mithilfe der Trapez-Methode berechnet und mittels einer one-way ANOVA, gefolgt von einem Bonferroni post hoc Test zwischen den verschiedenen Gruppen verglichen. Eine two-way ANOVA wurde verwendet, um Unterschiede zwischen den Gruppen an bestimmten Zeitpunkten während des OGTTs zu vergleichen. Statistische Signifikanz wurde bei $p < 0,05$ festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Körpergewicht

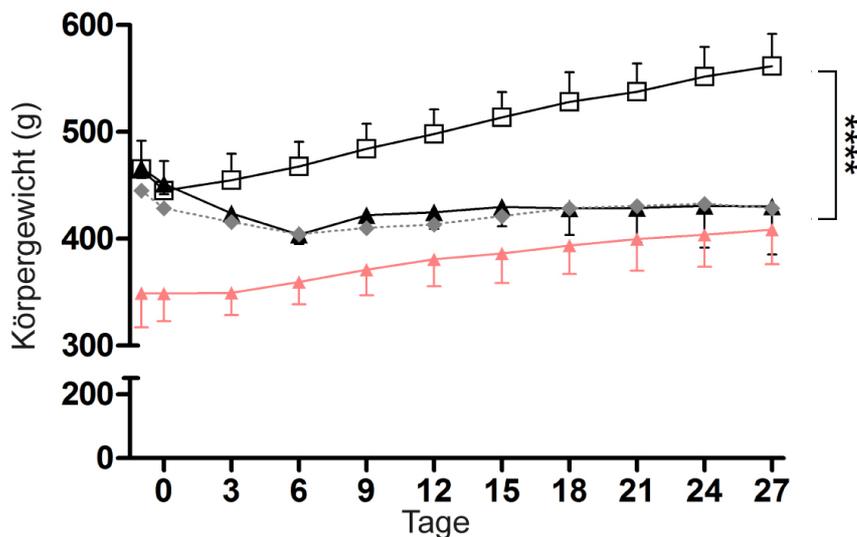


Abbildung 7: Gewichtsverlauf; ▲ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ▲ RYGB (*fa/fa*, n=11), ◆ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

Abbildung 7 zeigt die Gewichtsverläufe der unterschiedlichen Versuchsgruppen. Zucker (*fa/+*) Ratten lagen vor Intervention mit einem durchschnittlichem Gewicht von $348,7 \pm 26,3$ g deutlich unter dem der Zucker (*fa/fa*) Ratten mit $463,6 \pm 14,6$ g. Die sham Gruppe verlor während des perioperativen Fastens und postinterventionell an Gewicht, erholte sich jedoch ab Tag 3 und nahm stetig an Gewicht zu. Die RYGB Gruppe fiel postinterventionell ebenfalls ab, stabilisierte sich jedoch ab Tag 6. RYGB und BWM Gruppen wogen ab Tag 7 bis zum Ende des Versuchs an Tag 27 signifikant weniger als die sham Gruppe. Die Tiere der lean Gruppe hatten ein signifikant niedrigeres Startgewicht als die Übrigen, nahmen jedoch kontinuierlich an Gewicht zu und näherten sich schließlich an das der RYGB Gruppe an.

3.2 Nahrungsaufnahme

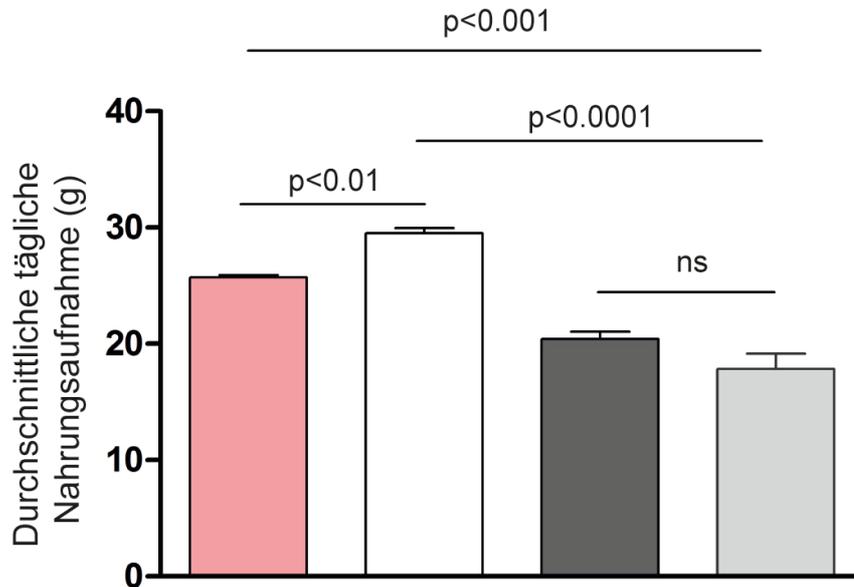


Abbildung 8: Durchschnittliche tägliche Nahrungsaufnahme; ■ lean (*fa/+*, n=6), sham (*fa/fa*, n=5), ■ RYGB (*fa/fa*, n=11), ■ sham (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

Abbildung 8 zeigt die durchschnittliche tägliche Nahrungsaufnahme (von Tag 0 bis 27) aller Versuchsgruppen. Die lean Tiere konsumierten signifikant weniger als die sham Gruppe, jedoch signifikant mehr als die RYGB und BWM Tiere. Zwischen den gewichtsgleichen RYGB und BWM bestand kein signifikanter Unterschied in der täglichen Nahrungsaufnahme.

3.3 Circadiane Rhythmik

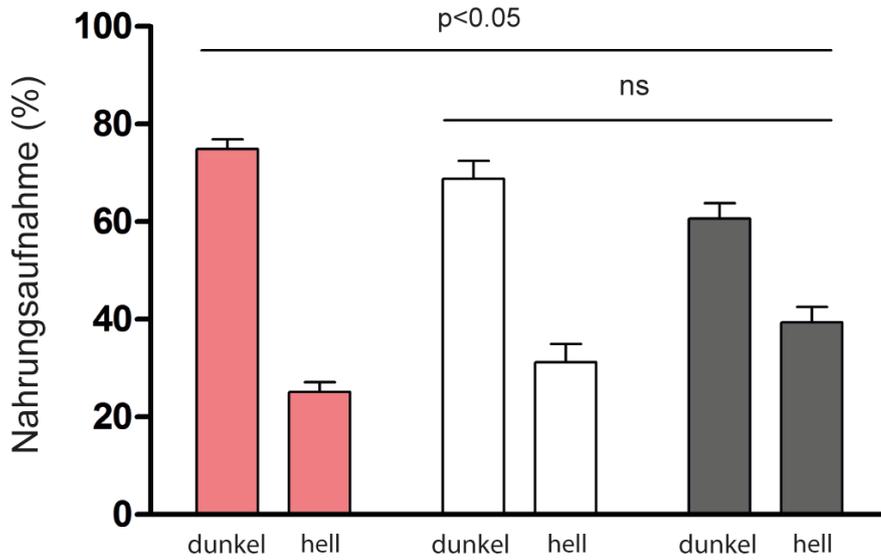


Abbildung 9: Verhältnis nächtlicher zu täglicher Nahrungsaufnahme; ■ lean (*fa/+*, n=6), sham (*fa/fa*, n=5), ■ RYGB (*fa/fa*, n=11); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

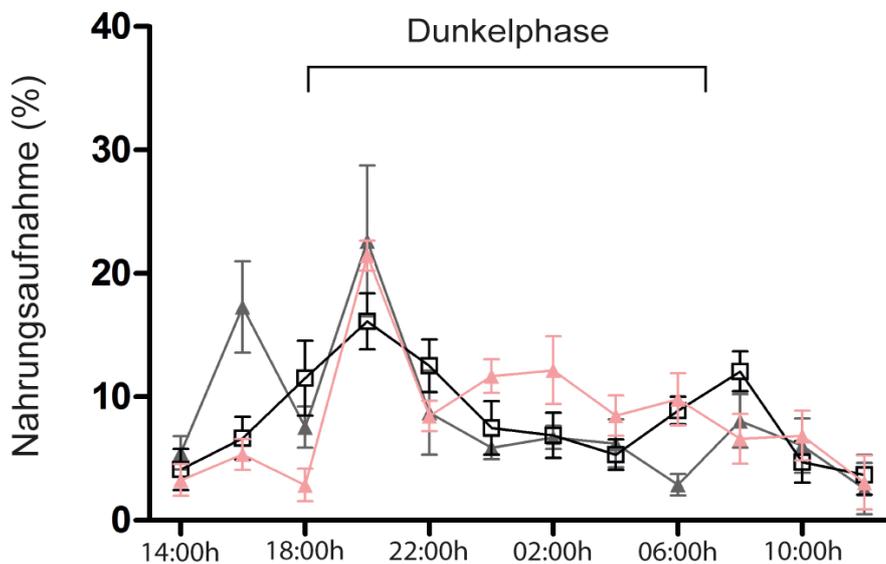


Abbildung 10: circadiane Nahrungsaufnahme; ▲ lean (*fa/+*, n=6), sham (*fa/fa*, n=5), ▲ RYGB (*fa/fa*, n=11), ◆ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

Die prozentuelle Verteilung der Futteraufnahme der lean, BWM und RYGB Gruppe während der gleich langen Dunkel- und Hellphase zeigt Abbildung 9. Nahrungsaufnahme selbiger Gruppen über den gesamten Tag zeigt Abbildung

10. Alle Gruppen fraßen nachts deutlich mehr als tagsüber. Die (*fa/fa*) Tiere konsumierten jedoch tagsüber prozentual mehr als die (*fa/+*) Tiere. Zu Beginn der Dunkelphase (18:00-22:00 Uhr) war in allen Gruppen ein deutlicher Anstieg der Nahrungsaufnahme zu verzeichnen.

