

# Vorlesung

Hormonelle Regulation des Stoffwechsels

Prof. T. Igo-Kemenes  
im Sommersemester 2003



# 1 Grundlagen der hormonellen Regulation

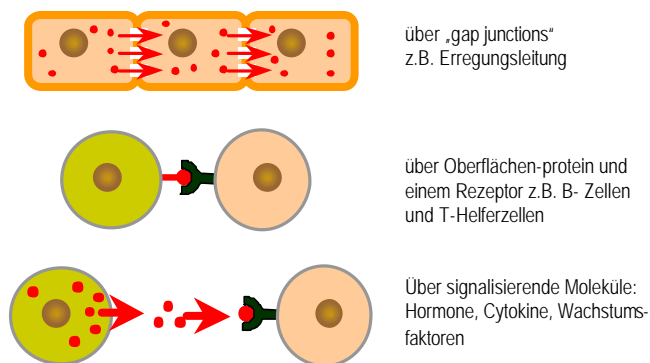
**Fallbeschreibung** (Bild 1-1). Ein fünfjähriges Kleinkind wird wegen dauernder Abgeschlagenheit, Spielunlust, Übelkeit bei gutem Appetit und vor allem wegen wiederholten Einnässens in der Nacht vorgestellt. Gelegentlich fielen auch diffuse Bauchschmerzen und eigenartige Unruhezustände auf. Die klinische Untersuchung zeigt ein Untergewicht von etwa 2,5 kg, das Abdomen ist unauffällig, das Ultraschall gibt diesbezüglich auch normale Befunde. Bei der routinemäßigen Untersuchung des Urins fällt die Glucoseprobe mit 4,5 % stark positiv auf, ebenso die anschließend angesetzte Azetonprobe. Der Glucosetest ergibt einen Blutzuckerwert von 350 mg/dl, der HbA<sub>1c</sub>-Wert liegt bei 10,5 %. Zudem besteht eine metabolische Azidose.

Das Kind leidet an einer Erkrankung, bei der ein wichtiger Botenstoff des intermediären Stoffwechsels, das Insulin, fehlt. Ein tückischer Angriff des Immunsystems hat die  $\beta$ -Zellen der Bauchspeicheldrüse zerstört mit der Folge, dass Insulin nicht mehr produziert werden kann (Diabetes mellitus Typ I). Zucker- und Lipidstoffwechsel sind gestört. Der osmotische Druck des Blutes steigt an, Kalium wird durch die Niere verstärkt ausgeschieden und der Spiegel der Ketonkörper ist erhöht. Es besteht unmittelbar die Gefahr eines ketoazidotischen Komas mit Todesfolge. Bei genauer Diabeteseinstellung ist jedoch, dank vieler guter Insulinpräparate, die Prognose gut. Der Patient hat eine hohe Lebenserwartung. In höherem Alter sind dennoch diabetische Spätfolgen wie Nephropathien, Angiopathien, Neuropathien, Ophthalmopathien etc. nicht auszuschließen.

## 1.1 Kommunikation von Zellen miteinander

Die Entwicklung vielzelliger Organismen - vermutlich aus dem Zusammenschluss von Einzellern - bedeutete einen großen Schritt in der Evolution der Lebewesen. Eine wesentliche Voraussetzung für diese Entwicklung war die Entstehung von Kommunikationssystemen zwischen den Zellen. In einem vielzelligen Organismus hängt das Überleben des Lebewesens davon ab, ob ihre einzelnen Zellen Information über den Zustand der anderen Zellen erhalten. Das Fehlen eines der Botenstoffe, wie des Insulins, führte im besprochenen klinischen Fall zu massiven Störungen des Stoffwechsels, die unbehandelt zum Tod geführt hätten.

**Formen der zellulären Signalübertragung.** Innerhalb bestimmter Zellgruppen erfolgt die Kommunikation häufig durch direkten Kontakt zwischen den Zellen über sogenannte "gap junctions" (Bild 1-2 oben). Diese sind schmale Spalte zwischen Zellen, über die der Austausch kleiner Moleküle (und damit Informationsaustausch) möglich ist. Gap junctions dienen z.B. der Erregungsleitung im Herzen. Informationsaustausch kann zwischen eng beieinanderliegenden Zellen auch



**Bild 1-2. Verschiedene Systeme zur Kommunikation von Zellen miteinander:** Oben: über direkte Verbindung zwischen benachbarten Zellen. Mitte: über signalisierende Oberflächenproteine. Unten: über signalisierende Botenstoffe wie Hormone, Wachstumsfaktoren, Cytokine.

über Transmembranproteine erfolgen, die auf der kontaktierten Zelle einen Rezeptor finden. Als Beispiel seien hier B- und T-Helfer-Zellen des Immunsystems genannt (Bild 1-2 mitte). Die Kommunikation der Zellen ist jedoch nicht nur auf den unmittelbaren Zellkontakt be-

schränkt, sondern erfolgt auch über größere Entfernungen hinweg (Bild 1-2 unten). Signalisierende Zellen bilden und sezernieren Signalmoleküle, die zu anderen Zellen gelangen, wo sie eine spezifische rezeptorvermittelte Reaktion auslösen. Zur Signalübertragung werden von den Zellen unterschiedliche chemische Verbindungen verwendet, die man als Hormone, Neurotransmitter, Cytokine, Wachstumsfaktoren bezeichnet. Im Rahmen dieser Vorlesung befassen wir uns mit Mechanismen des Informationsaustausches, die über Hormone, Cytokine und Wachstumsfaktoren erfolgt.

