

Aus dem  
Charité Centrum 12 für Innere Medizin und Dermatologie  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik  
Direktor: Prof. Dr. med. Burghard F. Klapp

## **Habilitationsschrift**

**Die Beeinflussung gastrointestinaler Funktionen unter Stressbedingungen  
durch abdominelle Chirurgie: Ghrelin im Rampenlicht**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach „Experimentelle Medizin“

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Andreas Stengel**

Eingereicht: Juli 2011  
Dekanin: Prof. Dr. Annette Grüters-Kieslich  
1. Gutachter: Prof. Dr. Paul Enck  
2. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Frieling

**Meiner Frau**

# INHALTSVERZEICHNIS

	<b>Abkürzungen</b> .....	4
1.	<b>Einleitung</b> .....	5
1.1	Postoperativer Ileus: Pathophysiologie.....	6
1.2	Ghrelin und Nesfatin-1: zwei Peptide aus der X/A-ähnlichen Zelle des Magens.....	7
1.3	Effekte von Ghrelin und Nesfatin-1 auf die Nahrungsaufnahme.....	10
1.4	Effekte von Ghrelin und Nesfatin-1 auf die gastrointestinale Motilität.....	13
2.	<b>Eigene Arbeiten</b> .....	15
2.1	Abdominelle Chirurgie aktiviert Nesfatin-1 immunreaktive Gehirnkern bei Ratten.....	15
2.2	Kalte Umgebungstemperaturen heben die durch abdominelle Chirurgie induzierte Verzögerung der Magenentleerung und das Absinken der Plasma-Ghrelin Spiegel bei Ratten auf.....	24
2.3	Die zentrale Aktivierung des Somatostatin-Rezeptors 1 hebt die akuten stressinduzierten Veränderungen der gastrischen und kolonischen Motorfunktion bei Mäusen auf.....	32
2.4	Die zentrale Gabe des Pan-Somatostatin-Agonisten ODT8-SST verhindert die durch abdominelle Chirurgie induzierte Reduktion von zirkulierendem Ghrelin sowie die Hemmung der Nahrungsaufnahme und der Magenentleerung bei Ratten.....	47
2.5	Abdominelle Chirurgie hemmt die zirkulierenden Spiegel von Acyl-Ghrelin und Ghrelin-O-Acyltransferase bei Ratten: Funktion des Somatostatin-Rezeptors 2.....	63
3.	<b>Diskussion</b> .....	74
4.	<b>Zusammenfassung</b> .....	77
5.	<b>Referenzliste</b> .....	78
6.	<b>Danksagung</b> .....	93
7.	<b>Eidesstattliche Erklärung</b> .....	94

## ABKÜRZUNGEN

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
BMI	Body Mass Index
CGRP	Calcitonin Gene-Related Peptide
CRF	Corticotropin-Releasing Factor
ECL-Zelle	Enterochromaffin-like-Zelle
FPE	fäkale Pelletexkretion
GHS-R1a	Growth Hormone Secretagogue-Rezeptor Typ 1a
GOAT	Ghrelin-O-Acyltransferase
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
ip	intraperitoneal
iv	intravenös
iz	intrazisternal
izv	intrazerebroventrikulär
KO	Knockout
MBOAT	Membrane-Bound-O-Acyltransferase
NO	Stickstoff
NPY	Neuropeptid Y
RT-qPCR	Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction
sst	Somatostatin-Rezeptor
TRH	Thyrotropin-Releasing Hormon
VIP	Vasoaktives intestinales Peptid

## 1. EINLEITUNG

Postoperativer Ileus entwickelt sich häufig nach chirurgischen Eingriffen im Gastrointestinaltrakt und ist charakterisiert durch einen verzögerten Transit in Magen und Darm [96]. Die Definition des postoperativen Ileus beschreibt eine unkomplizierte postoperative Verlängerung der gastrointestinalen Transitzeit, welche sich spontan nach zwei bis drei Tagen zurückbildet [93]. Diese Veränderungen müssen vom paralytischen Ileus abgegrenzt werden, welcher auch als prolongierter Ileus bezeichnet wird und länger als drei Tage anhält [93]. Eine aktuelle Definition beschreibt den postoperativen Ileus als Zustand zwischen dem chirurgischen Eingriff und der ersten Passage von Luft oder Stuhl unter der Voraussetzung der Wiederaufnahme oraler Ernährung innerhalb von 24 Stunden [84]. Davon abzugrenzen ist der durch chirurgische Komplikationen wie Nahtinsuffizienzen, Abszesse oder Peritonitis erschwerte sekundäre postoperative Ileus, welcher nach etwa 10% der abdominalen Eingriffe vorkommt [44, 84]. Die klinischen Zeichen des postoperativen Ileus umfassen Meteorismus, Schmerzen sowie Abwesenheit von Darmgeräuschen und Luft- oder Stuhlabgang. Bei Rückbildung des postoperativen Ileus erholen sich die Funktionen des Magens und Dünndarms schneller (innerhalb von 24 – 48 Stunden) als die des Dickdarms (bis zu 72 Stunden) [19]. Der prolongierte postoperative Ileus führt für den Patienten zu einer verlängerten Aufenthaltsdauer im Krankenhaus [174] und kann für das Gesundheitssystem deutlich höhere Kosten nach sich ziehen [8]. Aus diesem Grund werden effektive Behandlungsstrategien zur Verhinderung oder Abkürzung des postoperativen Ileus benötigt. In der vorliegenden Arbeit wird die Pathophysiologie des postoperativen Ileus beschrieben und die mögliche Rolle des prokinetischen und orexigenen Hormons Ghrelin beim postoperativen Ileus beleuchtet und diskutiert. Weiterhin werden mögliche Behandlungsstrategien des postoperativen Ileus, welche am Ghrelin-Signaltransduktionsweg ansetzen, vorgestellt.

## 1.1 Postoperativer Ileus: Pathophysiologie

Die Pathophysiologie des postoperativen Ileus kann in eine frühe und eine späte Phase unterteilt werden [29]. Die frühe Phase wird neural vermittelt und beginnt direkt während oder nach dem chirurgischen Eingriff, wohingegen die späte Phase drei bis vier Stunden nach der Operation beginnt und an der langanhaltenden Hemmung der gastrointestinalen Motilität beteiligt ist [21, 81, 82]. Die frühe (neurogene) Phase hat eine adrenerge Komponente, da die chemische Hemmung sympathischer Transmission mit Hilfe von 6-Hydroxydopamin die Entwicklung eines postoperativen gastrischen Ileus verhindert [49, 107]. Des Weiteren werden vagale non-adrenerge, non-cholinerge Signalkaskaden aktiviert, welche nitrerge (Stickstoff enthaltend) und VIPerge (Vasoaktives intestinales Peptid enthaltend) Neurone umfassen [22]. Die Relevanz dieser Übertragungswege wird vor dem Hintergrund deutlich, dass die Blockade von VIP-, Substanz P- oder NO-Signalmediation die postoperative intestinale Motilität im Tiermodell verbessert [42, 54]. Darüber hinaus ist wahrscheinlich auch Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), ein Peptid welches von Capsaicin-sensitiven Afferenzen freigesetzt wird und die Magenentleerung [24, 117] sowie die gastrointestinale Motilität [178] bei Ratten hemmt, an der Entwicklung des postoperativen Ileus beteiligt, da die Gabe eines CGRP-Rezeptorantagonisten hCGRP<sub>(8-37)</sub> oder eines anti-CGRP-Antikörpers zu einer Abschwächung des postoperativen Ileus bei Ratten führt [59, 118]. Eine Vielzahl von Studien konnte auch eine Rolle von Corticotropin-Releasing Factor (CRF) in der Vermittlung des postoperativen Ileus belegen. CRF hemmt die Magenentleerung für feste und flüssige Mahlzeiten nach zentraler und peripherer Injektion in verschiedenen Spezies [15, 90, 115, 123, 131, 151]. Weiterhin aktiviert abdominale Chirurgie CRF-Neurone im Paraventrikulären Nukleus des Hypothalamus der Ratte [69] und führt zu einer Erhöhung der zirkulierenden CRF-Spiegel beim Menschen [30, 46, 105]. Die Vorbehandlung mit den CRF<sub>1/2</sub>-Rezeptorantagonisten  $\alpha$ -helikales CRF<sub>9-41</sub>, [DPhe<sup>12</sup>Nle<sup>21,38</sup>,C $\alpha$ -MeLeu<sup>37</sup>]h/rCRF<sub>1-41</sub> oder Astressin hemmt den frühen gastrischen Ileus [14, 76, 110, 150]. Diese Studien weiter untermauernd, entwickeln CRF<sub>1</sub>-Rezeptor-Knockout (KO)-Mäuse keinen postoperativen gastrischen Ileus, während dies in den CRF<sub>1</sub>-Rezeptor-positiven Mäusen des gleichen Wurfs beobachtet werden kann. [97]. Auch opioiderge

Signalvermittlung hemmt die Magenmotilität [43] und ist unter postoperativen Bedingungen ebenfalls aktiviert [41], weshalb die Hemmung dieser Signalübertragung als mögliche Behandlungsstrategie untersucht wurde. Diese Studien zeigten, dass Opioidantagonisten die gastrointestinalen Funktionen nach einem chirurgischen Eingriff verbessern [43]. Darüber hinaus weisen neue Studien auf eine Ghrelinaktivierung als mögliche Strategie zur Behandlung oder Abschwächung des postoperativen Ileus hin [71].

Im Gegensatz zur beschriebenen neuro-humoralen ersten Phase wird die zweite Phase vorrangig durch inflammatorische Zytokine und Chemokine vermittelt, welche von intestinalen Makrophagen freigesetzt werden und das Einströmen von Leukozyten bewirken [81-83]. In Einklang mit dieser Hypothese führt die Blockade des interzellulären Adhäsionsmoleküls ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) zu einer Blockade des Leukozyteneinstroms, was mit einer normalen Muskelkontraktionsfunktion *in vitro* assoziiert war [40, 82, 159]. In der vorliegenden Arbeit wird der Fokus auf die frühe Phase des postoperativen Ileus gelegt, und Entzündungsmediatoren werden nur im Kontext der Interaktion mit Ghrelin diskutiert.

## **1.2 Ghrelin und Nesfatin-1: zwei Peptide aus der X/A-ähnlichen Zelle des Magens**

Ghrelin (oft synonym mit Acyl-Ghrelin verwendet) wurde vor mehr als zehn Jahren beschrieben und als endogener Ligand des Growth Hormone Secretagogue-Rezeptors Typ 1a (GHS-R1a) identifiziert [87]. Dieser wurde später in GRLN-Rezeptor umbenannt [39]. Das Peptid Ghrelin besteht aus 28 Aminosäuren und hat eine einzigartige Acyl-Seitenkette an der dritten Aminosäure Serin [87]. Das Enzym, welches die Acylierung von Ghrelin katalysiert, wurde erst kürzlich von zwei Forschungsgruppen unabhängig voneinander bei Maus und Mensch beschrieben. Es ist ein Mitglied der Membrane-Bound-O-Acyltransferasen (MBOAT) und wurde Ghrelin-O-Acyltransferase (GOAT) genannt [73, 169]. Die X/A-ähnlichen Zellen des Magens stellen die Hauptquelle von Ghrelin dar [36, 103]. Dies wird am Beispiel der Gastrektomie deutlich, nach welcher es zu einem starken Absinken der

zirkulierenden Ghrelinspiegel kommt [80]. Weitere, wenn auch quantitativ weniger bedeutsame, Quellen von Ghrelin sind der Dün- und Dickdarm [36], die Bauchspeicheldrüse [38] und andere periphere Organe wie Niere, Leber, Herz, Hoden, Fettgewebe und Haut [16, 64]. Zusätzlich wurde Ghrelin auch im Zentralnervensystem im Nukleus Arkuatus des Hypothalamus [94] sowie in einer Neuronenpopulation nahe des dritten Ventrikels beschrieben [32].