3.4 Viszerales Fett

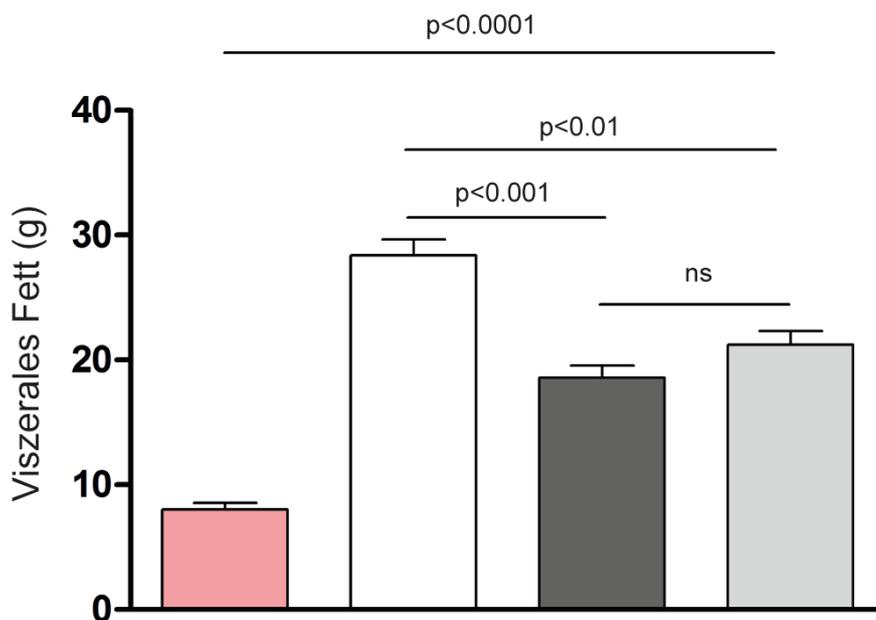


Abbildung 11: Viszerales Fett; ■ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ■ RYGB (*fa/fa*, n=11), ■ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

Die Masse des viszeralen Fetts der unterschiedlichen Gruppen zeigt Abbildung 11. Die sham Gruppe hatte signifikant mehr viszerales Fett als alle anderen Gruppen. Es fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen RYGB und BWM Tieren.

3.5 Glukosetoleranz

3.5.1 Glukose

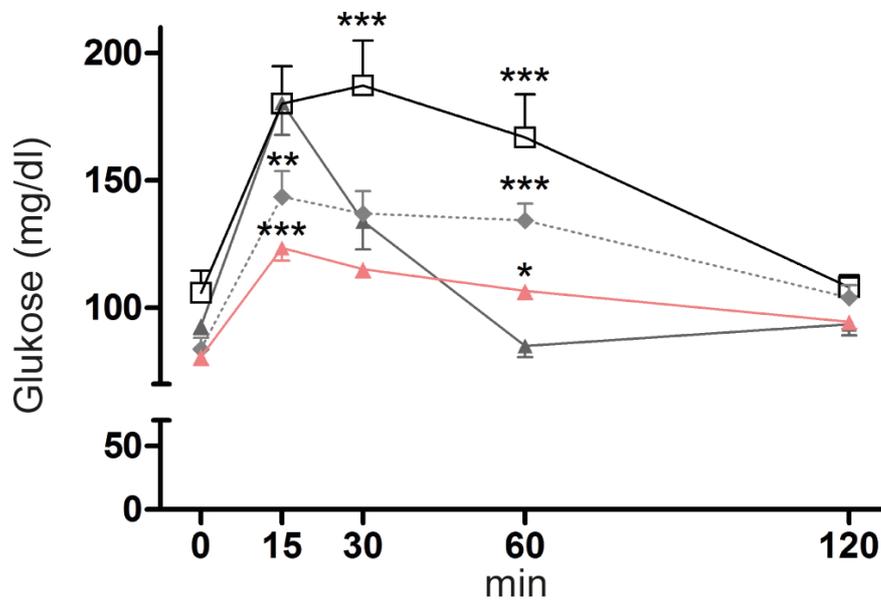


Abbildung 12: Serumglukosespiegel; ▲ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ▲ RYGB (*fa/fa*, n=11), ◆ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

Abbildung 12 zeigt die während eines OGTT gemessenen Serumglukosekonzentrationen aller Versuchsgruppen nach definierter Glukosebelastung (10 ml/kg KG einer 25 %igen Glukoselösung) über 120 min. Die lean Gruppe zeigt eine normale Glukosetoleranz mit einem leichten Anstieg bis 15 min mit kontinuierlichem Abfall bis 120 min. Die sham Gruppe zeigt dagegen eine deutlich gestörte Glukosetoleranz mit starkem Anstieg und inadäquatem Abfall mit einer nahezu Plateauphase zwischen Minute 15 und 60. Die RYGB Gruppe verzeichnet einen raschen Serumglukoseanstieg, gefolgt von einem raschen Abfall bis in den hypoglykämischen Bereich, um anschließend wieder leicht anzusteigen. Die BWM Gruppe hat einen signifikant niedrigeren Peak bei 15 min im Vergleich zur RYGB Gruppe und fällt anschließend parallel zur Kurve der lean ab.

Das Integral der Serumglukosekonzentration im zweistündigen OGTT der sham Gruppe zeigt einen signifikant höheren Wert als alle anderen Gruppen (siehe Tabelle 7). Die RYGB Gruppe hatte in der Summe eine niedrigere AUC der Serumglukosekonzentration als die BWM Gruppe. Die lean Gruppe wies signifikant die niedrigste AUC der Serumglukosekonzentration aller Gruppen auf.

3.5.2 Insulin

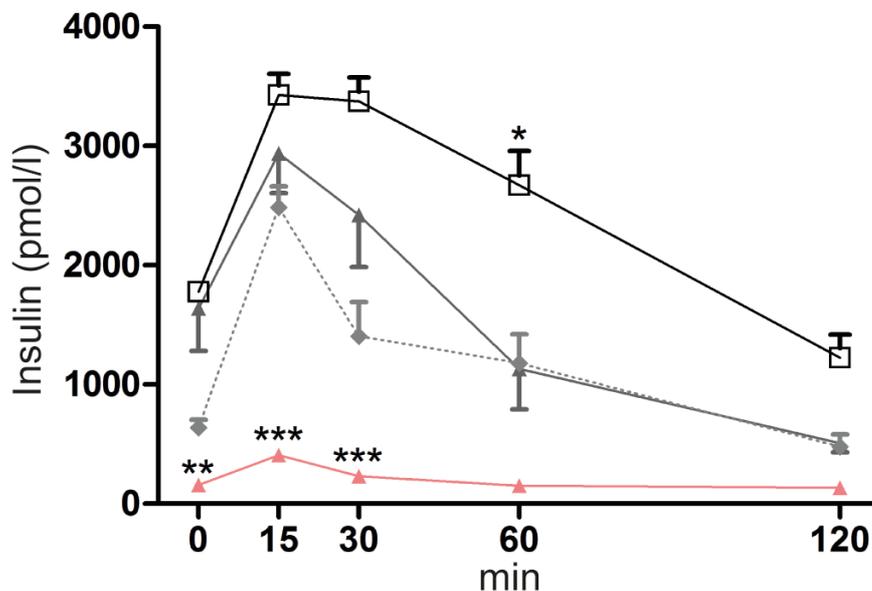


Abbildung 13: Seruminsulinspiegel; ▲ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ▲ RYGB (*fa/fa*, n=11), ◆ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

Die Seruminsulinspiegel während des OGTTs zeigt Abbildung 13. Die lean Gruppe hat physiologisch niedrige Insulinspiegel. Die sham Gruppe hat eine prolongierte Insulinantwort mit dauerhaft hohen Insulinspiegeln, konklusiv zu einer Insulinresistenz bei gestörter Glukosetoleranz. Die RYGB Gruppe zeigt einen Peak bei 15 min mit anschließendem Abfall. Ab 60 min zeigen die Insulinkurven der RYGB und BWM Gruppe einen gleich starken Abfall. Die Insulinspiegel der BWM sind vergleichbar mit denen der RYGB Gruppe. Jedoch weisen sie bei 30 min einen niedrigeren Wert auf. Das Integral der Insulinkonzentrationen der RYGB ist demzufolge vergleichbar mit dem der BWM

Gruppe, jedoch signifikant niedriger als die der sham Gruppe, welche die signifikant höchste AUC zeigen. Die AUC der lean Gruppe war signifikant niedriger als die der anderen Gruppen (siehe Tabelle 7).

3.5.3 GLP-1

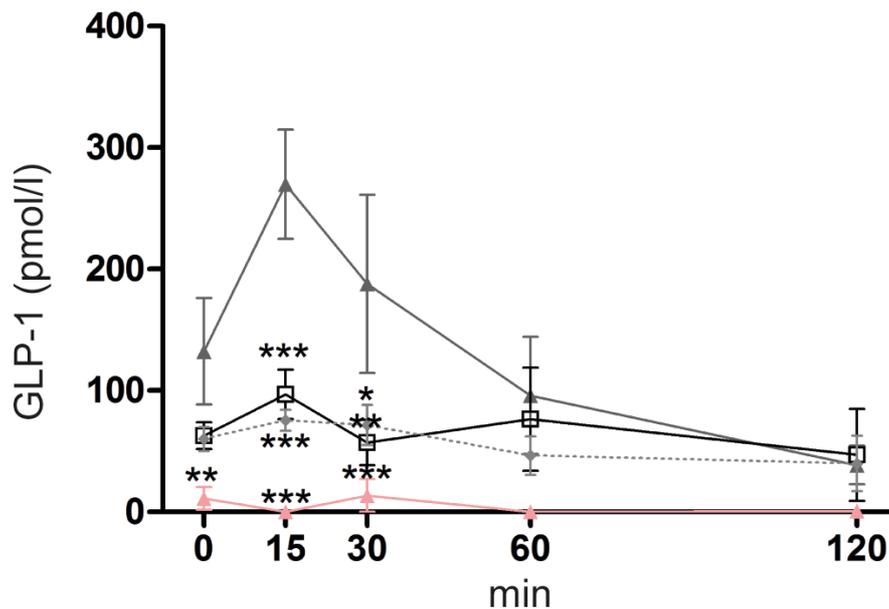


Abbildung 14: Serum GLP-1 Spiegel; ▲ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ▲ RYGB (*fa/fa*, n=11), ◆ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± SEM

