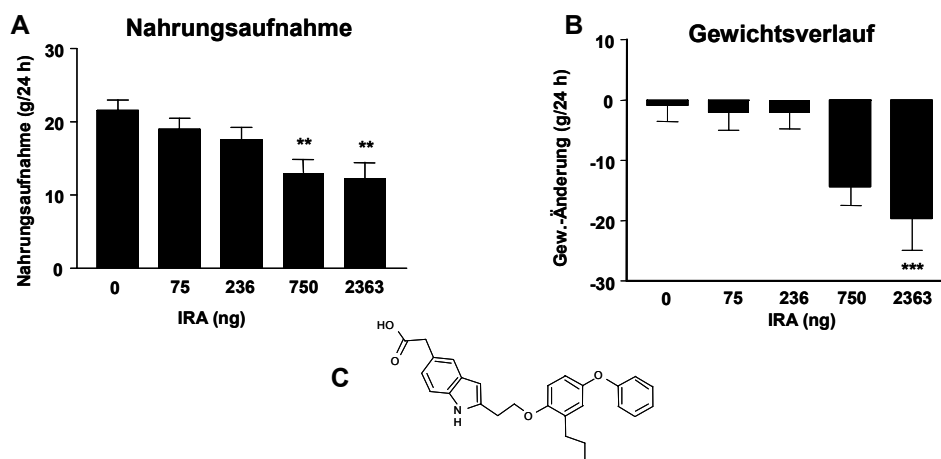


### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Wirkungen von Insulinrezeptor-Aktivatoren bei der Adipositas und beim Diabetes mellitus Typ 2

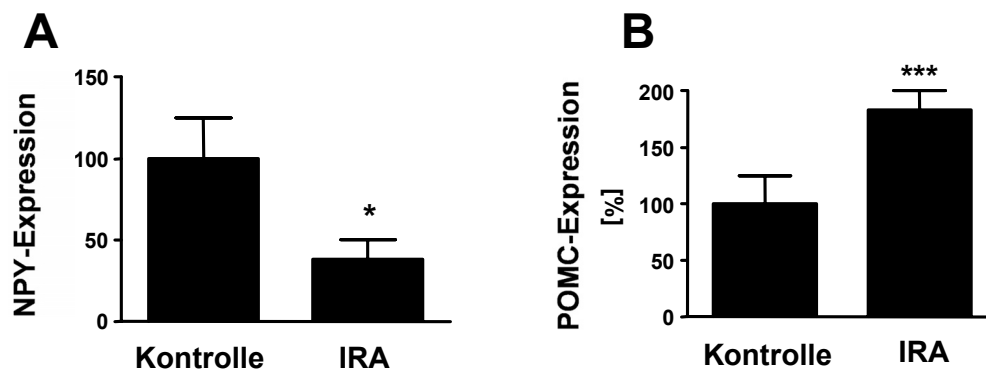
Den normalgewichtigen sowie adipösen Tieren wurden IRA sowohl zentral als auch systemisch (oral) verabreicht und die Effekte auf die Nahrungsaufnahme und das Körpergewicht charakterisiert (62). Intrazerebrale Applikation der IRA führte ähnlich wie Insulin zu einer verminderten Nahrungsaufnahme und zur Reduktion des Körpergewichts (Abb. 1).



**Abb. 1:** Dosis-Wirkungseffekte eines intrazerebral applizierten Insulinrezeptor-Aktivators auf die 24-h Nahrungsaufnahme (A) und Gewichtsverlauf (B). Chemische Struktur des Insulinrezeptor-Aktivators (C). Diese Substanz entspricht einem chemisch modifizierten fungalen Extrakt aus *Pseudomassaria* sp. Die vollständige chemische Bezeichnung lautet 2,5-Dihydroxy-6-(1-methylindol-3-yl)-3-phenyl-1,4-benzoquinone.

Um die zugrunde liegenden Mechanismen zu charakterisieren, wurden die Effekte der zentral applizierten IRA auf die Expression von Proopiomelanocortin (POMC) und Neuropeptid Y (NPY) untersucht. Diese hypothalamischen Peptide spielen eine wichtige Rolle für die Regulation der Nahrungsaufnahme. Physiologisch kommt es im Nüchternzustand zur Suppression von POMC und gesteigerter Expression des NPY. In der Folge nehmen die Tiere Nahrung zu sich. Postprandial ist die Expression des

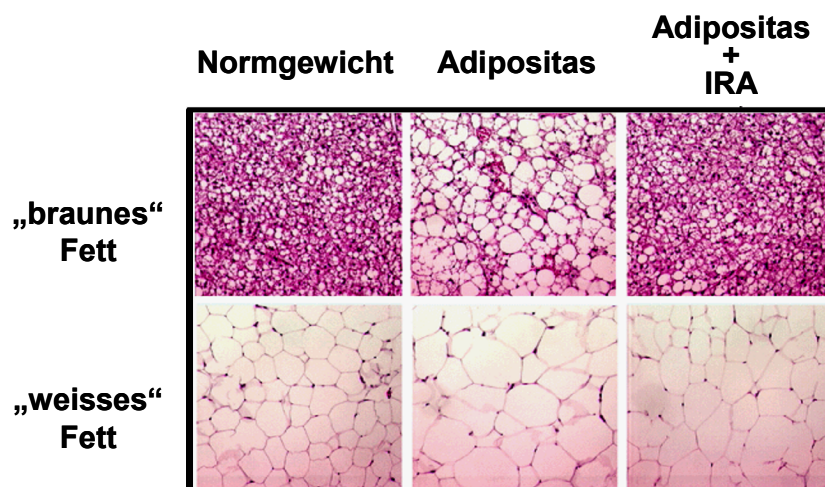
orexigen wirkenden NPY vermindert und des anorexigen wirkenden POMC erhöht. IRA induzierte die Expression des POMC und hemmte die NPY-Expression (62). Diese Daten sprechen dafür, dass IRA über NPY- und POMC-abhängige Mechanismen zur Suppression der Nahrungsaufnahme mit nachfolgender Reduktion des Körpergewichts führen.



**Abb. 2:** Wirkungen des intrazerebral applizierten Insulinrezeptor-Aktivators (IRA) auf die Expression des Neuropeptid-Y (NPY) (A) und Proopiomelanocortins (POMC) (B) im Hypothalamus der Ratten. Dargestellt sind die mRNA-Spiegel, die mittels einer quantitativer *real-time* RT-PCR gemessen worden sind.

Da intoxikierte/krankte Tiere weniger Nahrung zu sich nehmen und daher Gewicht verlieren wurde untersucht, ob die anorexigene Wirkung der IRA durch unspezifische, toxische Wirkungen entstehen. In zwei zu diesem Zweck durchgeführten unabhängigen Tests (konditioniertes Geschmacksaversionstest und Geophagie-Test) konnten unspezifische, toxische Effekte der IRA ausgeschlossen werden (62).

