

# 1 Einführung

## 1.1 Morphologie und Physiologie des endokrinen Pankreas

Etwa 80-90% der sekretorisch aktiven Zellen des Pankreas produzieren Insulin (B-Zellen), 10-15% synthetisieren Glukagon (A-Zellen) und 2-5% sind Somatostatin-produzierende D-Zellen. Die Zellen beeinflussen sich gegenseitig und modulieren die hormonelle Sekretion des endokrinen Pankreas. Dabei spielen die systemische Zirkulation sowie lokale, parakrine und autokrine Mechanismen eine Rolle (1-3). Die Inselanatomie sowie die mikrovaskuläre Zirkulation haben dabei eine besondere Bedeutung. Das Zentrum der Langerhans'schen Inseln der Maus enthält hauptsächlich B-Zellen, die von einer A- und D-zellreichen Peripherie umgeben ist (1). Bedingt durch den mikrovaskulären Blutfluss von der Insel-Peripherie ins Zentrum, werden die B-Zellen hohen Konzentrationen von Glukagon und Somatostatin ausgesetzt (1-3). Glukagon fördert die Ausschüttung von Insulin und im Kontext des negativen Feedback-Mechanismus hemmt Insulin die Sekretion von Glukagon. Glukagon induziert die Sekretion von Somatostatin, während über die Wirkung von Insulin auf die Somatostatinsekretion die Datenlage widersprüchlich ist (1). Im Rahmen der autokrinen Wirkung induziert Insulin die eigene Sekretion aus den B-Zellen. Somatostatin hemmt die Glukagon- und Insulinsekretion. Glukose ist nicht nur ein Stellwert, der durch das endokrine Pankreas kontrolliert und physiologisch konstant gehalten wird, sondern ist selbst ein wesentlicher metabolischer Modulator der hormonellen Sekretion pankreatischer A-, B- und D-Zellen. Physiologischerweise induziert Hyperglykämie die Insulinausschüttung, wohingegen die Glukagonfreisetzung supprimiert wird. Bei Hypoglykämie wird die Glukagonsekretion stimuliert und Insulinfreisetzung gehemmt. Hyperglykämie fördert und Hypoglykämie hemmt die Sekretion von Somatostatin.

## 1.2 Bedeutung pankreatischer A-, B-, und D-Zellen für die Regulation der Glukosehomöostase

### 1.2.1 **Insulin**

Die prinzipielle Wirkung des Insulins besteht in einer Senkung der Blutglukosekonzentration. Dieser Effekt ergibt sich aus der gesteigerten Glukoseutilisation in Fettgewebe, Leber und Skelettmuskulatur sowie der Hemmung der Glukoneogenese (4). Die anabolen Wirkungen des Insulins führen zur Förderung der Proteinsynthese, Fettakkumulation, Zellwachstums und –differenzierung. Die Effekte des Insulins auf die Zielzelle werden über einen heterotrimären Rezeptor vermittelt, welcher aus zwei extrazellulären (alpha) und zwei transmembranösen (beta) Untereinheiten aufgebaut ist und zur Familie der Tyrosinkinase-Rezeptoren gehört (4). Die alpha-Untereinheiten sind für die Ligandenbindung verantwortlich, während die beta-Untereinheiten die Aktivierung des Rezeptors (Autophosphorylierung der Tyrosinreste) und Induktion der intrazellulären Signal-Transduktionskaskade hervorrufen. Insulinrezeptoren werden sowohl in der Peripherie als auch im zentralen Nervensystem exprimiert, daher ist Insulin nicht nur in der Peripherie sondern auch zentral wirksam (4). Die Bedeutung zentraler Insulinrezeptoren für die Regulation der Glukosehomöostase wurde unter anderem an Tieren mit einer gewebsspezifischen Deletion des Insulinrezeptors im Gehirn demonstriert. Diese Tiere sind übergewichtig und nehmen mehr Nahrung zu sich (5). Wird Insulin den gesunden Tieren intrazerebral appliziert wird, kommt es zur Potenzierung der Wirkung des Insulins in der Peripherie, Verminderung der endogenen Glukoseproduktion und Reduktion der Blutglukosekonzentration (6). Exogenes Insulin, das in therapeutischer Absicht beim Diabetes mellitus verabreicht wird, wirkt hauptsächlich in der Peripherie. Ursächlich ist dafür eine vernachlässigbar geringe Passage durch die Blut-Hirn-Schranke und daher eine geringe Aktivierung der Insulinrezeptoren des zentralen Nervensystems. Aus therapeutischer Sicht ist es daher wünschenswert, dass Insulin in größeren Mengen ins zentrale Nervensystem gelangt, um dort die Wirksamkeit zu entfalten.