Abbildung 14 zeigt die Serum GLP-1 Spiegel während des OGTTs. Die RYGB Gruppe hat bei 15 und 30 min einen signifikant höheren GLP-1 Spiegel als alle anderen Gruppen. Nach 120 min besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Die lean Gruppe hat einen dauerhaft niedrigen GLP-1 Spiegel. Die AUC der RYGB Gruppe war signifikant höher als die der BWM Gruppe und der anderen Gruppen (siehe Tabelle 7).

	lean (n=6)	sham (n=5)	RYGB (n=11)	BWM (n=5)	paarweiser Vergleich
Glukose AUC	23,835 ± 506	33,731 ± 969	24,046 ± 696	28,343 ± 1350	RYGB < sham $p < 0,001$ RYGB < BWM $p < 0,01$ RYGB > lean $p < 0,01$
Insulin AUC	42,541 ± 3399	556,349 ± 27,901	319,868 ± 47,687	258,786 ± 34,918	RYGB < sham $p < 0,01$ RYGB vs. BWM $p < 0,01$ RYGB vs. lean $p > 0,05$
GLP-1 AUC	7,38 ± 674	14,933 ± 4356	26,646 ± 7359	11,944 ± 1556	RYGB vs. sham $p > 0,05$ RYGB vs. BWM $p > 0,05$ RYGB > lean $p < 0,001$

Tabelle 7: Ergebnisse OGTT: 1. Zeile: AUC Glukose; 2. Zeile: AUC Insulin; 3. Zeile: AUC GLP-1

3.6 Pankreas Auswertung

3.6.1 Immunhistochemie

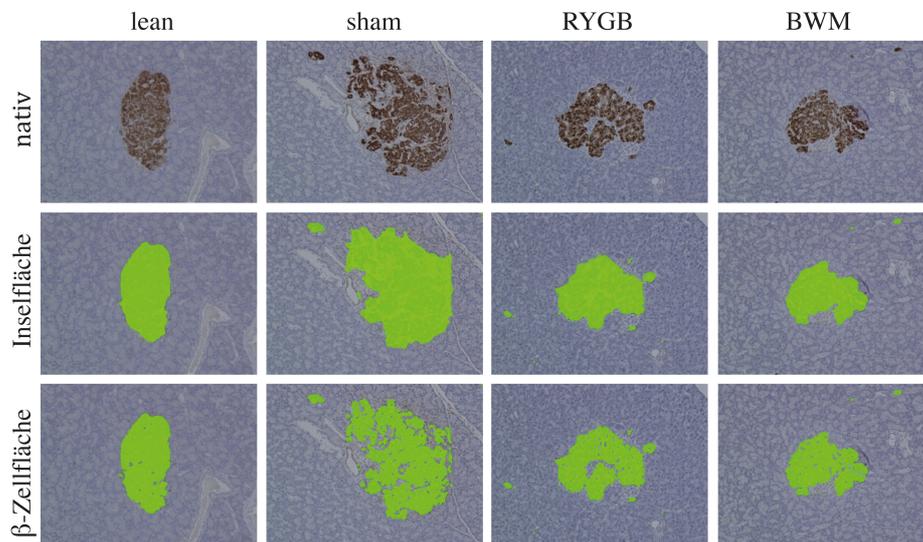


Abbildung 15: Inselmorphologie

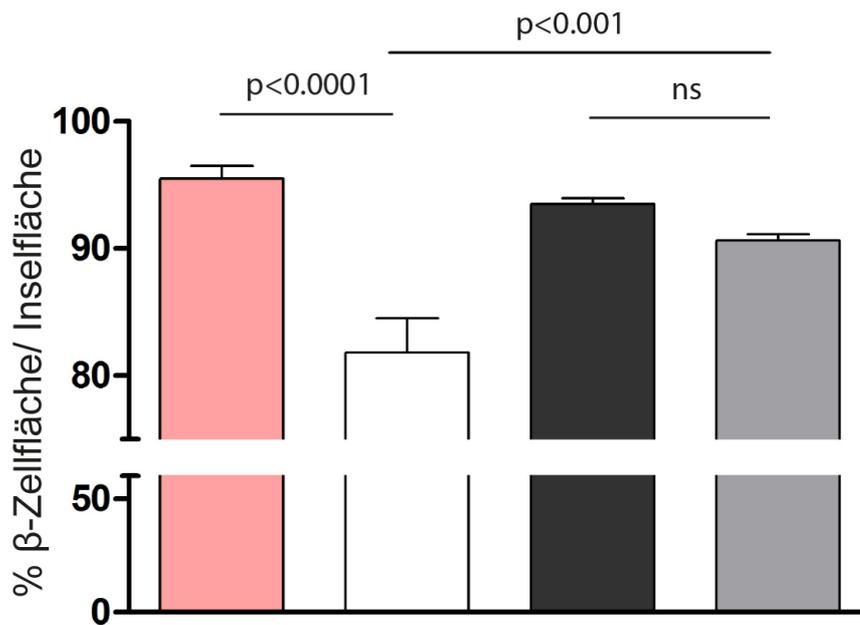


Abbildung 16: Verhältnis von β -Zellfläche zu gesamter Inselfläche; ■ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ■ RYGB (*fa/fa*, n=11), ■ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert \pm SEM

Die Inselmorphologie der einzelnen Gruppen wird beispielhaft in Abbildung 15 dargestellt. Die erste Spalte zeigt die Langerhansinseln nativ. In der zweiten wurde die Inselfläche inklusive degenerativer Prozesse, in der untersten Spalte lediglich die β -Zellfläche grün markiert.

Das Verhältnis von β -Zellfläche zu Inselfläche zeigt Abbildung 16. Ein niedriger Quotient des Verhältnisses lässt folglich prozentual auf eine größere Fläche degenerativer Umbauprozesse innerhalb der Langerhansinsel schließen.

Das Verhältnis von β -Zellfläche zu Inselfläche der RYGB, BWM und lean Gruppe weist keine signifikanten Unterschiede auf. Die sham Tiere hatten jedoch einen signifikant niedrigeren Quotienten als die anderen Gruppen.

3.6.2 GLP-1 Rezeptor Expression

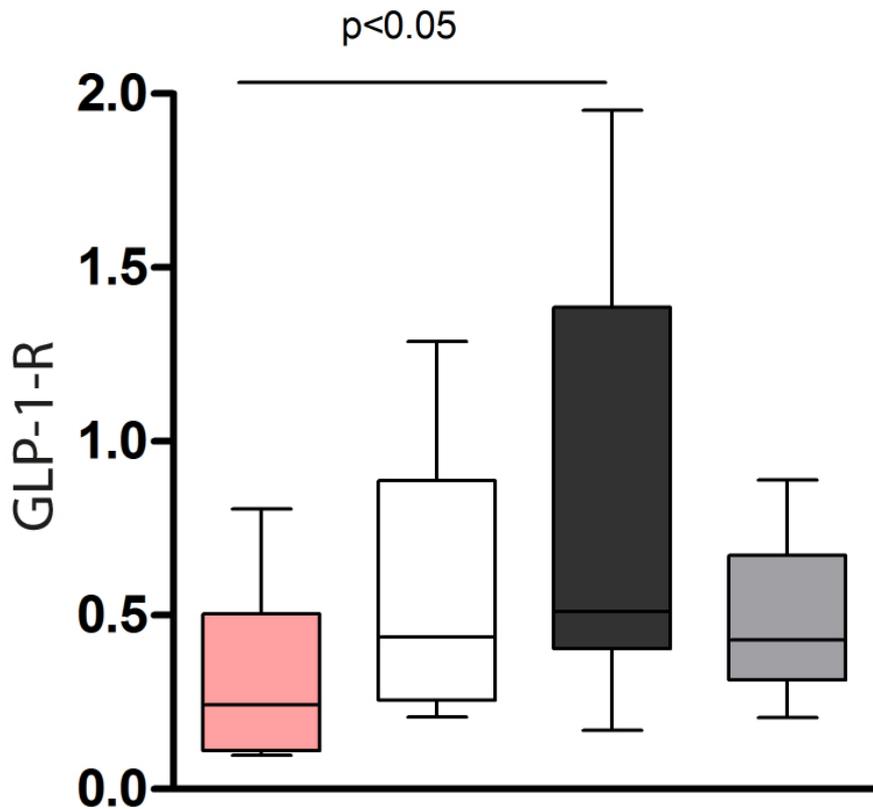


Abbildung 17: GLP-1 Rezeptor Expression; ■ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ■ RYGB (*fa/fa*, n=11), ■ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert \pm Interquartilsabstand

Um eine erhöhte Dichte von GLP-1 Rezeptoren im Pankreas als mögliche Ursache der verbesserten diabetischen Stoffwechsellage nach Roux-en-Y Magenbypass zu eruieren, wurde die GLP-1 Rezeptor Genexpression ermittelt. Diese ist in Abbildung 17 dargestellt. Die GLP-1 Rezeptor Expression war signifikant höher in der RYGB Gruppe als in der lean Gruppe. Es fand sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen der RYGB Gruppe und der sham bzw. BWM Gruppe.

