

# Physiologie und Pathophysiologie des Typ-1-Diabetes

## 2.1 Morphologie und Entwicklung der Inselzellen – 18

2.1.1 Anatomie der Langerhans-Inseln – 18

2.1.2 Ablauf und Regulation der Pankreasentwicklung – 19

## 2.2 Insulin – 21

2.2.1 Molekulare Struktur des Insulins – 21

2.2.2 Biosynthese und Sekretion des Insulins – 21

2.2.3 Clearance und Degradation des Insulins – 26

2.2.4 Wirkung des Insulins – 27

2.2.5 Insulinrezeptor – 34

2.2.6 Insulinresistenz – 37

2.2.7 Messung der Insulinkonzentration, Sekretion und Sensitivität – 39

## 2.3 Glukagon und andere Inselzellpeptide – 41

2.3.1 Glukagon – 41

2.3.2 Somatostatin und PP – 42

2.3.3 Inkretine – 43

## 2.4 Hormonelle Steuerung der Glukosehomöostase – 43

2.4.1 Glukosehomöostase unter Ruhebedingungen – 44

2.4.2 Glukosehomöostase bei körperlicher Tätigkeit – 44

2.4.3 Glukosehomöostase nach Nahrungsaufnahme – 44

2.4.4 Glukosehomöostase bei fehlender Nahrungsaufnahme – 45

2.4.5 Glukosehomöostase bei Stress – 46

2.4.6 Glukosehomöostase bei Hypoglykämie – 46

## 2.5 Genetik – 47

2.5.1 Erbmodus – 48

2.5.2 Erbrisiko – 49

2.5.3 HLA-System – 51

## **2.6      Ätiologie – 55**

- 2.6.1      Heutige Auffassungen zur Entstehung des Typ-1-Diabetes – 55
- 2.6.2      Virusinfektionen – 60
- 2.6.3      Stilldauer und Ernährungsfaktoren – 62
- 2.6.4      Perinatale Faktoren, Alter und Sozialstatus der Eltern – 65
- 2.6.5      Manifestationsfördernde Faktoren – 66

## **2.7      Prädiktion des Typ-1-Diabetes – 66**

- 2.7.1      Humorale Autoimmunität – 67
- 2.7.2      Zelluläre Autoimmunität – 70
- 2.7.3      Kombination von Früherkennungsuntersuchungen – 70
- 2.7.4      Zeitlicher Ablauf der Autoimmunität – 72
- 2.7.5      Prädiktion eines Typ-1-Diabetes in der Gesamtbevölkerung – 73

## **2.8      Prävention des Typ-1-Diabetes – 73**

- 2.8.1      Tertiäre Präventionsstudien – 74
- 2.8.2      Sekundäre Präventionsstudien – 78
- 2.8.3      Primäre Präventionsstudien – 80

## **Literatur und Webseiten – 81**

### Fallbeispiel

In einer kaukasischen Familie kam es zu gehäuftem Auftreten eines Diabetes mellitus mit Manifestation im ersten Lebensjahr.

**Anamnese und Befund. Erster Sohn:** Erstvorstellung mit 2 Jahren, 8 Monaten, seit dem 12. Lebensmonat intensivierte konventionelle Insulintherapie (ICT), Umstellung auf CSII, normale geistige und körperliche Entwicklung,  $\text{HbA}_{1c}$  6,5 % (48 mmol/mol), Insulinbedarf: ca. 5,5 I.E. Insulin/Tag (ca. 0,4 I.E./kg KG/Tag). C-Peptid, IA2- und GAD-Antikörper negativ.

**Mutter:** Seit 3. Lebensmonat mit Insulin behandelter Diabetes mellitus, aktuell Pumpentherapie (CSII),  $\text{HbA}_{1c}$  8,9 % (74 mmol/l), Insulinbedarf 0,45 I.E./kg KG/Tag, außerdem Hypercholesterinämie und Adipositas, C-Peptid, IA2- und GAD-Antikörper negativ.

Mit 7 Jahren bekommt der 1. Sohn einen **Bruder**: anderer, gesunder Vater, mit 4 Monaten beginnend Hyperglykämien, seit dem 6. Lebensmonat Insulintherapie (CSII), keine diabetesassoziierten Antikörper,  $\text{HbA}_{1c}$  mit 1 Jahr 7,3 % (56 mmol/l), Insulinbedarf mit 1 Jahr: ca. 2,1 I.E. Insulin/Tag (ca. 0,2 I.E./kg KG/Tag).

**Diagnose und Therapie.** Genetische Untersuchungen auf die häufigsten Ursachen des permanenten neonatalen Diabetes d. h. Mutationen des KIR6.2- bzw. SUR1-kodierenden Gens waren unauffällig. In der Sequenzierung des INS-Exon 1–3 (Insulin-Gen) fand sich schließlich eine Punktmutation c.265C>T, die bis dahin noch nicht als ursächlich für einen Diabetes beschrieben worden war. Diese Veränderungen fanden sich bei Mutter und Sohn; bei den Großeltern mütterlicherseits wurde keine Mutation nachgewiesen.

**Beurteilung.** In dieser Familie ist davon auszugehen, dass die Ursache für den Diabetes mellitus eine De-novo-Mutation im INS-Gen bei der Mutter ist. Man vermutet, dass dadurch eine Zerstörung der Sekundärstruktur (»folding«) des Proinsulinmoleküls bewirkt wird und daraus eine Fehlfaltung des Proteins oder eine Retention des Proteins im endoplasmatischen Retikulum resultiert. Dies verursacht einen Stress im endoplasmatischen Retikulum mit  $\beta$ -Zell-Apoptose und somit einen – bisher irreversiblen – Insulinmangel, der substituiert werden

muss. Durch die Identifizierung der Ursache lässt sich keine alternative Therapie ableiten, jedoch wurde eine Sensibilisierung der Familie erreicht insbesondere in Bezug auf die weitere Familienplanung.

1869 beschrieb Paul Langerhans in seiner Dissertation die nach ihm benannten Inselzellen des Pankreas. 20 Jahre später (1889) erkannten Josef von Mering und Oskar Minkowski die Bedeutung der Bauchspeicheldrüse für die Entstehung des Diabetes mellitus. 1909 gab Jean de Meyer dem unbekannten, in den Langerhans-Inseln gebildeten Wirkstoff den Namen »Insulin«. In der Folgezeit waren mehrere Forscher wie G.L. Zülzer in Deutschland (1906), E.L. Scott in den USA (1911), I. Kleiner in den USA (1919) und N. Paulesco in Rumänien (1921) dem Insulin auf der Spur. Die epochale, die Fachwelt überzeugende Extraktion des wirksamen Hormons aus tierischen Bauchspeicheldrüsen gelang 1921 den beiden kanadischen Forschern Frederick Grant Banting und Charles H. Best. 1922 wurden die Forschungsergebnisse publiziert und 1923 mit dem Nobelpreis belohnt. Als weitere Mitarbeiter gehörten der Arbeitsgruppe der Universität Toronto J.J.R. Macleod als Chef und der Biochemiker James B. Collip an. Am 11. Januar 1922 wurde der erste Patient mit Typ-1-Diabetes im Toronto General Hospital mit dem von Banting und Best hergestellten Extrakt behandelt, während davor alle Patienten früher oder später verstorben waren. Es war der 14-jährige Leonard Thompson. Mit einer der größten Entdeckungen der Medizingeschichte begann die Insulinära des Diabetes mellitus. Der Diabetes konnte mit Hilfe der Insulinsubstitution zwar nicht geheilt, aber wirkungsvoll behandelt werden. Abel kristallisierte das Insulin erstmalig 1926, während Wintersteiner et al. 1928 herausfanden, dass es sich um ein Protein handelt. Die Primärstruktur des Insulins, d. h. die Aminosäuresequenz, klärten Ryle et al. 1955 endgültig auf. Die Aufklärung der dreidimensionalen Anordnung der Atome in rhombohedrale Kristalle gelang Blundell et al. (1972). Ende der 1970er Jahre gelang die In-vitro-Synthese des Humaninsulins. Mit Insulin Lispro wurde 1996 das erste Insulinanalogon auf den Markt gebracht.

## 2.1 Morphologie und Entwicklung der Inselzellen

### 2.1.1 Anatomie der Langerhans-Inseln

Das Pankreas weist zwei unterschiedliche Zellpopulationen auf:


- exokrine Zellen, die Enzyme in den Verdauungstrakt sezernieren, und
- endokrine Zellen, die Hormone in den Blutstrom abgeben.

Die Bauchspeicheldrüse ist endodermalen Ursprungs und entwickelt sich aus einer ventralen und einer dorsalen Anlage des Vordarmes, die miteinander fusionieren und ein einziges Organ bilden.

Aus der dorsalen Anlage des Vordarmes gehen 80–90 % des Pankreas hervor (der Pankreaschwanz, der Körper und der vordere Anteil des Kopfes), aus der ventralen Anlage der hintere Teil des Kopfes. Säugetiere, Vögel, Reptilien und Amphibien weisen ein Pankreas mit ähnlicher Histologie und Art der embryonalen Entwicklung auf.

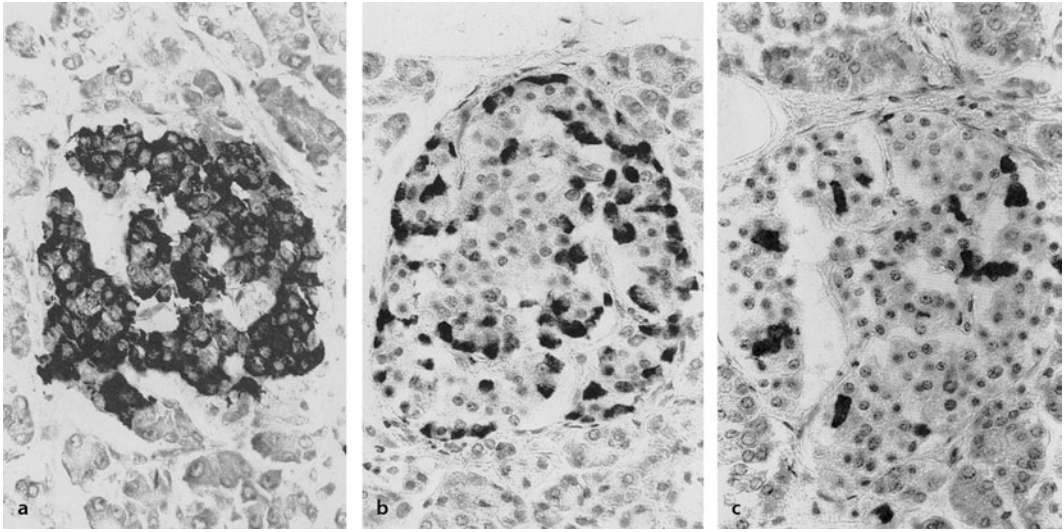
Die endokrinen Zellen der Bauchspeicheldrüse entstehen aus den Epithelzellen der Ausführungsgänge (Ducti) des exokrinen Teils der Pankreasanlagen. Sie bilden eng gepackte Zellhaufen, die als Langerhans-Inseln bezeichnet werden. Endokrine Zellen kommen jedoch nicht nur in den Inseln vor, sondern auch so fein verteilt im Übrigen Pankreasgewebe, dass sie nicht als Inseln wahrgenommen werden können. Die Langerhans-Inseln machen annähernd 1–2 % des gesamten Pankreas beim Erwachsenen aus und sind relativ gleichmäßig in der gesamten Bauchspeicheldrüse verteilt, allerdings etwas dichter im Pankreaskopf. Die runden, seltener länglichen Epithelkomplexe weisen einen Durchmesser zwischen 20 und 300  $\mu\text{m}$  auf. Das etwa 100 g schwere Pankreas des Erwachsenen enthält ca.  $10^6$  Inseln, das etwa 10 g schwere Pankreas eines einjährigen Kindes entsprechend weniger.