Die Expression des Ghrelin-Rezeptors findet sich sowohl im Gehirn als auch in der Peripherie in Regionen, welche an der Regulation der Nahrungsaufnahme, Gedächtnis und Belohnungsverhalten sowie einer Vielzahl anderer Funktionen beteiligt sind [64, 72, 78, 106]. Die Expression der Ghrelin-Rezeptor-mRNA wurde im Nukleus Arkuatus, dem Ventromedialen Nukleus, den Arealen CA2 und CA3 des Hippocampus, dem Gyrus dentatus, der Substantia Nigra, dem ventralen tegmentalen Areal, den dorsalen und medianen Raphe-Kernen sowie der Hypophyse detektiert [72, 78, 106, 176]. In der Peripherie wurde die Ghrelin-Rezeptor-mRNA-Expression in Schilddrüse, Bauchspeicheldrüse, Milz, Herzmuskel, Nebenniere, Fettgewebe, Immunzellen, vagalen Afferenzen und myenterischen Neuronen beschrieben [64, 75, 129, 168]. Die durch die Acylgruppe gesteigerte Lipophilie von Ghrelin ist essentiell für die Bindung an den GRLN-Rezeptor [18, 87, 88]. Zusätzlich zum 28-Aminosäuren-Peptid Ghrelin sind auch die fünf N-terminalen Aminosäuren von Ghrelin, gebunden an eine hydrophobe Gruppe, in der Lage, den Rezeptor zu aktivieren [18].

Die Hauptform von zirkulierendem Ghrelin ist die desacylierte Form, Desacyl-Ghrelin, und frühere Studien beschrieben eine Acyl-/Total-Ghrelin-Ratio von 1:55 [77]. Wir haben kürzlich eine Methode zur optimierten Blutverarbeitung entwickelt, welche die Degradation von labilen Peptiden wie Acyl-Ghrelin verhindert und damit die Ausbeute im Vergleich zur Standard-Blutverarbeitung (EDTA-Blut auf Eis [10]) erhöht [147]. Diese neue Methode, die RAPID-Methode (reduzierte Temperaturen, Azidifizierung, Protease-Hemmung, Isotope als exogene Kontrollen, Verdünnung), verbesserte die Ausbeute von Acyl-Ghrelin um 80%, womit sich eine Acyl-/Total-Ghrelin-Ratio von 1:5 ergab [147]. Obwohl initial angenommen wurde, dass Acyl- und Desacyl-Ghrelin stets gleichmäßig reguliert werden, weisen neuere Studien in eine andere Richtung. In einem *ex vivo* Modell eines vaskulär perfundierten



Rattenmagens führt das Absinken des pH-Wertes zu einer Freisetzung von Desacyl-Ghrelin, während die acylierte Form nicht beeinflusst wird [103].

Es konnte gezeigt werden, dass GOAT das einzige Enzym ist, welches die Acylierung von Ghrelin katalysiert, da GOAT-KO-Mäuse kein Acyl-Ghrelin besitzen [73]. Die Expression der GOAT-mRNA konnte im Magen [73] nachgewiesen werden und bei der Maus mittels *in situ* Hybridisierung mit Ghrelin-Immunreaktivität kolokalisiert werden [126]. Wir haben kürzlich die GOAT-Proteinexpression mit Hilfe eines spezifischen Anti-GOAT-Antikörpers untersucht und berichtet, dass GOAT im Magen der Maus vollständig mit Ghrelin kolokalisiert ist, wohingegen im Rattenmagen nur die Hälfte der GOAT-immunreaktiven Zellen mit Ghrelin, die andere Hälfte jedoch mit Histidin-Decarboxylase, einem Marker für Enterochromaffin-like (ECL)-Zellen, kolokalisiert ist [143]. Diese interessante Beobachtung legt eine speziesabhängige Verteilung von GOAT nahe und könnte auf unterschiedliche Funktionen dieses Enzyms bei Maus und Ratte hinweisen. Wir haben darüber hinaus die Expression von GOAT-Protein im Plasma bei Maus und Ratte beschrieben [143], was eine extrazelluläre Acylierung von Desacyl-Ghrelin vermuten lässt.

Zusätzlich zur ausgeprägten zentralen Expression von Nucleobindin2 (NUCB2)/Nesfatin-1 im Zentralnervensystem [25, 57, 58, 65, 66, 112], wurde die Expression der NUCB2-mRNA in peripheren Organen wie Hypophyse, Magen, Pankreas, Hoden und Fettgewebe detektiert [122, 144]. Wir haben mit Hilfe der Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) eine zehnfach höhere Expression der NUCB2-mRNA im Magen im Vergleich zum Gehirn beschrieben [144], was eine Funktion von Nesfatin-1 als „Gut-Brain“-Peptid nahelegt. Diese Vermutung wird durch die Beobachtung, dass Nesfatin-1 die Blut-Hirn-Schranke mittels eines nicht-sättigbaren Mechanismus überwinden kann, weiter gestützt [113, 121]. Die Analyse der Verteilung von NUCB2/Nesfatin-1 im Magen zeigte eine nahezu exklusive Verteilung von NUCB2/Nesfatin-1-Immunreaktivität im Zytoplasma von Ghrelin-positiven X/A-ähnlichen Zellen und, in weitaus geringerem Ausmaß, in Somatostatin-positiven D-Zellen und Histidin-Decarboxylase-positiven ECL-Zellen [144]. Hochauflösende konfokale Mikroskopie erlaubte die genaue subzelluläre Lokalisation von Ghrelin NUCB2/Nesfatin-1 in derselben Zelle in unterschiedlichen Vesikelpopulationen [144], was auf eine differenzielle Regulation von Ghrelin und

Nesfatin-1 hindeutet. Weiterhin wurde NUCB2/Nesfatin-1-Immunreaktivität bei Ratten in Beta-Zellen des Pankreas sowie in der anterioren Hypophyse detektiert [57, 68, 144]. Die selektive Expression von NUCB2/Nesfatin-1 in endokrinen Organen legt eine Rolle für Nesfatin-1 bei homöostatischen Prozessen nahe.

### **1.3 Effekte von Ghrelin und Nesfatin-1 auf die Nahrungsaufnahme**

Ghrelin wurde frühzeitig als Regulator der Nahrungsaufnahme erkannt, da seine Plasmaspiegel vor dem Essen steigen und sowohl beim Menschen als auch beim Tier nach der Mahlzeit abfallen [34]. Darüber hinaus korrelieren die Total-Ghrelin-Plasmaspiegel negativ mit dem Body Mass Index (BMI), wobei höhere Ghrelin-Spiegel bei anorektischen sowie kachektischen Personen und erniedrigte Spiegel bei adipösen Menschen beobachtet werden [35, 161]. Die vermutete Funktion von Ghrelin als Stimulator der Nahrungsaufnahme konnte sowohl bei dünnen als auch dicken Probanden bestätigt [48] sowie in verschiedenen Tiermodellen nach peripherer und zentraler Verabreichung gezeigt werden [166]. Die Gabe von Ghrelin erhöht die Nahrungsaufnahme auch unter den Bedingungen von Endotoxin-induzierter Anorexie [165] oder bei chronischer Niereninsuffizienz, welche ebenfalls mit reduzierter Nahrungsaufnahme assoziiert ist [2]. Diese Effekte werden über den GRLN-Rezeptor vermittelt, da die spezifischen GRLN-Rezeptor-Antagonisten JMV 3002, 2959 and 2810 die durch Fasten oder exogenes Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme hemmen [127]. Des Weiteren ist bei GRLN-Rezeptor-KO-Mäusen kein Anstieg der Nahrungsaufnahme nach Injektion von Ghrelin zu beobachten [149, 177]. Ghrelin vermittelt seine orexigene Wirkung über einen direkten Effekt auf hypothalamische Gehirnerne [11, 114] aber auch über eine Interaktion mit dem GRLN-Rezeptor, welcher auf vagalen Afferenzen und im Ganglion nodosum exprimiert ist [37, 125]. Es muss noch abschließend geklärt werden, welcher dieser beiden Mediationswege der vorherrschende ist. Dies ist schwierig vor dem Hintergrund, dass einige Studien eine Aufhebung des orexigenen Effekts von peripher injiziertem Ghrelin nach Vagotomie gezeigt haben [37, 89], während in einer anderen Studie beschrieben wurde, dass die intraperitoneale

Injektion von Ghrelin die Nahrungsaufnahme auch bei Ratten steigert, welche vorher selektiv subdiaphragmatisch vagal de-afferenziiert wurden [6].

Der erste biologische Effekt, welcher für Nesfatin-1 nach Injektion in den dritten Gehirnentrikel bei Ratten beschrieben wurde, war die Reduktion der Nahrungsaufnahme während der Dunkelphase [112]. Diese zentrale anorexigene Wirkung bei Ratten wurde später von verschiedenen unabhängigen Forschergruppen bestätigt [140] und danach auch bei Mäusen nachgewiesen [67, 98, 133]. Die durch Nesfatin-1 reduzierte Nahrungsaufnahme hat einen verzögerten Beginn und ist durch ein langes Andauern charakterisiert [9, 67, 141, 171]. Mit Hilfe einer kürzlich durchgeführten Analyse der Mikrostruktur der Nahrungsaufnahme bei Mäusen konnten wir zeigen, dass dem anorexigenen Effekt von Nesfatin-1 während der ersten vier Stunden nach Injektion in den lateralen Gehirnentrikel eine Erhöhung der „Satiatiön“ („Sättigung“, durch Verminderung der Mahlzeitgröße) sowie eine vermehrte „Satiety“ („Satttheit“, verringerte Mahlzeitenfrequenz assoziiert mit größeren Intervallen zwischen den Mahlzeiten) zugrunde liegt [67]. Interessanterweise reduziert Nesfatin-1 selektiv die Nahrungsaufnahme während der Dunkelphase bei *ad libitum* gefütterten Tieren [98, 112, 141, 172], wohingegen während der Lichtphase bei gefasteten Tieren widersprüchliche Ergebnisse erhoben wurden [141, 172]. Diese differenzielle Wirkung von Nesfatin-1 könnte auf eine Interaktion mit anderen nahrungsregulatorischen Peptiden, welche spezifisch während der Dunkelphase rekrutiert werden [95, 155, 167], hindeuten.