### 1.2.2 **Glukagon**

Glukagon ist ein Peptidhormon, das aus 29 Aminosäuren aufgebaut ist und welches bei Hypoglykämie vermehrt freigesetzt wird. Das primäre „Zielorgan“ des Glukagons ist die

Leber. Darüber hinaus werden Glukagonrezeptoren in anderen Geweben, wie z. B. den Nieren exprimiert. Die Hauptaufgabe des wichtigsten funktionellen Insulin-Antagonisten besteht in der Erhöhung der Blutglukosekonzentration. Dies wird unter anderem durch eine Steigerung der Glukoneogenese, Glykogenolyse und Glukosefreisetzung aus der Leber, sowie Suppression der hepatischen Glukoseutilisation erreicht (7;8). Glukagon ist für ungefähr 75% der basalen Glukoseproduktion und –ausschüttung verantwortlich (8). Die Effekte des Glukagons auf die Zielzelle werden durch spezifische Rezeptoren vermittelt, die der G-Protein-gekoppelten Rezeptorsuperfamilie angehören (9). Der humane Glukagonrezeptor besteht aus 485 Aminosäuren, die am Aufbau von sieben putativen transmembranösen Domänen beteiligt sind (9). Zwei unterschiedliche Klassen der G-Proteine vermitteln nach Bindung des Glukagons an den Rezeptor die Aktivierung von Signal-Transduktionskaskaden. Zu den wichtigsten Translatoren der Ligand-Rezeptor-Interaktion in eine zelluläre Antwort gehören Adenylatzyklase/Proteinkinase-A, Phospholipase-C/Inositol 1,4,5-Triphosphat und Calciumkanäle.

### **1.2.3 Somatostatin**

Somatostatin kommt in zwei wichtigen, biologisch aktiven Molekularformen vor, die aus 14 bzw. 28 Aminosäuren aufgebaut sind. Das Peptidhormon wurde ursprünglich aus Hypothalamusextrakten isoliert und als potenter Hemmer der Wachstumshormonsekretion identifiziert (10). Darüber hinaus moduliert Somatostatin die Glukosekonzentration, indem es die Sekretion von Insulin und Glukagon supprimiert, reguliert die gastrointestinale Motilität, die Sekretion des exokrinen Pankreas und fungiert als Neurotransmitter im zentralen Nervensystem (2;11;12). Somatostatin wird im Hirn, Darm und Pankreas synthetisiert. Die Freisetzung von Somatostatin wird durch Stimulatoren der Insulinsekretion gefördert, dementsprechend werden die höchsten Serumkonzentrationen des Somatostatins postprandial gemessen. Die Halbwertszeit des Hormons in der Zirkulation beträgt lediglich 1-2 Minuten. Die Effekte des Somatostatins werden über G-Protein-gekoppelte Membranrezeptoren vermittelt. Fünf pharmakologisch differenzierbare Rezeptorsubtypen für Somatostatin sind bekannt (sst1-sst5) (13-15). Die Rezeptoren werden ubiquitär exprimiert, wobei Hirn, Gastrointestinaltrakt und das Pankreas die höchste Expressionsdichte aufweisen. Obwohl alle fünf Subtype in den pankreatischen Inseln auf mRNA-Ebene exprimiert werden, konnten immunohistochemische Untersuchungen an Ratten zeigen, dass A-Zellen hauptsächlich sst2 exprimieren,

während B-Zellen überwiegend mit sst5 ausgestattet sind (16;17). Diese Rezeptorverteilung repräsentiert die morphologische Grundlage einer selektiven pharmakologischen Beeinflussung dieser beiden Zelltypen durch Rezeptor-selektive Liganden.