In einer weiteren Versuchsreihe wurden Mäuse mit einer hochkalorischen, fettreichen Nahrung mit Zusatz von IRA *ad libitum* gefüttert (62). Fettreiche Diät ohne Zusatz von IRA führte zu einer deutlichen Zunahme des Körpergewichts im Vergleich zur Standarddiät. Durch Zusatz von IRA wurde die Diät-induzierte Körpergewichtszunahme vollständig verhindert. Histologisch zeigte sich, dass das Verabreichen fettreicher Diät zur Hypertrophie der Adipozyten und Umwandlung des braunen in das metabolisch weniger aktive, weiße Fettgewebe führte (Abb. 3). Tiere, die fettreiche Diät mit Zusatz von IRA erhielten, hatten Fettgewebsmasse, die mit der der normokalorisch ernährten Kontrolltiere vergleichbar war. Dies galt sowohl für das „weiße“ als auch das „braune“ Fettdepot (Abb. 3).



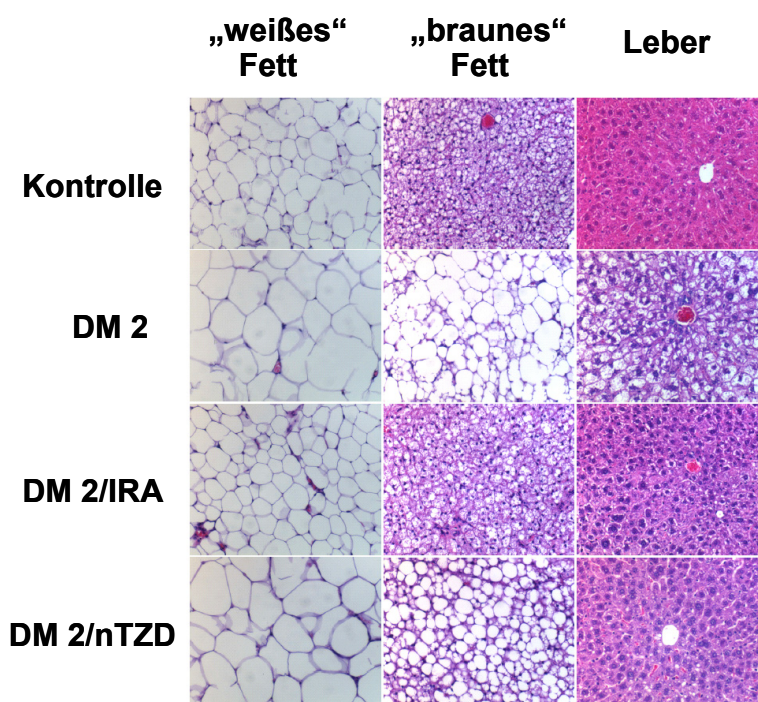
**Abb. 3: Wirkungen des Insulinrezeptor-Aktivators (IRA) auf die Morphologie des weißen (Viszeralfett) und des braunen (interskapulären) Fettgewebes in Tieren mit Diät-induzierter Adipositas nach einer 3-wöchigen Therapie. Dargestellt sind repräsentative HE-Paraffinschnitte (200-fache Vergrößerung im Lichtmikroskop). Kontrolltiere wurden mit einer Standarddiät gefüttert.**

Die Wirkungen der IRA wurden im Mausmodell (Diät-induzierte Adipositas) des übergewichtigen Diabetes mellitus Typ 2 untersucht (63). Zunächst wurde durch Zufuhr hochkalorischer Diät eine periphere Insulinresistenz mit kompensatorischer Hyperinsulinämie induziert. Die Insulinmehrsekretion wurde dann durch die Applikation von Streptozotocin (NB: Streptozotocin zerstört eine Fraktion pankreatischer B-Zellen) unterdrückt. Einer weiteren Gruppe wurde zum Vergleich ein niedermolekularer, oral bioverfügbarer *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPARgamma) Agonist (non-thiazolidinedione, nTZD), welcher mit fettreicher Diät vermischt war, verabreicht. Es ist bekannt, dass PPARgamma-Agonisten die Differenzierung und Proliferation von Adipozyten *in vivo* und *in vitro* fördern und adipogen wirken.

Unbehandelte Tiere, die mit fettreicher Diät ernährt wurden und STZ erhielten zeigten eine Gewichtszunahme im Vergleich zu normokalorisch ernährter gesunder Kontrollgruppe. In der unbehandelten Gruppe kam es zur Hypertrophie des weißen und des braunen Fettgewebes und Fettakkumulation in den Hepatozyten. IRA wirkten anorexigen und antiadipogen im diesem Mausmodell des Diabetes mellitus Typ 2 (63).

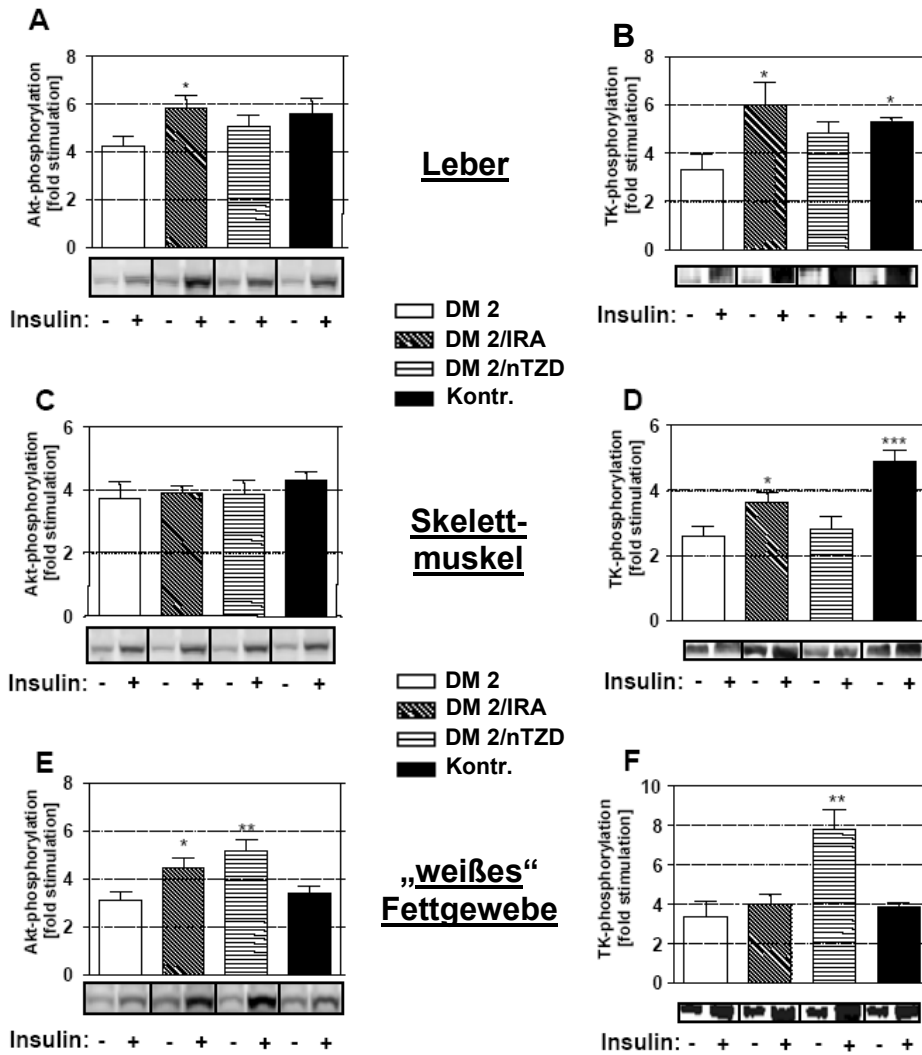
Die Diät-induzierte Hypertrophie des weißen und des braunen Fettgewebes war in der IRA-Gruppe reduziert und die Verfettung der Hepatozyten wurde vollständig unterdrückt. Die Insulinsensitivität der IRA-behandelten Tiere war im Vergleich zu den unbehandelten Tieren verbessert und die Plasmakonzentration von Leptin, Triglyzeriden und unveresterten Fettsäuren vermindert (63). Vergleichbare Effekte wurden bei den nTZD-behandelten Tieren beobachtet, jedoch im Gegensatz zu IRA-Gruppe, wiesen die Tiere der nTZD Gruppe eine größere Fettgewebsmasse auf (63).