In der Zusammenschau legt eine Vielzahl von Studien eine physiologische Funktion von Nesfatin-1 als anorexigener Regulator der Nahrungsaufnahme nahe. NUCB2/Nesfatin-1 wird in nahrungsregulatorischen Gehirnkernen exprimiert [57] und hemmt die Nahrungsaufnahme nach Injektion von geringen (picomolaren) Dosierungen in die Gehirnentrikel von Nagetieren [112, 141, 171]. Die Expression von NUCB2/Nesfatin-1 im Paraventrikulären und Supraoptischen Nukleus ist vom metabolischen Status abhängig und zeigt eine verminderte Expression nach einer Fastenzeit von 24 Stunden [86, 112]. Des Weiteren führen andere anorexigene Transmitter wie  $\alpha$ -Melanocyten-stimulierendes Hormon oder Cholecystokinin zu einem Anstieg der NUCB2-mRNA-Expression [112] oder zu einer Aktivierung der NUCB2/Nesfatin-1-immunreaktiven Neurone in Hypothalamus und Hirnstamm [109, 141]. Darüber hinaus führt die Injektion eines Anti-NUCB2-Antisense-Oligonukleotids

in den dritten Gehirnventrikel zu einer Steigerung der Nahrungsaufnahme bei Ratten [112], was auf eine tonische Inhibierung der Nahrungsaufnahme durch Nesfatin-1 hinweist.

Der Vielzahl der Studien, in denen Nesfatin-1 zentral appliziert wurde, stehen nur wenige Arbeiten gegenüber, welche die Effekte von peripherem Nesfatin-1 auf die Nahrungsaufnahme untersuchen. Eine Studie beschrieb einen anorexigenen Effekt nach der ip Injektion einer sehr hohen Dosis Nesfatin-1 während der Dunkelphase bei *ad libitum* gefütterten Mäusen [133]. Eine andere Studie war jedoch nicht in der Lage, diesen Effekt in einem anderen Mäusestamm zu reproduzieren [67]. Die peripheren Effekte scheinen vagal vermittelt zu werden, da Nesfatin-1 *in vitro* Neurone des Ganglion nodosum aktiviert [79] und intraperitoneal appliziertes Nesfatin-1<sub>24-53</sub> bei Mäusen, welche mittels Capsaicin vagal de-afferenziiert wurden, keinen Effekt auf die Nahrungsaufnahme hatte [134]. Es sollte jedoch beachtet werden, dass der Nesfatin-1-Rezeptor bislang unbekannt ist und dessen Identifikation zum besseren Verständnis der Nesfatin-1-Signalübermittlung von großer Wichtigkeit sein wird. Weiterhin sind zusätzliche Studien nötig, um die pharmakologischen Effekte von peripher injiziertem Nesfatin-1 besser zu beschreiben und die physiologischen Funktionen von peripherem Nesfatin-1 zu identifizieren. Die Regulation der NUCB2-mRNA-Expression abhängig vom metabolischen Status mit einer verringerten Expression im Magen nach einer Fastenzeit von 24 Stunden [144] legt jedoch eine physiologische nahrungsregulatorische Funktion für Nesfatin-1 nahe. Beim Menschen wurde eine positive Korrelation der Plasmaspiegel von NUCB2/Nesfatin-1 mit dem BMI beschrieben, also niedrige Spiegel bei Patienten mit Anorexia Nervosa [111] und höhere Spiegel bei Adipösen [122]. Im Gegensatz dazu beschreibt eine andere Studie eine negative Korrelation von Plasma-NUCB2/Nesfatin-1 mit dem BMI [162], ein Ergebnis, was in Nachfolgestudien erst bestätigt werden sollte. Interessanterweise wurde kürzlich ein Polymorphismus für NUCB2 beschrieben, welcher mit Adipositas assoziiert zu sein scheint [173] und demzufolge eine genetische (Teil-)Ursache für den Schutz gegen oder die Empfänglichkeit für Adipositas darstellen könnte.

## 1.4 Effekte von Ghrelin und Nesfatin-1 auf die gastrointestinale Motilität

Die zirkulierenden Ghrelinspiegel weisen eine zirkadiane Variation auf, welche eng mit dem Auftreten von gastrischen migrierenden Motorkomplexen assoziiert ist [5], was auf eine Funktion von Ghrelin als Regulator der Magenmotilität hindeutet. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung untermauert, dass die intravenöse (iv) Gabe von Ghrelin zu einer Steigerung der antralen Magenmotilität bei Ratten [60, 102], Hunden [170] und Menschen [153] führt. Darüber hinaus erhöht die ip Injektion von Ghrelin die antropylorische Koordination [4], was für die nach Gabe von Ghrelin beobachtbare Beschleunigung der Magenentleerung für flüssige und feste Nahrung bei Ratten [45, 61, 160, 163, 165], Mäusen [7, 47, 85] und Menschen [91] ursächlich sein könnte. An dieser Stelle ist allerdings wichtig zu bemerken, dass obwohl ein GRLN-Antagonist die gastrischen Phase III-Kontraktionen bei Mäusen [175] und Ratten [5, 156] hemmt und damit endogenes Ghrelin an dieser Regulation beteiligt zu sein scheint, beim Menschen nur hohe, pharmakologische Dosen von Ghrelin einen gastroprokinetischen Effekt haben [20, 104, 154], wohingegen geringere Dosen die Magenentleerung nicht beeinflussen, obwohl sie die Wachstumshormon-Sekretion stimulieren [33]. Auch die elektrische Magenstimulation, welche zu einer gesteigerten Freisetzung von Ghrelin führt und mit einer Aktivierung der orexigenen Signaltransduktion im Gehirn assoziiert ist, hat keinen Einfluss auf die Magenentleerung [62]. In der Zusammenschau dieser Daten wird es wichtig sein, in zukünftigen Studien zu untersuchen, ob die Unterschiede mit Speziesdifferenzen zu begründen sind oder ob die prokinetischen Effekte von Ghrelin eher pharmakologische Eigenschaften dieses Peptids darstellen.

Frühere Untersuchungen bei Urethan-anästhesierten gefasteten Ratten sprechen für eine Rolle des Nervus Vagus in der Vermittlung der gastroprokinetischen Effekte von Ghrelin, da nach bilateraler zervikaler Vagotomie diese Effekte nicht mehr beobachtbar sind [102]. Auf der anderen Seite sprechen nicht-anästhesierte, vagotomierte, gefütterte Ratten, welche ein postprandiales Motilitätsmuster zeigen, auf einen iv Ghrelin-Stimulus mit einem Fastenzustand-ähnlichen Motilitätsmuster im Antrum an, ein Effekt, welcher durch einen GRLN-Rezeptor-Antagonisten blockierbar ist [60]. Auch Neuropeptid Y (NPY) scheint an

der Effektvermittlung von Ghrelin beteiligt zu sein, da ein NPY-Rezeptor Typ 2 (NPY Y<sub>2</sub>)-Antagonist die gastrische Motorantwort auf iv Ghrelin aufhebt [60]. Neben seinen Effekten auf den Magen, führt Ghrelin auch zu einer Steigerung der Kontraktionen in Duodenum und Jejunum [50, 157], was die intestinale Transitzeit bei Ratten verkürzt [61, 160]. Darüber hinaus führt Ghrelin nach ip oder zentraler Injektion auch zu einer Verkürzung der kolonischen Transitzeit [158]. Auch die orale Gabe des GRLN-Rezeptoragonisten GSK894281 führt zu einer gesteigerten Defäkation bei Ratten [130]. Im Gegensatz zu den NPY Y<sub>2</sub>-vermittelten Effekten im Magen, scheint Ghrelin im Kolon den NPY Y<sub>1</sub>-Mediationsweg zu nutzen, da ein NPY Y<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonist nach izv Gabe die Ghrelin-induzierte Verkürzung der kolonischen Transitzeit hemmt, wohingegen ein NPY Y<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonist keinen Effekt hat [158].

Da die meisten nahrungsregulatorischen Peptide die gastrointestinale Motilität beeinflussen [63], wurde diese Eigenschaft auch für Nesfatin-1 vermutet. Die izv Injektion von Nesfatin-1 führt sowohl bei Ratten [141] als auch bei Mäusen [65] zu einer Verzögerung der Magenentleerung. Eine andere Studie konnte zeigen, dass izv injiziertes Nesfatin-1 die gastroduodenale Motilität bei Mäusen hemmt [9], ein Effekt der dem von Ghrelin gegensätzlich ist und zur Induktion von Sättigung beitragen könnte.

## 2. EIGENE ARBEITEN

Abdominelle Chirurgie induziert die Expression des neuronalen Markers Fos in spezifischen Gehirnkernen [23, 24], jedoch wurde der Phänotyp der aktivierten Neurone bisher nicht gut charakterisiert.

### 2.1 Abdominelle Chirurgie aktiviert Nesfatin-1 immunreaktive Gehirnkern bei Ratten

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Nesfatin-1 wurde kürzlich im Hypothalamus der Ratte entdeckt [112] und als neues anorexigenes Peptid beschrieben [112, 141] welches auch die Magenentleerung hemmt [141]. Darüber hinaus konnte Nesfatin-1 in verschiedenen autonomen Gehirnkernen lokalisiert werden [25, 57, 58, 66, 86, 112], was eine Beteiligung an der Stressantwort nahelegt. Aus diesem Grund haben wir untersucht, ob abdominelle Chirurgie Nesfatin-1 immunreaktive Neurone im Gehirn der Ratte aktiviert. Hierzu wurden die Tiere zwei Stunden nach abdominaler Chirurgie oder Kontrollbehandlung (nur Anästhesie) transkardial perfundiert und die Gehirne immunhistochemisch aufgearbeitet. Abdominelle Chirurgie induzierte Fos, einen Marker neuronaler Aktivität [124], im Nukleus Supraopticus, Nukleus Paraventricularis, Locus coeruleus, Nukleus Edinger-Westphal, rostralen Raphe Pallidus, Nukleus traktus solitarius und in der ventrolateralen Medulla. Doppelfärbungen ergaben, dass von diesen aktivierten Zellen 99% im Nukleus Supraopticus, 91% im Locus coeruleus, 82% im rostralen Raphe Pallidus, 74% im Nukleus Edinger-Westphal, 71% im anterioren parvizellulären Teil des Nukleus Paraventricularis und 14% im Nukleus traktus solitarius immunreaktiv für Nesfatin-1 waren. Diese Daten lassen vermuten, dass Nesfatin-1 eine Rolle bei der Reduktion der Nahrungsaufnahme und Verlangsamung des gastrointestinalen Transits nach abdominaler Chirurgie spielt.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 31; 263-70, 2010.

Nachdem die Regulation eines Peptidproduktes der X/A-ähnlichen Zelle, Nesfatin-1, nach abdominalen Chirurgie untersucht wurde, konzentrierten wir uns in den nachfolgenden Studien auf die Veränderungen von zirkulierendem Ghrelin.