In den Inseln lassen sich 4 Zelltypen nachweisen, die Insulin-sezernierenden  $\beta$ -Zellen, die Glukagon-sezernierenden  $\alpha$ -Zellen, die Somatostatin-sezernierenden D-Zellen und die pankreatische Polypeptid-sezernierenden (PP-)Zellen. Bei den

meisten Säugetieren entfällt die Mehrzahl der endokrinen Zellpopulation auf die im Zentrum der Inseln eng gepackten  $\beta$ -Zellen. In der Peripherie der Inseln sind die  $\alpha$ -Zellen und die D-Zellen lokalisiert. Sehr viel seltener sind die PP-Zellen, die nicht gleichmäßig verteilt, sondern deutlich vermehrt im hinteren Teil des Pankreaskopfes vorkommen (»PP rich lobe«) wo sie 80 % der endokrinen Zellen ausmachen. In den übrigen Teilen des Pankreas (»PP poor lobe«) entfallen beim Erwachsenen 82 % der endokrinen Zellen auf  $\beta$ -Zellen, 13 % auf  $\alpha$ -Zellen, 4 % auf D-Zellen und 1 % auf PP-Zellen. In  Abb. 2.1 sind Insulin enthaltende  $\beta$ -Zellen, Glukagon enthaltende  $\alpha$ -Zellen und Somatostatin enthaltende D-Zellen in einer Langerhans-Insel dargestellt.

Die arterielle Blutversorgung der Inseln erfolgt über Arteriolen, die über einen neurovaskulären Gefäßstiel in das Zentrum der Inseln dringen, sich dort in reich gefensterte Kapillaren verästeln, um zunächst die  $\beta$ -Zellen zu versorgen. Anschließend kehren sie zu den in der Peripherie lokalisierten  $\alpha$ - und D-Zellen zurück. Auf diesem Wege kann Insulin auf parakrinem Wege die Sekretion von Glukagon und Somatostatin beeinflussen.

Die Innervation der Langerhans-Inseln erfolgt durch marklose Nervenfasern des autonomen Nervensystems. Sympathisch-adrenergische und parasympathisch-cholinergische Fasern innervieren nicht nur die intrapankreatischen Blutgefäße, sondern enden auch in intrapankreatischen Ganglien, die Transmittersubstanzen abgeben, um die sekretorische Inselzellfunktion zu steuern. Bei Reizung sympathischer Fasern wird die Insulin- und Somatostatinsekretion gehemmt, während die Glukagonsekretion gefördert wird. Die Reizung parasympathischer Fasern führt dagegen zu einer gesteigerten Insulin- und Glukagonsekretion. Die Hormonsekretion wird jedoch nicht nur über das klassische sympathische und parasympathische System gesteuert, sondern auch über peptidergische Nerven, die Neurotransmitter abgeben wie z. B. das bisher in seiner Wirkung am besten charakterisierte Galanin. Dieses 29 Aminosäuren enthaltende Peptid steigert die Glukose-induzierte Insulinexozytose. Zu den Neuropeptiden, die die Insulinsekretion stimulieren, gehören u. a. die sog. Inkretine Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) vasoak-



■ **Abb. 2.1a–c** Normale Langerhans-Insel (»PP-poor lobe«). **a** Insulin enthaltende  $\beta$ -Zellen; **b** Glukagon enthaltende  $\alpha$ -Zellen. **c** Somatostatin enthaltende D-Zellen. (Adaptiert nach Foulis 1995)

tives intestinales Peptid (VIP) und Gastrin-Releasing Peptide (GRP).

### 2.1.2 Ablauf und Regulation der Pankreasentwicklung

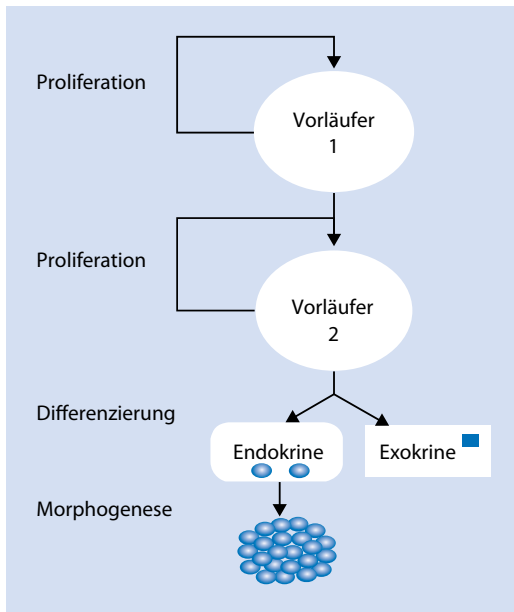
Die embryonale Entwicklung des Pankreas, d. h. die Ausdifferenzierung in exokrine und endokrine Zelltypen sowie deren Enddifferenzierung in  $\beta$ -,  $\alpha$ -, D- und PP-Zellen wird durch eine Reihe von Faktoren reguliert; zu denen gehören:

- Wachstumsfaktoren (z. B. »Fibroblast Growth Factor«, FGF; »Hepatocyte Growth Factor«, HGF),
- Proteine (z. B. »Receptor Tyrosine Kinase«, RTK; »Matrix-Metalloproteinase«, MMP),
- Gene (z. B. Sonic und Indian Hedgehog, Shh und Ihh; Neurogenin 3, Ngn 3) und
- Transkriptionsfaktoren (z. B. »Pancreatic Duodenal Homeobox 1«, PDX-1; »Neurogenic Differentiation 1«, NeuroD 1).

Genmutationen können die Organentwicklung stören (Pankreasagenesie, Inselzellfehlbildungen,  $\beta$ -Zellhypoplasie usw.) und z. B. einen neonatalen Diabetes verursachen.

Das Pankreas entwickelt sich aus zwei endodermalen Anlagen, einer ventralen und einer dorsalen Knospe, die vom Epithel des Verdauungstraktes ausgehen. Die beiden Knospen stülpen sich aus dem Vordarm aus, vergrößern sich und fusionieren miteinander. Anschließend erfolgt die Differenzierung der Epithelzellen in exokrine Zellen, die die Ducti und Azini bilden, und endokrine Zellen, die zu Langerhans-Inseln assoziieren. Schließlich erfolgt die Enddifferenzierung der endokrinen Zellen in  $\alpha$ -,  $\beta$ -, D- und PP-Zellen. Diese Vorgänge werden durch viele Gene, Proteine und Wachstumsfaktoren gesteuert.

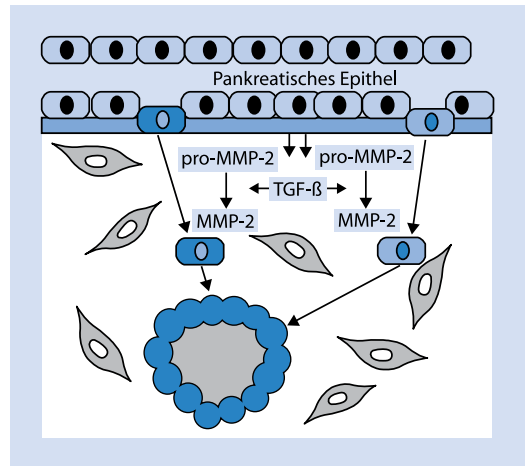
Die heute gültige Arbeitshypothese zur Differenzierung unreifer Stammzellen in endokrine Zellen geht davon aus, dass Mitglieder der Transforming-growth-factor- $\beta$ -Familie (TGF- $\beta$ ) wie z. B. Aktivine oder »Bone Morphogenic Proteins« (BMP) vom Epithelium gebildet werden und in autokriner Weise die Umbildung pankreatischer Stammzellen in endokrine Zellen stimulieren, während deren Proliferation gehemmt wird. Mesenchymsignale scheinen die Entwicklung endokriner Zellen nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ zu beeinflussen. Insulin-produzierende Zellen, die in vitro aus embryonalen Epithelzellen entwickelt wurden, blieben in Anwesenheit von Mesenchym unreif,



■ **Abb. 2.2** Entwicklungsmodell des Pankreas: 1. Schritt: Proliferation der Stammzellen; 2. Schritt: Differenzierung der Stammzellen in endokrine und exokrine Zellen; 3. Schritt: Morphogenese der Langerhans-Insel. (Adaptiert nach Scharfman 2000)

während sie in Abwesenheit von Mesenchym reifen. Dieser Befund führte zu der Annahme, dass die während eines frühen Entwicklungsstadiums auftretenden noch unreifen Insulin-produzierenden Zellen pluripotente Vorläufer einer später auftretenden reifen Zellpopulation sind. Es wurde gezeigt, dass früh entwickelte, unreife  $\beta$ -Zellen nicht nur Insulin, sondern auch Glukagon synthetisieren, während später auftretende reife  $\beta$ -Zellen ausschließlich Insulin produzieren. Sicher bewiesen ist die Vermutung jedoch nicht, ob die Insulin- und Glukagon-produzierenden Zellen direkte Vorläufer der endgültigen reifen  $\beta$ -Zellen sind. Eine alternative Hypothese ist, dass die doppelt positiven Zellen während der weiteren Entwicklung absterben, oder sich in der  $\beta$ -Zellmasse verteilen, um zu einem späteren Zeitpunkt auszureifen.

In ■ Abb. 2.2 ist vereinfacht dargestellt, wie die pankreatischen Stammzellen zunächst nur die Potenz zur Proliferation besitzen, später jedoch die Fähigkeit zur Differenzierung in endokrine oder exokrine Zellen entwickeln.



■ **Abb. 2.3** Modell der Morphogenese der Langerhans-Inseln: Differenzierung der endokrinen Stammzellen des Epitheliums in insulinexprimierende (hellblau) und glukagonexprimierende (dunkelblau) Zellen. Migration und Degradation der extrazellulären Matrix mit Bildung der Langerhans-Insel (Kern: insulinexprimierende  $\beta$ -Zellen, Randsaum: glukagonexprimierende  $\alpha$ -Zellen). Notwendig: Aktivierung des inaktiven Enzyms Pro-MMP-2 in seine aktive Form MMP-2 durch TGF- $\beta$ . MMP Matrix-Metalloproteinase, TGF »transforming growth-factor«. (Adaptiert nach Scharfman 2000)

Im Gegensatz zur Proliferation der pankreatischen Epithelzellen und deren Differenzierung in exokrine und endokrine Zellen ist die Assoziation endokriner Zellen zu Langerhans-Inseln unstrittig Mesenchym-unabhängig. In ■ Abb. 2.3 ist die Morphogenese der Inseln schematisch dargestellt. Aus putativen Stammzellen des unreifen pankreatischen Epitheliums entwickeln sich reife endokrine Zellen, die z. B. Insulin oder Glukagon synthetisieren. Nach Migration dieser Zellen in die extrazelluläre Matrix erkennen sie sich, assoziieren und formen Langerhans-Inseln. Ein Kern von insulinexprimierenden Zellen ist von einem Randsaum glukagonexprimierender Zellen umgeben. Diese Vorgänge erfordern die Aktivierung des inaktiven Enzyms Pro-Matrix-Metalloproteinase 2 (Pro-MMP-2) in seine aktive Form Metalloproteinase 2 (MMP-2) durch TGF- $\beta$ .