3.6.3 PDX-1 Rezeptor Expression

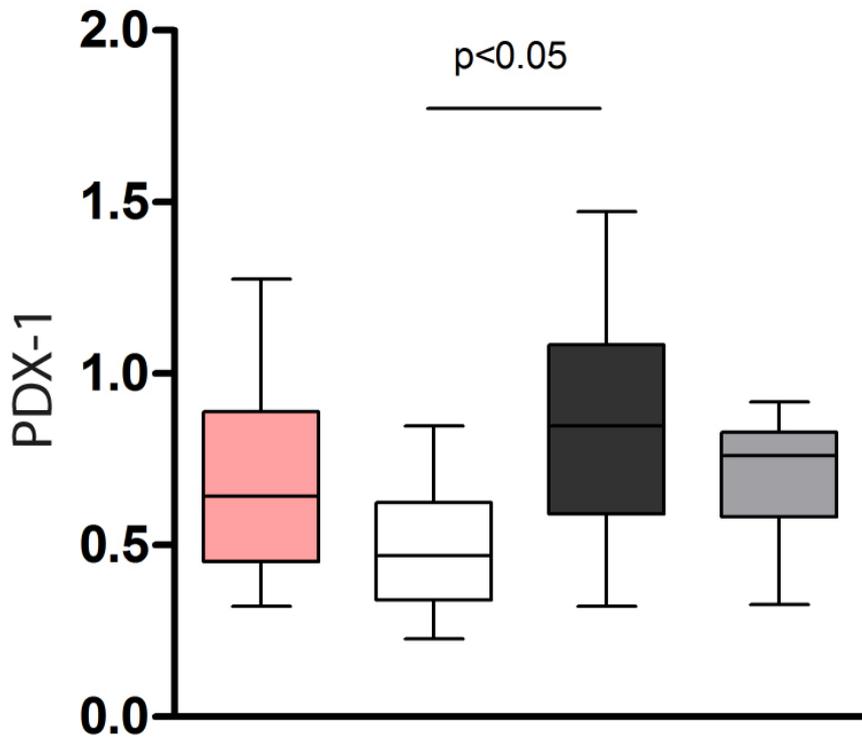


Abbildung 18: PDX-1 Gen Expression; ■ lean (*fa/+*, n=6), □ sham (*fa/fa*, n=5), ■ RYGB (*fa/fa*, n=11), ■ BWM (*fa/fa*, n=5); Ergebnisse dargestellt als Mittelwert ± Interquartilsabstand

Es erfolgte die Quantifizierung der mRNA des Transkriptionsfaktors PDX-1, welcher das intrazelluläre Bindeglied zwischen GLP-1 Rezeptor und β -Zell protektivem Effekt darstellt. Den Gehalt der PDX-1 mRNA der unterschiedlichen Gruppen im Pankreas zeigt Abbildung 18. Die PDX-1 Expression war signifikant höher in der RYGB Gruppe als in der sham Gruppe. Zwischen der RYGB, BWM und lean Gruppe fand sich kein signifikanter Unterschied.

4 Diskussion

In den letzten Jahren konnten wertvolle Erkenntnisse zum Verständnis der komplexen physiologischen Mechanismen nach bariatrischer Chirurgie gewonnen werden.^{54,102} Dabei lieferte insbesondere die experimentelle translationale Forschung, die im Vergleich zu klinischen Studien größeren Spielraum bezüglich möglicher Interventionen und Messgrößen bietet, wichtige Ergebnisse.^{46,88}

Der Roux-en-Y Magenbypass gilt derzeit als Goldstandard der bariatrischen Verfahren.^{41,103,104} Postoperativ ist im Mittel eine Reduktion von 60% des Übergewichts, eine Remission oder deutliche Verbesserung der Komorbiditäten – insbesondere eines DMT2 in 82% - eine Verbesserung der Funktionalität und der Lebensqualität zu erreichen.¹⁰⁵ Aufgrund der frühen und sehr guten antidiabetischen Wirkungsweise der Operation wird die Indikation heute auch bei einem BMI ab 30kg/m² bei schlecht einstellbarem Diabetes von interdisziplinären Leitlinien empfohlen.¹⁶ Die Mechanismen, die zu einer verbesserten Glukosetoleranz nach Roux-en-Y Magenbypass führen scheinen weit über eine Nahrungsrestriktion und Malabsorption von Makronährstoffen hinauszugehen und sind – trotz eines erheblichen Zugewinns an Erkenntnissen – bis heute nicht ausreichend verstanden.^{106,107}

Experimentelle Studien konnten zeigen, dass die Formung eines kleinen Magenpouches und Ausschaltung des proximalen Dünndarms vom Nahrungsfluss nach Roux-en-Y Magenbypass (siehe Abbildung 1) weitreichende metabolische Konsequenzen mit sich bringen. Zusammenfassend kommt es zu (i) einem schnellen Eintritt von nichtverdauter Nahrung in das mittlere Jejunum; (ii) zu einer Abwesenheit von Nahrung im Magen und proximalen Dünndarm, dadurch (iii) zu direktem Kontakt von unverdünnter Galle mit der Mukosa des proximalen Dünndarms, (iv) zu vermehrter Sekretion von GLP-1 und Peptid YY aus den enteralen L-Zellen, (v) zu einer vagalen Manipulation und (vi) zu einer Änderung des im Darm angesiedelten Mikrobioms.⁵¹⁻⁵⁴ Der Darm fungiert

demnach als physiologische Schaltzentrale und steht modulierend mit anderen Organsystemen in Verbindung.^{71,108,109}

Weitgehend unklar sind bislang die biologische Relevanz und die Effektgröße dieser Magenbypass-spezifischen Mechanismen¹¹⁰ auf den DMT2, da auch durch eine verminderte Nahrungsaufnahme und vergleichbare Gewichtsabnahme eine Verbesserung des Diabetes erzielt werden kann.^{40,111}

In dieser Arbeit sollte in einem kontrollierten Versuchssetting die biologische Relevanz der Magenbypass-spezifischen Gewichtsverlust-unabhängigen Effekte, insbesondere die Änderung der enteroinsulinären Achse, auf die Verbesserung der Glukosetoleranz untersucht werden. Hierfür diene eine „body-weight-matched“ scheinoperierte Kontrollgruppe (BWM, siehe Tabelle 5), die durch eine Nahrungsrestriktion gewichtsgleich zu den magenbypassoperierten Tieren während des gesamten Versuchsablaufs gehalten wurden (siehe Abbildung 7).

Als Tiermodell wurden Zucker (*fa/fa*) Ratten gewählt, die durch einen hypothalamischen Leptinrezeptordefekt eine Hyperphagie mit konsekutiver Adipositas und einen nicht insulinabhängigen stabilen DMT2 entwickeln.^{91,92}

Dieses Tiermodell zeigt wesentliche Parallelen des metabolischen Syndroms zum Menschen und wird daher vielfach in der experimentellen translationalen Forschung verwendet.^{89,92,112} Das etablierte chirurgische Modell des Roux-en-Y Magenbypass ähnelt in den anatomischen Proportionen der humanen Situation und spiegelt den menschlichen Phänotyp hinsichtlich der metabolischen Konsequenzen und des Gewichtsverlusts sehr gut wieder.^{88,113} So konnte insbesondere eine langfristige Gewichtsreduktion, verminderte Nahrungsaufnahme, sowie verbesserte Glukosetoleranz mit erhöhter postprandialer Inkretinantwort beobachtet werden.^{89,114}

Zunächst sollte untersucht werden, ob nach Roux-en-Y Magenbypass eine zu erwartende verbesserte Glukosetoleranz vorliegt und ob diese auf einer erhöhten GLP-1 Ausschüttung mit konsekutiver Insulinantwort beruht. Ferner, ob nach Roux-en-Y Magenbypass eine GLP-1 vermittelte histologisch nachweisbare β -Zell Protektion nachweisbar ist und wie groß die biologische

Relevanz der Magenbypass-spezifischen Mechanismen im Vergleich zu einer reinen Nahrungsrestriktion ist.

Zielgrößen waren die Blutglukose-, GLP-1 und Insulinspiegel im Rahmen eines OGTTs, die immunhistochemische Pankreasmorphologie und die Expression der GLP-1 Rezeptoren und des Transkriptionsfaktors PDX-1 im Pankreasgewebe.

Die Blutzuckerkurve der RYGB Gruppe beschreibt zu Beginn einen Peak in den hyperglykämischen Bereich mit anschließendem Abfall in die Hypoglykämie.

Diese Beobachtung ist der humanen Situation sehr ähnlich und wurde bereits von Jiménez et al.¹¹³ und Umeda et al.¹¹⁵ beschrieben.

Diese Undulation kann durch die Verkleinerung des Magenreservoirs und die Ausschaltung des proximalen Dünndarms mit konsekutiver schneller Aufnahme der Glukose im Dünndarm gefolgt von einer erhöhten Inkretin-bedingten Insulinausschüttung erklärt werden. Die BWM Gruppe, die keiner anatomischen Veränderung des Gastrointestinaltrakts unterzogen wurde und deren Gewichtsabnahme rein durch Nahrungsrestriktion bedingt war, unterliegt hierbei weniger Blutzuckerschwankungen.

Wie schon von anderen Autoren beschrieben, weist die RYGB Gruppe eine deutlich höhere postprandiale GLP-1 Ausschüttung auf als alle anderen Vergleichsgruppen.^{54,116} Damit handelt es sich hier um einen Magenbypass-spezifischen Effekt, der unabhängig von der Gewichtsabnahme ist und möglicherweise der Grund für die im Vergleich zur BWM Gruppe leicht verbesserte Glukosetoleranz.

Die subtile Untersuchung der Pankreasmorphologie ergab jedoch keinen Hinweis auf einen zusätzlichen GLP-1 vermittelten β -Zell protektiven Effekt nach Roux-en-Y Magenbypass. So zeigten sich zwar deutlich weniger degenerative Veränderungen der Pankreasinseln nach Roux-en-Y Magenbypass verglichen zu der sham Gruppe, jedoch unterscheiden sich die histologischen Ergebnisse der RYGB Gruppe nicht von denen der BWM Gruppe. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass vornehmlich die Gewichtsreduktion und nicht die Magenbypass-spezifischen Mechanismen β -Zell protektiv wirken.

Erstaunlicherweise fand sich zwar eine erhöhte GLP-1 Rezeptorexpression der RYGB Gruppe im Vergleich zur lean Gruppe, verglichen mit der BWM Gruppe ergaben sich jedoch keine Unterschiede. Auch in der Expression von PDX-1, einem Transkriptionsfaktor, welcher essentiell für die GLP-1 Rezeptor-bedingten Regulation des Wachstums, Differenzierung, Funktion und Überleben der β -Zellen^{110,117} ist, konnte kein bedeutender Unterschied zwischen RYGB und BWM Gruppe gefunden werden. Verschiedene bereits publizierte Daten unterstützen die vorliegenden Ergebnisse.^{118,119}

Jackness et al.¹²⁰ und Isbell et al.¹²¹ zeigten, dass die frühe Verbesserung der Insulinsensitivität nach Roux-en-Y Magenbypass durch kalorische Restriktion in gleicher Weise zu erreichen ist. Bradley et al.¹¹¹ verglichen Patienten nach Roux-en-Y Magenbypass und Magenbandoperation mit einem Gewichtsverlust von 20%. Sie stellten fest, dass langfristig kein Unterschied in der Insulinsensitivität und der β -Zell Funktion zwischen beiden Gruppen zu finden ist, obwohl eine signifikant höhere postprandiale GLP-1 Ausschüttung nach Roux-en-Y Magenbypass zu verzeichnen ist als nach Magenbandoperation¹²². Auch Jimenez et al.¹²³ stellten keinen signifikanten Unterschied in der Remission des DMT2 nach Roux-en-Y Magenbypass oder Magenschlauch fest. Des Weiteren konnten Mokadem, M. et al.¹²⁴ zeigen, dass die verbesserte Glukosekontrolle nach Roux-en-Y Magenbypass auch in einem Mausmodell mit GLP-1 Rezeptormangel zu beobachten ist. Dies lässt ebenfalls vermuten, dass die erhöhte GLP-1 Ausschüttung nach Roux-en-Y Magenbypass keinen relevanten biologischen Effekt auf die Verbesserung der diabetischen Stoffwechsellage hat.