Zusammenfassend, spielt die Reduktion der Fettgewebsakkumulation eine der Grundlagen der IRA-induzierter Verbesserung der diabetogenen Stoffwechsellage, während die antidiabetogene Wirksamkeit des nTZD auf andere Mechanismen zurück zu führen ist.



**Abb. 4:** Wirkungen eines niedermolekularen Insulinrezeptor-Aktivators (IRA) und eines PPAR-gamma Agonisten (nTZD) auf die Morphologie des weißen (Viszeralfett), braunen (interskapulären) Fettgewebes und der Leber in Tieren mit Diabetes mellitus Typ 2 nach einer 3-wöchigen Therapie. Dargestellt sind repräsentative HE-Paraffinschnitte (200-fache Vergrößerung im Lichtmikroskop). Kontrolle: nichtdiabetische, normgewichtige Mäuse, DM 2: Tiere mit dem Diabetes mellitus Typ 2.

Um die Mechanismen, die der verbesserten Insulinsensitivität in den IRA- und nTZD-behandelten Tieren zugrunde liegen, zu erfassen, wurde die Aktivität von zwei Schlüsselenzymen [Insulinrezeptor-Tyrosinkinase (IRTK), Proteinkinase-B (AKT)] der Insulinrezeptorabhängigen Signal-Transduktionskaskade gemessen (Abb. 5). Dazu wurde den Tieren am Ende der 4-wöchigen Therapie Insulin (gewichtsadaptierte Dosierung) verabreicht und aus den anschließend entnommenen Geweben (weißes Fettgewebe, Leber und Skelettmuskel) die Insulin-induzierte Phosphorylierung der IRTK und AKT (i. e. Stimulierbarkeit beider Enzyme durch exogenes Insulin) gemessen (Abb. 5). Dabei ist das Ausmaß der Phosphorylierung der IRTK und AKT proportional zur Insulinsensitivität. Therapie mit IRA und nTZD potenzierte gewebspezifisch die Insulin-induzierbare Phosphorylierung der IRTK und der AKT (63) (Abb. 5).



**Abb. 5:** Effekte einer 3-wöchigen Therapie der Mäuse mit Diabetes mellitus Typ 2 mit einem Insulinrezeptor-Aktivator und einem PPARgamma Agonisten (nTZD) auf die Insulin-abhängige Potenzierung der Proteinkinase-B- (Akt) und der Insulinrezeptor-Tyrosinkinase- (IRTK) Phosphorylierung in Hepatozyten, im Skelettmuskel und im weißem Fettgewebe. Dargestellt sind die Ergebnisse von Western-blots. Die Banden zeigen repräsentative Signale der Western-blots, die Balkendiagramme stellen die statistische Auswertung ( $\pm$  SEM) der Western-blot Signale aus n = 8 Tieren pro Gruppe.

Zusammenfassend, zeichnen sich IRA im Vergleich zu Insulin dadurch aus, dass sie sowohl bei Adipositas als auch beim Diabetes mellitus Typ 2 anorexigen und antiadipogen wirken. Neben den peripheren Effekten, wie z. B. Induktion der Insulin-abhängige Signal-

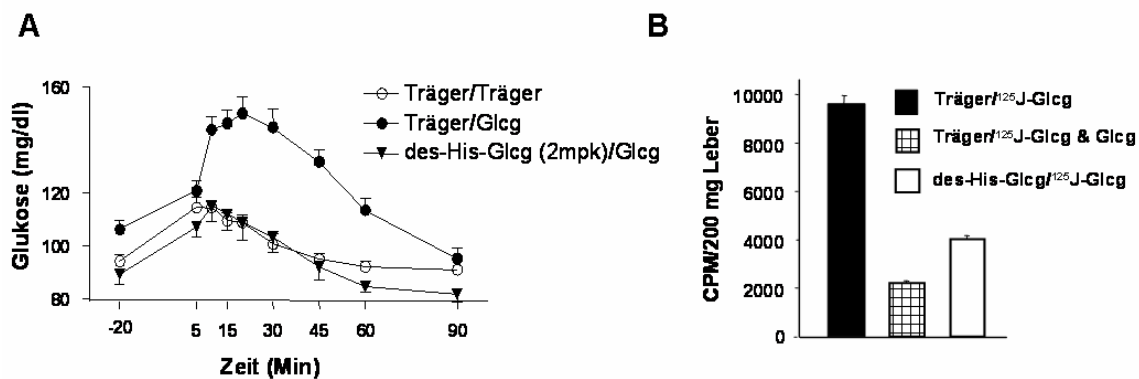
Transduktionskaskade des Muskels und der Leber, regulieren IRA die Expression von Neuropeptiden im zentralen Nervensystem, die eine wichtige Rolle für die Nahrungsaufnahme spielen. Insgesamt erweist sich die gute orale Bio-Verfügbarkeit der IRA als ein wesentlicher Vorteil im Vergleich zu Insulin, das parenteral gegeben werden muss. Darüber hinaus kann die orale Bio-Verfügbarkeit hypothetisch zu einer Verbesserung der Compliance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 führen. Aktuell werden die Substanzen dieser Klasse in höheren Spezies (Hunde/Affen) getestet, die Ergebnisse hierzu stehen noch aus.

### 3.2 Charakterisierung der *in vivo* Effekte von Glukagonrezeptor-Antagonisten in Mausmodellen des Diabetes mellitus Typ 2

Die *in vivo* Interaktion von Glukagonrezeptor-Antagonisten mit den spezifischen Gewebsrezeptoren wurde in Mäusen mit einem „humanisierten“ Glukagonrezeptor untersucht (64). Die eingesetzten Glukagonrezeptor-Antagonisten weisen eine > 3-fach höhere Affinität zum humanen Rezeptor auf, daher wurde in diesen Tieren der endogene, murine Glukagonrezeptor durch die humane Form des Rezeptors ersetzt (65). Die Applikation von Glukagon ( $15 \text{ ng} \times \text{kg}^{-1} \text{ KG}$ , i.p.) führte zum Anstieg der Blutglukosekonzentration. Im Gegensatz dazu verhinderte die Ko-Applikation eines peptidergen Glukagonrezeptor-Antagonisten, *des-His-glucagon* ( $2 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1} \text{ KG}$ , i.p.), den Anstieg der Blutglukose (Fig. 6 A). Ein oral bioverfügbarer, niedermolekularer Glukagonrezeptor-Antagonist (Compound A, Cpd A, Dosierungen:  $10$  und  $30 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1} \text{ KG}$ , p.o.) reduzierte den Glukagon-induzierten Anstieg der Blutglukosekonzentration um >50% (Fig. 7 A).