Das Verständnis der Steuerung der Morphogenese der Langerhans-Inseln ist wichtig, weil die typische Architektur der Langerhans-Inseln mit dem aus insulinexprimierenden Zellen bestehenden Kern, der von einem Mantel anderer Polypep-



tid-exprimierender Zellen (Glukagon, Somatostatin, pankreatisches Polypeptid) umgeben ist, eine wichtige Voraussetzung für die normale Insulinsekretion der  $\beta$ -Zellen durch Glukosestimulation ist.

Während der Pankreasentwicklung erscheinen Insel-ähnliche Strukturen bei der Maus erstmalig um den 18,5. Tag. Postpartal werden neue Inseln nur noch während der ersten drei Wochen generiert. Während des gesamten Lebens findet dagegen eine konstante langsame Neubildung von Inselzellen statt. Durch Apoptose werden überalterte oder geschädigte  $\beta$ -Zellen eliminiert. Der  $\beta$ -Zellersatz erfolgt über die Replikation vorexistierender  $\beta$ -Zellen oder die Differenzierung latent vorhandener Stammzellen in den Ducti des exokrinen Pankreas. In Tiermodellen konnte die postpartale Neogenese von  $\beta$ -Zellen aus duktalem Stammzellen, z. B. bei pankreatektomierten oder alloxan- bzw. streptozotocindiatetischen Mäusen nachgewiesen werden. Der Prozess der postpartalen Neogenese von  $\beta$ -Zellen aus duktalem Stammzellen scheint die Vorgänge der  $\beta$ -Zelldifferenzierung während der Embryonalentwicklung zu rekapitulieren. Daher nimmt das PDX-1 auch bei der postpartalen  $\beta$ -Zellneogenese eine Schlüsselstellung ein. Die homozygote Mutation des PDX-1-Gens führt zur Pankreasagenesie, die heterozygote zum MODY-Typ-Diabetes (MODY 4). Da PDX-1 jedoch nicht nur die embryonale Pankreasentwicklung beeinflusst, sondern auch die postpartale  $\beta$ -Zellneogenese aus duktalem Stammzellen steuert und schließlich bei der Regulation des Insulins in der  $\beta$ -Zelle maßgeblich beteiligt ist, wurde vermutet, dass PDX-1 bei der Pathogenese des Typ-2-Diabetes eine wichtige Rolle spielt. Durch einen PDX-1-Mangel könnte z. B. die Fähigkeit eingeschränkt sein, den durch Insulinresistenz bedingten Mehrbedarf an Insulin zu kompensieren.

mit 30 Aminosäuren über zwei Disulfidbrücken verbunden. Die A-Kette weist eine weitere Disulfidbrücke auf. Schon geringfügige Veränderungen der Molekülstruktur (z. B. Sprengung einer Disulfidbrücke, Abspaltung endständiger Aminosäuren) scheinen die dreidimensionale Struktur der rhombohedralen Insulinkristalle so zu verändern, dass die bioaktive Region zerstört wird und das Insulin seine biologische Wirksamkeit verliert. Durch Röntgenstrukturanalyse und Rezeptorbindungsstudien konnten die Aminosäuresequenzen identifiziert werden, die für die Bindung an die Rezeptoren der Zellmembran verantwortlich sind und damit als biologisch aktives Zentrum des Insulinmoleküls angesehen werden müssen (■ Abb. 2.4). Auch die antigenen Strukturen des Insulinmoleküls wurden identifiziert.

Tierische Insuline, v. a. die vom Schwein, Rind und Schaf, unterscheiden sich nur in wenigen Aminosäuren vom Humaninsulin. Das Rinderinsulin differiert in drei, das Schweineinsulin nur in einer Aminosäure. Es kommt damit dem menschlichen Insulin am nächsten (■ Abb. 2.4).

Insulinmoleküle lagern sich in verschiedenen Kristallisationsformen zusammen. Bei physiologischen Konzentrationen von weniger als 1 nmol liegt Insulin als Monomer vor. Bei höheren Konzentrationen kommt es zur Selbstassoziation von 2 Monomeren zu einem Dimer. In Anwesenheit von Zinkionen aggregieren 3 Dimere zu einer ringförmigen Struktur um 2  $\text{Zn}^{2+}$  zu einem Hexamer. Die Assoziationen zu Dimeren und Hexameren erfolgen vorwiegend über Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Seitenketten von Aminosäuren der B-Kette (■ Abb. 2.5).

Die Synthese des Insulins gelang verschiedenen Arbeitsgruppen schrittweise zwischen 1963 und 1967. Die Totalsynthese kristallisierten Humaninsulins wurde von Sieber et al. (1974) erstmalig durchgeführt.

## 2.2 Insulin

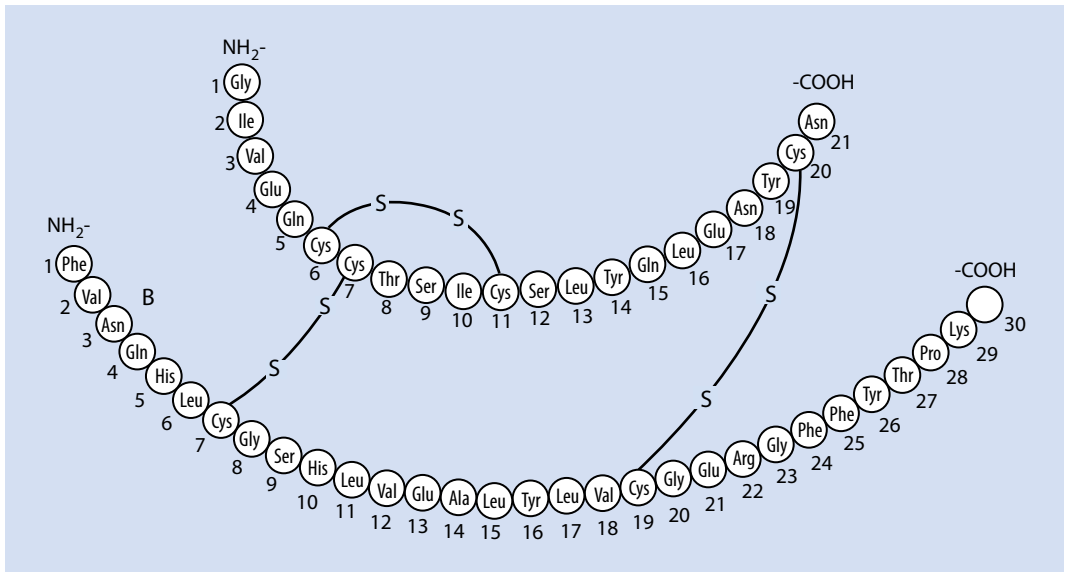
### 2.2.1 Molekulare Struktur des Insulins

Menschliches Insulin ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 5.734. Es besteht aus insgesamt 51-Aminosäuren, die in zwei Ketten angeordnet sind. Die A-Kette mit 21-Aminosäuren ist mit der B-Kette

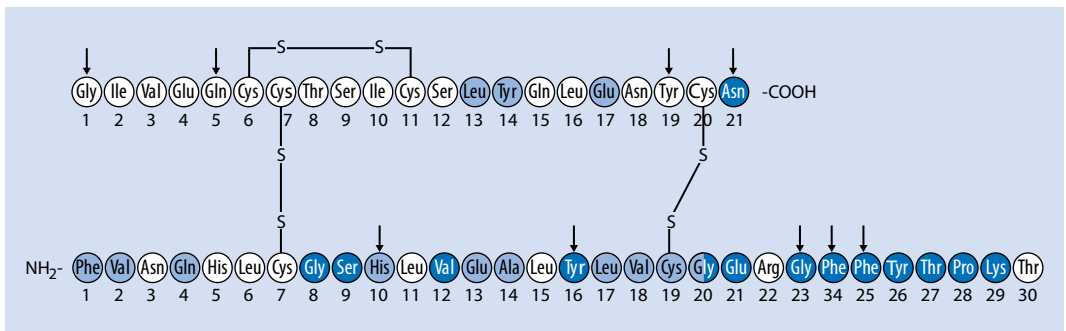
### 2.2.2 Biosynthese und Sekretion des Insulins

Die Biosynthese des Insulins erfolgt schrittweise über zwei Vorstufen:

- Präproinsulin und
- Proinsulin.



**Abb. 2.4** Primärstruktur des Insulins: A: A-Kette mit 21 Aminosäuren; B: B-Kette mit 30-Aminosäuren. Aminosäure in Position 30 der B-Kette beim Humaninsulin: Threonin, beim Schweineinsulin und Rinderinsulin: Alanin. Aminosäure in Position 8 der A-Kette: beim Humaninsulin: Threonin, bei Rinderinsulin: Alanin. Aminosäure in Position 10 der A-Kette: beim Humaninsulin: Isoleukin, bei Rinderinsulin: Valin



**Abb. 2.5** Primärstruktur des Humaninsulins. Blau sind die Aminosäuren hinterlegt, die bei der Assoziation von Monomeren zu Dimeren beteiligt sind, hellblau diejenigen, die bei der Assoziation von Dimeren zu Hexameren beteiligt sind. Aminosäuren, die an den Insulinrezeptor binden, sind mit Pfeil gekennzeichnet. (Adaptiert nach Brange et al. 1990)