## 1.2 Einteilung signalisierender Systeme

Die signalisierenden Wirkstoffe unterteilt man nach der Wegstrecke, über die das jeweilige Signal wirksam wird, in **autokrine**, **parakrine**, **endokrine** und **neuroendokrine** Systeme. Signalstoffe wirken in autokrinen oder parakrinen Systemen über kurze Entfernungen, meist von nur wenigen  $\mu\text{m}$ . Endokrine und neuroendokrine Wirkstoffe signalisieren an Zielzellen, die von der endokrinen Drüse Zentimeter, ja sogar meterweit entfernt sind.

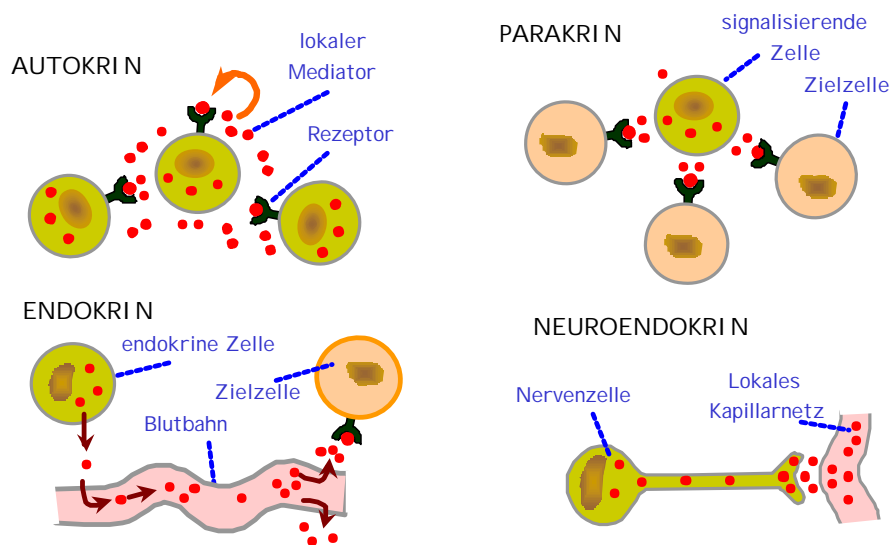


Bild 1-3: Signalisierende Systeme. Beim autokrinen System stimuliert sich die Zelle selbst durch die Freisetzung signalisierender Botenstoffe.

Bei einer **autokrinen** Signalübertragung (Bild 1-3) reagieren die Zellen auf Substanzen, die sie selbst abgegeben haben. Als Beispiel wollen wir die plötzliche Vermehrung von T-Zell-Klonen, die mit Antigenen in Kontakt kamen, besprechen. In unserem Körper zirkulieren ca.  $10^6$  T-Helferzellen, wobei jede gegen ein anderes Antigen spezifisch ist. Trifft nun eines dieser T-Helferzellen auf ein Antigen, wird die Helferzelle aktiviert. Dies geschieht, indem durch den Kontakt mit dem Antigen zwei verschiedene Prozesse eingeleitet werden: (1) in der Zelle wird das Gen für den Interleukin-2-Rezeptor aktiviert. Als Folge werden Interleukin-2-Rezeptoren gebildet und in die Zellmembran eingebaut. (2) Auch das Gen für Interleukin-2 wird aktiviert, mit der Folge, dass die Zellen Interleukin-2 sezernieren. Interleukin-2 wirkt im Immunsystem wie ein Hormon. Es bindet an Interleukin-2-Rezeptoren und löst über eine Signalkaskade eine rasche Proliferation der T-Helferzelle aus. Da aber nur solche T-Helferzellen Interleukin-2-Rezeptoren auf ihrer Zelloberfläche besitzen, die bereits einen Kontakt mit einem Antigen hatten und dadurch aktiviert wurden, kann auch nur dieser eine Klon zur Proliferation angeregt werden (und nicht all jene T-Helferzellen, die noch nicht durch Antigene aktiviert wurden). Merke: das Antigen aktiviert die T-Zelle, das Interleukin veranlasst die Vermehrung der aktivierten (und nur dieser) T-Helferzellen.

Die Zielzellen **parakriner** Wirkstoffe befinden sich in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Zellen, die diese Signalstoffe abgeben. Nur diese nah gelegenen Zielzellen werden durch parakrine Signale beeinflusst. Zu dieser Gruppe von Signalübermittlern gehören viele Geweshormone, aber auch Interferone. Interferone werden nach Virusinfektion in der Zelle gebildet und sezerniert. Die virusinfizierte Zelle selbst entgeht dem Untergang zwar nicht, die Nachbarzellen jedoch, die Interferon-Rezeptoren besitzen, können sich dank des Interferons gegen das Virus schützen.