## **2.2 Kalte Umgebungstemperaturen heben die durch abdominale Chirurgie induzierte Verzögerung der Magenentleerung und das Absinken der Plasma-Ghrelinspiegel bei Ratten auf**

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Eine Absenkung der Umgebungstemperatur induziert eine Vielzahl endokriner und thermoregulatorischer Antworten, wobei die Freisetzung des Hormons Thyrotropin-Releasing Hormon (TRH) eine zentrale Rolle spielt [3, 100, 152]. Wir haben untersucht, ob eine vagale Aktivierung, induziert durch kältegetriggerte TRH-Freisetzung, die verzögerte Magenentleerung nach abdominalen Chirurgie beeinflusst. Abdominale Chirurgie oder Kontrollbehandlung (nur Anästhesie) wurde 10 min vor oder 30 min nach Kälteexposition (4-6°C), welche insgesamt 90 min anhielt, durchgeführt. Anschließend wurde die Magenentleerung für eine flüssige, non-kalorische Mahlzeit bestimmt. Die Plasmaspiegel von Acyl- und Total-Ghrelin wurden mit Hilfe der neuen RAPID-Methode und Radioimmunoassay bestimmt. Desacyl-Ghrelin wurde als Differenz von Total- minus Acyl-Ghrelin berechnet. Bei Ratten, welche bei Raumtemperatur (21-23°C) gehalten wurden, verzögerte abdominale Chirurgie die Magenentleerung um 60% im Vergleich zur Kontrolle. Wenn Ratten vor oder nach abdominalen Chirurgie bei 4-6°C gehalten wurden oder das stabile TRH-Analogon RX-77368 (50 ng/Ratte) intrazisternal erhielten, zeigten sie eine normale Magenentleerung. Das Absenken der Umgebungstemperatur führte zu einem Anstieg von zirkulierendem Acyl- und Desacyl-Ghrelin zu den Zeitpunkten zwei und vier Stunden im Vergleich zur Kontrolle (21-23°C). Abdominale Chirurgie führte zu einem Absinken von Acyl- und Desacyl-Ghrelin im Plasma, was durch eine 90-minütige Kälteexposition verhindert wurde. Diese Daten zeigen, dass die endogene oder exogene Aktivierung des TRH-Signaltransduktionsweges die Verzögerung der Magenentleerung nach abdominalen Chirurgie verhindert.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel M, Luckey A, Yuan P-Q, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 31; 2229-35, 2010.

Da Somatostatin im Gehirn die Freisetzung von Stresshormonen hemmt, wurden als nächstes die Effekte von Somatostatin auf gastrointestinale Funktionen unter Stressbedingungen untersucht.

### **2.3 Die zentrale Aktivierung des Somatostatin-Rezeptors 1 hebt die akuten stressinduzierten Veränderungen der gastrischen und kolonischen Motorfunktion bei Mäusen auf**

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Corticotropin-Releasing Factor (CRF) spielt eine zentrale Rolle bei der stressinduzierten Verzögerung der Magenentleerung sowie der Stimulation der kolonischen Motorfunktion [148]. Der Somatostatin-Rezeptor ( $sst_{1-5}$ )-Agonist, ODT8-SST [13] wirkt im Gehirn und inhibiert die stressinduzierte Freisetzung von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) und Epinephrin [28]. Hier wurde untersucht, ob ODT8-SST die stressinduzierten Veränderungen der gastralen und kolonischen Motoraktivität beeinflusst und welcher  $sst$ -Subtyp beteiligt ist. Die Peptide wurden Mäusen während kurzer Inhalationsnarkose intrazerebroventrikulär (izv) injiziert und die fäkale Pelletexkretion (FPE) sowie die Kolonmotilität untersucht. Der Stress der Anästhesie und izv Injektion reduzierte die Magenentleerung um 67% und steigerte die FPE um 99% im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen. Diese Veränderungen wurden durch ODT8-SST ( $1\mu\text{g} = 0.75\text{nmol}$ ) [13] und den  $sst_1$ -Agonisten CH-275 ( $3\mu\text{g} = 1.95\text{nmol}$ ) [52] verhindert. Im Gegensatz dazu beeinflussten Octreotid ( $sst_2 > sst_5 > sst_3$ ) [17] oder selektive  $sst_2$ - [70] oder  $sst_4$ -Agonisten [53] (je  $1\mu\text{g} = 0.78$  oder  $0.70\text{nmol}$ ) die FPE nicht, während Somatostatin-28 einen ähnlichen Effekt wie ODT8-SST hatte. Des Weiteren reduzierte ODT8-SST die distale kolonische Motilität und hemmte die „Water avoidance stress“- und CRF-induzierte Stimulation der FPE. Diese Daten zeigen, dass ODT8-SST die stressinduzierte Stimulation der kolonischen Motorfunktion sowie die Verzögerung der Magenentleerung hemmt, ein Effekt, der durch Aktivierung des  $sst_1$  reproduziert werden kann. Zentrale somatostatinerge Signaltransduktion kann somit die Stressantwort modulieren.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e223-36, 2011.

Im Anschluss an die separate Untersuchung der Ghrelinregulation und der möglichen Rolle von Somatostatin nach abdomineller Chirurgie sollten im nächsten Schritt die Effekte von sst-Agonisten auf gastrointestinale Funktionen und zirkulierendes Ghrelin nach abdomineller Chirurgie untersucht werden.

#### **2.4 Die zentrale Gabe des Pan-Somatostatin-Agonisten ODT8-SST verhindert die durch abdominelle Chirurgie induzierte Reduktion von zirkulierendem Ghrelin sowie die Hemmung der Nahrungsaufnahme und der Magenentleerung bei Ratten**

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Die Aktivierung der zentralen  $sst_{1-5}$  durch den Pan- $sst_{1-5}$ -Somatostatin-Agonisten ODT8-SST [13] blockiert die stressinduzierte Stimulation der endokrinen adrenalsympathischen Antwort [26-28, 56]. Die Aktivierung von CRF ist an der Verzögerung der Magenentleerung nach abdomineller Chirurgie beteiligt [14, 97, 99]. Diese Studie untersuchte, ob die Aktivierung des zentralen sst-Mediationsweges die durch abdominelle Chirurgie induzierte Reduktion der Magenentleerung und Nahrungsaufnahme beeinflusst. Ratten wurden sst-Agonisten in die Zisterna magna (iz) injiziert bevor sie abdominell operiert oder kontrollbehandelt (Anästhesie) wurden. Die Magenentleerung sowie zirkulierende Ghrelin-Spiegel wurden 50 min nach Chirurgie bestimmt. Die durch Chirurgie reduzierte Magenentleerung, Nahrungsaufnahme und Acyl-Ghrelin-Plasmaspiegel wurden durch ODT8-SST (1µg/Ratte) normalisiert. Auch der selektive  $sst_5$ -Agonist verhinderte die chirurgieinduzierte Verzögerung der Magenentleerung, wohingegen die  $sst_1$ -,  $sst_2$ - oder  $sst_4$ -Agonisten keinen Effekt hatten. Der selektive  $sst_2$ -Agonist hemmte die chirurgieinduzierte Abnahme von Ghrelin und Nahrungsaufnahme, während die verzögerte Magenentleerung nicht beeinflusst wurde. ODT8-SST wirkt im Gehirn, um die Verzögerung der Magenentleerung wahrscheinlich über den  $sst_5$  zu hemmen. ODT8-SST und der  $sst_2$ -Agonist hemmen die Reduktion der

Nahrungsaufnahme und der Ghrelinspiegel, was eine Dissoziation von Nahrungsaufnahme und Magenentleerung aufzeigt.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, Taché Y. Central administration of pansomatostatin agonist ODT8-SST prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying in rats. *Neurogastroenterology & Motility* 23; e294-308, 2011.

Nachdem die Effekte von zentralem Somatostatin auf Ghrelin unter Bedingungen von abdominalen Chirurgie aufgezeigt wurden, sollten nun die peripheren Interaktionsmechanismen von Ghrelin und Somatostatin untersucht werden.

## **2.5 Abdominale Chirurgie hemmt die zirkulierenden Spiegel von Acyl-Ghrelin und Ghrelin-O-Acyltransferase bei Ratten: Funktion des Somatostatin-Rezeptors 2**

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Klinische Studien untersuchen aktuell die Effektivität synthetischer Ghrelin-Agonisten in der Behandlung des postoperativen Ileus [31]. Die Regulation der Ghrelinsekretion unter diesen Bedingungen ist bisher jedoch unzureichend untersucht. Peripheres Somatostatin hemmt die Ghrelinsekretion bei Tieren und Menschen [12, 92, 132, 137]. In dieser Studie wurde untersucht, wie abdominale Chirurgie die Ghrelin-Plasmaspiegel beeinflusst und ob der  $sst_2$  beteiligt ist. Abdominale Chirurgie führte zu einem raschen (in 30 min) und langanhaltenden (über 5 Stunden) Absinken der Acyl-Ghrelin-Plasmaspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe (Anästhesie). Die Spiegel waren bei sieben Stunden teilweise und bei 24 Stunden vollständig wieder angestiegen. Der Abfall von Acyl-Ghrelin war zum Zeitpunkt zwei Stunden stärker ausgeprägt im Vergleich zu dem von Desacyl-Ghrelin. Zu diesem Zeitpunkt war die Expression der Ghrelin-O-Acyltransferase (GOAT)-Proteinkonzentration im Plasma um 48% und im Magen um 23% reduziert. Die Ghrelin-positiven Zellen der Magenschleimhaut exprimierten den  $sst_{2a}$  und der  $sst_2$ -Agonist reduzierte die Acyl-Ghrelin-Plasmaspiegel um 77% nach zwei Stunden. Der  $sst_2$ -Antagonist hemmte den chirurgieinduzierten Abfall von Acyl-Ghrelin, hatte jedoch keinen Einfluss auf die Verzögerung der Magenentleerung. Diese Daten zeigen, dass der  $sst_2$ , welcher von X/A-ähnlichen Zellen exprimiert wird, eine wichtige Rolle bei der raschen Supprimierung von Acyl-Ghrelin nach abdominalen Chirurgie spielt, während er an der frühen Phase des postoperativen gastrischen Ileus nicht beteiligt zu sein scheint.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.



Verweis auf Volltext:

**Stengel A**, Goebel-Stengel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NWG, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor subtype 2. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 301; G239-48, 2011.

### 3. DISKUSSION

Kürzlich wurde gezeigt, dass Ghrelin antiinflammatorisch wirkt [74], eine Funktion, die in Interaktion mit dem zentralen Opioid-Mediationssystem ausgeübt wird [136]. Darüber hinaus ist Ghrelin für seine gastroprokinetischen Effekte bekannt [116]. Vor diesem Hintergrund haben mehrere Studien die möglichen therapeutischen Effekte von Ghrelin unter Bedingungen von postoperativem Ileus untersucht [31]. Die periphere intravenöse Gabe von Ghrelin und der Ghrelin-Rezeptor-Agonisten, RC-1139 und TZP-101 nach abdominalen Chirurgie führt zu einer Normalisierung der Magenentleerung, zu einer kürzeren Latenz bis zur ersten Darmbewegung und zu einer verkürzten Kolon-Transitzeit bei Ratten [119, 160, 164]. In ersten klinischen Studien konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass TZP-101 die Zeit bis zur ersten Darmbewegung bei Patienten nach abdominalen Chirurgie sowie die Erholungsperiode verkürzt, was zu einer früheren Entlassung aus dem Krankenhaus führt [120].