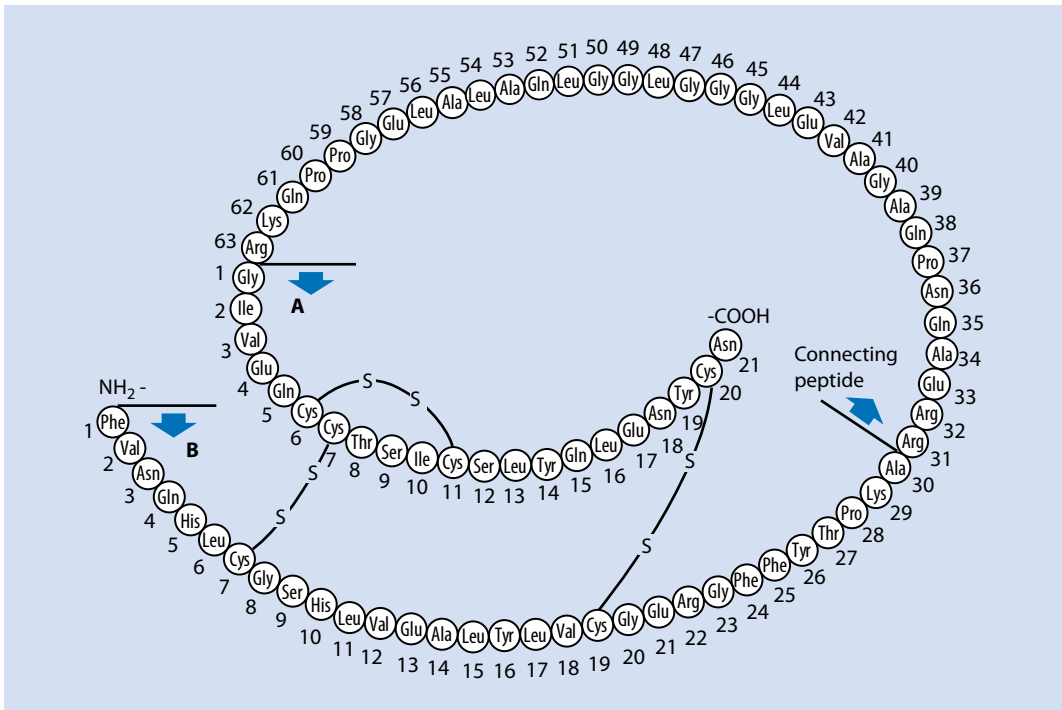
Das funktionsfähige Insulin wird zunächst gespeichert und auf einen Sekretionsreiz hin an den perikapillären Raum abgegeben (Exozytose). Am Anfang der Signalkette, die die Insulinsynthese und Sekretion steuert, steht die  $\beta$ -Zellglukokinase als Glukosesensor der  $\beta$ -Zelle. Die Aktivität der Präproinsulinsynthese bzw. die Transkriptionsrate am Insulingen wird durch eine Reihe von Transkriptionsfaktoren gesteuert. Einzelgenmutationen an

Genen, die das Enzym Glukokinase und verschiedene Transkriptionsfaktoren kodieren, sind als Ursachen der verschiedenen Formen des MODY-Typ-Diabetes identifiziert worden.

## Ablauf der Insulinsynthese und Sekretion

In den Ribosomen der  $\beta$ -Zellen beginnt die Insulinsynthese mit der Bildung von zwei einkettigen





■ **Abb. 2.6** Primärstruktur des Proinsulins (Schwein): A: A-Kette, B: B-Kette, »Connecting peptide«: C-Peptid

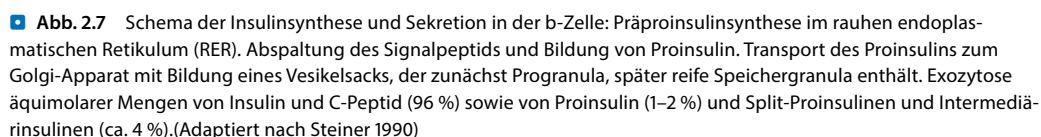
Vorläufern, dem Präproinsulin und dem Proinsulin. Das Proinsulin ist ein Polypeptid, das die A- und B-Kette des Insulins und ein »connecting peptide« (C-Peptid) enthält. Das C-Peptid verbindet die endständige Karboxylgruppe der B-Kette mit der endständigen Aminogruppe der A-Kette (■ Abb. 2.6). Beim Präproinsulin ist die endständige Aminogruppe der B-Kette mit einem Signalpeptid verbunden, das beim Menschen aus 24 Aminosäuren besteht. Die Aminosäurefrequenz des Signalpeptids und des C-Peptids variiert von Spezies zu Spezies sehr viel mehr als die der A- und B-Ketten. Das Proinsulin weist nur etwa 1–3 % der biologischen Wirksamkeit des Insulins auf. Allerdings besitzt Proinsulin ausgeprägte antigene Eigenschaften.

In **Abb. 2.7** sind die intrazellulären Abläufe der Insulinsynthese und Sekretion schematisch dargestellt. Im Bereich des rauen endoplasmatischen Retikulums (RER) der  $\beta$ -Zelle wird das Präproinsulin synthetisiert. Durch mikrosomale Enzyme des RER erfolgt die Abspaltung des Signalpeptids

innerhalb von 1–2 min mit Bildung des Proinsulins. Nach Faltung, Oxidation der Sulfhydrylgruppen und Anordnung der späteren A- und B-Ketten des Insulinmoleküls wird das Proinsulin zum Golgi-Apparat der Zelle transportiert. Dort bildet sich ein Vesikelsack um das entstehende endokrine Granulum. Trypsinähnliche Proteasen spalten das Proinsulin in C-Peptid und Insulin. Daneben entstehen mehrere Intermediärprodukte, die sog. Split-Proinsuline. Etwa 1 h nach Beginn der Präproinsulinsynthese werden Insulin und C-Peptid in äquimolaren Mengen in der reifen Speichergranula nachgewiesen. Nach weiteren 2 h kann die Sekretion erfolgen, bei der etwa 96 % auf äquimolare Mengen von Insulin und C-Peptid entfallen, 1–2 % auf Proinsulin und 4 % auf Split-Proinsuline und Intermediärinsuline.

## Steuerung der Insulinsynthese und Sekretion

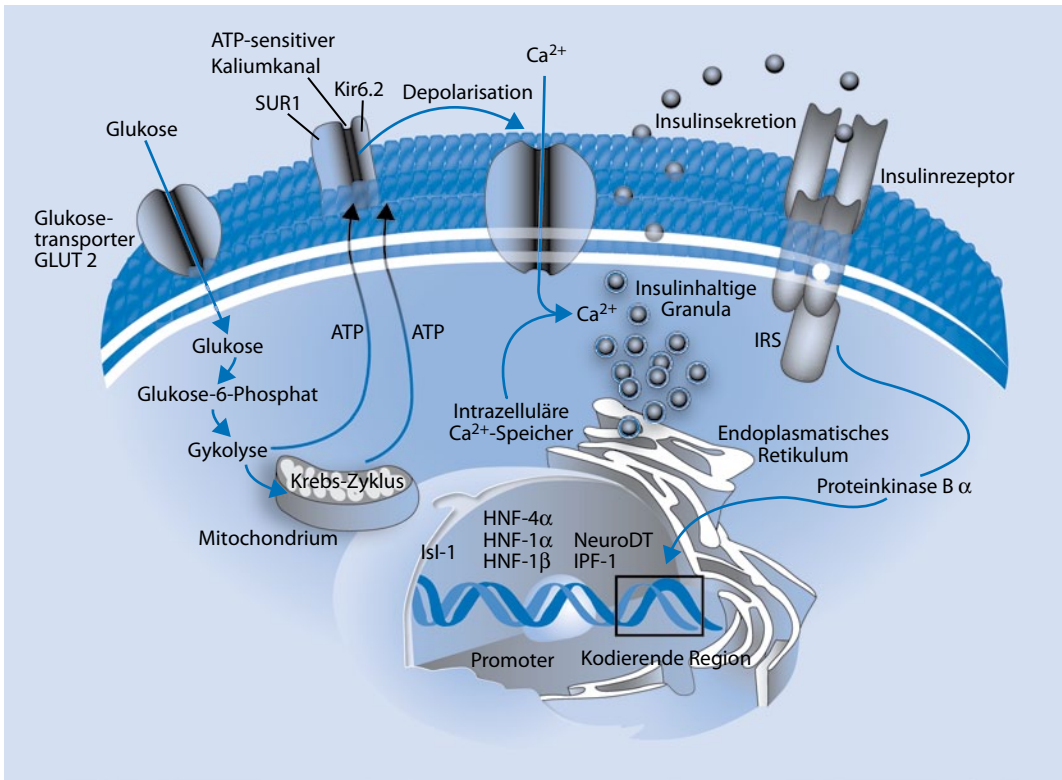
Die Transkriptionsfaktoren »Hepatocyte Nuclear Factor-(HNF)-1- $\alpha$ «, HNF-1- $\beta$  und HNF-4- $\alpha$  regu-



Mutationen des HNF-1- $\alpha$ -Gens werden dem MODY-3 zugeordnet, solche des HNF-1- $\beta$ -Gens dem MODY-5 und die des HNF-4- $\alpha$ -Gens dem MODY-1.

überragende Funktion bei der Regulation der Pankreasentwicklung ein, sondern er ist auch bei der Transkriptionssteuerung verschiedener  $\beta$ -Zellgene beteiligt, z. B. der Gene für Insulin, Glukokinase, Amyloidpolypeptidase und Glukosetransporter 2 (GLUT 2). Außerdem reguliert PDX-1 die glukosestimulierte Insulingentranskription. PDX-1 wird daher auch als »insulin promoter factor 1« (IPF 1) bezeichnet. Mutationen des PDX-1-Gens führen bei homozygoten Merkmalsträgern zur Pankreasagenesie (neonataler Diabetes), bei heterozygoten zum Auftreten eines MODY-4.

Der Transkriptionsfaktor NeuroD 1 ist ebenfalls bei der Regulation der Transkription des Insulins beteiligt. Er ist jedoch auch für eine normale

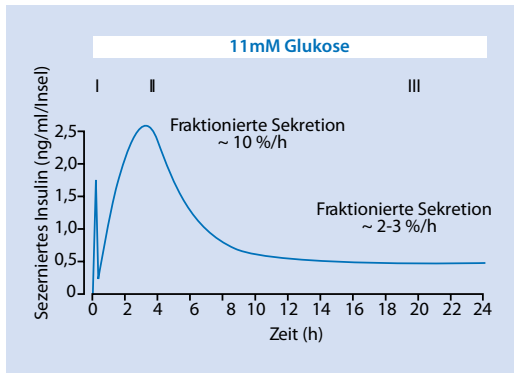


■ **Abb. 2.8** Ablauf und Regulation der Insulinsynthese und Sekretion in der  $\beta$ -Zelle: Einstrom von Glukose in die  $\beta$ -Zelle mit Hilfe des Glukosetransporters GLUT-2. Glukokinase katalysiert den Transfer von ATP auf Glukose mit Bildung von Glukose-6-Phosphat. Die Bildung von ATP in Glykolyse und Krebszyklus führt zum Verschluss des ATP-sensitiven  $\text{K}^+$ -Kanals, zur Depolarisation der Plasmamembran und zum Einstrom von extrazellulärem  $\text{Ca}^{2+}$ , das gemeinsam mit intrazellulärem  $\text{Ca}^{2+}$  die Fusion der Speichergranula mit der Plasmamembran bewirkt. Durch Zerreißen der Membran wird Insulin in die Zirkulation sezerniert (Exozytose). Die Insulinsynthese erfolgt im endoplasmatischen Retikulum und wird durch eine Reihe von Transkriptionsfaktoren reguliert, u. a. durch die MODY-assoziierten Transkriptionsfaktoren HNF-4 $\alpha$  (MODY-1), HNF-1 $\alpha$  (MODY-3), HNF-1 $\beta$  (MODY-5), IPF-1 bzw. PDX-1 (MODY-4) und NeuroD 1 (MODY-6)

Pankreasentwicklung notwendig. Mutationen des NeuroD-1-Gens werden dem sehr seltenen MODY-6 zugeordnet. Es ist damit zu rechnen, dass in Zukunft weitere Genmutationen und damit neue MODY- oder MODY-ähnliche Diabetestypen identifiziert werden.