Glukagonrezeptoren werden hauptsächlich in der Leber exprimiert. Sie kommen jedoch auch in anderen Geweben vor (66;67). Die Interaktion des Glukagons mit extrahepatischen Rezeptoren interagiert und die physiologische Bedeutung ist noch nicht geklärt. Daher wurden *in vivo* Untersuchungen zur Visualisierung der Bindung des Glukagons an die spezifischen Gewebsrezeptoren durchgeführt. Den Tieren wurde radioaktiv markiertes [ $^{125}\text{I}$ ]Glukagon verabreicht, welcher sich in den Hepatozyten anreicherte. Ko-Applikation des nichtradioaktiven Glukagons resultierte in einer Verdrängung des Radioliganden von der spezifischen Bindung an die korrespondierenden Rezeptoren (Fig. 7 C, D). Nach Entnahme von Leber, Niere, Hirn, Testes, Fettgewebe, Milz, Herz, Skelettmuskel wurde die gewebsgebundene Radioaktivität quantifiziert.

Milz, Herz, Skelettmuskel wurde die gewebsgebundene Radioaktivität quantifiziert. Hierbei zeigte sich, dass Glukagon nahezu ausschließlich an die hepatischen Rezeptoren und - in einer sehr geringeren Quantität - an die Glukagonrezeptoren der Nieren band (Fig. 7 C, D). Die Interaktion von Glukagonrezeptor-Antagonisten mit den Rezeptoren wurde ebenfalls visualisiert. Hierbei zeigte sich, dass *des-His-glucagon* 35 min nach Applikation zu 78% an die hepatischen Glukagonrezeptoren band (Fig. 6 B), vereinbar mit der Tatsache, dass Hepatozyten die höchste Dichte von Glukagonrezeptoren aufweisen. Der nichtpeptiderge Glukagonrezeptor-Antagonist verdrängte dosisabhängig [<sup>125</sup>I]Glukagon (39%, 65% and 70%) vom hepatischen Glukagonrezeptor (Fig. 7 B).



**Abb. 6:** Effekte des peptidergen Glukagonrezeptor-Antagonisten (*des-His-glucagon*) auf die Glukagon (GCG)-induzierte Hyperglykämie (A). Mäusen mit humanisiertem Glukagonrezeptor wurde Glukagon oder Glukagon zusammen mit dem Antagonisten verabreicht und die Blutglukosekonzentrationen wurden ermittelt. Visualisierung der *in vivo* Bindung von *des-His-glucagon* an die hepatischen Glukagonrezeptoren (B). Mäusen wurde Glukagon oder Glukagon zusammen mit dem Antagonisten verabreicht und das Ausmaß der Verdrängung des radioaktiv markierten Glukagons vom Rezeptor (restliche Radioaktivität der Leber) wurde nach Entnahme der Leber quantifiziert.

Zusammenfassend konnten die Studien den *in vivo* Nachweis erbringen, dass Glukagon nahezu ausschließlich mit den hepatischen Rezeptoren interagiert und dass die Verminderung der Hyperglykämie durch Applikation von Glukagonrezeptor-Antagonisten