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Regulation von endogenem Ghrelin nach abdominalen Chirurgie untersucht. Laparotomie gefolgt von zaeckaler Palpation, ein Tiermodell für abdominalen Chirurgie, führte zu einer raschen Abnahme der zirkulierenden Ghrelin-Spiegel innerhalb von 30 min, welche langanhaltend über einen Zeitraum von 5 h zu beobachten war [146]. Die Ghrelin-Plasmaspiegel normalisierten sich innerhalb von 24 h [146]. Es ist zu bemerken, dass der Abfall von Acyl-Ghrelin nach 2 h stärker als der von Desacyl-Ghrelin war, was in einer verringerten Acyl-/Desacyl-Ghrelin-Ratio resultierte und von einer Abnahme der Expression von GOAT-Protein in Magen und Plasma begleitet war [146]. Dies könnte zum einen auf eine verringerte Acylierung hinweisen, zum anderen könnte auch eine vermehrte Deacylierung beteiligt sein, was kürzlich für inflammatorische Bedingungen am Beispiel von Lipopolysaccharid-Injektion gezeigt wurde [128]. Interessanterweise zeigte eine Studie bei Patienten, dass die zirkulierenden Ghrelin-Spiegel nach einem operativen Eingriff (partielle Kolonresektion) anstiegen, ein Effekt, der nach 24 h noch stärker ausgeprägt war [101] und möglicherweise mit der prolongierten Nahrungskarenz begründet werden könnte.

Im Gegensatz zur Hemmung der Ghrelin-Signaltransduktion führt abdominelle Chirurgie zu einer Aktivierung von NUCB2/Nesfatin-1-immunreaktiven Neuronen im magnozellulären neuroendokrinen System, im anterioren parvizellulären Teil des Paraventriculären Nukleus, im Edinger-Westphal Nukleus sowie in Hirnkernen des katecholaminergen und serotonergen Systems [142]. Diese Aktivierung könnte ebenfalls zur beobachteten Verzögerung der Magenentleerung und zur Entwicklung des postoperativen Ileus beitragen [142].

In einer jüngeren Studie konnten wir zeigen, dass die iv Injektion des sst<sub>2</sub>-Antagonisten S-406-028 vor abdomineller Chirurgie die chirurgieinduzierte Verringerung der zirkulierenden Ghrelin-Spiegel hemmt [146]. Im Gegensatz dazu führt die iv Gabe des sst<sub>2</sub>-Agonisten S-346-011 zu einem Abfall der Ghrelin-Plasmaspiegel [146]. Da die Ghrelin-positiven X/A-ähnlichen Zellen des Magens den sst<sub>2</sub> exprimieren [146], könnten die Ergebnisse in der Zusammenschau auf einen Somatostatin-sst<sub>2</sub> vermittelten Effekt hindeuten, welcher wahrscheinlich parakrin ist und von den Somatostatin-positiven D-Zellen auf die X/A-ähnlichen Zellen wirkt, um Ghrelin unter Bedingungen von abdomineller Chirurgie zu reduzieren. Aus diesem Grund haben wir untersucht, ob eine periphere Blockade der Somatostatin-sst<sub>2</sub>-Signalvermittlung die chirurgieinduzierte Verzögerung der Magenentleerung beeinflussen würde. Der sst<sub>2</sub>-Antagonist S-406-028 hatte jedoch keinen Effekt auf den postoperativen gastrischen Ileus [146], was vermuten lässt, dass die Wiederherstellung physiologischer zirkulierender Ghrelin-Plasmaspiegel nicht ausreicht, um gastroprokinetische Effekte zu erzielen. Auch die zentrale Aktivierung von sst<sub>2</sub>, welche einen Anstieg der zirkulierenden Ghrelin-Plasmaspiegel zur Folge hat und eine Stimulation der Nahrungsaufnahme vermittelt, hat keinen Effekt auf die verzögerte Magenentleerung nach abdomineller Chirurgie [145]. Im Gegensatz zur Stimulation der oberen gastrointestinalen Motilität, reduziert ODT8-SST die distale kolonische Motilität, ein Effekt der vornehmlich durch den sst<sub>1</sub> vermittelt wird, und wirkt somit den Stresseffekten, vermittelt vorrangig durch CRF, entgegen [138]. Diese Daten zeigen eine Dissoziation zwischen den gastroprokinetischen und den orexigenen Effekten von Ghrelin. Diese Beobachtung stimmt mit vorhergehenden Studien beim Menschen, in denen nur supraphysiologische Dosierungen von Ghrelin einen gastroprokinetischen Effekt hatten [104, 154] und die Symptome der verzögerten Magenentleerung verbesserten [51], überein, während geringere

Dosierungen im physiologischen Bereich zwar die Ausschüttung von Wachstumshormon bewirkten, allerdings keinen Effekt auf die Magenentleerung hatten [33]. Auch die elektrische Stimulation des Magens, welche zu einer Erhöhung der Ghrelin-Produktion und -freisetzung aus dem Magen führt und mit einer gesteigerten Aktivierung nahrungsstimulatorischer Gehirnerkerne assoziiert ist, hat keinen Einfluss auf die Magenentleerung [62]. Trotz dieser genannten Dosisabhängigkeit der Effekte könnte eine perioperative Blockade der Somatostatin-Signaltransduktion eine günstige Strategie zur Stimulation des postoperativ verminderten Appetits sein, da auch die X/A-ähnlichen Zellen des Menschen den  $ss_{2}$  exprimieren [55] und Somatostatin auch beim Menschen die Ghrelin-Plasmaspiegel reduziert [12], wobei ein direkter Effekt auf die X/A-ähnlichen Zellen denkbar ist.

Aufgrund der Tatsache, dass CRF die efferente vagale Aktivität reduziert [1] und Acetylcholin die Freisetzung von Ghrelin im Magen stimuliert [135], könnte eine CRF-vermittelte Reduktion der vagalen Aktivität eine Rolle bei der chirurgieinduzierten Reduktion der Ghrelin-Plasmaspiegel spielen. Wir konnten kürzlich zeigen, dass eine TRH-induzierte (durch Absenken der Umgebungstemperatur auf 4-6 °C oder intravenöse Injektion des TRH-Agonisten RX-77368) Steigerung der vagalen Aktivität die chirurgieinduzierte Verzögerung der Magenentleerung hemmen kann und mit einer Wiederherstellung der durch Chirurgie verminderten zirkulierenden Ghrelin-Spiegel assoziiert ist [139]. Diese Daten weisen auf einen möglichen positiven Effekt einer zentralen vagalen Stimulation bei Patienten nach abdominaler Chirurgie hin. Dies könnte mit Hilfe von Kaugummikaugen geschehen, was in mehreren Meta-Analysen zu einer Reduktion der Latenzzeit bis zum ersten Stuhlgang und einem verkürzten Krankenhausaufenthalt geführt hat [108]. Diese Ergebnisse sollten jedoch in plazebokontrollierten Studien überprüft werden.

## 4. ZUSAMMENFASSUNG

Nach abdominaler Chirurgie entwickelt sich häufig ein postoperativer Ileus. Das orexigene und gastroprokinetische Hormon Ghrelin rückte als möglicher therapeutischer Angriffspunkt in der medikamentösen Behandlung des postoperativen Ileus schon sehr frühzeitig in den Fokus experimenteller und klinischer Studien. Erst kürzlich konnte im Tiermodell gezeigt werden, dass die Ghrelin-Plasmaspiegel nach abdominaler Chirurgie rasch absinken und langanhaltend supprimiert bleiben. Interessanterweise führte die Normalisierung der zirkulierenden Ghrelinspiegel nicht zu einer Normalisierung der postoperativ verlangsamten Magenentleerung. Diese Beobachtung ist mit Studien in Einklang zu bringen, welche zeigen, dass supraphysiologische Dosen von Ghrelin benötigt werden, um einen gastroprokinetischen Effekt zu erzielen. Die Normalisierung der zirkulierenden Ghrelinspiegel kann jedoch nahrungstimulatorisch wirken, was einen potentiell günstigen Effekt nach abdominaler Chirurgie darstellt und dem postoperativ beobachteten Gewichtsverlust entgegenwirkt. Diese Wiederherstellung normaler Ghrelinspiegel kann über eine Blockade peripherer Somatostatin- $sst_2$ -Mediation erreicht werden. Da auch die Konzentration des Ghrelin-acylierenden Enzyms GOAT unter postoperativen Bedingungen verändert ist, könnte die Aktivierung von GOAT eine vielversprechende pharmakologische Strategie zur Abschwächung postoperativer Symptome darstellen und sollte deshalb in zukünftigen experimentellen sowie klinischen Studien eingehender untersucht werden.

## 5. REFERENZLISTE

- [1] Adelson DW, Kosoyan HP, Wang Y, Steinberg JZ, Taché Y. Gastric vagal efferent inhibition evoked by intravenous CRF is unrelated to simultaneously recorded vagal afferent activity in urethane-anesthetized rats. *J Neurophysiol* 2007;97:3004-14.
- [2] Alvarez-Garcia O, Garcia-Lopez E, Rodriguez J, Gil-Pena H, Molinos I, Carbajo-Perez E, et al. Administration of ghrelin to young uremic rats increases food intake transiently, stimulates growth hormone secretion and does not improve longitudinal growth. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:1309-13.
- [3] Arancibia S, Rage F, Astier H, Tapia-Arancibia L. Neuroendocrine and autonomous mechanisms underlying thermoregulation in cold environment. *Neuroendocrinology* 1996;64:257-67.
- [4] Ariga H, Nakade Y, Tsukamoto K, Imai K, Chen C, Mantyh C, et al. Ghrelin accelerates gastric emptying via early manifestation of antro-pyloric coordination in conscious rats. *Regul Pept* 2008;146:112-6.
- [5] Ariga H, Tsukamoto K, Chen C, Mantyh C, Pappas TN, Takahashi T. Endogenous acyl ghrelin is involved in mediating spontaneous phase III-like contractions of the rat stomach. *Neurogastroenterol Motil* 2007;19:675-80.
- [6] Arnold M, Mura A, Langhans W, Geary N. Gut vagal afferents are not necessary for the eating-stimulatory effect of intraperitoneally injected ghrelin in the rat. *J Neurosci* 2006;26:11052-60.
- [7] Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, et al. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001;120:337-45.
- [8] Asgeirsson T, El-Badawi KI, Mahmood A, Barletta J, Luchtefeld M, Senagore AJ. Postoperative ileus: it costs more than you expect. *J Am Coll Surg* 2010;210:228-31.
- [9] Atsuchi K, Asakawa A, Ushikai M, Ataka K, Tsai M, Koyama K, et al. Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal motility in mice. *Neuroreport* 2010;21:1008-11.
- [10] Banfi G, Salvagno GL, Lippi G. The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:565-76.
- [11] Banks WA, Tschöp M, Robinson SM, Heiman ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302:822-7.