In ■ Abb. 2.8 sind Ablauf und Regulation der Glukose-induzierten Insulinsynthese und Sekretion in der  $\beta$ -Zelle schematisch dargestellt. Der Glukosetransport in die  $\beta$ -Zelle erfolgt energieunabhängig entsprechend dem Konzentrationsgefälle. Der passive Transport durch die Lipidschichten der Zellmembran erfordert die Bindung an spezifische Carrier-Proteine, die Glu-

kosetransporter. Der Glukosetransporter GLUT 2 ermöglicht den Einstrom in die  $\beta$ -Zelle. Die  $\beta$ -Zellglukokinase katalysiert den Transfer von Phosphat aus ATP (Adenosintriphosphat) auf Glukose und wirkt durch die Bildung von Glukose-6-Phosphat als Glukosesensor der  $\beta$ -Zelle. Die Glukokinase-reaktion steuert damit das Ausmaß des Einstroms von Glukose in die Stoffwechselwege der Glykolyse und des Krebszyklus. Die hepatische Glukokinase ermöglicht den Aufbau von Glykogen aus Glukose. Heterozygote Mutationen des Glukokinasegens haben einen MODY-2, homozygote einen neonatalen Diabetes zur Folge. Die Plasmaglukose ist bei Glukokinasemangel sowohl durch die verminderte



■ **Abb. 2.9** Drei-Phasen-Modell der Insulinsekretion während konstanter Glukosestimulation. (Adaptiert nach Bolaffi et al. 1986)

Glukose-induzierte Insulinsekretion wie durch die verminderte Glykogenspeicherung in der Leber erhöht.

Die Bereitstellung von ATP aus Glykolyse und Krebszyklus führt zum Verschluss des ATP-sensitiven  $K^+$ -Kanals. Dadurch kommt es zur Depolarisation der Plasmamembran und zum Einstrom von extrazellulärem Kalzium. Das bewirkt, zusammen mit intrazellulärem Kalzium, das aus Speichern mobilisiert wird, eine Fusion der Insulin enthaltenden Speichergranula mit der Plasmamembran. Bei Zerreißen der Membran wird Insulin im Sinne einer Exozytose in die Zirkulation sezerniert.

Die Transkription des Insulingens und anderer  $\beta$ -Zellgene (z. B. Glukokinasegen) wird durch viele Transkriptionsfaktoren reguliert, u. a. durch die genannten MODY-assoziierten Transkriptionsfaktoren. Daneben beeinflusst das Insulin jedoch auch in autokriner Weise die Gentranskription, da die  $\beta$ -Zelle ebenfalls Insulinrezeptoren aufweist.

Die Insulinsekretion wird durch viele verschiedene Substanzen beeinflusst. Der wichtigste physiologische Reiz ist der Anstieg der Glukosekonzentration in der extrazellulären Flüssigkeit. Andere Zucker, Aminosäuren, Fettsäuren und ihre Derivate wirken ebenfalls als Sekretionsreiz (z. B. Mannose, Fruktose, Glukosamin, Sorbit, Xylit), weiterhin in der Reihenfolge ihrer Wirkung Arginin, Lysin, Leuzin, Phenylalanin, Valin, Methionin sowie Caproat und Caprylat. Cholinerge Agonisten fördern die Insulinfreisetzung. Glukagon stimuliert

ebenfalls die Insulinsekretion. Es wird bei peroraler Glukosegabe daher eher sezerniert als Insulin.

Auch andere Hormone (ACTH, Wachstumshormon, TSH, Prostaglandine) fördern die Insulinausschüttung. Mehrere gastrointestinale Hormone weisen eine Insulin-freisetzende Wirkung auf (GIP, GRP, Cholezystokinin, VIP, GLP-1). Somatostatin, Pankreastatin und Insulin hemmen die Insulinsekretion ebenso wie  $\beta$ -adrenerge,  $\alpha$ -adrenerge und dopaminerge Agonisten. Mehrere Neurotransmitter vermindern die Glukose-induzierte Insulinexozytose. Am besten ist das aus 29 Aminosäuren bestehende Galanin charakterisiert.

Verschiedene pharmakologische Substanzen beeinflussen die Insulinausschüttung aus den  $\beta$ -Zellen.  $\beta$ -Rezeptorenblocker wie Propranolol hemmen die Insulinfreisetzung, weiterhin Diazoxid und Mannuheptulose, während die Sulfonylharnstoffe die Sekretion fördern.

Bei konstanter Glukosestimulation über 24 h läuft die Insulinsekretion in 3 Phasen ab, da das Insulin in unterschiedlich schnell mobilisierbaren Speichern vorliegt (■ Abb. 2.9).

## 2.2.3 Clearance und Degradation des Insulins

Sämtliche Insulin-sensitiven Gewebe können Insulin nicht nur aufnehmen, sondern auch abbauen. Clearance und Degradation des Insulins werden durch den Insulinrezeptor vermittelt. Die wichtigsten Organe für die Insulin-Clearance sind die Leber (50 %) und die Niere (25 %). Wegen der Notwendigkeit, auf Veränderungen der Blutglukosekonzentration schnell zu reagieren, besitzt das Insulin eine sehr kurze Halbwertszeit. Sie liegt bei physiologischer Sekretion in das Pfortadersystem zwischen 4 und 6 min. Bei Patienten mit Diabetes, die Insulin intrakutan injizieren, ist die Halbwertszeit verlängert, da nicht die Leber, sondern die Niere erstes Zielorgan der Insulin-Clearance ist.

### Insulin-Clearance

Etwa 50 % des portalen Insulins werden von der Leber aufgenommen. Die Clearancerate wird sowohl von physiologischen wie von pathologischen Faktoren beeinflusst. Aufnahme- und Abbauraten sind

nicht identisch, da ein Teil des rezeptorgebundenen Insulins an die Zirkulation zurückgegeben wird. Glukosegaben erhöhen die hepatische Insulinaufnahme, wahrscheinlich über Signale vom Darm, da intraportale Glukoseinfusionen diese Wirkung nicht aufweisen. Die hepatische Insulin-Clearance ist bei Adipositas und Typ-2-Diabetes vermindert. Neben Insulinresistenz und Hypersekretion ist die verminderte Insulin-Clearance eine der Ursachen für die Erhöhung der Konzentration zirkulierenden Insulins. Die Clearance wird auch hormonell beeinflusst. Östradiol und Progesteron sowie Katecholamine und Wachstumshormon vermindern die hepatische Insulin-Clearance.

Die Niere ist das wichtigste Organ der extrahepatischen Insulin-Clearance. Sie nimmt etwa 50 % des peripheren Insulins auf, daneben auch 50 % des zirkulierenden Proinsulins und 70 % des C-Peptids. Die Insulin-Clearance erfolgt in der Niere durch glomeruläre Filtration und Reabsorption durch die proximalen Tubuli sowie durch Degradation. Da 99 % des gefilterten Insulins reabsorbiert werden, gelangen nur Spuren von Insulin in den Urin. Die Degradation des Insulins entspricht der in der Leber. Die Insulin-Clearance der Niere spielt bei Insulin-behandelten Patienten eine sehr viel wichtigere Rolle als bei Stoffwechselgesunden, da subkutan injiziertes Insulin primär die Niere und erst sekundär die Leber passiert. Bei Niereninsuffizienz ist daher der Insulinbedarf dramatisch reduziert.

Insulin wird in allen Insulin-sensitiven Geweben aufgenommen und abgebaut. Nach Leber und Niere weist das Muskelgewebe die höchste Clearance auf. Aber auch Adipozyten, Fibroblasten, Monozyten, Lymphozyten, Erythrozyten, gastrointestinale Zellen und andere Zellen, die Insulinrezeptoren aufweisen, können Insulin aufnehmen und degradieren.

### Insulindegradation

Das »Insulin-degrading Enzyme« (IDE) gilt heute als Schlüsselenzym der Insulindegradation. IDE ist eine Metalloproteinase mit einem Molekulargewicht von 110.000. Die IDE-Einzelgene von Mensch und Maus sind auf den Chromosomen-10 bzw. 19 lokalisiert. 95 % des IDE findet sich in der löslichen Zytosolfraction, kleine Mengen auch in der Plasmamembran sowie in Endosomen und Peroxysomen.

Obwohl Insulin das bevorzugte Substrat des IDE ist, können auch andere Peptide durch das Enzym degradiert werden (Glukagon, IGF-1 und -2, TGF- $\alpha$  u. a.). Alle insulinsensitiven Zellen enthalten IDE. Das Enzym ist jedoch auch in anderen Zellen nachweisbar (z. B. in germinalen Epithelien).

Über die Bindung an den Insulinrezeptor sind sowohl die Wirkung wie die Degradation des Insulins miteinander verbunden. Das Rezeptor-gebundene Insulin kann

- durch das IDE der Zellmembran degradiert,
- an die Zirkulation zurückgegeben oder
- ins Zellinnere durch Endozytose aufgenommen werden,

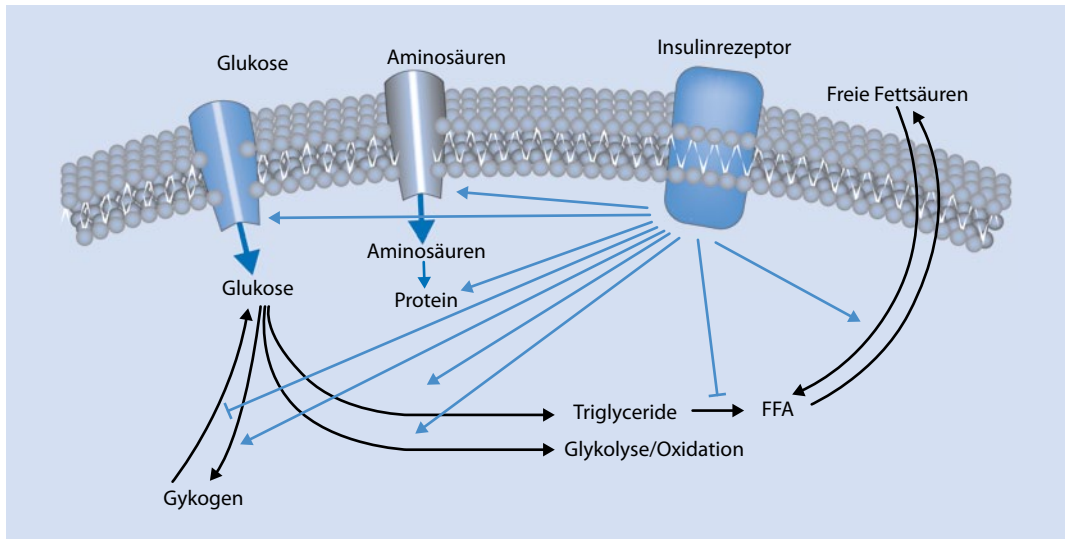
um dort seine Wirkung zu entwickeln, bevor es endgültig durch das intrazelluläre IDE abgebaut wird.

Der erste Degradationsschritt erfolgt IDE-katalysiert in der Membran bzw. intrazellulär mit der Abspaltung von zwei oder mehr Fragmenten aus der B-Kette. Es folgt die Reduktion der Disulfidbindungen durch PDI, sodass eine intakte A-Kette und mehrere B-Kettenfragmente entstehen, die schließlich durch lysosomale proteolytische Enzyme zu den endgültigen Abbauprodukten gespalten werden.