Konträr hierzu fanden Lindqvist et al.¹²⁵ eine erhöhte β -Zell Masse und vergrößerte Langerhansinseln in magenbypassoperierten Schweinen im Vergleich zu scheinoperierten Tieren. Das verwendete Tiermodell war jedoch einerseits ein nichtdiabetisches und nichtadipöses Modell. Zum anderen gab es keine Vergleichsgruppe, die die Effekte einer vergleichbaren Gewichtsabnahme kontrollierten.

Auch andere Studien, welche eine rein Magenbypass-spezifische Komponente in der Verbesserung der Glukosetoleranz vermuten, haben Limitationen bezüglich ihrer Methodik. Liu et al.¹²⁶ beispielsweise untersuchten in ihrer Studie vier Versuchsgruppen: magenbypassoperierte Goto-Kakizaki (GK) Ratten, scheinoperierte GK, nahrungsrestriktierte GK Tiere und Wistar Ratten als gesunde Kontrollen. Die gesunden Kontrollen wogen jedoch deutlich mehr, als die restlichen Gruppen, weshalb die gesunde Kontrollgruppe nicht mit den anderen vergleichbar ist. Hier fehlt eine vergleichbare nichtdiabetische schlanke Kontrollgruppe. Des Weiteren wurde die Nahrungsaufnahme der nahrungsrestriktierten Gruppe nicht an das der RYGB Gruppe angepasst. Sie erhielten ein Drittel der normalen Tagesration. Dies führte dazu, dass sie bezogen auf ihr Körpergewicht weniger fraßen als die RYGB Gruppe und somit unter dem Gewicht dieser lagen.

Grundsätzlich ist fraglich, ob das GK Rattenmodell passend für die Forschung der Entwicklung des DMT2 nach Roux-en-Y Magenbypass ist.

Der DMT2 ist eine chronisch degenerative Erkrankung mit erhöhten Serumglukosekonzentrationen aufgrund von Insulinresistenz und Insulinmangel, die in den meisten Fällen durch Übergewicht bedingt sind.^{10,24} Er führt zu progredientem β -Zell Schaden und Amyloidablagerungen in den Langerhansinseln.^{28,32,33} Die primäre Therapie des DMT2 ist die Gewichtsreduktion.¹⁰

Die GK Ratten stellen ein nichtadipöses Modell da, welches durch polygenetische Faktoren einen insulinunabhängigen Diabetes mellitus mit einer herabgesetzten β -Zell Masse bis zu 60% entwickelt. Folglich ist hier keine vergleichbare gesunde schlanke Kontrollgruppe verfügbar.⁹³ In diesem Modell wurde eine Änderung der Inkretinhormone festgestellt. Ob diese jedoch vor Nahrungsrestriktion und Gewichtsabnahme den dominanten Effekt auf die Verbesserung des DMT2 darstellen, ist nicht zu differenzieren, da die Ratten nicht übergewichtig sind und reine Nahrungsrestriktion nicht den Vorteil bringt wie in einem adipösen Modell. Die in diesem Versuch verwendeten Zucker (*fa/fa*) Ratten entwickeln durch einen genetischen hypothalamischen Leptinrezeptordefekt eine Hyperphagie mit anschließender Adipositas mit konsekutiven Komorbiditäten wie gestörter

Glukosetoleranz, Hyperinsulinismus, Hyperlipidämie und moderater Hypertonie. Somit imitieren sie nicht nur den gestörten Glukosestoffwechsel, sondern das metabolische Syndrom. Der Nachteil an diesem Modell ist, dass sie nicht einen progredienten DMT2 entwickeln, sondern im Wesentlichen eine gestörte Glukosetoleranz bei Hyperinsulinismus⁹³.

Trotz aller Vorteile kann die translationale Forschung keine absolute Kongruenz zum Menschen bieten. Dieser Umstand erfordert die kritische Betrachtung aller Ergebnisse, welche anhand von Tiermodellen erhoben werden. Dies beinhaltet insbesondere das herangezogene Tiermodell mit Alter, Geschlecht, speziebedingten Besonderheiten wie beispielsweise der Tag-Nacht-Rhythmus und Diabetesinduktion. Zudem müssen das chirurgische Verfahren, das Vorgehen der Messwerterhebung und externe Einflussfaktoren, wie beispielsweise die Haltungsart beurteilt werden.

Insgesamt konnte in vorliegendem Tiermodell gezeigt werden, dass in Bezug auf die Glukosetoleranz weder auf biologischer, immunhistologischer noch auf molekularer Ebene ein bedeutender Unterschied zwischen den magenbypassoperierten und nahrungstriktierten Tieren zu finden war. Es wäre zu erwarten gewesen, dass die erhöhte postprandiale GLP-1 Ausschüttung nach Roux-en-Y Magenbypass eine bessere Glukosetoleranz und β -Zell protektiven Effekt in der RYGB Gruppe im Vergleich zu der BWM Gruppe erzielte. Dies war in vorliegender Untersuchung jedoch nicht zutreffend. Es ist allerdings zu betonen, dass in einem anderen Tiermodell, welches einen progressiven DMT2 entwickelt, Unterschiede zwischen RYGB und BWM Gruppe möglicherweise klarer abzugrenzen gewesen wären. Zudem hätte eine längere Nachbeobachtungszeit zusätzlich Unterschiede aufdecken können.¹¹⁰

Ebenfalls erwähnenswert ist, dass während des OGTTs keine Blutabnahme unmittelbar vor der Glukosebelastung, sondern unmittelbar nach der Fütterung erfolgte und somit in allen Gruppen ein falsch zu hoher t_0 -Blutzuckerwert angenommen werden muss. Die Ratio hierfür war, dass ein unnötiger Stress der Tiere mit einer Verfälschung der weiteren metabolischen Ergebnisse vermieden werden sollte. Daher repräsentiert eher der t_{120} -Wert den

Nüchternblutzuckerspiegel als der t_0 -Wert. Dies betrifft insbesondere die Blutzuckerwerte der RYGB Gruppe, da diese wie oben bereits beschrieben eine schnellere Glukoseaufnahme aufweisen. Jedoch fand sich in dieser Gruppe trotz dieser Einschränkung eine bessere glykämische Kontrolle als in der BWM Gruppe, was eine verbesserte β -Zellfunktion in der RYGB Gruppe vermuten lässt.

Neben der enteroinsulinären Achse wurden im Laufe der Zeit weitere Einflussgrößen untersucht, welche mutmaßlich neben der Gewichtsreduktion für die verbesserte Glukosetoleranz nach Roux-en-Y Magenbypass verantwortlich sind.

Magenbypassoperierte Tiere benötigen im Vergleich zu scheinoperierten Tieren im Durchschnitt weniger Nahrung um ihr Gewicht zu halten, als scheinoperierte Tiere, obwohl in allen Versuchsgruppen der fäkale Energiegehalt und das Stuhlgewicht gleich waren.¹⁰⁶

In den letzten Jahren wurde vermutet, dass diese Beobachtung unter anderem auf einer Verschiebung des intestinalen Mikrobioms nach Roux-en-Y Magenbypass beruht. Das Mikrobiom ist ein Umweltfaktor, der die direkte Schaltstelle zwischen Nahrung und Wirt darstellt.¹²⁷ Es konnte gezeigt werden, dass die Einpflanzung des enteralen Mikrobioms von magenbypassoperierten Tieren in den Darm von keimfreien Tieren zu einer Gewichtsreduktion, das von adipösen Tieren zu einer Gewichtszunahme führt.^{53,128} Dies legt die Vermutung nahe, dass das Mikrobiom eine relevante Rolle in der Pathogenese der Adipositas und in der verbesserten metabolischen Situation nach Roux-en-Y Magenbypass spielt.

Einen anderen Einflussfaktor auf den Metabolismus, welcher eng mit dem Mikrobiom in Zusammenhang steht sind Gallensäuren. Diese sind hepatisch synthetisierte Moleküle, welche vornehmlich für die Verdauung von Lipiden im Darm verantwortlich sind. Sie werden in einem enterohepatischen Kreislauf durch die Galle in den Darm abgegeben und zum größten Teil im Darm wieder in den Blutkreislauf aufgenommen, wo sie als konjugierte und unkonjugierte Gallensäuren zirkulieren. Jüngere Forschungsergebnisse zeigen, dass Gallensäuren auch endogene Signalmoleküle sind, welche durch die

Gallensäurerezeptoren farnesoid X Rezeptor (FXR) und TGR-5 Rezeptor maßgeblich am Lipid- und Glukosemetabolismus beteiligt sind.¹²⁹⁻¹³¹

Verschiedene Studien konnten zeigen, dass nach Roux-en-Y Magenbypass sowohl eine erhöhte Konzentration von konjugierten Gallensäuren im Blut, als auch von unkonjugierten Gallensäuren im Stuhl vorliegen und dies maßgeblichen Einfluss auf die Gewichtsreduktion und Nahrungsrestriktion nach Roux-en-Y Magenbypass hat.^{129,131 106}

Dies führte zur Vermutung, dass ein veränderter Gallefluss eine Rolle in der frühen und gewichtsunabhängigen Verbesserung der Insulinsensitivität und der Glukosetoleranz spielt.¹³¹ Die zugrundeliegenden Mechanismen und die genaue Wechselwirkung zwischen verändertem Gallefluss und Mikrobiom sind jedoch noch nicht im Detail verstanden und bedürfen weiterer Untersuchung.