- [12] Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA. Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2180-4.
- [13] Barnes AJ, Long RG, Adrian TE, Vale W, Brown MR, Rivier JE, et al. Effect of a long-acting octapeptide analogue of somatostatin on growth hormone and pancreatic and gastrointestinal hormones in man. *Clin Sci (Lond)* 1981;61:653-6.
- [14] Barquist E, Bonaz B, Martinez V, Rivier J, Zinner MJ, Taché Y. Neuronal pathways involved in abdominal surgery-induced gastric ileus in rats. *Am J Physiol* 1996;270:R888-94.
- [15] Barquist E, Zinner M, Rivier J, Taché Y. Abdominal surgery-induced delayed gastric emptying in rats: role of CRF and sensory neurons. *Am J Physiol* 1992;262:G616-20.
- [16] Barreiro ML, Gaytan F, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, et al. Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis. *Biol Reprod* 2002;67:1768-76.
- [17] Bauer W, Briner U, Doepfner W, Haller R, Huguenin R, Marbach P, et al. SMS 201-995: a very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. *Life Sci* 1982;31:1133-40.
- [18] Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV, et al. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 2000;43:4370-6.
- [19] Benson MJ, Wingate, D. L. Ileus and mechanical obstruction. In: Kumar D, Wingate, D. L., editor. *An illustrated guide to gastrointestinal motility*. London: Churchill Livingstone; 1993, p. 547–66.
- [20] Binn M, Albert C, Gougeon A, Maerki H, Coulie B, Lemoyne M, et al. Ghrelin gastroduodenal action in patients with neurogenic gastroparesis. *Peptides* 2006;27:1603-6.
- [21] Boeckxstaens GE, de Jonge WJ. Neuroimmune mechanisms in postoperative ileus. *Gut* 2009;58:1300-11.
- [22] Boeckxstaens GE, Hirsch DP, Kodde A, Moojen TM, Blackshaw A, Tytgat GN, et al. Activation of an adrenergic and vagally-mediated NANC pathway in surgery-induced fundic relaxation in the rat. *Neurogastroenterol Motil* 1999;11:467-74.
- [23] Bonaz B, Plourde V, Taché Y. Abdominal surgery induces Fos immunoreactivity in the rat brain. *J Comp Neurol* 1994;349:212-22.
- [24] Bonaz B, Taché Y. Corticotropin-releasing factor and systemic capsaicin-sensitive afferents are involved in abdominal surgery-induced Fos expression

- in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res* 1997;748:12-20.
- [25] Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E, Inan S, Yang J, Chang JK, et al. Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology* 2007;148:5088-94.
- [26] Brown MR, Fisher LA. Brain peptide regulation of adrenal epinephrine secretion. *Am J Physiol* 1984;247:E41-6.
- [27] Brown MR, Fisher LA, Spiess J, Rivier C, Rivier J, Vale W. Corticotropin-releasing factor: actions on the sympathetic nervous system and metabolism. *Endocrinology* 1982;111:928-31.
- [28] Brown MR, Rivier C, Vale W. Central nervous system regulation of adrenocorticotropin secretion: role of somatostatins. *Endocrinology* 1984;114:1546-9.
- [29] Bueno L, Fioramonti J, Ruckebusch Y. Postoperative intestinal motility in dogs and sheep. *Am J Dig Dis* 1978;23:682-9.
- [30] Calogero AE, Norton JA, Sheppard BC, Listwak SJ, Cromack DT, Wall R, et al. Pulsatile activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during major surgery. *Metabolism* 1992;41:839-45.
- [31] Camilleri M, Papathanasopoulos A, Odunsi ST. Actions and therapeutic pathways of ghrelin for gastrointestinal disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009;6:343-52.
- [32] Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003;37:649-61.
- [33] Cremonini F, Camilleri M, Vazquez Roque M, McKinzie S, Burton D, Baxter K, et al. Obesity does not increase effects of synthetic ghrelin on human gastric motor functions. *Gastroenterology* 2006;131:1431-9.
- [34] Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001;50:1714-9.
- [35] Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002;346:1623-30.
- [36] Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000;141:4255-61.



- [37] Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijima A, Matsuo H, et al. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 2002;123:1120-8.
- [38] Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, et al. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002;51:124-9.
- [39] Davenport AP, Bonner TI, Foord SM, Harmar AJ, Neubig RR, Pin JP, et al. International Union of Pharmacology. LVI. Ghrelin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol Rev* 2005;57:541-6.
- [40] de Jonge WJ, van den Wijngaard RM, The FO, ter Beek ML, Bennink RJ, Tytgat GN, et al. Postoperative ileus is maintained by intestinal immune infiltrates that activate inhibitory neural pathways in mice. *Gastroenterology* 2003;125:1137-47.
- [41] De Winter BY, Boeckxstaens GE, De Man JG, Moreels TG, Herman AG, Pelckmans PA. Effects of mu- and kappa-opioid receptors on postoperative ileus in rats. *Eur J Pharmacol* 1997;339:63-7.
- [42] De Winter BY, Robberecht P, Boeckxstaens GE, De Man JG, Moreels TG, Herman AG, et al. Role of VIP1/PACAP receptors in postoperative ileus in rats. *Br J Pharmacol* 1998;124:1181-6.
- [43] DeHaven-Hudkins DL, DeHaven RN, Little PJ, Techner LM. The involvement of the mu-opioid receptor in gastrointestinal pathophysiology: therapeutic opportunities for antagonism at this receptor. *Pharmacol Ther* 2008;117:162-87.
- [44] Delaney CP, Senagore AJ, Viscusi ER, Wolff BG, Fort J, Du W, et al. Postoperative upper and lower gastrointestinal recovery and gastrointestinal morbidity in patients undergoing bowel resection: pooled analysis of placebo data from 3 randomized controlled trials. *Am J Surg* 2006;191:315-9.
- [45] Depoortere I, De Winter B, Thijs T, De Man J, Pelckmans P, Peeters T. Comparison of the gastroprokinetic effects of ghrelin, GHRP-6 and motilin in rats in vivo and in vitro. *Eur J Pharmacol* 2005;515:160-8.
- [46] Donald RA, Perry EG, Wittert GA, Chapman M, Livesey JH, Ellis MJ, et al. The plasma ACTH, AVP, CRH and catecholamine responses to conventional and laparoscopic cholecystectomy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;38:609-15.
- [47] Dornonville de la Cour C, Lindstrom E, Norlen P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004;120:23-32.
- [48] Druce MR, Wren AM, Park AJ, Milton JE, Patterson M, Frost G, et al. Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects. *Int J Obes (Lond)* 2005;29:1130-6.

- [49] Dubois A, Weise VK, Kopin IJ. Postoperative ileus in the rat: physiopathology, etiology and treatment. *Ann Surg* 1973;178:781-6.
- [50] Edholm T, Levin F, Hellstrom PM, Schmidt PT. Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept* 2004;121:25-30.
- [51] Ejksjaer N, Dimcevski G, Wo J, Hellstrom PM, Gormsen LC, Sarosiek I, et al. Safety and efficacy of ghrelin agonist TZP-101 in relieving symptoms in patients with diabetic gastroparesis: a randomized, placebo-controlled study. *Neurogastroenterol Motil* 2010;22:1069-e281.
- [52] Erchegeyi J, Cescato R, Grace CR, Waser B, Piccand V, Hoyer D, et al. Novel, potent, and radio-iodinatable somatostatin receptor 1 (sst1) selective analogues. *J Med Chem* 2009;52:2733-46.
- [53] Erchegeyi J, Waser B, Schaer JC, Cescato R, Brazeau JF, Rivier J, et al. Novel sst(4)-selective somatostatin (SRIF) agonists. 3. Analogues amenable to radiolabeling. *J Med Chem* 2003;46:5597-605.
- [54] Espat NJ, Cheng G, Kelley MC, Vogel SB, Sninsky CA, Hocking MP. Vasoactive intestinal peptide and substance P receptor antagonists improve postoperative ileus. *J Surg Res* 1995;58:719-23.
- [55] Fischer T, Doll C, Jacobs S, Kolodziej A, Stumm R, Schulz S. Reassessment of sst2 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-1. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4519-24.
- [56] Fisher DA, Brown MR. Somatostatin analog: plasma catecholamine suppression mediated by the central nervous system. *Endocrinology* 1980;107:714-8.
- [57] Foo K, Brismar H, Broberger C. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience* 2008;156:563-79.
- [58] Fort P, Salvart D, Hanriot L, Jego S, Shimizu H, Hashimoto K, et al. The satiety molecule nesfatin-1 is co-expressed with melanin concentrating hormone in tuberal hypothalamic neurons of the rat. *Neuroscience* 2008;155:174-81.
- [59] Freeman ME, Cheng G, Hocking MP. Role of alpha- and beta-calcitonin gene-related peptide in postoperative small bowel ileus. *J Gastrointest Surg* 1999;3:39-43.
- [60] Fujino K, Inui A, Asakawa A, Kihara N, Fujimura M, Fujimiya M. Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats. *J Physiol* 2003;550:227-40.
- [61] Fukuda H, Mizuta Y, Isomoto H, Takeshima F, Ohnita K, Ohba K, et al. Ghrelin enhances gastric motility through direct stimulation of intrinsic neural

- pathways and capsaicin-sensitive afferent neurones in rats. *Scand J Gastroenterol* 2004;39:1209-14.
- [62] Gallas S, Sinno MH, Boukhattala N, Coeffier M, Dourmap N, Gourcerol G, et al. Gastric electrical stimulation increases ghrelin production and inhibits catecholaminergic brainstem neurons in rats. *Eur J Neurosci* 2011;33:276-84.
- [63] Gardiner JV, Jayasena CN, Bloom SR. Gut hormones: a weight off your mind. *J Neuroendocrinol* 2008;20:834-41.
- [64] Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2988.
- [65] Goebel-Stengel M, Wang L, Stengel A, Taché Y. Localization of nesfatin-1 neurons in the mouse brain and functional implication. *Brain Research* 2011;1396:20-34.
- [66] Goebel M, Stengel A, Wang L, Lambrecht NW, Taché Y. Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei. *Neurosci Lett* 2009;452:241-6.
- [67] Goebel M, Stengel A, Wang L, Taché Y. Central nesfatin-1 reduces the nocturnal food intake in mice by reducing meal size and increasing inter-meal intervals. *Peptides* 2011;32:36-43.
- [68] Gonzalez R, Tiwari A, Unniappan S. Pancreatic beta cells colocalize insulin and pronesfatin immunoreactivity in rodents. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;381:643-8.
- [69] Gourcerol G, Gallas S, Mounien L, Leblanc I, Bizet P, Boutelet I, et al. Gastric electrical stimulation modulates hypothalamic corticotropin-releasing factor-producing neurons during post-operative ileus in rat. *Neuroscience* 2007;148:775-81.
- [70] Grace CR, Erchegyi J, Koerber SC, Reubi JC, Rivier J, Riek R. Novel sst2-selective somatostatin agonists. Three-dimensional consensus structure by NMR. *J Med Chem* 2006;49:4487-96.
- [71] Greenwood-Van Meerveld B. Emerging drugs for postoperative ileus. *Expert Opin Emerg Drugs* 2007;12:619-26.
- [72] Guan XM, Yu H, Palyha OC, McKee KK, Feighner SD, Sirinathsinghji DJ, et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 1997;48:23-9.
- [73] Gutierrez JA, Solenberg PJ, Perkins DR, Willency JA, Knierman MD, Jin Z, et al. Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:6320-5.