### 2.2.4 Wirkung des Insulins

Insulin stimuliert die Aufnahme von Glukose, Fettsäuren und Aminosäuren in die Zellen. Es erhöht die Aktivität bzw. Expression von Enzymen, die die Synthese von Glykogen, Lipiden und Proteinen katalysieren, während es die Aktivität bzw. Expression der Enzyme hemmt, die für deren Abbau zuständig sind. Insulin steuert die Glukosehomöostase, indem es die Glukoseaufnahme und Glykolyse in Muskulatur und Fettgewebe fördert und die Glukoneogenese und Glykogenolyse in der Leber hemmt. Insulin ist damit der wichtigste Regulator des Gleichgewichts zwischen Glukoseabsorption im Darm, Glukoseproduktion in der Leber und Glukoseaufnahme und Abbau in den peripheren Geweben (■ Abb. 2.10).

Die vielfältigen Insulinwirkungen werden über einen spezifischen Insulinrezeptor an die Zielzellen



**Abb. 2.10** Regulation des Stoffwechsels durch Insulin: Über den Insulinrezeptor fördert Insulin die Synthese und Speicherung von Kohlenhydraten, Lipiden und Proteinen. Es hemmt deren Abbau und Abgabe an die Zirkulation. Insulin stimuliert die Aufnahme von Glukose, Aminosäuren und Fettsäuren in die Zellen. Es erhöht die Expression und Aktivität von Enzymen, die die Glykogen-, Lipid- und Proteinsynthese katalysieren und hemmt die Expression und Aktivität von Enzymen, die deren Degradation katalysieren. FFA freie Fettsäuren. (Adaptiert nach Saltiel u. Kahn 2001)

vermittelt. Durch ihn werden Signaltransduktionsmechanismen in Gang gesetzt, die das Insulinsignal an die intrazellulären Stoffwechselsysteme weiterleiten. Insulin bewirkt einerseits die Aktivierung bzw. Inaktivierung von Enzymen des Kohlenhydrat-, Fett- und Proteinstoffwechsels (z. B. durch Phosphorylierungen bzw. Dephosphorylierungen), andererseits reguliert es die Enzymaktivitäten durch die Stimulation bzw. Hemmung der Transkription der Gene, die diese Enzyme exprimieren.

#### Die wichtigsten über einen spezifischen Insulinrezeptor vermittelten intrazellulären Insulinwirkungen

- Regulation von Transporteraktivitäten (Glukose, Fettsäuren, Aminosäuren, Ionen)
- Direkte Stimulation bzw. Hemmung von Enzymaktivitäten durch Phosphorylierungs- bzw. Dephosphorylierungsreaktionen
- Indirekte Stimulation bzw. Hemmung von Enzymaktivitäten durch Regulation der Genexpression von Enzymen auf Transkriptionsebene

➤ **Insulinmangel bei Typ-1-Diabetes (Prä-rezeptorstörung) und Insulinresistenz bei Typ-2-Diabetes (Rezeptor- bzw. Postrezeptorstörung) führen zu einer erheblichen Dysregulation der komplexen intrazellulären Stoffwechselvorgänge.**

#### Insulinwirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel

Insulin fördert den Glukosetransport in die Zellen von Muskulatur und Fettgewebe, die Glykolyse in allen Geweben und die Glykogensynthese in Leber und Muskulatur. Es hemmt dagegen die Glykogenolyse in Leber und Muskulatur und die Glukoneogenese in der Leber.

#### Glukosetransport

Insulin erhöht die Transportrate von Glukose durch die Zellmembran in das Fett- und Muskelgewebe. Etwa 75 % des insulinabhängigen Glukosetransportes betrifft die Muskulatur, nur ein kleiner Teil das Fettgewebe. Insulin fördert den Glukosetransport, indem es die Translokation des Glukosetransporters GLUT 4 aus einem intrazellulären Pool an



die Zelloberfläche stimuliert. GLUT 4 wird in Mikrovesikeln gespeichert, die über zytoplasmatische Mikrotubuli zur Zellmembran transportiert werden, dort andocken, fusionieren und das GLUT-4-Protein exponieren. Die Förderung des Glukosetransports durch Steigerung der Exozytoserate der GLUT-4-Vesikel durch Insulin wird über den Signaltransduktionsmechanismus vom Insulinrezeptor auf die Glukosetransporter gesteuert. Bei dieser Insulin-stimulierten GLUT-4-Translokation wirken viele neu entdeckte Regulationsfaktoren mit. Phosphorylierungsreaktionen sowie Kinesin- und Aktinwirkungen scheinen eine Rolle zu spielen, außerdem sog. synaptische Vesikelproteine mit entsprechenden Rezeptoren, den SNARE-(Soluble N-Ethylmaleimide-Sensitive Factor Activating Protein Receptor-)Proteinen. Neben der Translokation der Glukosetransporter zur Zellmembran wird auch deren Synthese in endosomal Strukturen durch Insulin stimuliert.

Die maximale Transportrate des für Muskel- und Fettzellen zuständigen GLUT 4 liegt im physiologischen Blutglukosebereich bei 5 mmol und kann durch Insulin um den Faktor 15–40 gesteigert werden. Mit Hilfe des Insulin-regulierten Glukosetransportes über GLUT 4 ist es daher möglich, die postprandiale Blutglukosekonzentration innerhalb physiologischer Grenzen zu halten, auch wenn unterschiedlichste Mengen von Glukose aus dem Darm resorbiert werden.

Die Funktion des für die Leberzellen und die  $\beta$ -Zelle zuständigen Glukosetransporters GLUT 2 wird dagegen nicht durch Insulin beeinflusst. Die maximale Transportrate von GLUT 2 liegt allerdings mit 17–20 mmol sehr hoch. Daher ist in der Leber ein bidirektionaler Glukosetransport über den gesamten Bereich unterschiedlicher Glukosekonzentrationen möglich. Die Glukoseaufnahme verläuft daher bei Hemmung der hepatischen Glukoseproduktion durch Insulin genauso ungestört wie die Glukoseabgabe bei Stimulierung der Glukoseproduktion durch Glukagon. Auch die  $\beta$ -Zelle kann proportional, entsprechend dem Konzentrationsgefälle, Glukose aus dem Blut aufnehmen, auch noch bei sehr hohen Blutglukosekonzentrationen. Das ist wichtig, da die für die Glukosehomöostase notwendige Insulinsekretionsrate von der intrazellulären Glukosekonzentration der  $\beta$ -Zelle bestimmt wird.

## Glykolyse

Die Glykolyserate wird durch Insulin deutlich erhöht. Insulin fördert nicht nur die Aktivität, sondern auch die Expression der bei der Glykolyse beteiligten Enzyme. Intrazellulär steigert Insulin die Aktivität verschiedener Schlüsselenzyme der Glykolyse. Zunächst wird die Hexokinase aktiviert, die nach Aufnahme von Glukose in die Zelle die Bildung von Glukose-6-Phosphat katalysiert, später die Phosphofruktokinase-1 (PFK-1), durch die Fruktose-6-Phosphat in Fruktose-1,6-Diphosphat umgesetzt wird. Außerdem stimuliert Insulin die Aktivität der Phosphofruktokinase-2 (PFK-2), die durch Bildung von Fruktose-2,6-Diphosphat aus Fruktose-6-Phosphat ebenfalls die Aktivität der PFK-1 stimuliert und damit zur vermehrten Bildung von Fruktose-1,6-Diphosphat beiträgt. Durch hohe Fruktose-1,6-Diphosphat-Spiegel wird wiederum die Pyruvatkinase stimuliert, sodass die Umwandlung von Phosphoenolpyruvat in Pyruvat gesteigert wird, aus dem schließlich Acetyl-CoA (Acetyl-Coenzym A), das Endprodukt der Glykolyse, entsteht.

## Glykogensynthese und Glykogenolyse

➤ **Insulin stimuliert die Glykogensynthese und hemmt die Glykogenolyse. Das in den meisten Geweben nachweisbare Glykogen stellt eine jederzeit mobilisierbare Speicherform der Glukose dar. Die wichtigsten Glykogendepots sind in Leber und Muskulatur lokalisiert.**

Das Schlüsselenzym der Glykogensynthese ist die Glykogensynthase, das der Glykogenolyse die Phosphorylase. Die Aktivität beider Enzyme ist gegenläufig koordiniert, d. h. das eine wird inaktiviert, wenn das andere aktiviert wird. Nach einer Mahlzeit stimuliert der Anstieg der Plasmaspiegel von Glukose und Insulin die Glykogensynthese, während gleichzeitig die Glykogenolyse gehemmt wird. Während der Postabsorptionsphase ist es umgekehrt.

Die Glykogensynthese verläuft über die Bildung von Glukose-6-Phosphat, Glukose-1-Phosphat und Uridin-Diphosphat-Glukose (UDPG) unter dem Einfluss von Hexokinase, Phosphoglukomutase

und Uridyltransferase. Anschließend katalysiert die Glykogensynthese den Transfer von UDPG an einen Glykogen-Primer. Die Glykogenkettenverzweigungen werden schließlich durch Branching-Enzyme katalysiert. Die Glykogensynthese wird über das Substratangebot, d. h. das Glukoseangebot, gesteuert. Daneben fördert Insulin die Glykogensynthese hormonell und zwar ausschließlich über die Stimulation der Glykogensynthaseaktivität.

Auf molekularer Ebene stimuliert Insulin die Glykogensynthese über die Verminderung des Phosphorylierungsstatus der Glykogensynthese durch Hemmung der cAMP-abhängigen Proteinkinase A (PKA) und der Glykogensynthasekinase 3 (PSK-3) sowie durch Aktivierung der Proteinphosphatase 1 (PP 1). Insulin stimuliert PP 1 nicht global. Nur die über sog. Gerüstproteine an das Glykogen-Molekül gebundene PP 1 wird durch Insulin aktiviert, sodass die Glykogensynthese als Substrat der PP 1 dephosphoryliert und damit aktiviert werden kann.

Wenn nach einer Mahlzeit die Glykogendepots gefüllt sind, wird fast die gesamte in Leber und Muskulatur eintretende Glukose zu Laktat abgebaut bzw. im Krebszyklus oxidiert. In der Muskulatur regelt der Glykogengehalt des Gewebes auch den Glukoseeinstrom, d. h. bei vollen Glykogendepots wird der Glukoseeinstrom gehemmt. Drei bis vier Stunden nach einer Mahlzeit, d. h. während der Postabsorptionsphase, beginnt die Leber, Glukose an die Blutzirkulation abzugeben. Die Glukose stammt zunächst fast ausschließlich aus der Glykogenolyse.

Bevor das Schlüsselenzym der Glykogenolyse, die Phosphorylase, Glukoseeinheiten in Form von Glukose-1-Phosphat freisetzen kann, katalysieren Debrancher-Enzyme die Abspaltung von Ketten aus dem Glykogenmolekül. Die Phosphorylase bestimmt das Ausmaß der Glykogenabbaurate. Unter dem Einfluss von Phosphoglukomutase wird anschließend Glukose-1-Phosphat in Glukose-6-Phosphat umgewandelt. Nach Dephosphorylierung durch Glukose-6-Phosphatase entsteht daraus freie Glukose, die als einziger Zucker aus der Leberzelle diffundieren kann.