Unumstritten bleibt jedoch, dass der Roux-en-Y Magenbypass zu einem langfristigen und stabilen Gewichtsverlust führt und diätischen und medikamentösen Maßnahmen hierin überlegen ist. Der Ursprung liegt in der Veränderung des Essverhaltens und der Reduktion des Hungergefühls durch komplexe Modulation des Sattheits- und Belohnungszentrums nach Roux-en-Y Magenbypass.^{132,133}

5 Zusammenfassung

Die derzeit effektivste Therapie für den DMT2 ist die bariatrische Chirurgie.^{40,56} Hierbei scheint der Roux-en-Y Magenbypass, das lange Zeit am häufigsten durchgeführte Verfahren¹⁰³, Gewichtsabnahme-unabhängige positive Effekte⁷⁰ auf die Blutzuckerkontrolle durch hormonelle und anatomische Mechanismen^{68,102} zu haben.

Ziel dieser Arbeit war es die rein Magenbypass-spezifischen von den Gewichtsabnahme-abhängigen Effekten auf die verbesserte Glukosetoleranz abzugrenzen und die biologische Relevanz der Änderung der enteroinsulinären Achse nach Roux-en-Y Magenbypass zu quantifizieren.

Insgesamt konnte im verwendeten Tiermodell nach Roux-en-Y Magenbypass eine Gewichtsabnahme mit Verminderung des viszeralen Fetts und ein β -Zell protektiver Effekt mit konsekutiv verbesserter Glukosetoleranz gefunden werden. Dies geht einher mit einem speziellen Profil der Glukose-, Insulin- und GLP-1 Spiegel.

Die histologischen Untersuchungen und Ergebnisse der Gen-Expression der RYGB Gruppe zeigten im Vergleich zu denen der rein nahrungsrestriktiven Gruppe jedoch keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf den β -Zell protektiven Effekt, obwohl nach Roux-en-Y Magenbypass ein deutlich erhöhter postprandialer GLP-1 Spiegel gemessen worden war.

Insgesamt scheinen somit im verwendeten Modell kalorische Deprivation und Körpergewichtsabnahme und nicht die Roux-en-Y Magenbypass spezifischen Effekt dominant in der Verbesserung der Glukosetoleranz und β -Zell protektivem Effekt zu sein.

Unbestritten bleibt, dass es nach Roux-en-Y Magenbypass zu einer langfristigen und signifikanten Gewichtsabnahme kommt, wohingegen die meisten Patienten mit morbidem Adipositas durch diätische oder medikamentöse Maßnahmen initial nicht suffizient abnehmen oder einen Rückfall erleiden.^{132,133}

6 Abkürzungsverzeichnis

- α -MSH:** α -Melanozyten-stimulierendes Hormon
- AUC:** Fläche unter der Kurve, area under the curve
- BMI:** Körpermasseindex, body-mass-index
- BWM:** body-weight-matched
- DMT2:** Diabetes mellitus Typ 2
- DPP-4:** Dipeptidylpeptidase 4
- EOSS:** Edmonton Obesity Staging System
- FXR:** farnesoid X Rezeptor
- GK:** Goto-Kakizaki
- GLP-1:** Glukagon-ähnliches-Peptid-1
- GLP-1 R:** Glukagon-ähnliches-Peptid-1 Rezeptor
- GLUT2:** Glukosetransporter 2
- IFG:** abnorme Nüchtern-Glukose
- IGT:** gestörte Glukosetoleranz
- Lean:** lean control
- LCFA:** langkettige Fettsäuren
- MC4R:** Melanocortin-4-Rezeptor
- OGTT:** oraler Glukosetoleranztest
- PDX-1:** pancreatisch-duodenale Homeobox-1
- RYGB:** Roux-en-Y Magenbypass
- SCFA:** kurzkettige Fettsäuren
- SGTL1:** Natrium/Glukose Transporter 1
- Sham:** sham ad libitum
- TGR-5 Rezeptor:** G-Protein gekoppelter Gallensäurerezeptor

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie des Gastrointestinaltrakts	8
Abbildung 2: Versuchsablauf	16
Abbildung 3: Histologische Schnittführung Pankreas	21
Abbildung 4: Auszug Quantifizierung der Pankreasfläche	22
Abbildung 5: Auszug Quantifizierung der Langerhansinsel­fläche	23
Abbildung 6: Auszug Quantifizierung der β -Zell Fläche	23
Abbildung 7: Gewichtsverlauf	27
Abbildung 8: Durchschnittliche tägliche Nahrungsaufnahme	28
Abbildung 9: Verhältnis nächtlicher zu täglicher Nahrungsaufnahme	29
Abbildung 10: circadiane Nahrungsaufnahme	28
Abbildung 11: Viszerales Fett	29
Abbildung 12: Serumglukosespiegel	30
Abbildung 13: Seruminsulinspiegel	31
Abbildung 14: Serum-GLP-1 Spiegel	32
Abbildung 15: Inselmorphologie	33
Abbildung 16: Verhältnis von β -Zellfläche zu gesamter Insel­fläche	34
Abbildung 17: GLP-1 Rezeptor Expression	35
Abbildung 18: PDX-1 Gen Expression	36
Tabelle 1: Adipositas-assoziierte Erkrankungen und Risiken	2
Tabelle 2: Gewichtsklassifikation	3
Tabelle 3: Diagnostische Richtwerte zur Feststellung eines DMT2	5
Tabelle 4: Indikationen für adipositaschirurgische Eingriffe	10
Tabelle 5: Versuchsgruppen	15
Tabelle 6: Informationen zu den Primerpaaren bei der RT-qPCR	25
Tabelle 7: Ergebnisse OGTT	34

8 Literaturverzeichnis

1. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. Aug 27 2011;378(9793):804-814.
2. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*. Jul 2015;33(7):673-689.
3. Stevens GA, Singh GM, Lu Y, et al. National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. *Population health metrics*. 2012;10(1):22.
4. Institut RK. Faktenblatt zu GEDA 2012: Ergebnisse der Studie "Gesundheit in Deutschland aktuell 2012". 2014.
5. Dr Bryony Butland F, Dr Susan Jebb M, Prof Peter Kopelman UoEA, et al. Fore sight, Tackling Obesities: Future Choices – Project report. *Government Office for Science*. 2007.
6. WHO. Die Herausforderung Adipositas und Strategien zu ihrer Bekämpfung. 2006.
7. Nammi S, Koka S, Chinnala KM, Boini KM. Obesity: an overview on its current perspectives and treatment options. *Nutrition journal*. Apr 14 2004;3:3.
8. Costa de Oliveira Forkert E, de Moraes AC, Carvalho HB, et al. Abdominal obesity and its association with socioeconomic factors among adolescents from different living environments. *Pediatric obesity*. Feb 22 2016.
9. DAG. Stand 2012
<http://www.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=251>.
(letzter Aufruf am 31. 03.2018)
10. Mitarbeiter GHu. Innere Medizin. 2012.
11. Observatory NO. Obesity and mental health. March 2011.

12. Kenny PJ. Is Obesity an Addiction, Stand 2013.
<http://www.scientificamerican.com/article/is-obesity-an-addiction/>.
(letzter Aufruf am 31. 03 2013)
13. Ziauddeen H, Farooqi IS, Fletcher PC. Obesity and the brain: how convincing is the addiction model? *Nature reviews. Neuroscience*. Apr 2012;13(4):279-286.
14. Wang YC, McPherson K, Marsh T, Gortmaker SL, Brown M. Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *Lancet*. Aug 27 2011;378(9793):815-825.
15. WHO. Obesity and Overweight. Stand Januar 2015.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
(letzter Aufruf am 31. 03.2018)
16. PDmBe a. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur "Prävention und Therapie der Adipositas" - S3-Leitlinie. 2014.
17. North American Association for the Study of Obesity and the National Heart L aBI. The Practical Guide: Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. 2000.
18. Lenz M, Richter T, Muhlhauser I. The morbidity and mortality associated with overweight and obesity in adulthood: a systematic review. *Deutsches Arzteblatt international*. Oct 2009;106(40):641-648.
19. KAe. a. *Duale Reihe Innere Medizin*. 2012.
20. Tomiyama AJ, Hunger JM, Nguyen-Cuu J, Wells C. Misclassification of cardiometabolic health when using body mass index categories in NHANES 2005-2012. *International journal of obesity*. Febr 4 2016.
21. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Jul 2005;90(7):4145-4150.
22. Ortega FB, Lee DC, Katzmarzyk PT, et al. The intriguing metabolically healthy but obese phenotype: cardiovascular prognosis and role of fitness. *European heart journal*. Feb 2013;34(5):389-397.

23. Birgit Schilling-Maßmann: Umdenken tut not! Stand 2015
http://www.adipositaszentrum.praxis-leeden.de/tl_files/praxisleeden/material/EOSS.pdf.
 (letzter Aufruf 31.03.2018)
24. ASSOCIATION AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.
position statement. 2004.
25. Vilsboll T, Holst JJ. Incretins, insulin secretion and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*. Mar 2004;47(3):357-366.
26. Kloppel G, Lohr M, Habich K, Oberholzer M, Heitz PU. Islet pathology and the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus revisited. *Survey and synthesis of pathology research*. 1985;4(2):110-125.
27. Schmidt L, Heckmann. *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. Vol 31. Ausgabe 2010.
28. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*. Jan 2003;52(1):102-110.
29. TUFTS UNIVERSITY. Diabetes mellitus: Diagnosis and Pathophysiology
<http://ocw.tufts.edu/Content/14/lecturenotes/265878>.
 (letzter Aufruf 31.03.2018)
30. JKJea LJD. *Endocrinology*. Vol one. 2006.
31. Firma AstraZeneca GmbH: Diabetes Typ 2: Ursachen des Diabetes. Stand 2018.
<https://www.zuckerkrank.de/diabetes-typ-2/ursachen>.
 (letzter Aufruf 31.03.2018)
32. Kahn SE. Clinical review 135: The importance of beta-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Sep 2001;86(9):4047-4058.
33. Laybutt DR, Preston AM, Akerfeldt MC, et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes. *Diabetologia*. Apr 2007;50(4):752-763.
34. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. Jan 2015;38 Suppl:S8-s16.