**Endokrine** Signalstoffe, auch **Hormone** genannt, werden von Zellen endokriner Organe freigesetzt und beeinflussen Zielzellen, die in erheblicher Entfernung von der signalisierenden Drüse entfernt sein können. Hormone gelangen normalerweise über den Blutweg von der endokrinen Drüse zum Zielorgan. Zielorgane sind solche, die Rezeptoren für das entsprechende Hormon besitzen.

**Neuroendokrine** Überträger sind die hypothalamischen „releasing“ Hormone wie CRH, TRH etc. Sie werden von neuroendokrinen Zellen des Hypothalamus gebildet, über ihre Axone zur Hypophyse geleitet und dort in lokale arterielle Systeme ausgeschüttet (z.B. obere Hypophysenarterie). Die Zielzellen neuroendokriner Signalstoffe werden von den erwähnten Kapillaren versorgt und leiten die Botenstoffe direkt zu ihnen.

### 1.3 Rezeptoren können auf der Zelloberfläche oder im Inneren der Zelle lokalisiert sein

Es gibt Rezeptoren, die in der Plasmamembran der Zelle verankert sind (extrazelluläre Rezeptoren), sowie Rezeptoren, die sich im Cytosol oder Zellkern befinden (intrazelluläre Rezeptoren). Wasserlösliche Hormone, wie Adrenalin, Noradrenalin und Glucagon werden von Rezeptoren auf der Zelloberfläche gebunden. Die Rezeptoren der meisten Peptidhormone (Glucagon, ACTH, TRH, TSH etc.) befinden sich ebenfalls auf der Zelloberfläche. Rezeptoren der Steroidhormone, des Thyroxins, der Retinsäure, Calcitriol etc. befinden sich hingegen im Cytosol oder im Zellkern. Oberflächenrezeptoren entfalten in der Regel eine sofortige Wirkung, die in den Zellen innerhalb von Sekunden oder Minuten messbar wird und dann rasch wieder abnimmt. Die intrazellulären Hormonrezeptoren wirken hingegen meist erst nach mehreren Minuten oder Stunden, ihre Wirkung hält dafür in der Regel länger an.

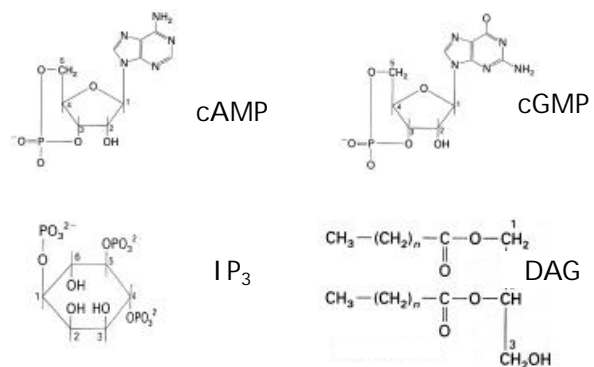


Bild 1-6. Einige intrazelluläre Boten ("second messenger")

**Drei Familien von Oberflächenrezeptoren sind bekannt.** Das hormonelle Signal muss von dem Rezeptor auf der Zelloberfläche in das Innere der Zelle weitergeleitet werden. Dabei findet auch eine Verstärkung des Signals statt. Diese Signalweiterleitung kann auf drei verschiedenen Wegen erfolgen: (1) über G-Protein gekoppelte Rezeptoren, (2) über enzymgekoppelte Rezeptoren oder (3) über ligandenabhängige Ionenkanäle.

**1. G-Protein gekoppelte Membranrezeptoren.** Bei der ersten Familie von Hormonrezeptoren führt die Bindung des Hormons an den Rezeptor zur Aktivierung von so genannten **G-Proteinen** im Zellinneren. Es handelt sich um Proteine, die mit der Innenseite der Membran assoziiert sind und heißen deswegen G-Proteine, weil sie entweder GDP binden (in diesem Zustand sind sie inaktiv), oder GTP (dann sind sie aktiv). Die Bindung des Hormons an den

Rezeptor führt zum Austausch des gebundenen GDP gegen GTP im G-Protein. Das auf diese Weise aktivierte G-Protein bindet und aktiviert ein Enzym, welches zur Produktion eines so genannten "Zweiten Boten" (englisch: second messenger) angeregt wird. Solche zweite Boten sind zyklisches AMP (cAMP), Diacylglycerol (DAG), Inositol-Trisphosphat (IP<sub>3</sub>), Phosphatidyl-Inositol-Trisphosphat (PIP<sub>3</sub>), cGMP etc. (siehe Bild 1-6). Diese Zweiten Boten können eine Fülle von Reaktionen in der Zelle auslösen, wie beispielsweise den Abbau von Glykogen oder die Aktivierung der Gluconeogenese. Beispiele für **G-Protein gekoppelte Membranrezeptoren** sind: Adrenalin-Rezeptoren, Glucagonrezeptor, ACTH-, TSH-, TRH-Rezeptor etc.).