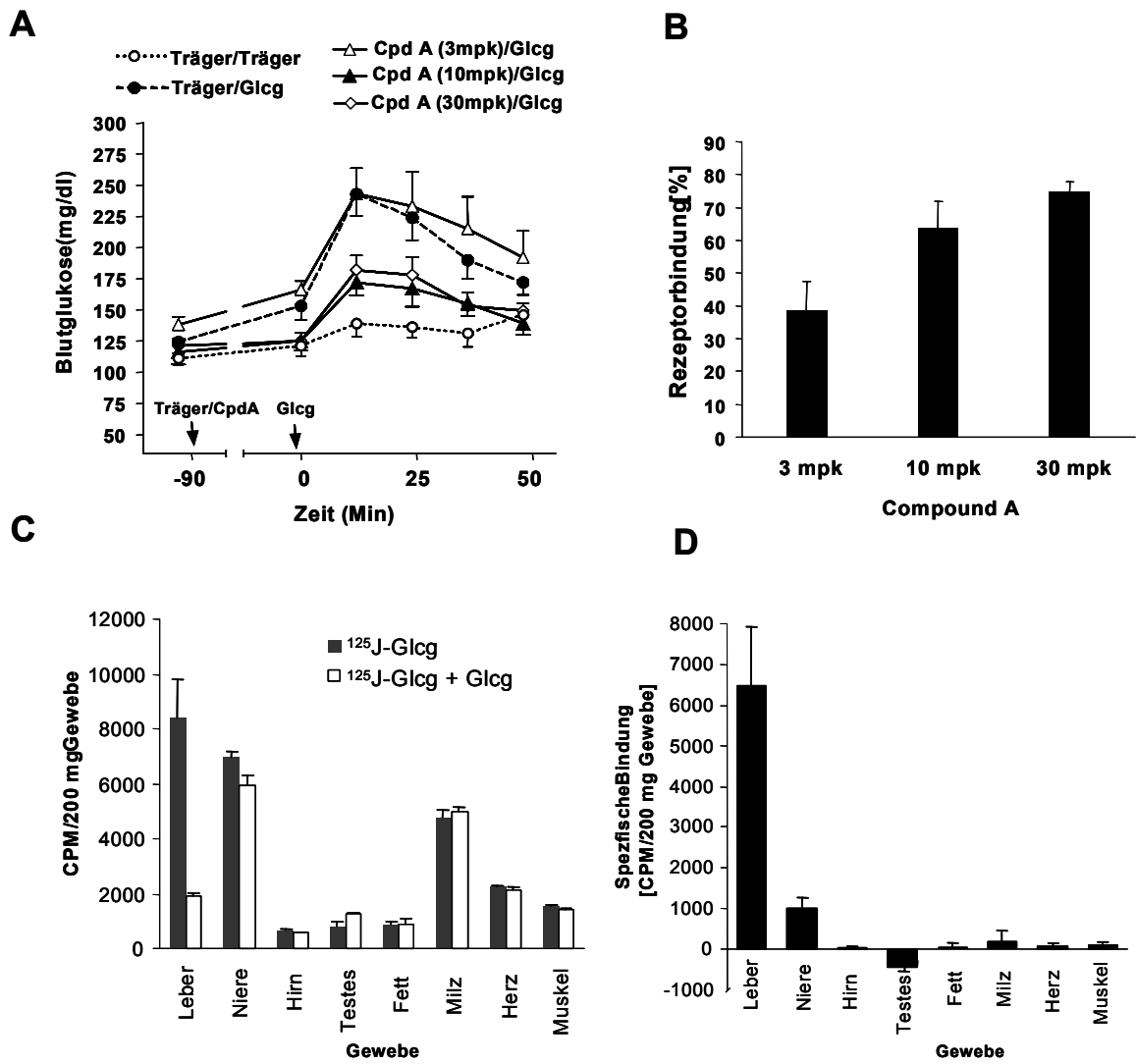


Abb. 7: Effekte des oral verfügbaren niedermolekularen Glukagonrezeptor-Antagonisten (Compound A) auf die Glukagon (GCG)-induzierte Hyperglykämie (A). Mäusen mit humanisiertem Glukagonrezeptor wurde Glukagon mit und ohne Compound A verabreicht und die Blutglukosekonzentrationen wurden gemessen. Visualisierung der *in vivo* Bindung des Compound A an die hepatischen Glukagonrezeptoren (B). Nach Applikation des Compound A wurde den Mäusen die Leber entnommen und die Menge des gebundenen Compound A spektrophotometrisch quantifiziert. Visualisierung der gesamten (C) und der spezifischen Bindung (D) des radioaktiv markierten Glukagons an unterschiedlichen Geweben.

### 3.3 Effekte Somatostatinrezeptor-Subtyp-selektiver Agonisten bei Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2

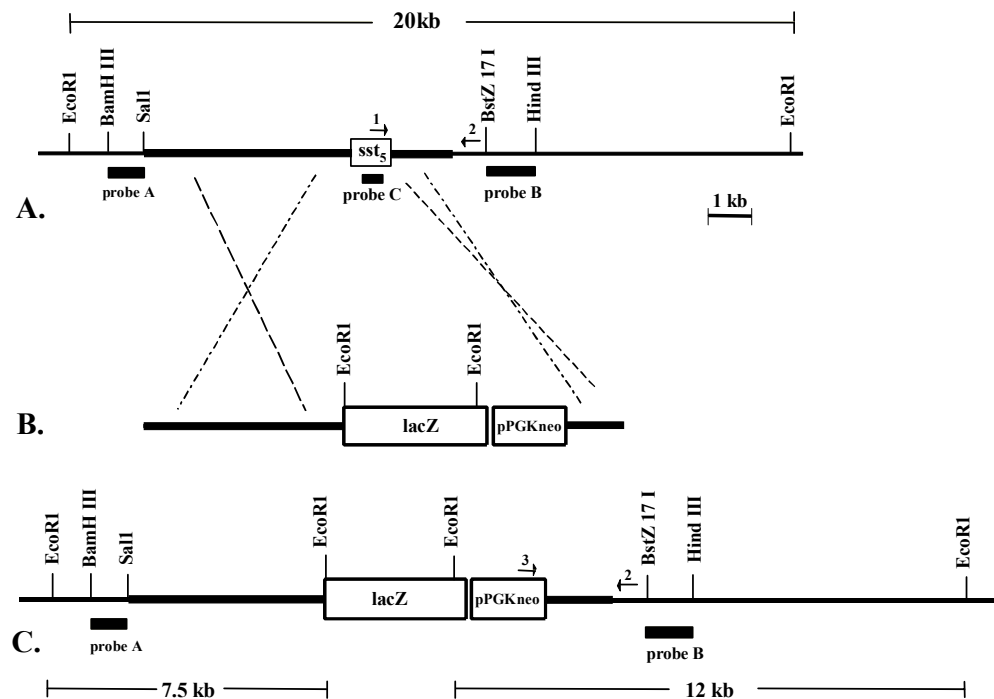
Die Bedeutung der Somatostatinrezeptor-Subtypen 5 und 2 für die Sekretion von Insulin und Glukagon und die Folge für den Glukosemetabolismus wurde an Mausmodellen mit Deletion des Somatostatinrezeptor-Subtyps 5 und 2 untersucht (60;61). Deletion des *sst5*-Gens führte nicht zu einer Beeinträchtigung des Glukosestoffwechsels. Im Vergleich zu Inseln, die aus den Wildtyp-Mäusen (*sst5*<sup>+/+</sup>) isoliert wurden, wiesen Inseln mit Deletion des *sst5*-Gens (*sst5*<sup>-/-</sup>) einen höheren Insulingehalt und eine gesteigerte basale sowie Glukose-stimulierte Insulinsekretionsrate auf. Somatostatin und ein *sst5*-selektiver Agonist hemmten wirksam die Insulinsekretion aus den *sst5*<sup>+/+</sup>-Inseln. Im Vergleich dazu waren die Effekte beider Agonisten in den *sst5*-gendifizienten Inseln nahezu aufgehoben.

Bemerkenswert ist, dass die Deletion des *sst5*-Gens keine Auswirkungen auf die Glukagonsekretion hatte. Die Ergebnisse weisen auf eine wichtige Rolle des *sst5* für die *in vitro* Hemmung der Insulinsekretion.

Da Insulin die Fettakkumulation begünstigt, *sst5* die Insulinsekretion hemmt, wurde untersucht, ob die Inaktivierung von *sst5* Auswirkungen auf die Insulinsekretion und oder -resistenz bei Diät-induzierter Adipositas hat.

*Sst5*-gendifiziente Mäuse, die phänotypisch im Wesentlichen mit den nichtmutierten Wildtyp-Mäusen vergleichbar sind, wiesen bereits unter einem ausgewogenen, normokalorischen Ernährungsregime verminderte Blutglukose- und Plasmainsulin-Konzentration im Vergleich zu Wildtyp-Tieren auf. Fettreiche Diät induzierte eine periphere Insulinresistenz in den Wildtyp-Mäusen. Im Vergleich hierzu trat die Insulinresistenz in den *sst5*-gendifizienten Tieren mit deutlicher Verzögerung auf. Das Körpergewicht der *sst5*<sup>-/-</sup>-Mäuse war reduziert und korrelierte mit der verminderten Fettgewebsmasse. Dieser Befund ist unter Berücksichtigung der physiologischen Zusammenhänge, insbesondere eigener *in vitro* Daten überraschend. Nach Deletion eines Insulin-supprimierenden Hormons wäre theoretisch eine Hyperinsulinämie zu erwarten. Warum die *sst5*-defizienten Tiere keine Hyperinsulinämie entwickelt haben, ist bisher noch nicht bekannt und Gegenstand der aktuellen Untersuchungen.

Zusammenfassend, spielt Insulin eine Bedeutung für die Entwicklung der Adipositas und Somatostatinrezeptor-Subtyp-5-selektive Liganden, die die Insulinsekretion modulieren können, stellen möglicherweise eine therapeutische Option der Adipositas dar.