Andere Gewebe können ebenfalls Glykogen speichern. Da sie jedoch keine Glukose-6-Phosphatase-Aktivität aufweisen und daher keine freie Glukose freisetzen können, spielen sie für die Glu-

kosehomöostase eine nachgeordnete Rolle. Das gilt v. a. für die Muskulatur, die insgesamt mehr Glykogen speichern kann als die Leber. Das Muskelglykogen wird bei Muskeltätigkeit, aber auch durch Anoxie, mobilisiert und bis zum Glukose-1-Phosphat abgebaut, um für die eigene Energiegewinnung bereitgestellt zu werden.

Die Phosphorylaseaktivität ist 50-mal größer als die der Glykogensynthese. Um die Glykogenolyse effektiv zu hemmen, muss daher die maximale Phosphorylaseaktivität durch Insulin um 99 % reduziert werden. Im Wechselspiel zwischen Glykogensynthese und Glykogenolyse spielt daher die Hemmung der Phosphorylaseaktivität eine entscheidende Rolle.

Auf molekularer Ebene kommt die Blockierung der Phosphorylaseaktivität durch die Reduktion des Phosphorylierungsgrades und damit die Deaktivierung der cAMP-abhängigen Proteinkinase zustande. Dadurch wird die aktive Phosphorylase A in die inaktive Phosphorylase B transformiert.

## Glukoneogenese

➤ **Insulin hemmt die Produktion und Freisetzung von Glukose aus der Leber nicht nur durch die Hemmung der Glykogenolyse, sondern auch durch die Blockierung der Glukoneogenese.**

Der Begriff Glukoneogenese beschreibt die Bildung von Glukose aus verschiedenen Substraten, ausgenommen Monosacchariden und Glykogen. Glukoneogenese findet nicht nur in der Leber, sondern in geringem Maße auch in der Nierenrinde statt. Aminosäuren, insbesondere Alanin und Glutamin sowie Laktat und Glyzerol sind die wichtigsten Substrate für die Glukoneogenese.

Die Aminosäuren stammen vorwiegend aus dem Proteinkatabolismus der Skelettmuskulatur. Dabei nimmt das Alanin eine Schlüsselstellung ein. Es stammt nicht nur aus dem Abbau der intrazellulären Proteine, sondern es wird auch im Muskelgewebe im Glukose-Alanin-Glukose-Zyklus durch Transaminierung aus Pyruvat gebildet. Keine andere Aminosäure wird in dem Maße von der Muskulatur abgegeben und von der Leber aufgenommen und zu Glukose umgewandelt wie Alanin.

Ein Drittel des für die Glukoneogenese utilisierten Laktats stammt aus Geweben mit anaeroben Stoffwechsel, z. B. Erythrozyten, Leukozyten, Nierenmark und Retina, zwei Drittel aus Skelettmuskulatur, Dünndarm, Haut und Fettgewebe. Laktat wird zunächst zu Pyruvat, dann über Oxalazetat und Phosphoenopyruvat zu Glukose umgewandelt.

➤ **Die Konversion von Laktat zu Glukose in der Leber und die kontinuierliche Bildung von Laktat aus Glukose in anderen Geweben stellen einen Kreislauf von Kohlenstoff dar, den man auch als Cori-Zyklus bezeichnen hat.**

Dabei handelt es sich um einen nicht durch Hormone gesteuerten Mechanismus zur Regulation der Blutglukosekonzentration. In Abhängigkeit vom Durchlauf kann durch den Cori-Zyklus mehr oder weniger utilisierbare Glukose bereitgestellt werden.

Das Fettgewebe ist die wichtigste Quelle für die Bereitstellung von Glyzerol und damit der wichtigste langfristig genutzte Energiespeicher. Bei der Hydrolyse von Triglyzeriden entstehen Glyzerol, das für die Glukoneogenese genutzt wird, und Fettsäuren, deren Oxidation Energie für die Glukoneogenese freisetzt.

Während der Postabsorptionsphase wird Glukose ausschließlich von der Leber bereitgestellt. Zunächst entfallen etwa 70–80 % der gesamten Glukoseabgabe auf die Glykogenolyse und nur 20–30 % auf die Glukoneogenese. 10–15 % der gesamten Glukoseproduktion der Leber stammen aus der Umwandlung von Glukose aus Laktat, 1–2 % aus Glyzerol und 5–12 % aus Alanin. Bei länger dauerndem Fasten wird die Glukoneogenese jedoch zunehmend die wichtigste Glukosequelle. Daher steigt die Glukoseproduktion aus Alanin nach 2–3 Tagen Fasten auf 26 %.

Das Ausmaß der Glukoneogenese wird in erster Linie über das Substratangebot gesteuert, d. h. hohe Konzentrationen von Aminosäuren, Laktat und Glyzerol steigern die Glukoneogenese. Durch Erhöhung der Glukosekonzentration wird die Glukoneogenese dagegen blockiert. Insulin vermindert die Freisetzung von Aminosäuren aus Proteinen durch Hemmung der Proteolyse, die von Glyzerol und Fettsäuren aus Triglyzeriden durch Hemmung

der Lipolyse und die von Laktat durch Stimulierung der Pyruvatdehydrogenase.

Auf molekularer Ebene hemmt Insulin die Glukoneogenese durch die direkte Beeinflussung der Aktivität einer Reihe von Glukoneogenesenzymen und durch die Hemmung der Expression von Genen, die diese Enzyme kodieren.

Insulin hemmt z. B. eine der Schlüsselreaktionen der Glukoneogenese, indem es die Umsatzrate der Fruktose-1,6-Diphosphatase (FDP) reduziert, die Fruktose-1,6-Diphosphat in Fruktose-6-Phosphat umwandelt. Durch Blockierung der Transkription des Gens, das die Phospho-Enolpyruvat-Karboxy-Kinase (PEPCK) kodiert, hemmt Insulin einen weiteren Umsatz-bestimmenden Schritt der Glukoneogenese. PEPCK katalysiert die Umwandlung von Oxalazetat in Phosphoenolpyruvat. Außerdem vermindert Insulin die Transkription der Gene, die FDP und die nur in der Leber vorkommende Glukose-6-Phosphatase kodieren. Glukose-6-Phosphatase katalysiert die Umwandlung von Glukose-6-Phosphat in freie Glukose. Allerdings hemmt Insulin die Glukoneogenese auch durch die Stimulation der Glykolyse, indem es die Transkription der Gene fördert, die die Glykolyseenzyme Glukokinase, PFK-1 und Pyruvatkinase kodieren.

Obwohl die Transkriptionsfaktoren, die die Expression der für die Glukoneogenese wichtigen Gene steuern, noch nicht genau bekannt sind, scheinen die Transkriptionsfaktorfamilien Fox und SREBP bei der Steuerung der Glukoneogeneserate eine wichtige Rolle zu spielen.

### **Insulinwirkung auf den Fettstoffwechsel**

Insulin stimuliert die Lipogenese, d. h. die Synthese von Fettsäuren und Triglyzeriden. Es vermindert dagegen die Lipolyse v. a. im Fettgewebe und senkt damit den Plasmaspiegel von freien Fettsäuren. Insulin hemmt die Fettsäureoxidation in Muskulatur und Leber und vermindert die Bildung von Ketonen in der Leber.

### **Lipogenese**

➤ **Insulin steigert die Lipogenese durch die Verbesserung des Substratangebots und die Aktivierung lipogenetischer Enzyme.**

Insulin vermittelt nicht nur die Aufnahme von Glukose in die Adipozyten, sondern es fördert auch den glykolytischen Abbau von Glukose. Als Endprodukt der Glykolyse entsteht Acetyl-CoA, das durch Karboxylierung in Malonyl-CoA, das Ausgangssubstrat der Fettsäuresynthese, umgewandelt wird. Die vermehrt anfallenden Fettsäuren werden zu Triglyzeriden nicht nur im Fettgewebe, sondern auch in anderen Geweben verestert.

Insulin fördert die Lipogenese jedoch nicht nur durch ein vermehrtes Substratangebot, sondern auch durch die direkte Aktivierung der Lipid-synthetisierenden Enzyme (z. B. Pyruvatdehydrogenase, Acetyl-CoA-Carboxylase, Fettsäuresynthase) sowie durch die Expression der Gene, die diese Enzyme kodieren.

Auf die Fettsäuresynthese hat die Transkriptionsfaktorfamilie SREBP mit seiner Isoform SREBP-1c entscheidenden Einfluss. Insulin fördert die Fettsäuresynthese in Fettgewebe und Leber, indem es die Expression von SREBP-1c stimuliert.

### Lipolyse, Fettsäureoxidation und Ketogenese

➤ **Insulin hemmt nicht nur die Lipolyse, sondern auch die Fettsäureoxidation und v.-a. die Ketogenese in der Leber.**

Insulin hemmt die Lipolyse durch die Verminderung von cAMP, indem es eine cAMP-spezifischen Phosphodiesterase stimuliert. Dadurch wird die cAMP-abhängige Proteinkinase A gehemmt, die für die Phosphorylierung, d. h. Aktivierung der Lipase, zuständig ist. Die Aktivität der Lipase wird durch Insulin jedoch nicht nur über die Proteinkinaseblockierung gehemmt, sondern auch durch eine Phosphataseaktivierung. Dadurch wird die durch Phosphorylierung aktivierte Lipase vermehrt dephosphoryliert und damit inaktiviert.

Das Fettgewebe ist der wichtigste Triglyzeridspeicher des Körpers. Durch die Lipolyse werden langkettige Fettsäuren freigesetzt und über das Blut an verschiedene Gewebe transportiert, um dort oxidiert zu werden. Durch die Fettsäureoxidation z. B. in der Muskulatur wird nicht nur Energie freigesetzt, sondern auch die Utilisationsrate von

Glukose herabgesetzt. Darüber hinaus wird jedoch auch die Oxidationsrate der Fettsäuren durch ein vermehrtes Glukoseangebot gesenkt. Es besteht daher eine reziproke Beziehung zwischen den Oxidationsraten der beiden Substrate. Dieser Kontrollmechanismus wird auch als Glukose-Fettsäure-Zyklus bezeichnet.