## 2. Enzymgekoppelte Membranrezeptoren.

Eine zweite Familie von Membranrezeptoren besitzt selbst Enzymaktivität. Beispielsweise besitzt der Insulinrezeptor eine Tyrosinkinase-Aktivität oder der ANF-Rezeptor eine Guanylat-Zyklase-Aktivität. Die Enzymaktivität solcher Rezeptoren wird durch die Bindung des Hormons aktiviert. Beim Insulinrezeptor führt dies dazu, dass sich der Rezeptor selbst an bestimmten Tyrosinresten phosphoryliert (Autophosphorylierung). Solche phosphorylierte Tyrosinreste im Rezeptor dienen dann als **Andockstellen** für weitere Enzyme, die durch das Andocken aktiviert werden und eine Fülle von Reaktionen in der Zelle auslösen.

## 3. Liganden abhängige Ionenkanäle. Rezeptoren können das Signal von der Zell-

oberfläche in das Innere der Zelle auf einem völlig anderen Weg weiterleiten. Der nikotische Acetylcholin-Rezeptor ist eine Unter-einheit eines **Ionenkanals**. Bindung von Acetylcholin führt zur vorübergehenden Öffnung des Kanals, worauf der Einstrom von positiv geladenen Natriumionen ermöglicht wird. Dies wiederum führt zu einer Depolarisierung der Membran mit vielen möglichen Folgen: Auslösung eines Aktionspotentials, Sekretion von diversen Molekülen, wie Hormonen, Cytokinen, Wachstumsfaktoren usw.

**Intrazelluläre Rezeptoren teilt man in zwei Familien ein: cytosolische oder im Zellkern befindliche.** Steroidhormone, Schilddrüsenhormone, 1,25-Dihydroxycholecalciferol (auch Calcitriol oder Vitamin-D-Hormon genannt) und Retinsäure gehören zu der Familie von Hormonen, deren Rezeptoren nicht in der Plasmamembran lokalisiert sind, sondern im Cytosol oder im Zellkern. Rezeptoren für Cortisol, Aldosteron und einiger der anderen Steroidhormone sind im Cytosol lokalisiert, Rezeptoren für Thyroxin, Retinsäure, Estradiol oder 1,25-Dihydroxycholecalciferol im Zellkern. Erstere befinden sich in Abwesenheit eines Liganden im Cytosol und werden, erst nach Bindung des Hormons, in den Zellkern transportiert. Letztere sind, auch in Abwesenheit eines Liganden, bereits im Zellkern und dort an DNA gebunden, und zwar an so genannte Enhancer- oder Silencer-Elemente. Die intrazellulären Hormone steuern die Expression von Genen. Sie sind über einen relativ langen Zeitraum - von Stunden oder Tagen - aktiv und beeinflussen in der Regel Wachstum, Entwicklung und Enzymzusammensetzung ihrer Zielzellen.

- Extrazelluläre Rezeptoren
  - G-Protein gekoppelte Rezeptoren (Glucagon-Rezeptor, Adrenalin-, ACTH-)
  - Rezeptoren mit Enzymaktivität (Insulin-Rezeptor: Tyr-Kinase, ANF-Rezeptor: Guanylat-Cyklase)
  - Liganden abhängiger Ionenkanal (z.B. muskarinischer Acetylcholin-Rezeptor)
- Intrazelluläre Rezeptoren
  - Cytosolisch (Cortisol-Rezeptor)
  - Kernlokalisiert (Estradiol-, Trijodthyronin-, Vitamin D-Rezeptor)

Bild 1-7. Hormonrezeptoren können extra- oder intrazellulär vorliegen.

### 1.4 $K_D$ -Werte der Oberflächenrezeptoren entsprechen annähernd den Konzentrationen zirkulierender Hormone

Hormonrezeptoren binden ihre Liganden mit großer Spezifität und hoher Affinität (Bild 1-5). Der Insulinrezeptor beispielsweise bindet Insulin aber keine anderen Peptidhormone. Die Bindung ist eine reversible Reaktion zwischen Rezeptor und Hormon:  $R + H \rightleftharpoons RH$

die durch die Gleichung: 
$$K_D = \frac{[R][H]}{[RH]} \quad (\text{Gl. 1-1})$$

beschrieben werden kann, wobei [H] und [R] für die Konzentration an freiem Hormon und freiem Rezeptor stehen, während [RH] die Konzentration an Hormon-Rezeptor-Komplex bedeuten.  $K_D$ , die Dissoziationskonstante des Komplexes aus Rezeptor und Ligand, ist ein Maß für die Affinität des Rezeptors zu seinem Liganden. Je niedriger der Wert für  $K_D$  ist, umso höher ist die Affinität des Rezeptors zum Hormon. Diese Gleichung kann umgeschrieben werden zu:

$$\frac{[RH]}{R_G} = \frac{1}{1 + K_D/[H]} \quad (\text{Gl. 1-2})$$

wobei  $R_G$  die Summe aus freiem und gebundenem Rezeptor  $[R] + [RH]$  bedeutet. Die Gleichung (1-2) ist der Michaelis-Menten-Gleichung ähnlich, die zur Analyse enzymatischer Reaktionen verwendet wird. Der  $K_D$ -Wert entspricht der Hormonkonzentration, bei der die Hälfte des Rezeptors als Hormon-Rezeptor-Komplex vorliegt. Dies ist gut ersichtlich, wenn man  $[H] = K_D$  setzt; dann ist  $[RH] = 0.5 \cdot R_G$ . Man hat experimentell ermittelt, dass nach einem Stimulus die Konzentration zirkulierender Hormone oft etwa dem  $K_D$ -Wert des Rezeptors entspricht; mit anderen Worten: es wird meist so viel Hormon freigesetzt, dass etwa die Hälfte der Rezeptoren abgesättigt werden.

Die Zahl der Hormon-Bindungsstellen (Rezeptoren) auf der Oberfläche einer Zelle kann aus dem Sättigungswert einer Bindungskurve (Bild 1-5) bestimmt werden. So enthält eine Hepatomzelle ca. 30.000 Insulinrezeptoren. Der  $K_D$ -Wert, also die Insulinkonzentration, bei der die Hälfte der Rezeptoren mit Insulin besetzt ist, wurde zu  $2 \cdot 10^{-8}$  mol/l (0,12 µg/ml) bestimmt. Die  $K_D$ -Werte für die meisten anderen Hormone und ihrer Rezeptoren liegen zwischen  $10^{-9}$  und  $10^{-11}$  mol/l.

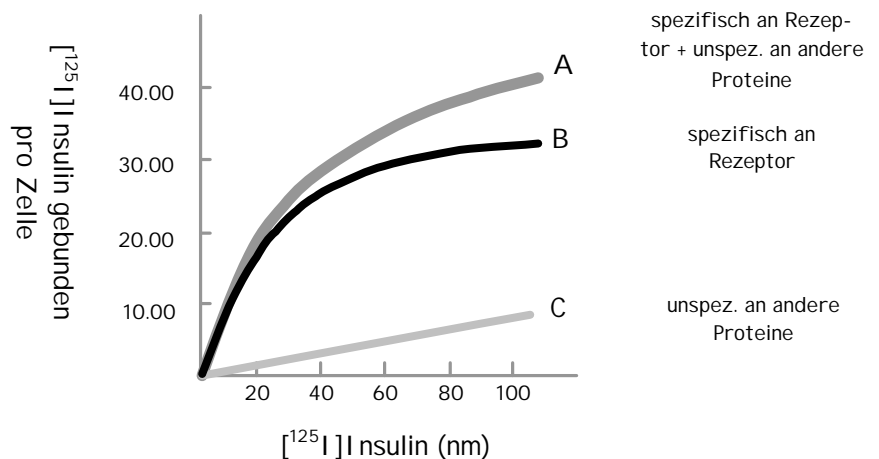


Bild 1-5: Nachweis von insulinspezifischen Rezeptoren auf der Oberfläche von Hepatomzellen durch Bindung von radioaktiv markiertem Insulin.

### 1.5 Hormone wirken im allgemeinen in Regelkreisen

Ein einfacher Regelkreis wird aktiviert, wenn durch eine Mahlzeit der Blutzuckerspiegel ansteigt (Bild 1-8). Dies führt zur Sekretion von Insulin aus den  $\beta$ -Zellen des Pankreas. Insulin fördert die Aufnahme der Glucose in Muskel- und Fettgewebszellen und ihre Einlagerung in Depots für schlechtere Zeiten (z.B. in Form von Glykogen). Dabei sinkt der Blutglucosespiegel. Sollte er zu niedrig werden, was bei Hunger passieren könnte, schaltet sich der zweite Teil des Regelkreises ein. Aus den  $\alpha$ -Zellen des Pankreas wird Glucagon sezerniert. Glucagon

fördert die Mobilisierung der Depots (z.B. den Abbau von Glykogen) sowie die Neusynthese von Glucose aus Aminosäuren (Gluconeogenese) und führt zur Erhöhung des Blutglucosespiegels. Damit ist der Blutglucosespiegel normalisiert und der Regelkreis geschlossen.