**Abb. 8: Entwicklung und Identifikation von *sst5*-gendifizienten Mäusen. A. Wildtyp-*sst5* Mausgen. B. Deletionskonstrukt („targeting“ Vektor). Selektionsmarker: Neomycin-Resistenz-[PGKneobpA]-Gen, *lacZ*-[ $\beta$ -Galaktosidase]-Gen. C. Genlocus nach erfolgter homologer Rekombination. Probe A/B: Gensonden für Southern blots. Nummerierte Pfeile: PCR-Primer.**

Ähnlich wie bei den *sst5*-gendifizienten Mäusen, führte die Deletion des *sst2* Gens zu keinerlei phänotypischen Auffälligkeiten. Pankreasinseln, isoliert aus Mäusen mit Deletion des *sst2*-Gens, wiesen eine gesteigerte basale sowie Arginin-stimulierte Glukagonsekretion bei gleichzeitig erhöhtem Glukagongehalt auf (68). Somatostatin-14 hemmte konzentrationsabhängig die Glukagonsekretion aus den *sst2* (<sup>+/+</sup>)-Inseln, und zeigte keine Wirkung auf die Glukagonsekretion aus Inseln *sst2*-gendifizienter Mäuse (68). Der *sst2*-selektive Agonist (Compound 1) hemmte die Arginin-induzierte Glukagonsekretion aus den nichtmutierten Pankreasinseln, jedoch nicht aus den *sst2*-gendifizienten Inseln. *Sst1*-, *sst3*-, *sst4*- und *sst5*-selektive Agonisten beeinflussten die Glukagonsekretion nicht. Die Insulinsekretion wurde durch *sst1*-, *sst2*-, *sst3*- und *sst4*-selektive Agonisten nicht verändert.

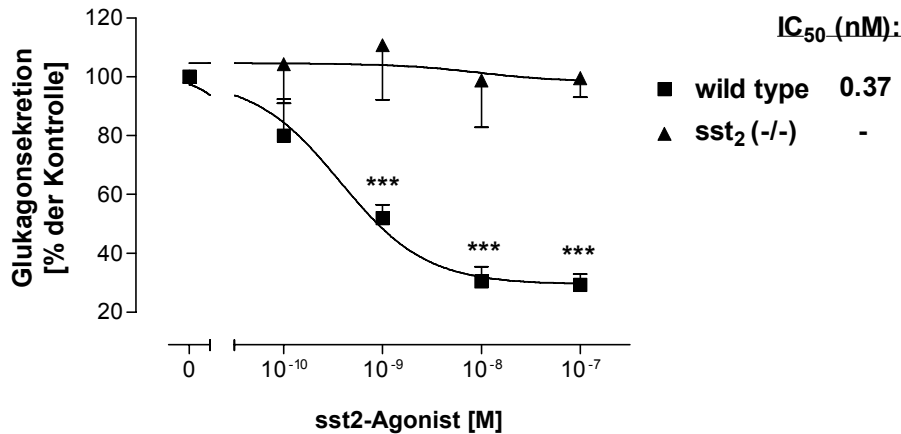


Abb. 9: Wirkungen eines sst2-selektiven Agonisten auf die Arginin-induzierte Glukagonsekretion aus isolierten Pankreasinseln, gewonnen aus sst2-gendefizienten (sst2<sup>-/-</sup>) Mäusen).

Da Glukagon-produzierende Zellen sst2 exprimieren wurde die Wirkung des sst2 auf die Glukosehomöostase und dessen potentielle Eignung zur Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 untersucht (Strowski et al., unpublizierte Daten). Im postprandialen Zustand verminderte der sst2-Agonist die Konzentration des zirkulierenden Glukagons in den Wildtyp-Tieren. Die Senkung der Glukagonkonzentration war mit der Reduktion der Hyperglykämie assoziiert. Es wurden keine statistisch signifikanten Effekte auf die Glukagon-, Insulin- oder Glukosekonzentration in den sst2-gendefizienten Tieren beobachtet. Im Nüchternzustand wurden keine Effekte beobachtet.

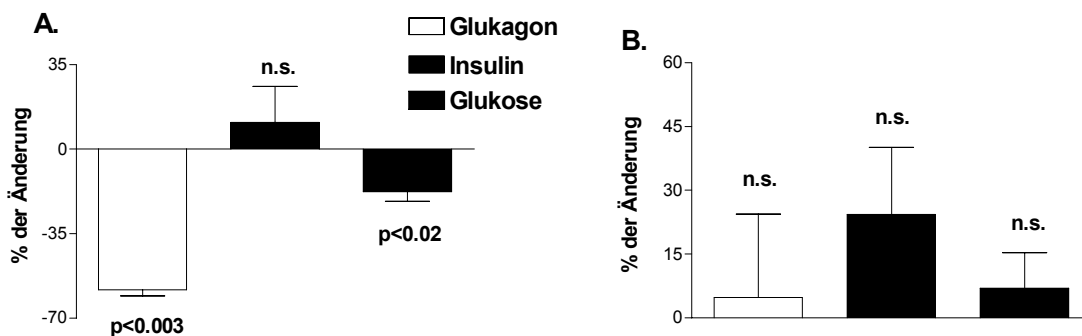
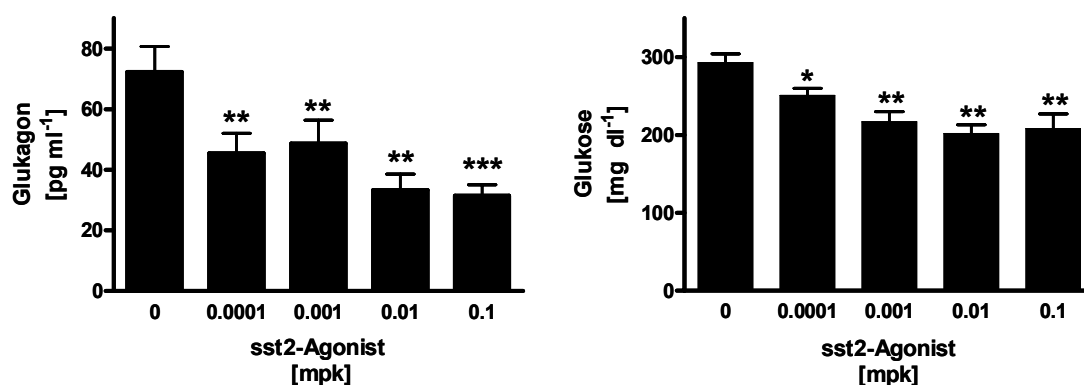


Abb. 10: Effekte des sst2 auf die postprandiale Plasmakonzentration von Glukagon, Insulin und Glukose in Wildtyp- (A) und in sst2<sup>-/-</sup> Mäusen (B). Die Daten sind dargestellt als

**Prozent der Änderung  $\pm$  SEM (n=6) im Vergleich zu Kontrolltieren des jeweiligen Genotyps, die eine Trägersubstanz erhielten.**

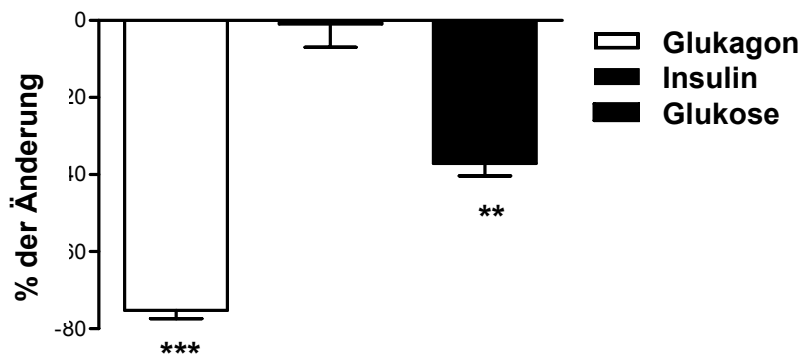
Da das Blutvolumen in den Mäusen limitiert ist, wurde die Dosis-Wirkungs-Beziehung in Ratten charakterisiert (Strowski et al, unpublizierte Daten). Intravenöse Applikation des sst2-selektiven Agonisten führte zu einer konzentrationsabhängigen Senkung der Glukagon- und Glukosekonzentration, während Insulin nahezu unverändert blieb. Ähnliche Effekte wurden auch nach einer oralen Applikation des Agonisten beobachtet.