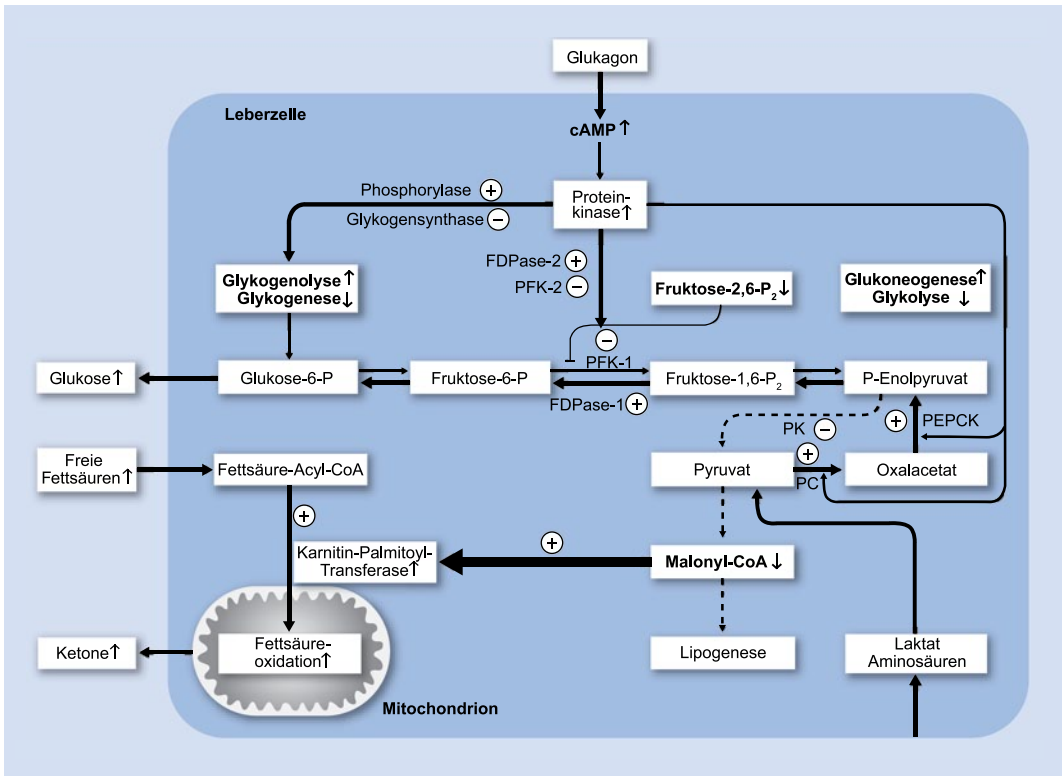
Der umsatzbestimmende Faktor der Fettsäureoxidation ist daher die Lipolyserate im Fettgewebe, durch die die Konzentration der Fettsäuren im Blut erhöht wird. Insulin hemmt durch Blockierung der Aktivität der Fettgewebslipase die Lipolyserate, senkt dadurch die Plasmaspiegel der Fettsäuren und vermindert deren Oxidation.

Glukagon hat eine entgegengesetzte Wirkung. Durch Erhöhung der Konzentration von Acyl-CoA steigert es die Aktivität der Lipase und damit die Lipolyserate. Fettsäuren werden vermehrt für die Oxidation bereitgestellt.

Das Schlüsselenzym der Fettsäureoxidation ist die Karnitin-Palmitoyl-Transferase 1. Sie katalysiert die Bildung von Fettsäurekarnitin (Acylkarnitin), wodurch die Passage der aktivierten Fettsäuren (Fettsäure-Acyl-CoA) durch die mitochondriale Membran erleichtert und deren Oxidation gesteigert wird.

Malonyl-CoA, dessen Bildung durch Acetyl-CoA-Carboxylase katalysiert wird, ist einerseits das Ausgangssubstrat der Fettsäuresynthese. Bei hohem Glukoseangebot mit entsprechender Insulinwirkung wird durch gesteigerte Glykolyse vermehrt Malonyl-CoA gebildet und damit die Fettsäuresynthese gefördert. Andererseits hemmt Malonyl-CoA die Aktivität der Karnitin-Palmitoyl-Transferase 1. Dadurch wird die Bildung von Acyl-Karnitin vermindert und die Passage von Fettsäure-Acyl-CoA in die Mitochondrien blockiert. Die Fettsäureoxidation wird gehemmt.

Bei Glukose- bzw. Insulinmangel ist durch die verstärkte Glukagonwirkung nicht nur die Lipolyse gesteigert und damit die Bereitstellung von Fettsäuren erhöht, sondern auch die Malonyl-CoA-Bildung durch Hemmung der Glykolyse vermindert. Dadurch ist die Fettsäuresynthese gehemmt und die Karnitin-Palmitoyl-Transferase 1 kann ungehemmt wirksam werden. Durch die vermehrte Bildung von Acylkarnitin wird der Einstrom von



■ **Abb. 2.11** Insulin-Glukagon-Antagonismus: Stoffwechselregulation bei Insulinmangel und Glukagonüberschuss in der Leberzelle. Aktivierung der Proteinkinase durch cAMP. Phosphorylase stimuliert, Glykogensynthase gehemmt. Glykogenolyse gesteigert, Glykogenese vermindert. Durch Insulinmangel Glukoneogenese gesteigert, Glykolyse gehemmt. Verminderter Anfall von Malonyl-CoA, d. h. Hemmung der Fettsäuresynthese und Aktivierung der Carnitin-Palmitoyl-Transferase. Vermehrte Bildung von Azykarnitin. Dadurch Steigerung der Fettsäureoxidation und Ketogenese. Bei Insulinmangel gesteigerte Lipolyse. Dadurch vermehrter Anfall von freien Fettsäuren für Oxydation und Ketogenese. (Adaptiert nach Starke 2000)

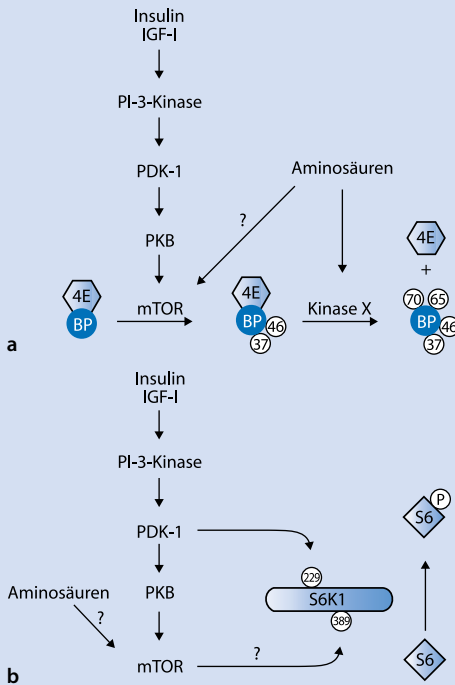
aktivierten Fettsäuren in die Mitochondrien erheblich gesteigert. Der vermehrte Einstrom von Fettsäure-Acyl-CoA führt dazu, dass die Fettsäuren nicht nur zur Energiegewinnung oxidiert, sondern auch im Hydroxymethylglutaryl-Zyklus zu  $\beta$ -Hydroxybutyrat und Azetazetat im Sinne einer gesteigerten Ketogenese transformiert werden.

In ■ Abb. 2.11 wird die Bedeutung des Insulin-Glukagon-Antagonismus für die Regulation des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels deutlich. Dargestellt sind die Folgen der gesteigerten Glukagonwirkung bei Insulinmangel auf die Stoffwechselvorgänge der Glykogenolyse und Glykogenese, Glukoneogenese und Glykolyse sowie Fettsäureoxidation und Ketogenese in der Leber.

## Insulinwirkung auf den Proteinstoffwechsel

➤ **Insulin stimuliert die Proteinsynthese in Muskulatur, Fettgewebe, Leber und anderen Geweben und blockiert die Proteolyse v. a. in der Muskulatur. Insulin steigert die Transportrate von Aminosäuren in verschiedene Gewebe, insbesondere in die Leber.**

Die Proteinsynthese wird durch das Substratangebot, d. h. die Bereitstellung von Aminosäuren, v. a. Leuzin, und in der Muskulatur auch durch das Ausmaß der Bewegungsaktivität gesteuert. Insulin



**Abb. 2.12a,b** Stimulation der Proteinsynthese und Hemmung der Proteolyse durch Insulin über das Enzymsystem mTOR: Aktivierung von mTOR durch die konsekutive Aktivierung von PI(3)-Kinase, PDK-1 und PKB. Das aktivierte mTOR kontrolliert die Proteinsynthese über zwei verschiedene Aktivierungsschritte (a und b). mTOR »Mammalian Target of Rapamycin«, PDK-1 »Phosphoinositide-dependent Protein Kinase 1«, PKB »Protein Kinase B«, PI-3-Kinase Phosphatidyl-Inositol-3-Kinase. (Adaptiert nach Kimball et al. 2002)

erhöht die Proteinsyntheserate und blockiert den Proteinabbau durch die Aktivierung eines Enzymsystems, das als »Mammalian Target of Rapamycin« (mTOR) bezeichnet wird. mTOR gehört zur Phosphatidyl-Inositol-3-Kinase-(PI(3)K-)Familie und wirkt v. a. als Serinkinase.

Die durch Insulin initiierte Aktivierung von mTOR erfolgt über die konsekutive Aktivierung der drei Enzyme

- PI(3)K,
- »Phosphoinositide-dependent Proteinkinase« (PDK 1) und
- Proteinkinase B (PK).

Als Aktivierungssignale sind neben Insulin auch Aminosäuren und »insulin-like growth factor 1« (IGF-1) beteiligt. Die Aktivierung von mTOR erfolgt letztlich durch die Phosphorylierung eines Serinrests durch PKB. Sie kann durch Aminosäuredeprivation oder den PI(3)K-Hemmer Wortmannin blockiert werden. Das aktivierte mTOR kontrolliert die mRNA-Translationsreaktionen der Proteinsynthese über zwei verschiedene Aktivierungsschritte:

- Durch die Threoninphosphorylierung und Aktivierung des »4E-Binding Proteins 1« (4E-BP 1) wird eine Kaskade von Serin- und Threoninphosphorylierungen durch bisher nicht identifizierte Kinasen (X) ausgelöst. Das führt zur Dissoziation der Bindung von 4E-BP 1 an den eukaryoten Translationshemmer »Eukaryotic Inhibition Factor 4E« (eIF4E). Der freie eIF4E kann an den eIF4G binden und den aktiven eIF4F-Komplex bilden. Dadurch wird die cap-abhängige Translation von mRNA ermöglicht und die Proteinsynthese gesteigert.
- Die Aktivierung der ribosomalen S6-Proteinkinase 1 (S6K 1) durch mTOR bewirkt die Phosphorylierung von S6-Protein, wodurch die Translation einer mRNA gesteigert wird, die eine 5'-terminale Oligopyrimidinstruktur enthält. Zu den Proteinen, die durch eine solche mRNA kodiert werden, gehören Translationselongationsfaktoren, die in weitere mRNA-Translationen eingebunden sind. Die durch Insulin initiierte Aktivierung von S6K 1 steigert dadurch die Proteinsynthesekapazität der Zellen in hohem Maße.

In **Abb. 2.12** sind die durch Insulin in Gang gesetzten Aktivierungskaskaden schematisch dargestellt, die die Stimulation der Proteinsynthese zur Folge haben.

## 2.2.5 Insulinrezeptor

Der Insulinrezeptor gehört zur Unterfamilie der Rezeptor-Tyrosinkinasen, zu denen auch der IGF-1-Rezeptor und der »insulin receptor-related receptor« (IRR) gehören. Beim Insulinrezeptor handelt es sich um ein tetrameres Protein, das aus einer



Diabetes bei Kindern und Jugendlichen

Grundlagen - Klinik - Therapie

Danne, Th.; Kordonouri, O.; Lange, K.

2015, XV, 501 S. 228 Abb., 218 Abb. in Farbe. Mit

eBook Inside. Book + eBook., Hardcover

ISBN: 978-3-642-24644-9