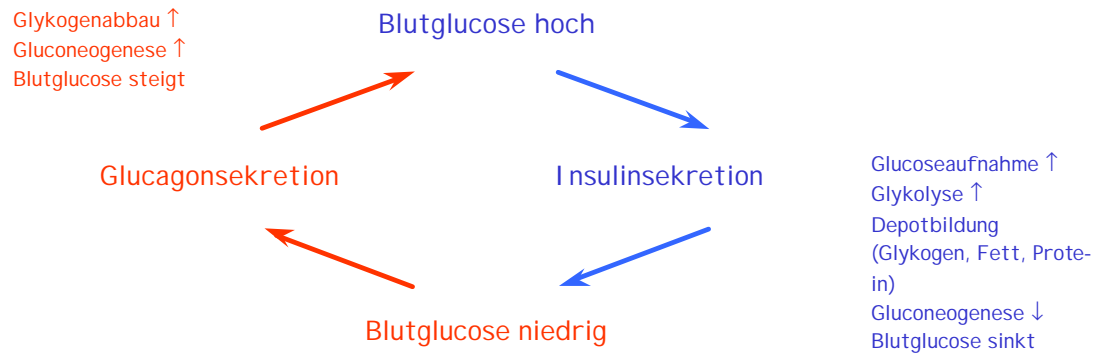
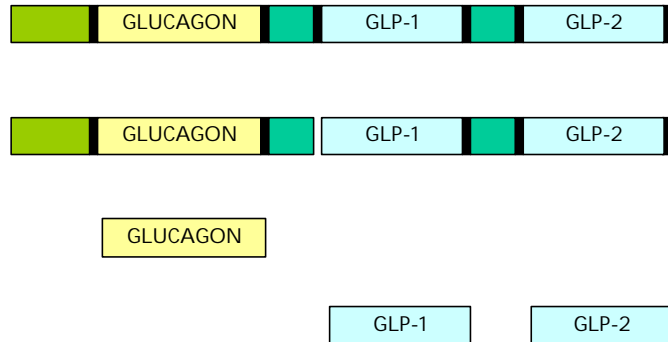


Bild 1-8. Einfacher Regelkreis zur Kontrolle der Blutglucose



## 2 Hormone der Bauchspeicheldrüse: Glucagon

Glucagon ist ein Peptidhormon und wird in den  $\alpha$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas gebildet. Es ist ein wichtiges Hormon für die Homöostase der Blutglucose. Glucagon erhöht im Hungerzustand den Blutglucosespiegel durch den Abbau von Leberglykogen, durch die Förderung der Gluconeogenese aus Aminosäuren und dadurch, dass die meisten Gewebe Glucose einsparen indem sie den alternativen "Brennstoff"  $\beta$ -Hydroxybutyrat (ein Ketonkörper) verbrennen. Die Glucose bleibt für die Versorgung des Gehirns übrig.



### 2.1 Biosynthese und Sekretion von Glucagon

Glucagon wird zunächst in Form einer wesentlich größeren Vorstufe, als Präpro-Glucagon, gebildet. Präpro-Glucagon wird außer im Pankreas auch in der intestinalen Mucosa sowie im ZNS synthetisiert, dort jedoch anders als in der Bauchspeicheldrüse

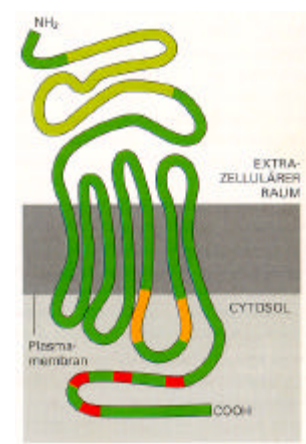


**Bild 2-1 Biosynthese von Glucagon.** Zunächst wird ein längeres Protein, das Präproglucagon gebildet (oben). Dieses wird schrittweise in kleinere Fragmente gespalten. In der  $\alpha$ -Zelle werden GLP-1 und 2 zerstört; im Darm und im ZNS wird dagegen Glucagon zerstört.

prozessiert (Bild 2-1). Aus dem Präpro-Glucagon entsteht im Pankreas Glucagon, während im Darm und im ZNS die Glucagon ähnlichen Peptide GLP1 und GLP2 (Glucagon Like Peptides) entstehen. GLP1 und GLP2 sind Darmhormone, die eine Rolle bei der Insulinsekretion spielen (siehe Kapitel 3). Wichtigster Auslöser der Glucagonsekretion im Pankreas ist ein Abfall des Glucosespiegels. Die Glucagonsekretion wird jedoch auch durch resorbierte Aminosäuren sowie durch die Wirkung von Darmhormonen, wie Cholecystokin-Pankreozymin stimuliert. Auf molekularer Ebene sind die Mechanismen der Glucagonsekretion noch nicht hinreichend erforscht.

### 2.2 Vermittlung der hormonellen Botschaft ins Zellinnere: Rezeptoren und Signaltransduktion

Der Glucagonrezeptor ist in der Plasmamembran lokalisiert und gehört zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, die über sieben Transmembrandomänen in der Plasmamembran verankert sind (Bild 2-2). G-Protein-gekoppelte Rezeptoren wirken indirekt, indem sie die Aktivität eines membrangebundenen Enzyms - in diesem Fall der Adenylatcyklase - regulieren. Die Bindung des Glucagons an den Rezeptor bewirkt eine Konformationsänderung des Rezeptorproteins, worauf das mit dem Rezeptor assoziierte G-Protein (Bild 2-3) sein gebundenes GDP durch GTP ersetzt. G-Proteine haben zwei Funktionszustände: den inaktiven, wenn GDP gebunden ist, oder den aktiven, wenn GTP gebunden ist. Der Austausch von GDP gegen GTP bewirkt, dass das G-Protein aktiviert wird, wobei die  $\alpha$ -Untereinheit abdissoziiert und mit der Adenylatcyklase in Wechselwirkung tritt. Durch die Wechselwirkung mit der  $\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins wird die Adenylatcyklase aktiviert und katalysiert (Bild 2-4), in der Zeit, bevor das GTP zu GDP