35. Samper-Ternent R, Al Snih S. Obesity in Older Adults: Epidemiology and Implications for Disability and Disease. *Reviews in clinical gerontology*. Feb 1 2012;22(1):10-34.
36. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, et al. Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. *American journal of epidemiology*. Sep 1990;132(3):501-513.
37. Hien B. Diabetes-Handbuch. 2010;6.
38. Kashyap SR, Daud S, Kelly KR, et al. Acute effects of gastric bypass versus gastric restrictive surgery on beta-cell function and insulinotropic hormones in severely obese patients with type 2 diabetes. *International journal of obesity*. Mar 2010;34(3):462-471.
39. Cello JP, Rogers SJ. Morbid obesity-the new pandemic: medical and surgical management, and implications for the practicing gastroenterologist. *Clinical and translational gastroenterology*. 2013;4:e35.
40. Ribaric G, Buchwald JN, McGlennon TW. Diabetes and weight in comparative studies of bariatric surgery vs conventional medical therapy: a systematic review and meta-analysis. *Obesity surgery*. Mar 2014;24(3):437-455.
41. Lo Menzo E, Szomstein S, Rosenthal RJ. Changing trends in bariatric surgery. *Scandinavian journal of surgery : SJS : official organ for the Finnish Surgical Society and the Scandinavian Surgical Society*. Mar 2015;104(1):18-23.
42. Moshiri M, Osman S, Robinson TJ, Khandelwal S, Bhargava P, Rohrmann CA. Evolution of bariatric surgery: a historical perspective. *AJR. American journal of roentgenology*. Jul 2013;201(1):W40-48.
43. ASfMaB. S. Story of obesity, Stand 2004.
<http://asmbs.org/resources/story-of-obesity-surgery>. 2004.
(letzter Aufruf 31. März 2018)
44. Carswell KA, Vincent RP, Belgaumkar AP, et al. The effect of bariatric surgery on intestinal absorption and transit time. *Obesity surgery*. May 2014;24(5):796-805.

45. Cottam DR, Fisher B, Sridhar V, Atkinson J, Dallal R. The effect of stoma size on weight loss after laparoscopic gastric bypass surgery: results of a blinded randomized controlled trial. *Obesity surgery*. Jan 2009;19(1):13-17.
46. Arble DM, Sandoval DA, Seeley RJ. Mechanisms underlying weight loss and metabolic improvements in rodent models of bariatric surgery. *Diabetologia*. Feb 2015;58(2):211-220.
47. Universitätsklinikum Freiburg Zentrum für Adipositas und Metabolische Chirurgie. Stand 2013.
<http://www.adipositas-behandlung.de/de/adipositas-chirurgie/methoden-der-adipositas-chirurgie>.
(letzter Aufruf 31.03.2018)
48. niversitätsklinikum Würzburg: Adipositaszentrum.
<http://adipositaszentrum-wuerzburg.de/index.php?id=herzlichwillkommen&L=1%27 and char%28124%29 user char%28124%29%3D0 and %27%27%3D%27%22>.
(letzter Aufruf 31.03.2018)
49. Stroh C. Bariatrische Chirurgie: Magenbypass bevorzugte Operation. *Deutsches Ärzteblatt*. 20. Mai 2016;20.
50. erstellt von Rotzinger L. 04.30.2018.
51. Seyfried F, Bueter M, Spliethoff K, et al. Roux-en Y gastric bypass is superior to duodeno-jejunal bypass in improving glycaemic control in Zucker diabetic fatty rats. *Obesity surgery*. Nov 2014;24(11):1888-1895.
52. Gothberg G, Gronowitz E, Flodmark CE, et al. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass in adolescents with morbid obesity--surgical aspects and clinical outcome. *Seminars in pediatric surgery*. Feb 2014;23(1):11-16.
53. Liou AP, Paziuk M, Luevano JM, Jr., Machineni S, Turnbaugh PJ, Kaplan LM. Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Science translational medicine*. Mar 27 2013;5(178):178ra141.

54. le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL, et al. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Annals of surgery*. Jan 2006;243(1):108-114.
55. Sjostrom L. Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial - a prospective controlled intervention study of bariatric surgery. *Journal of internal medicine*. Mar 2013;273(3):219-234.
56. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes--3-year outcomes. *The New England journal of medicine*. May 22 2014;370(21):2002-2013.
57. Carlsson LM, Peltonen M, Ahlin S, et al. Bariatric surgery and prevention of type 2 diabetes in Swedish obese subjects. *The New England journal of medicine*. Aug 23 2012;367(8):695-704.
58. Sjostrom L, Peltonen M, Jacobson P, et al. Association of bariatric surgery with long-term remission of type 2 diabetes and with microvascular and macrovascular complications. *Jama*. Jun 11 2014;311(22):2297-2304.
59. Rubino F, Shukla A, Pomp A, Moreira M, Ahn SM, Dakin G. Bariatric, metabolic, and diabetes surgery: what's in a name? *Annals of surgery*. Jan 2014;259(1):117-122.
60. Deutsche Adipositas-Gesellschaft: Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur "Prävention und Therapie der Adipositas". Stand 2013.
<http://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/DAG-LL-Gesamtdokument-Mat-18.pdf>
(letzter Aufruf 31.03.2018)
61. CAfAC DGfAuV. S3-Leitlinie: Chirurgie der Adipositas. 2010.
62. Schauer PR, Kashyap SR, Wolski K, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *The New England journal of medicine*. Apr 26 2012;366(17):1567-1576.
63. Korner J, Inabnet W, Febres G, et al. Prospective study of gut hormone and metabolic changes after adjustable gastric banding and Roux-en-Y gastric bypass. *International journal of obesity*. Jul 2009;33(7):786-795.

64. Nannipieri M, Mari A, Anselmino M, et al. The role of beta-cell function and insulin sensitivity in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Sep 2011;96(9):E1372-1379.
65. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, et al. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Annals of surgery*. Sep 1995;222(3):339-350; discussion 350-332.
66. Laferrere B. Do we really know why diabetes remits after gastric bypass surgery? *Endocrine*. Oct 2011;40(2):162-167.
67. Pournaras DJ, Osborne A, Hawkins SC, et al. Remission of type 2 diabetes after gastric bypass and banding: mechanisms and 2 year outcomes. *Annals of surgery*. Dec 2010;252(6):966-971.
68. Cummings DE. Endocrine mechanisms mediating remission of diabetes after gastric bypass surgery. *International journal of obesity*. Apr 2009;33 Suppl 1:S33-40.
69. Purnell JQ, Selzer F, Wahed AS, et al. Type 2 Diabetes Remission Rates After Laparoscopic Gastric Bypass and Gastric Banding: Results of the Longitudinal Assessment of Bariatric Surgery Study. *Diabetes care*. Jul 2016;39(7):1101-1107.
70. Laferrere B, Teixeira J, McGinty J, et al. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Jul 2008;93(7):2479-2485.
71. Spreckley E, Murphy KG. The L-Cell in Nutritional Sensing and the Regulation of Appetite. *Frontiers in nutrition*. 2015;2:23.
72. Brubaker GELaPL. Glucagon-Like Peptide 1 Secretion by L-Cell, The View From Within. *Diabetes*. 2006;55.
73. Wilbrand DmK. Adipositas Blog der Adipositas Stiftung Deutschland 2008.

74. Hwang SL, Kwon O, Kim SG, Lee IK, Kim YD. B-cell translocation gene 2 positively regulates GLP-1-stimulated insulin secretion via induction of PDX-1 in pancreatic beta-cells. *Experimental & molecular medicine*. 2013;45:e25.
75. Melloul D. Transcription factors in islet development and physiology: role of PDX-1 in beta-cell function. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Apr 2004;1014:28-37.
76. Feanny MA, Fagan SP, Ballian N, et al. PDX-1 expression is associated with islet proliferation in vitro and in vivo. *The Journal of surgical research*. Jan 2008;144(1):8-16.
77. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. *Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus: Abbreviated Report of a WHO Consultation*. Geneva; 2011.
78. Shyangdan DS, Royle P, Clar C, Sharma P, Waugh N, Snaith A. Glucagon-like peptide analogues for type 2 diabetes mellitus. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2011(10):Cd006423.
79. Esposito K, Mosca C, Brancario C, Chiodini P, Ceriello A, Giugliano D. GLP-1 receptor agonists and HBA1c target of <7% in type 2 diabetes: meta-analysis of randomized controlled trials. *Current medical research and opinion*. Aug 2011;27(8):1519-1528.
80. Baggio LL, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 receptors in the brain: controlling food intake and body weight. *The Journal of clinical investigation*. Oct 2014;124(10):4223-4226.
81. Feng X, Zhong S, Yang J, Wang Y, Liu J. Effects on glucagon-like peptide-1 secretion by distal ileal administration of nutrients. *Obesity surgery*. Nov 2013;23(11):1774-1782.
82. Said H, Kaunitz JD. Gastrointestinal defense mechanisms. *Current opinion in gastroenterology*. Nov 2016;32(6):461-466.
83. Psichas A, Reimann F, Gribble FM. Gut chemosensing mechanisms. *The Journal of clinical investigation*. Mar 2 2015;125(3):908-917.