- [74] Hattori N. Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Horm IGF Res* 2009;19:187-97.
- [75] Hattori N, Saito T, Yagyu T, Jiang BH, Kitagawa K, Inagaki C. GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4284-91.
- [76] Hernandez JF, Kornreich W, Rivier C, Miranda A, Yamamoto G, Andrews J, et al. Synthesis and relative potencies of new constrained CRF antagonists. *J Med Chem* 1993;36:2860-7.
- [77] Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;279:909-13.
- [78] Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberatore PA, Rosenblum CI, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996;273:974-7.
- [79] Iwasaki Y, Nakabayashi H, Kakei M, Shimizu H, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 evokes Ca<sup>2+</sup> signaling in isolated vagal afferent neurons via Ca<sup>2+</sup> influx through N-type channels. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;390:958-62.
- [80] Jeon TY, Lee S, Kim HH, Kim YJ, Son HC, Kim DH, et al. Changes in plasma ghrelin concentration immediately after gastrectomy in patients with early gastric cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5392-6.
- [81] Kalff JC, Buchholz BM, Eskandari MK, Hierholzer C, Schraut WH, Simmons RL, et al. Biphasic response to gut manipulation and temporal correlation of cellular infiltrates and muscle dysfunction in rat. *Surgery* 1999;126:498-509.
- [82] Kalff JC, Carlos TM, Schraut WH, Billiar TR, Simmons RL, Bauer AJ. Surgically induced leukocytic infiltrates within the rat intestinal muscularis mediate postoperative ileus. *Gastroenterology* 1999;117:378-87.
- [83] Kalff JC, Schraut WH, Simmons RL, Bauer AJ. Surgical manipulation of the gut elicits an intestinal muscularis inflammatory response resulting in postsurgical ileus. *Ann Surg* 1998;228:652-63.
- [84] Kehlet H. Postoperative ileus--an update on preventive techniques. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008;5:552-8.
- [85] Kitazawa T, De Smet B, Verbeke K, Depoortere I, Peeters TL. Gastric motor effects of peptide and non-peptide ghrelin agonists in mice in vivo and in vitro. *Gut* 2005;54:1078-84.
- [86] Kohno D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sedbazar U, Yoshida N, et al. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology* 2008;149:1295-301.

- [87] Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656-60.
- [88] Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005;85:495-522.
- [89] le Roux CW, Neary NM, Halsey TJ, Small CJ, Martinez-Isla AM, Ghatei MA, et al. Ghrelin does not stimulate food intake in patients with surgical procedures involving vagotomy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4521-4.
- [90] Lenz HJ, Burlage M, Raedler A, Greten H. Central nervous system effects of corticotropin-releasing factor on gastrointestinal transit in the rat. *Gastroenterology* 1988;94:598-602.
- [91] Levin F, Edholm T, Schmidt PT, Gryback P, Jacobsson H, Degerblad M, et al. Ghrelin stimulates gastric emptying and hunger in normal-weight humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3296-302.
- [92] Lippl F, Kircher F, Erdmann J, Allescher HD, Schusdziarra V. Effect of GIP, GLP-1, insulin and gastrin on ghrelin release in the isolated rat stomach. *Regul Pept* 2004;119:93-8.
- [93] Livingston EH, Passaro EP, Jr. Postoperative ileus. *Dig Dis Sci* 1990;35:121-32.
- [94] Lu S, Guan JL, Wang QP, Uehara K, Yamada S, Goto N, et al. Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci Lett* 2002;321:157-60.
- [95] Lu XY, Shieh KR, Kabbaj M, Barsh GS, Akil H, Watson SJ. Diurnal rhythm of agouti-related protein and its relation to corticosterone and food intake. *Endocrinology* 2002;143:3905-15.
- [96] Luckey A, Livingston E, Taché Y. Mechanisms and treatment of postoperative ileus. *Arch Surg* 2003;138:206-14.
- [97] Luckey A, Wang L, Jamieson PM, Basa NR, Million M, Czimmer J, et al. Corticotropin-releasing factor receptor 1-deficient mice do not develop postoperative gastric ileus. *Gastroenterology* 2003;125:654-9.
- [98] Maejima Y, Sedbazar U, Suyama S, Kohno D, Onaka T, Takano E, et al. Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes anorexia through a leptin-independent melanocortin pathway. *Cell Metab* 2009;10:355-65.
- [99] Martinez V, Rivier J, Wang L, Taché Y. Central injection of a new corticotropin-releasing factor (CRF) antagonist, astressin, blocks CRF- and stress-related alterations of gastric and colonic motor function. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:754-60.

- [100] Martinez V, Wu SV, Taché Y. Intracisternal antisense oligodeoxynucleotides to the thyrotropin-releasing hormone receptor blocked vagal-dependent stimulation of gastric emptying induced by acute cold in rats. *Endocrinology* 1998;139:3730-5.
- [101] Maruna P, Gurlich R, Rosicka M. Ghrelin as an acute-phase reactant during postoperative stress response. *Horm Metab Res* 2008;40:404-9.
- [102] Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276:905-8.
- [103] Mizutani M, Atsuchi K, Asakawa A, Matsuda N, Fujimura M, Inui A, et al. Localization of acyl ghrelin- and des-acyl ghrelin-immunoreactive cells in the rat stomach and their responses to intragastric pH. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;297:G974-80.
- [104] Murray CD, Martin NM, Patterson M, Taylor SA, Ghatei MA, Kamm MA, et al. Ghrelin enhances gastric emptying in diabetic gastroparesis: a double blind, placebo controlled, crossover study. *Gut* 2005;54:1693-8.
- [105] Naito Y, Fukata J, Tamai S, Seo N, Nakai Y, Mori K, et al. Biphasic changes in hypothalamo-pituitary-adrenal function during the early recovery period after major abdominal surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:111-7.
- [106] Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001;409:194-8.
- [107] Nilsson F, Jung B. Gastric evacuation and small bowel propulsion after laparotomy. A study with a double isotope technique in rat. *Acta Chir Scand* 1973;139:724-30.
- [108] Noble EJ, Harris R, Hosie KB, Thomas S, Lewis SJ. Gum chewing reduces postoperative ileus? A systematic review and meta-analysis. *Int J Surg* 2009;7:100-5.
- [109] Noetzel S, Stengel A, Inhoff T, Goebel M, Wisser AS, Bannert N, et al. CCK-8S activates c-Fos in a dose-dependent manner in nesfatin-1 immunoreactive neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and in the nucleus of the solitary tract of the brainstem. *Regul Pept* 2009;157:84-91.
- [110] Nozu T, Martinez V, Rivier J, Taché Y. Peripheral urocortin delays gastric emptying: role of CRF receptor 2. *Am J Physiol* 1999;276:G867-74.
- [111] Ogiso K, Asakawa A, Amitani H, Nakahara T, Ushikai M, Haruta I, et al. Plasma nesfatin-1 concentrations in restricting-type anorexia nervosa. *Peptides* 2011;32:150-3.
- [112] Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 2006;443:709-12.

- [113] Pan W, Hsueh H, Kastin AJ. Nesfatin-1 crosses the blood-brain barrier without saturation. *Peptides* 2007;28:2223-8.
- [114] Pan W, Tu H, Kastin AJ. Differential BBB interactions of three ingestive peptides: obestatin, ghrelin, and adiponectin. *Peptides* 2006;27:911-6.
- [115] Pappas T, Debas H, Taché Y. Corticotropin-releasing factor inhibits gastric emptying in dogs. *Regul Pept* 1985;11:193-9.
- [116] Peeters TL. Old and new targets for prokinetic drugs: motilin and ghrelin receptors. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2008;12 Suppl 1:136-7.
- [117] Plourde V, St-Pierre S, Fournier A, Taché Y. CGRP 8-37[correction of 8-27] blocks the inhibition of gastric emptying induced by intravenous injection of alpha-CGRP in rats. *Life Sci* 1993;52:857-62.
- [118] Plourde V, Wong HC, Walsh JH, Raybould HE, Taché Y. CGRP antagonists and capsaicin on celiac ganglia partly prevent postoperative gastric ileus. *Peptides* 1993;14:1225-9.
- [119] Poitras P, Polvino WJ, Rocheleau B. Gastrokinetic effect of ghrelin analog RC-1139 in the rat. Effect on post-operative and on morphine induced ileus. *Peptides* 2005;26:1598-601.
- [120] Popescu I, Fleshner PR, Pezzullo JC, Charlton PA, Kosutic G, Senagore AJ. The Ghrelin agonist TZIP-101 for management of postoperative ileus after partial colectomy: a randomized, dose-ranging, placebo-controlled clinical trial. *Dis Colon Rectum* 2010;53:126-34.
- [121] Price TO, Samson WK, Niehoff ML, Banks WA. Permeability of the blood-brain barrier to a novel satiety molecule nesfatin-1. *Peptides* 2007;28:2372-81.
- [122] Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE, Tripathi G, Hallschmid M, Patel S, et al. Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology* 2010;151:3169-80.
- [123] Raybould H, Koelbel, C.B., Mayer, E.A., Taché, Y. Inhibition of gastric motor function by circulating corticotropin-releasing factor in anesthetized rats. *J Gastrointest Motil* 1990;2:265-72.
- [124] Sagar SM, Sharp FR, Curran T. Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science* 1988;240:1328-31.
- [125] Sakata I, Yamazaki M, Inoue K, Hayashi Y, Kangawa K, Sakai T. Growth hormone secretagogue receptor expression in the cells of the stomach-projected afferent nerve in the rat nodose ganglion. *Neurosci Lett* 2003;342:183-6.

- [126] Sakata I, Yang J, Lee CE, Osborne-Lawrence S, Rovinsky SA, Elmquist JK, et al. Colocalization of ghrelin O-acyltransferase and ghrelin in gastric mucosal cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;297:E134-41.
- [127] Salome N, Haage D, Perrissoud D, Moulin A, Demange L, Egecioglu E, et al. Anorexigenic and electrophysiological actions of novel ghrelin receptor (GHS-R1A) antagonists in rats. *Eur J Pharmacol* 2009;612:167-73.
- [128] Satou M, Nishi Y, Yoh J, Hattori Y, Sugimoto H. Identification and characterization of acyl-protein thioesterase 1/lysophospholipase I as a ghrelin deacylation/lysophospholipid hydrolyzing enzyme in fetal bovine serum and conditioned medium. *Endocrinology* 2010;151:4765-75.
- [129] Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. Lean Mean Fat Reducing "Ghrelin" Machine: Hypothalamic Ghrelin and Ghrelin Receptors as Therapeutic Targets in Obesity. *Neuropharmacology* 2010;58:2-16.
- [130] Shafton AD, Sanger GJ, Witherington J, Brown JD, Muir A, Butler S, et al. Oral administration of a centrally acting ghrelin receptor agonist to conscious rats triggers defecation. *Neurogastroenterol Motil* 2009;21:71-7.
- [131] Sheldon RJ, Qi JA, Porreca F, Fisher LA. Gastrointestinal motor effects of corticotropin-releasing factor in mice. *Regul Pept* 1990;28:137-51.
- [132] Shimada M, Date Y, Mondal MS, Toshinai K, Shimbara T, Fukunaga K, et al. Somatostatin suppresses ghrelin secretion from the rat stomach. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;302:520-5.
- [133] Shimizu H, Oh-I S, Hashimoto K, Nakata M, Yamamoto S, Yoshida N, et al. Peripheral Administration of Nesfatin-1 Reduces Food Intake in Mice: The leptin-independent mechanism. *Endocrinology* 2009;150:662-71.
- [134] Shimizu H, Ohsaki A, Oh IS, Okada S, Mori M. A new anorexigenic protein, nesfatin-1. *Peptides* 2009;30:995-8.
- [135] Shrestha YB, Wickwire K, Giraudo SQ. Direct effects of nutrients, acetylcholine, CCK, and insulin on ghrelin release from the isolated stomachs of rats. *Peptides* 2009;30:1187-91.
- [136] Sibilia V, Lattuada N, Rapetti D, Pagani F, Vincenza D, Bulgarelli I, et al. Ghrelin inhibits inflammatory pain in rats: involvement of the opioid system. *Neuropharmacology* 2006;51:497-505.
- [137] Silva AP, Bethmann K, Raulf F, Schmid HA. Regulation of ghrelin secretion by somatostatin analogs in rats. *Eur J Endocrinol* 2005;152:887-94.
- [138] Stengel A, Goebel-Stengel M, Wang L, Larauche M, Rivier J, Taché Y. Central somatostatin receptor 1 activation reverses acute stress-related alterations of gastric and colonic motor function in mice. *Neurogastroenterol Motil* 2011;23:e223-36.