**Abb. 11: Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen dem sst2-Agonisten und Glukagon-/Glukosekonzentration in *ad libitum* gefütterten Ratten 15 Min. nach der Injektion. Die Daten sind dargestellt als Prozent der Änderung  $\pm$  SEM (n=6) im Vergleich zu Kontrolltieren des jeweiligen Genotyps, die eine Trägersubstanz erhielten. mpk = mg per kg**

Zur Charakterisierung der Effekte auf die metabolischen Parameter des Diabetes mellitus Typ 2 wurden genetische Mausmodelle des Typ 2-Diabetes verwendet. Beide Mausmodelle (ob/ob = Defekt des Leptingens; db/db = Defekt des Leptinrezeptors) weisen mit Hyperglykämie, peripherer Insulinresistenz, Hyperglukagonämie und Adipositas charakteristische Merkmale des Diabetes mellitus Typ 2 auf. Sechs Wochen alte ob/ob-Mäuse, die mit einer einmaligen Dosis (0,01 mg x kg<sup>-1</sup> KG) des sst2-Agonisten behandelt wurden, zeigten einen Abfall der Glukagon- und Glukosekonzentration. Ähnliche Effekte wurden in den ob/ob Mäusen beobachtet, die insgesamt 4 Mal den sst2-Agonisten in Abstand von jeweils 1 Stunde erhielten. Ältere db/db-Mäuse (15 Wochen alt) wurden mit dem sst2-Agonisten behandelt und zeigten ebenfalls einen deutlichen Abfall des Plasmaglukagons und der Glukose. Vergleichbare Wirkungen wurden bei einer wiederholten Applikation (4 x täglich) des sst2-Agonisten beobachtet. Der sst2-Agonist

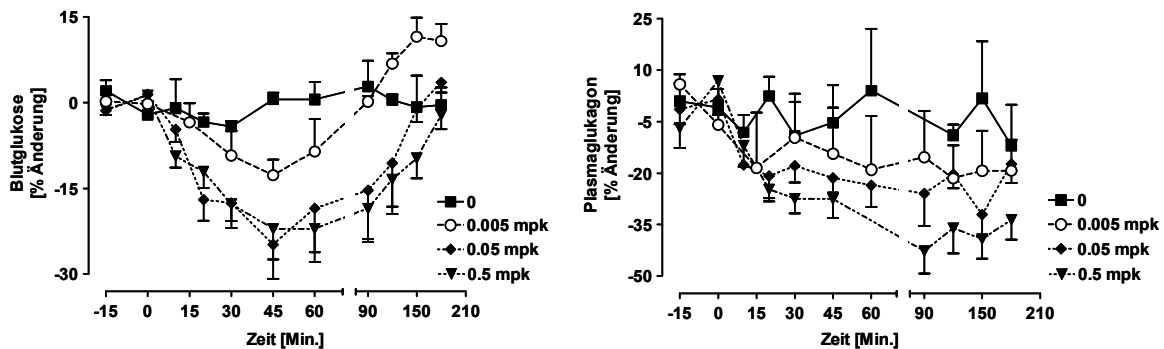
zeigte keine Wirkungen auf die Insulinsekretion in beiden Genotypen. Es wurden keine Effekte auf Glukagon-, Glukose- oder Insulinkonzentration im Nüchternzustand beobachtet.



**Abb. 12: Effekte eines sst2-selektiven Agonisten auf die postprandiale Plasmakonzentration von Glukagon, Insulin und Glukose im Mausmodell des Diabetes mellitus Typ 2 (ob/ob). Daten sind dargestellt in Prozent der Änderung im Vergleich zu Mäusen, die eine Trägersubstanz erhielten.**

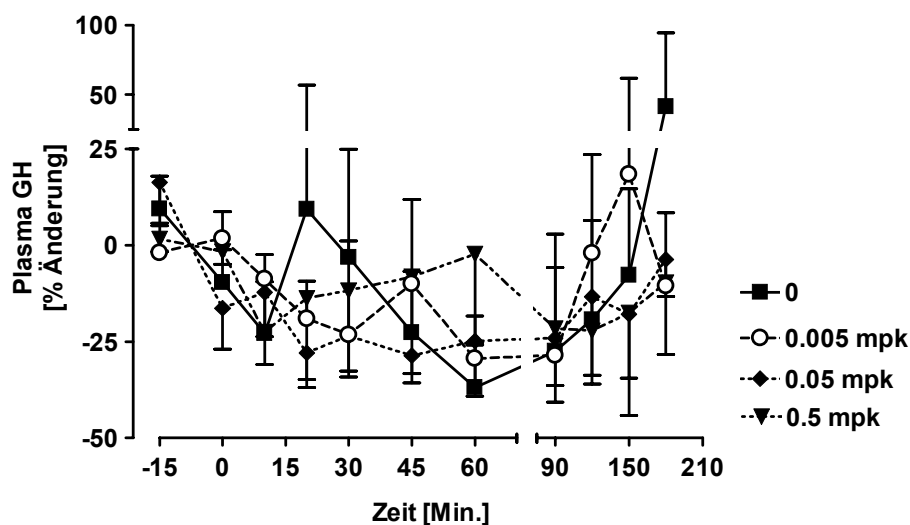
Hypoglykämie ist eine ernsthafte Komplikation der Therapie des Diabetes mellitus Typ 2. Zur Klärung der Frage, ob die sst2-abhängige Senkung der Glukagonsekretion zur Hypoglykämie führt, wurde der sst2-Agonist Hunden appliziert, die zuvor einer 15-stündigen Nahrungskarenz unterzogen worden waren. Änderungen der Blutglukosekonzentration wurden über einen Zeitraum von 3,5 Stunden gemessen. Hunde sind besonders gut für diese Untersuchungen geeignet, weil sie eine starke Neigung zur Hypoglykämie haben. Subkutane Applikation des sst2-Agonisten in allen drei Dosierungen (0,5, 0,05 und 0,005 mg x kg<sup>-1</sup> KG) resultierte in einer Senkung der Glukose- und Glukagonkonzentration, ohne die Insulinkonzentration zu verändern. Die submaximale Dosis des sst2-Agonisten verminderte die Nüchtern-Blutglukosekonzentration maximal um 24,8 ± 6% ( $P < 0,05$ ,  $n = 6$ ) und dieser Effekt wurde nach 45 min. beobachtet. In der höchsten Dosierung wurde keine weitere Senkung der Blutglukosekonzentration erzielt. Bemerkenswert ist, dass zu keinem Zeitpunkt eine Hypoglykämie auftrat, die bei Hunden als Blutglukosekonzentration < 60 mg x dl<sup>-1</sup> definiert

ist. Somit führte die sst2-abhängige Hemmung der Glukagonsekretion nicht zur Induktion einer Hypoglykämie.