84. Panaro BL, Tough IR, Engelstoft MS, et al. The melanocortin-4 receptor is expressed in enteroendocrine L cells and regulates the release of peptide YY and glucagon-like peptide 1 in vivo. *Cell metabolism*. Dec 2014;20(6):1018-1029.
85. Wang L, Hu T, Zhu X. The Mechanism of Metabolic Surgery: Gastric Center Hypothesis: Letter to the Editor. *Obesity surgery*. Jun 2017;27(6):1622-1623.
86. Bueter M, Lowenstein C, Olbers T, et al. Gastric bypass increases energy expenditure in rats. *Gastroenterology*. May 2010;138(5):1845-1853.
87. Li JV, Ashrafian H, Bueter M, et al. Metabolic surgery profoundly influences gut microbial-host metabolic cross-talk. *Gut*. Sep 2011;60(9):1214-1223.
88. Seyfried F, le Roux CW, Bueter M. Lessons learned from gastric bypass operations in rats. *Obesity facts*. 2011;4 Suppl 1:3-12.
89. Meirelles K, Ahmed T, Culnan DM, Lynch CJ, Lang CH, Cooney RN. Mechanisms of glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery in the obese, insulin-resistant Zucker rat. *Annals of surgery*. Feb 2009;249(2):277-285.
90. Miras AD, Seyfried F, Phinikaridou A, et al. Rats fed diets with different energy contribution from fat do not differ in adiposity. *Obesity facts*. 2014;7(5):302-310.
91. Zucker LM. Hereditary obesity in the rat associated with hyperlipemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Oct 8 1965;131(1):447-458.
92. Ruth Kava MR CG aPRJ. Zucker (fa/fa) Rat. *Oxford Journal/ILAR Journal*. 1990; 32(3). 1990.
93. Mistry SB, Omana JJ, Kini S. Rat models for bariatric surgery and surgery for type 2 diabetes mellitus. *Obesity surgery*. May 2009;19(5):655-660.
94. Glasbrenner B, Durrschnabel L, Buchler M, Malfertheiner P. Nonparallel patterns of circadian pancreatic and biliary secretions in fasting rats. *International journal of pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology*. Jun 1992;11(3):169-177.

95. Sonne DP, Hansen M, Knop FK. Bile acid sequestrants in type 2 diabetes: potential effects on GLP1 secretion. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. Aug 2014;171(2):R47-65.
96. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. Apr 2011;62(2):139-150.
97. erstellt von Rotzinger L. 16.05.2014.
98. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical biochemistry*. Apr 1987;162(1):156-159.
99. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome biology*. Jun 18 2002;3(7):RESEARCH0034.
100. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research*. May 1 2001;29(9):e45.
101. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical chemistry*. Apr 2009;55(4):611-622.
102. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, et al. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Annals of surgery*. Nov 2006;244(5):741-749.
103. Buchwald H, Oien DM. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2011. *Obesity surgery*. Apr 2013;23(4):427-436.
104. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *The American journal of medicine*. Mar 2009;122(3):248-256.e245.
105. Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S, et al. Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. *Annals of surgery*. Oct 2003;238(4):467-484; discussion 484-465.

106. Seyfried F, Li JV, Miras AD, et al. Urinary phenotyping indicates weight loss-independent metabolic effects of Roux-en-Y gastric bypass in mice. *Journal of proteome research*. Mar 01 2013;12(3):1245-1253.
107. Ashrafian H, Athanasiou T, Li JV, et al. Diabetes resolution and hyperinsulinaemia after metabolic Roux-en-Y gastric bypass. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. May 2011;12(5):e257-272.
108. Mayer J, Thomas DW. Regulation of food intake and obesity. *Science (New York, N.Y.)*. Apr 21 1967;156(3773):328-337.
109. Murphy KG, Bloom SR. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature*. 12/14/print 2006;444(7121):854-859.
110. Seyfried F, Miras AD, Rotzinger L, et al. Gastric Bypass-Related Effects on Glucose Control, beta Cell Function and Morphology in the Obese Zucker Rat. *Obesity surgery*. Jun 2016;26(6):1228-1236.
111. Bradley D, Conte C, Mittendorfer B, et al. Gastric bypass and banding equally improve insulin sensitivity and beta cell function. *The Journal of clinical investigation*. Dec 2012;122(12):4667-4674.
112. Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane WF. The Zucker rat model of obesity, insulin resistance, hyperlipidemia, and renal injury. *Hypertension*. Jan 1992;19(1 Suppl):I110-115.
113. Jimenez A, Ceriello A, Casamitjana R, Flores L, Viaplana-Masclans J, Vidal J. Remission of type 2 diabetes after Roux-en-Y gastric bypass or sleeve gastrectomy is associated with a distinct glycemic profile. *Annals of surgery*. Feb 2015;261(2):316-322.
114. Xu Y, Ohinata K, Meguid MM, et al. Gastric Bypass Model in the Obese Rat to Study Metabolic Mechanisms of Weight Loss. *Journal of Surgical Research*. 2002/09/01/ 2002;107(1):56-63.
115. Umeda LM, Silva EA, Carneiro G, Arasaki CH, Geloneze B, Zanella MT. Early improvement in glycemic control after bariatric surgery and its relationships with insulin, GLP-1, and glucagon secretion in type 2 diabetic patients. *Obesity surgery*. Jul 2011;21(7):896-901.

116. Verhaeghe R, Zerrweck C, Hubert T, et al. Gastric bypass increases postprandial insulin and GLP-1 in nonobese minipigs. *European surgical research. Europaische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes*. 2014;52(1-2):41-49.
117. Li Y, Cao X, Li LX, Brubaker PL, Edlund H, Drucker DJ. beta-Cell Pdx1 expression is essential for the glucoregulatory, proliferative, and cytoprotective actions of glucagon-like peptide-1. *Diabetes*. Feb 2005;54(2):482-491.
118. Reubi JC, Perren A, Rehmann R, et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors are not overexpressed in pancreatic islets from patients with severe hyperinsulinaemic hypoglycaemia following gastric bypass. *Diabetologia*. Dec 2010;53(12):2641-2645.
119. Li Z, Zhang HY, Lv LX, et al. Roux-en-Y gastric bypass promotes expression of PDX-1 and regeneration of beta-cells in Goto-Kakizaki rats. *World journal of gastroenterology*. May 14 2010;16(18):2244-2251.
120. Jackness C, Karmally W, Febres G, et al. Very low-calorie diet mimics the early beneficial effect of Roux-en-Y gastric bypass on insulin sensitivity and beta-cell Function in type 2 diabetic patients. *Diabetes*. Sep 2013;62(9):3027-3032.
121. Isbell JM, Tamboli RA, Hansen EN, et al. The importance of caloric restriction in the early improvements in insulin sensitivity after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetes care*. Jul 2010;33(7):1438-1442.
122. Korner J, Bessler M, Inabnet W, Taveras C, Holst JJ. Exaggerated glucagon-like peptide-1 and blunted glucose-dependent insulinotropic peptide secretion are associated with Roux-en-Y gastric bypass but not adjustable gastric banding. *Surgery for obesity and related diseases : official journal of the American Society for Bariatric Surgery*. Nov-Dec 2007;3(6):597-601.
123. Jimenez A, Casamitjana R, Flores L, et al. Long-term effects of sleeve gastrectomy and Roux-en-Y gastric bypass surgery on type 2 diabetes mellitus in morbidly obese subjects. *Annals of surgery*. Dec 2012;256(6):1023-1029.

124. Mokadem M, Zechner JF, Margolskee RF, Drucker DJ, Aguirre V. Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. *Molecular metabolism*. Apr 2014;3(2):191-201.
125. Lindqvist A, Spegel P, Ekelund M, et al. Gastric bypass improves beta-cell function and increases beta-cell mass in a porcine model. *Diabetes*. May 2014;63(5):1665-1671.
126. Liu Y, Zhou Y, Wang Y, Geng D, Liu J. Roux-en-Y gastric bypass-induced improvement of glucose tolerance and insulin resistance in type 2 diabetic rats are mediated by glucagon-like peptide-1. *Obesity surgery*. Sep 2011;21(9):1424-1431.
127. Backhed F. Programming of host metabolism by the gut microbiota. *Ann Nutr Metab*. 2011;58 Suppl 2:44-52.
128. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. Dec 21 2006;444(7122):1027-1031.
129. Albaugh VL, Flynn CR, Cai S, Xiao Y, Tamboli RA, Abumrad NN. Early Increases in Bile Acids Post Roux-en-Y Gastric Bypass Are Driven by Insulin-Sensitizing, Secondary Bile Acids. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Sep 2015;100(9):E1225-1233.
130. Flynn CR, Albaugh VL, Cai S, et al. Bile diversion to the distal small intestine has comparable metabolic benefits to bariatric surgery. *Nature communications*. 2015;6:7715.
131. Bhutta HY, Rajpal N, White W, et al. Effect of Roux-en-Y gastric bypass surgery on bile acid metabolism in normal and obese diabetic rats. *PLoS one*. 2015;10(3):e0122273.
132. Hankir MK, Seyfried F, Miras AD, Cowley MA. Brain Feeding Circuits after Roux-en-Y Gastric Bypass. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. Feb 20 2018.
133. Bueter M, Seyfried F, Germer CT. [Why patients lose weight after bariatric operations]. *Zentralblatt fur Chirurgie*. Feb 2010;135(1):28-33.

Publikationsverzeichnis

1. Bankoglu EE, Seyfried F, Rotzinger L, et al. Impact of weight loss induced by gastric bypass or caloric restriction on oxidative stress and genomic damage in obese Zucker rats. *Free Radic Biol Med.* May 2016;94:208-217.
2. Seyfried F, Miras AD, Rotzinger L, et al. Gastric Bypass-Related Effects on Glucose Control, beta Cell Function and Morphology in the Obese Zucker Rat. *Obesity surgery.* Jun 2016;26(6):1228-1236.

Danksagung

Herrn PD Dr. med. Florian Seyfried, Oberarzt der Allgemein- und Viszeralchirurgie des Universitätsklinikums Würzburg, danke ich für die operative Ausbildung, die Förderung im wissenschaftlichen und praktischen Bereich, die Betreuung während der Versuche und seiner Geduld.

Frau Dr. H. Wagner und den Tierpflegern des Zentrums für experimentelle molekulare Medizin des Universitätsklinikums Würzburg, insbesondere Frau Petra Klausnitzer, danke ich ebenfalls für die nette Zusammenarbeit, die gute Versorgung unserer Tiere, die fachliche Unterstützung und das uns gegenüber erbrachte Vertrauen.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. C. Otto und den Mitarbeitern der Experimentellen Chirurgie des Universitätsklinikums Würzburg, danke ich des Weiteren für die theoretische und praktische Unterstützung der experimentellen Arbeiten.

Mein besonderer Dank geht an meinen Mitdoktoranden Arno Nordbeck für die ausdauernde moralische und praktische Unterstützung, seine außerordentliche Kollegialität und die humorvolle Bewältigung der Motivationstiefpunkte.