**Bild 2-2.** Struktur von membranständigen Hormonrezeptoren der G-Protein gekoppelten Rezeptorfamilie. Der Rezeptor hat 7 Transmembrandomänen; außen ist die Hormon-Bindungsstelle; orange: Bindungsstelle für G-Protein; rot: Stellen zur Inaktivierung durch Phosphorylierung.

hydrolysiert, die Bildung von Hunderten von zyklischen AMP-Molekülen (cAMP) die als intrazelluläre Mediatoren des Hormonsignals (second messenger) wirken.

Damit Zellen auf Konzentrationsänderungen von Hormonen schnell reagieren können, muss die Aktivität der Adenylatcyklase sofort gedrosselt werden, wenn der Rezeptor nicht mehr mit Hormon besetzt ist. Dies geschieht auf die folgende Weise: die Bindung der Adenylatcyklase an die  $\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins erhöht die intrinsische GTPase-Aktivität der  $\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins. Das gebundene GTP wird zu GDP hydrolysiert. Damit ist die Aktivität des G-Proteins abgeschaltet. Die  $\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins dissoziiert von der Adenylatcyklase ab wodurch die Adenylatcyklase wieder inaktiv wird. Die 3 Untereinheiten finden wieder zueinander und das trimere G-Protein bindet an den Glucagonrezeptor (Bild 2-3). cAMP wird durch Phosphodiesterasen gespalten (Bild 2-4). Der Zyklus ist damit abgeschlossen und der Glucagonrezeptor ist erneut für die Bindung eines Hormons empfänglich.

**Cholera.** Die Bedeutung der GTPase-Aktivität des G-Proteins lässt sich an Patienten beobachten, die an Cholera erkrankt sind. Der bakterielle Giftstoff, der die Symptome der Krankheit hervorruft, inhibiert den Selbst-Inaktivierungsmechanismus des G-Proteins. Das Cholera-

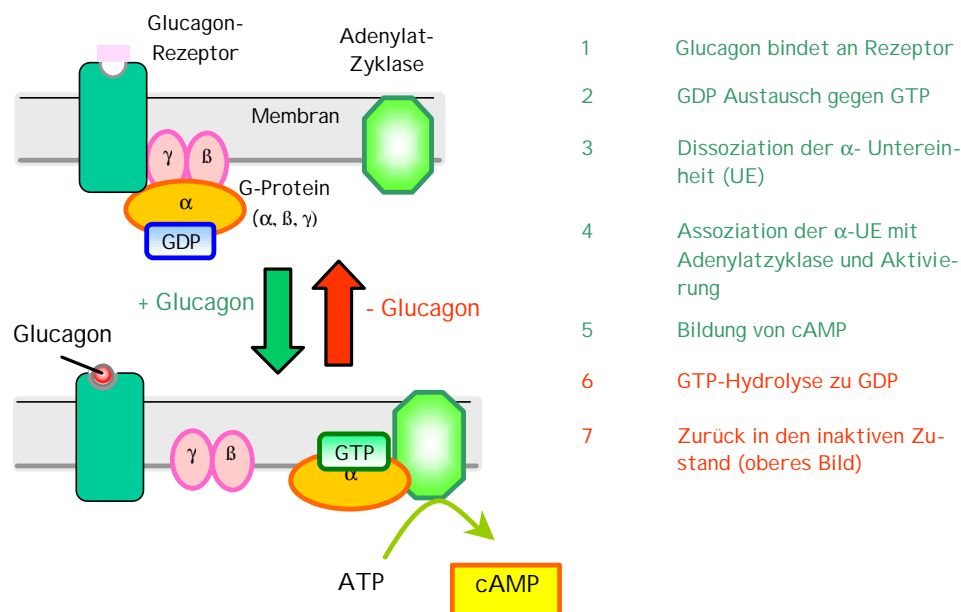


Bild 2-3. G-Protein vermittelte Aktivierung der Adenylat-Cyklase.

toxin katalysiert die Übertragung einer ADP-Ribose-Einheit von  $\text{NAD}^+$  auf die  $\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins, was zur Folge hat, dass das gebundene GTP erheblich langsamer hydrolysiert wird. Die Adenylatcyklase bleibt deutlich länger aktiv. Die infolgedessen ständige Erhöhung des cAMP-Spiegels führt mittels Phosphorylierung eines Chloridkanals in den Epithelzellen des Verdauungstraktes zu einem erheblichen  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  und Wasserverlust in das Darmlumen. Dies erklärt den schweren Durchfall, der bei der Cholera auftritt.

### 2.3 Der Anstieg des cAMP-Spiegels in der Leberzelle löst eine Kaskade von Reaktionen aus, die zur Mobilisierung des Glykogenspeichers führt

Wichtigstes Zielorgan für Glucagon ist die Leber, die eine hohe Dichte an Glucagonrezeptoren aufweist. Der Glucagonrezeptor wird jedoch auch in anderen Geweben exprimiert, die dadurch zu Zielorganen für Glucagon werden.