**Abb. 13: Zeit- und konzentrationsabhängige Wirkung eines intravenös verabreichten hochgradig sst2-selektiven Somatostatin-Agonisten auf die Nüchternkonzentration von Blutglukose (A) und Plasmaglukagon (B) in Hunden. Daten sind dargestellt in Prozent der Änderung im Vergleich zum Ausgangswert (mpk = mg per kg).**

Somatostatin erfüllt eine Reihe von neuromodulatorischen Funktionen im zentralen Nervensystem und wird daher therapeutisch bei Erkrankungen des zentralen Nervensystems eingesetzt (69). Somatostatin ist ein potenter Modulator der Wachstumshormonsekretion (70). Das Wachstumshormon (*growth hormone* = GH) hat eine Insulin-antagonisierende Wirkung. Hypoglykämie stimuliert und Hyperglykämie hemmt die GH-Sekretion. GH-Sekretion erhöht die Glukosekonzentration. Durch eine Suppression der GH-Sekretion ist es möglich, die Glukosekonzentration zu senken. Es gibt in vitro Daten, die dafür sprechen, dass sst2 die GH-Sekretion senkt. Daher wurde untersucht, ob GH bei der sst2-induzierten Senkung der Glukosekonzentration eine Rolle spielt (Strowski et al., unpublizierte Daten). Sst2 rief in allen drei getesteten Dosierungen keine signifikanten Änderungen der Nüchtern-GH-Konzentration hervor.



**Abb. 14:** Zeit- und konzentrationsabhängige Wirkung eines intravenös verabreichten sst2-selektiven Somatostatin-Agonisten auf die die Nüchternkonzentration des Wachstumshormons (GH) in Hunden, nach einer 15-stündigen Nahrungskarenz. Die Daten sind dargestellt in Prozent der Änderung im Vergleich zum Ausgangswert (mpk = mg per kg).

Diese Daten sprechen dafür, dass die sst2-abhängige Senkung der Glukosekonzentration nicht auf die GH-Suppression zurückzuführen ist.

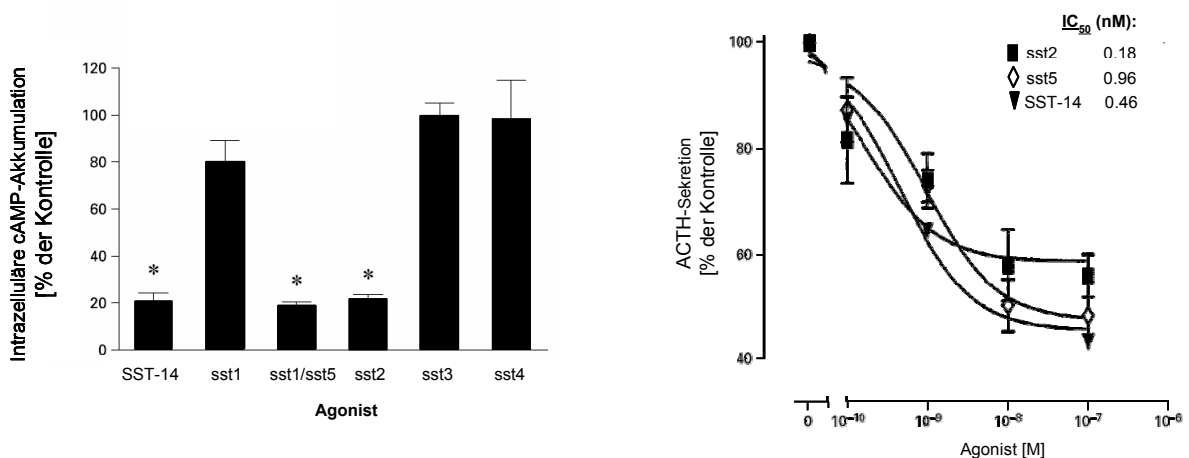
In einer weiteren Untersuchung wurde der sst2-selektive Agonist in Ratten mit STZ-induziertem Diabetes mellitus getestet. Auch in diesem Modell wurden keine Effekte auf die GH-Konzentration nachgewiesen (Daten nicht gezeigt).

Cortisol ist ein katabol wirkendes Hormon, welches durch die Reduktion der peripheren Insulinsensitivität die Hyperglykämie begünstigt. Die Synthese und Sekretion des Cortisols (=Maus-Corticosterone) wird durch adrenocorticotropes Hormon (ACTH) induziert, welches aus der Adenohypophyse freigesetzt wird. Somatostatin hemmt *in vitro* die Freisetzung der Adenohypophysenhormone, unter anderem auch des ACTH in den Nagern. Somatostatinrezeptor-Subtyp 5-defiziente Mäuse wiesen erhöhte Cortisolkonzentration auf. Dies spricht dafür, dass sst5 eine Rolle für die Somatostatin-abhängige Hemmung der ACTH-Sekretion in Nagern besitzt (60).



Zur Beantwortung der Frage nach Bedeutung der Somatostatintrezeptoren für die ACTH-Sekretion auf zellulärer Ebene wurden *in vitro* Untersuchungen an Modellen der corticotropen Zellen (Att20) durchgeführt. Die Att20-Zellen wurden mit Somatostatin-Agonisten inkubiert und die zelluläre Antwort (intrazelluläre cAMP-Akkumulation, ACTH-Sekretion) wurde bestimmt. Es zeigte sich, dass sst2- und sst5-selektive Agonisten die Forskolin-induzierte intrazelluläre cAMP-Akkumulation hemmten, während sst1-, sst3- und sst4-Agonisten wirkungslos blieben (Abb. 15) (62). Sst2- und sst5-selektive Agonisten hemmten wirksam und mit vergleichbarer Potenz die *corticotropin release hormone* (CRH)-induzierte ACTH-Sekretion (Abb. 15)(70).

Diese Daten sprechen dafür, dass sst2-abhängige Senkung der Hyperglykämie in gesunden und in diabetischen Mäusen möglicherweise auch durch eine Senkung des ACTH-stimulierten Corticosteron-Konzentration zustande kommt. Ob dieser Effekt eine physiologische Bedeutung hat, ist Gegenstand aktueller Untersuchungen.



**Abb. 15:** Wirkungen von Somatostatinrezeptor-selektiven Agonisten auf die Forskolin-induzierte intrazelluläre cAMP-Akkumulation (A) und die *corticotropin release hormone* (CRH)-induzierte ACTH-Sekretion in Att20-Zellen (B). NB: eingesetzter sst5/sst1-Agonist bindet an beide Rezeptorsubtypen, wobei eine 10-fach höhere Affinität zum sst5 besteht.