### 1.3 Rolle des endokrinen Pankreas für die Pathophysiologie des Diabetes mellitus Typ 2

#### 1.3.1 **Insulin**

Die periphere Insulinresistenz sowie die Dysfunktion der B-Zellen sind wesentliche Ursachen der Hyperglykämie des Diabetes mellitus Typ 2 (18;19). Wegen der peripheren Insulinresistenz, deren Ursache noch nicht hinreichend bekannt ist, kommt es zu verminderter Glukoseutilisation in Insulin-sensitiven Geweben (18;19). Initial gelingt es der B-Zelle die periphere Insulinresistenz durch eine vermehrte Insulinsekretion zu kompensieren (20). Im weiteren Verlauf der Erkrankung reicht die kompensatorische B-Zell-Mehrsekretion nicht mehr aus, es liegt ein relativer Insulinmangel vor und damit eine persistierende und klinisch manifeste Hyperglykämie (18;19). Beim Fortschreiten der Erkrankung kann die Insulinsekretion, aufgrund einer Erschöpfung der B-Zellen unter die Normalleistung der gesunden Zellen sinken (18-20). Möglicherweise induzieren die Hyperglykämie und Hyperlipidämie eine Apoptose der B-Zellen und tragen damit zur Verminderung der Sekretionsleistung der B-Zellen bei (21).

#### 1.3.2 **Glukagon**

Glukagon ist ein potenter Stimulus der hepatischen Glukoneogenese, Glykogenolyse, Glukosefreisetzung und Hemmer der Glykogensynthese. Postprandial kommt es beim Gesunden zur Suppression der Glukagonfreisetzung aus der A-Zelle mit nachfolgender Verminderung der Hormonkonzentration in der Zirkulation. Bereits im Jahre 1975 haben Unger und Mitarbeiter eine „bihormonelle Theorie“ für die Pathophysiologie des Diabetes mellitus Typ 2 aufgestellt (22;23). Demnach sei die Erkrankung die Folge einer Insulin- und Glukagonfehlsekretion. In der Tat weist der „typische“ Patient mit Diabetes mellitus Typ 2 erhöhte Glukagonkonzentration auf (24), wobei die Ursachen hierfür bisher nicht bekannt sind. Die erhöhte endogene Glukoseproduktion beim Diabetes mellitus Typ 2 und

in tierexperimentellen Modellen dieser Erkrankung wird durch exzessive Glukagonkonzentration getriggert (24;25). Die erhöhte Glukagonkonzentration im Plasma ist hauptsächlich auf eine fehlende Suppression der postprandialen Glukagonsekretion zurück zu führen (24;26). Im Gegensatz hierzu ist die Nüchtern-Glukagonsekretion im Vergleich zum Gesunden nahezu unverändert.

### **1.3.3 Somatostatin**

Die Bedeutung von Somatostatin für die Pathophysiologie des Typ 2 Diabetes mellitus ist noch nicht hinreichend bewiesen. Es gibt jedoch Hinweise auf eine modulierende Funktion des Somatostatins auf die Sekretion, der beim Diabetes mellitus Typ 2 in ihrer Funktion gestörten, pankreatischen A- und B-Zellen. Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 weisen erhöhte basale Konzentrationen von Somatostatin-28 im Vergleich zu Gesunden auf (27). Auffällig ist, dass die Somatostatinkonzentration der Typ 2-Diabetiker nach Einnahme von gemischten Mahlzeiten, Glukose oder eines Sulfonylharnstoffs geringer ansteigt als beim Gesunden (28). Diese Abnormalität lässt sich in Tiermodellen des Diabetes mellitus Typ 2 reproduzieren. Einen indirekten Hinweis auf eine potentielle Bedeutung von Somatostatin beim Diabetes mellitus ergibt sich aus der Tatsache, dass Applikation von Somatostatin-Agonisten eine Verminderung der Hyperglykämie beim Diabetes mellitus Typ 2 bewirken kann (29).