- [139] Stengel A, Goebel M, Luckey A, Yuan PQ, Wang L, Taché Y. Cold ambient temperature reverses abdominal surgery-induced delayed gastric emptying and decreased plasma ghrelin levels in rats. *Peptides* 2010;31:2229-35.
- [140] Stengel A, Goebel M, Taché Y. Nesfatin-1: a novel inhibitory regulator of food intake and body weight. *Obes Rev* 2011;12:267-71.
- [141] Stengel A, Goebel M, Wang L, Rivier J, Kobelt P, Mönnikes H, et al. Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor<sub>2</sub> receptor. *Endocrinology* 2009;150:4911-9.
- [142] Stengel A, Goebel M, Wang L, Taché Y. Abdominal surgery activates nesfatin-1 immunoreactive brain nuclei in rats. *Peptides* 2010;31:263-70.
- [143] Stengel A, Goebel M, Wang L, Taché Y, Sachs G, Lambrecht NW. Differential distribution of ghrelin-O-acyltransferase (GOAT) immunoreactive cells in the mouse and rat gastric oxyntic mucosa. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;392:67-71.
- [144] Stengel A, Goebel M, Yakubov I, Wang L, Witcher D, Coskun T, et al. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology* 2009;150:232-8.
- [145] Stengel A, Goebel-Stengel M, Wang L, Luckey A, Hu E, Rivier J, et al. Central administration of pansomatostatin agonist ODT-8 prevents abdominal surgery-induced inhibition of circulating ghrelin, food intake and gastric emptying. *Neurogastroenterol Motil* 2011;23:e294-308.
- [146] Stengel A, Goebel M, Wang L, Shaikh A, Lambrecht NW, et al. Abdominal surgery inhibits circulating acyl ghrelin and ghrelin-O-acyltransferase levels in rats: role of the somatostatin receptor 2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011;301:G239-48.
- [147] Stengel A, Keire D, Goebel M, Evilevitch L, Wiggins B, Taché Y, et al. The RAPID method for blood processing yields new insight in plasma concentrations and molecular forms of circulating gut peptides. *Endocrinology* 2009;150:5113-8.
- [148] Stengel A, Taché Y. Neuroendocrine Control of the Gut During Stress: Corticotropin-Releasing Factor Signaling Pathways in the Spotlight. *Annu Rev Physiol* 2009;71:219-39.
- [149] Sun Y, Wang P, Zheng H, Smith RG. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:4679-84.
- [150] Taché Y, Barquist E, Stephens RL, Rivier J. Abdominal surgery- and trephination-induced delay in gastric emptying is prevented by intracisternal injection of CRF antagonist in the rat. *J Gastrointest Motil* 1991;3:19-25.

- [151] Taché Y, Maeda-Hagiwara M, Turkelson CM. Central nervous system action of corticotropin-releasing factor to inhibit gastric emptying in rats. *Am J Physiol* 1987;253:G241-5.
- [152] Taché Y, Yang H, Miampamba M, Martinez V, Yuan PQ. Role of brainstem TRH/TRH-R1 receptors in the vagal gastric cholinergic response to various stimuli including sham-feeding. *Auton Neurosci* 2006;125:42-52.
- [153] Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Delporte C, Coulie B, Meulemans A, et al. Influence of ghrelin on interdigestive gastrointestinal motility in humans. *Gut* 2006;55:327-33.
- [154] Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Verbeke K, Janssens J, Peeters T. Influence of ghrelin on gastric emptying and meal-related symptoms in idiopathic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:847-53.
- [155] Taheri S, Sunter D, Dakin C, Moyes S, Seal L, Gardiner J, et al. Diurnal variation in orexin A immunoreactivity and prepro-orexin mRNA in the rat central nervous system. *Neurosci Lett* 2000;279:109-12.
- [156] Taniguchi H, Ariga H, Zheng J, Ludwig K, Mantyh C, Pappas TN, et al. Endogenous ghrelin and 5-HT regulate interdigestive gastrointestinal contractions in conscious rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295:G403-11.
- [157] Taniguchi H, Ariga H, Zheng J, Ludwig K, Takahashi T. Effects of ghrelin on interdigestive contractions of the rat gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2008;14:6299-302.
- [158] Tebbe JJ, Tebbe CG, Mrona S, Ritter M, Schafer MK. Central neuropeptide Y receptors are involved in 3rd ventricular ghrelin induced alteration of colonic transit time in conscious fed rats. *BMC Gastroenterol* 2005;5:5.
- [159] The FO, de Jonge WJ, Bennink RJ, van den Wijngaard RM, Boeckxstaens GE. The ICAM-1 antisense oligonucleotide ISIS-3082 prevents the development of postoperative ileus in mice. *Br J Pharmacol* 2005;146:252-8.
- [160] Trudel L, Tomasetto C, Rio MC, Bouin M, Plourde V, Eberling P, et al. Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:G948-52.
- [161] Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000;407:908-13.
- [162] Tsuchiya T, Shimizu H, Yamada M, Osaki A, Oh IS, Ariyama Y, et al. Fasting Concentrations of Nesfatin-1 Are Negatively Correlated with Body Mass Index in Non-Obese Males. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;73:484-90.
- [163] Tumer C, Oflazoglu HD, Obay BD, Kelle M, Tasdemir E. Effect of ghrelin on gastric myoelectric activity and gastric emptying in rats. *Regul Pept* 2008;146:26-32.

- [164] Venkova K, Fraser G, Hoveyda HR, Greenwood-Van Meerveld B. Prokinetic effects of a new ghrelin receptor agonist TZP-101 in a rat model of postoperative ileus. *Dig Dis Sci* 2007;52:2241-8.
- [165] Wang L, Basa NR, Shaikh A, Luckey A, Heber D, St-Pierre DH, et al. LPS inhibits fasted plasma ghrelin levels in rats: role of IL-1 and PGs and functional implications. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;291:G611-20.
- [166] Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, et al. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000;141:4325-8.
- [167] Xu B, Kalra PS, Farmerie WG, Kalra SP. Daily changes in hypothalamic gene expression of neuropeptide Y, galanin, proopiomelanocortin, and adipocyte leptin gene expression and secretion: effects of food restriction. *Endocrinology* 1999;140:2868-75.
- [168] Xu L, Depoortere I, Tomasetto C, Zandecki M, Tang M, Timmermans JP, et al. Evidence for the presence of motilin, ghrelin, and the motilin and ghrelin receptor in neurons of the myenteric plexus. *Regul Pept* 2005;124:119-25.
- [169] Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell* 2008;132:387-96.
- [170] Yin J, Chen J. Inhibitory effects of gastric electrical stimulation on ghrelin-induced excitatory effects on gastric motility and food intake in dogs. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:903-9.
- [171] Yosten GL, Samson WK. The anorexigenic and hypertensive effects of nesfatin-1 are reversed by pretreatment with an oxytocin receptor antagonist. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;298:R1642-7.
- [172] Yosten GL, Samson WK. Nesfatin-1 exerts cardiovascular actions in brain: possible interaction with the central melanocortin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;297:R330-6.
- [173] Zegers D, Beckers S, Mertens IL, Van Gaal LF, Van Hul W. Association between polymorphisms of the Nesfatin gene, NUCB2, and obesity in men. *Mol Genet Metab* 2011;103:282-6.
- [174] Zeinali F, Stulberg JJ, Delaney CP. Pharmacological management of postoperative ileus. *Can J Surg* 2009;52:153-7.
- [175] Zheng J, Ariga H, Taniguchi H, Ludwig K, Takahashi T. Ghrelin regulates gastric phase III-like contractions in freely moving conscious mice. *Neurogastroenterol Motil* 2009;21:78-84.
- [176] Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J Comp Neurol* 2006;494:528-48.

- [177] Zigman JM, Nakano Y, Coppari R, Balthasar N, Marcus JN, Lee CE, et al. Mice lacking ghrelin receptors resist the development of diet-induced obesity. *J Clin Invest* 2005;115:3564-72.
- [178] Zittel TT, Lloyd KC, Rothenhofer I, Wong H, Walsh JH, Raybould HE. Calcitonin gene-related peptide and spinal afferents partly mediate postoperative colonic ileus in the rat. *Surgery* 1998;123:518-27.

## 6. DANKSAGUNG

Bei Prof. Dr. Dr. h.c. Yvette Taché, Direktorin des Animal Core von CURE: Digestive Diseases Research Center und Ko-Direktorin des Centers for Neurobiology of Stress & Women's Health in Los Angeles, USA, bedanke ich mich herzlich für die außerordentliche Unterstützung und Förderung während meiner Zeit als PostDoc in Los Angeles.

Für die konstante Unterstützung meiner wissenschaftlichen wie klinischen Laufbahn möchte ich Prof. Dr. Burghard F. Klapp, Direktor der Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik der Charité-Universitätsmedizin Berlin, herzlich danken.

Bei meinem Doktorvater und Mentor Prof. Dr. Dipl.-Psych. Hubert Mönnikes, Chefarzt der Klinik für Innere Medizin des Martin-Luther-Krankenhauses Berlin und Direktor des Instituts für Neurogastroenterologie möchte ich mich für die mir nunmehr seit vielen Jahren zuteilwerdende Unterstützung bedanken.

Herrn Prof. Dr. Bertram Wiedenmann, Direktor der Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie & des Interdisziplinären Stoffwechsel-Centrums der Charité-Universitätsmedizin Berlin, danke ich für die Förderung meiner klinisch-wissenschaftlichen Laufbahn und anregende wissenschaftliche Diskussionen.

Bei Dr. Peter Kobelt, wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik der Charité-Universitätsmedizin Berlin und mein ehemaliger Laborbetreuer und nun geschätzter Kollege und Freund, möchte ich mich für die vielen anregenden wissenschaftlichen Diskussionen und fruchtbaren Kollaborationen bedanken.

Dr. Lixin Wang, wissenschaftliche Mitarbeiterin des Animal Core von CURE: Digestive Diseases Research Center, Los Angeles, danke ich für das Vermitteln zahlreicher Labortechniken sowie für die vielen sich daran anschließenden ertragreichen Kollaborationen.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Frau Dr. Miriam Goebel-Stengel für die unerschöpfliche und selbstlose Unterstützung danken, welche immer mit der größten Geduld und wie selbstverständlich gegeben wurden.

## 7. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

§ 4 Abs. 3 (k) der HabMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden und
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

29.07.2011

.....

Datum

.....

Dr. med. Andreas Stengel