## **1.4 Aktuelle Therapieoptionen des Diabetes mellitus Typ 2**

Die mild antihyperglykämisch wirksamen Hemmer enteraler alpha-Glucosidasen der Bürstensaummembranen des Darms verzögern die postprandiale Glukoseabsorption (30). Metformin ist das am häufigsten eingesetzte Biguanid, das die Insulinsensitivität vorwiegend im Skelettmuskel steigert und die Glukoseausschüttung aus der Leber reduziert (31). Metformin hemmt die Fettakkumulation in der Leber und im Fettgewebe und wirkt anorexigen (31). Kürzlich wurde beschrieben, dass die Glukose-senkenden Effekte von Metformin über die Induktion Adenosinmonophosphat-aktivierter Proteinkinase (AMPK) vermittelt werden (32).

Zu den Zielgeweben des therapeutisch eingesetzten Insulins gehören der Skelettmuskel, die Leber und das Fettgewebe. Die Therapie mit Insulin verbessert die Glukoseaufnahme

in Leber, Fett und Skelettmuskel. Die subkutane Insulingabe verstärkt die periphere Hyperinsulinämie. Die Applikation des Insulins kann bei unveränderter Energiezufuhr zum Anstieg des Körpergewichts führen. Dieser Effekt wird durch eine jetzt effiziente intrazelluläre Aufnahme und Metabolisierung von Glukose, Aminosäuren und Fetten hervorgerufen.

Die Zunahme des Körpergewichtes begünstigt dann, bei den ohnehin übergewichtigen Typ 2-Diabetikern zusätzlich die periphere Insulinresistenz (33-35). Darüber hinaus wird Insulin im kausalen Zusammenhang mit der Pathogenese der diabetischen Retinopathie in Verbindung gebracht (36).

Insulinsekretagoga (Sulfonylharnstoffderivate, Repaglinide) binden an den korrespondierenden Rezeptor (SUR1) und modulieren ATP-sensitive Kalium-Kanäle (37). Sie fördern Glukose-unabhängig (Sulfonylharnstoffe) und teilweise Glukose-abhängig (Repaglinide) die Insulinsekretion (37). Ein kausaler Zusammenhang zwischen Sulfonylharnstoff-Therapie und Induktion der B-Zell-Apoptose wird gegenwärtig diskutiert (38-40).

Thiazolidindione (Insulinsensitizer) aktivieren die nukleären Rezeptoren *peroxisome proliferator-activated receptors (PPARgamma)* (41) und steigern somit die Glukoseaufnahme in die Zelle. Darüber hinaus wird die hepatische Glukoneogenese gehemmt und die Plasmakonzentration von Triglyzeriden und unveresterten Fettsäuren gesenkt (41).

Das Inkretinhormon *glucagon-like peptide-1 (GLP-1)* ist der stärkste endogene Stimulus der Insulinsekretion. GLP-1 wirkt ausschließlich bei Hyperglykämie und induziert daher keine Hypoglykämie. GLP-1-Agonisten werden bereits in der Phase III der klinischen Studien eingesetzt.

## 1.5 Basis für die Entwicklung nichtpeptiderger Modulatoren der Insulin-, Glukagon- und Somatostatinrezeptoren

### 1.5.1 **Aktivatoren des Insulinrezeptors**

Tierexperimentelle Untersuchungen lassen den Schluss zu, dass die Aktivierung von Insulinrezeptoren im zentralen Nervensystem anorexigen wirkt und zur Reduktion des Körpergewichts führt (5;6;42). Diese Effekte sind konträr zum peripher applizierten Insulin, das praktisch kaum die Blut-Hirn-Schranke passiert und daher hauptsächlich in der

Peripherie wirksam ist. Der Transport von Insulin durch die Blut-Hirn-Schranke ist Rezeptor-vermittelt und unterliegt einem Sättigungsverhalten. Daher ändert sich die Insulinkonzentration im zentralen Nervensystem trotz chronischer Hyperinsulinämie im Frühstadium des Diabetes mellitus Typ 2 nicht.

Kürzlich wurden niedermolekulare **Insulinrezeptor-Aktivatoren (IRA)** entwickelt, die frei durch die Blut-Hirn-Schranke diffundieren können (43). Diese Substanzen (Chinolonderivate, Compound-1, Abb. 1) weisen im Gegensatz zu Insulin eine gute orale Bio-Verfügbarkeit auf. Im Gegensatz zu Insulin interagieren IRA mit den beta-Untereinheiten des Insulinrezeptors und aktivieren so die Schlüsselenzyme der Insulinrezeptor-abhängigen Signal-Transduktionskaskade (43). Aufgrund ungestörter Passage durch die Blut-Hirn-Schranke interagieren IRA mit den Insulinrezeptoren des zentralen Nervensystems (43). Aus therapeutischer Sicht bieten sie daher einen wesentlichen Vorteil im Vergleich zum konventionellen Insulin.

### 1.5.2 Antagonisten des Glukagonrezeptors

Hyperglukagonämie führt zu einer erhöhten endogenen Glukoseproduktion. Immunoneutralisierung des zirkulierenden Glukagons durch Ko-Infusion von Glukagon-Antikörpern führt zu einer Senkung erhöhter Blutglukosekonzentration in Tiermodellen des Diabetes mellitus Typ 2 (44). Unterdrückung der Expression von Glukagonrezeptoren durch Applikation von Antisens-Oligonukleotiden resultiert in einer Senkung der Glukosekonzentration (45). Applikation peptiderger Glukagonrezeptor-Antagonisten führt zum Abfall erhöhter Glukosekonzentration in diabetischen Tiermodellen (46-48). Kürzlich wurden niedermolekulare Glukagonrezeptor-Antagonisten entwickelt, die eine bessere Stabilität und orale Bio-Verfügbarkeit im Vergleich zu peptidergen Antagonisten aufweisen (49-52). Im tierexperimentellen Ansatz vermindern diese Substanzen die Nüchtern-Blutglukosekonzentration, indem sie die basale Rate der hepatischen Glukoneogenese supprimieren (53). Nach Verabreichung in Tieren können diese Substanzen den Anstieg der Glukosekonzentration unterdrücken, der nach Applikation von Glukagon auftritt (52;54;55).

Diese Daten sprechen dafür, dass das Prinzip der Senkung der Glukagonkonzentration oder Blockade der Glukagonrezeptoren eine therapeutische Option beim Diabetes mellitus Typ 2 darstellen könnte.

### 1.5.3 Somatostatinrezeptor-Agonisten

Somatostatin hemmt die Sekretion von Insulin, Glukagon und Wachstumshormon und ist daher prinzipiell für die Therapie von Erkrankungen geeignet, die mit Hypersekretion dieser Hormone einhergehen. Im klinischen Alltag bilden Somatostatin-Agonisten seit über 20 Jahren einen wesentlichen Bestandteil der nichtinvasiven Therapie von Akromegalie und anderen Hormon-sezernierenden neuroendokrinen Tumoren. Vor wenigen Jahren wurden Somatostatinrezeptor-Subtypen 1-5 identifiziert, die quantitativ und qualitativ unterschiedlich in Geweben exprimiert werden. Die höchste Rezeptordichte wird im Hirngewebe, Gastrointestinaltrakt und Pankreas vorgefunden. Pankreatische A-Zellen der Nagetiere exprimieren hauptsächlich sst2 (14), während Insulinzellen überwiegend sst5 exprimieren (17). Diese Rezeptorverteilung repräsentiert die morphologische Grundlage einer selektiven pharmakologischen Beeinflussung dieser beiden Zelltypen durch geeignete Liganden. Da klinisch angewendete Somatostatin-Agonisten vernachlässigbare orale Bio-Verfügbarkeit und limitierte Rezeptorselektivität, – spezifität haben, war es bisher nicht gelungen, sekretorisch-hyperaktive Zellen des Pankreas selektiv zu beeinflussen und daher z. B. die Hyperglukagonämie beim Diabetes mellitus Typ 2 zu unterdrücken. Erst kürzlich wurden hochgradig selektive, nichtpeptiderge Somatostatin-Agonisten entwickelt (56-59). Damit ergibt sich die Möglichkeit, neue diagnostische und therapeutische Ziele für ihren Einsatz zu definieren. Insbesondere durch die Entwicklung von Tiermodellen mit einer selektiven Inaktivierung der Somatostatinrezeptor-Gene (60;61) eröffnen sich Möglichkeiten, die Funktion der individuellen Rezeptorsubtypen zu definieren und die Wirkungen/Nebenwirkungen von hochselektiven und spezifischen Somatostatinrezeptor-Agonisten/Antagonisten zu charakterisieren.