Der Anstieg der cAMP-Konzentration in der Leberzelle löst eine Kaskade von Reaktionen aus, die letztlich dazu führt, dass aus dem Glykogen Glucose-1-phosphat Moleküle abgespalten werden (Bild 2-5). Nach Umwandlung in Glucose-6-phosphat wird mit Hilfe des leberspezifischen Enzyms **Glucose-6-phosphatase** der Phosphatrest abgespalten, worauf die freie Glucose die Leberzelle verlassen kann und zur Erhöhung des Blutglucosespiegels beiträgt. Die Blutglucose dient der Versorgung der Organe mit der nötigen Energie, die ständig für die Aufrechterhaltung der Membranpotentiale, für motorische Aktivität oder für Biosyntheseleistungen benötigt wird. Besonders das ZNS ist von der Blutglucose abhängig. Es verbraucht täglich ca. 150 g. Andere Organe, wie die Skelettmuskulatur, Myokard, hormonproduzierende Drüsen, Fettgewebe, etc., sind von der Blutglucose weniger abhängig, denn sie können zur ATP-Gewinnung auch die aus den Fettsäuren gebildeten Ketonkörper verwerten.

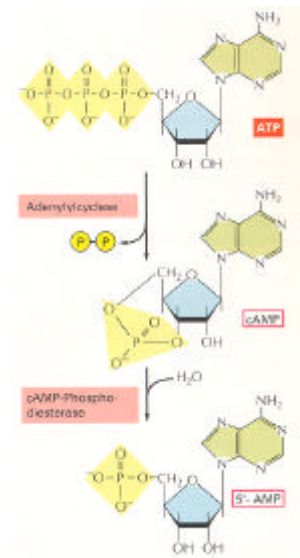


Bild 2-4 Synthese und Abbau von cAMP. Unter der Einwirkung von Hormonen (Glucagon, Adrenalin etc.) fördert die Adenylatzyklase die Bildung von cAMP. cAMP assoziiert mit der Proteinkinase A (PK-A) und aktiviert dieses Enzym. PKA steht am Anfang einer Phosphorylierungskaskade. Der Abbau von cAMP erfolgt durch Phosphodiesterasen.

## 2.4 Das extrazelluläre Glucagonsignal wird über den intrazellulären Mediator cAMP und über Enzymkaskaden millionenfach verstärkt

Die im Blut zirkulierenden Hormone haben eine Konzentration, die im nanomolaren bis picomolaren Bereich liegt. Dieses schwache extrazelluläre Signal führt dennoch dazu, dass millimolare Mengen an Glucose aus Glykogen freigesetzt werden. Dies ist auf leistungsfähiger Verstärkungsmechanismen zurückzuführen.

**Signalverstärkung.** Die Bindung von Glucagon an den Rezeptor kann viele G-Proteine dazu anregen, Adenylatzyklase-Moleküle zu aktivieren. Da aktivierte G-Proteine sekundenlang im

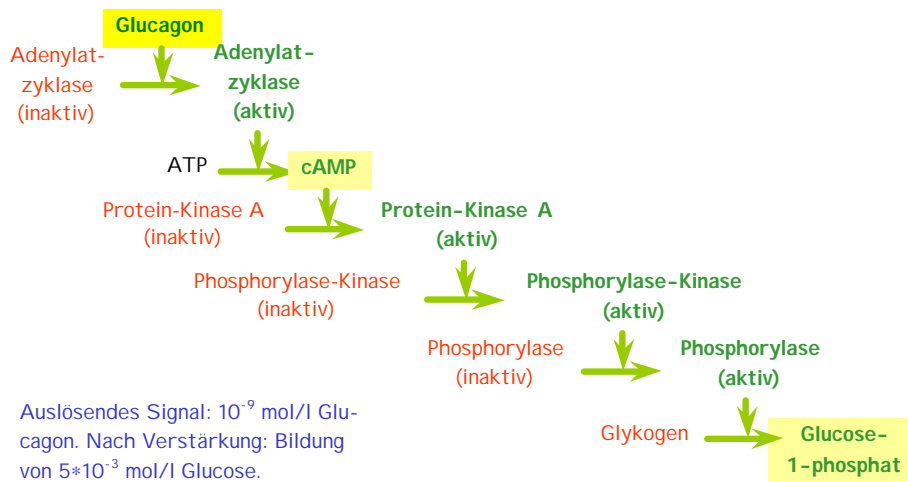


Bild 2-5. Glucagon löst eine Aktivierungskaskade aus die zum raschen Abbau von Glykogen in der Leber und zur Erhöhung des Blutzuckerspiegels führt. Die Kaskade ist in der Lage, das schwache Glucagonsignal millionenfach zu verstärken. Das auslösende Glucagon, das eine Konzentration von  $10^{-9}$  mol/l hat führt zu einem schwachen Signal (Bildung von cAMP) das durch zwischengeschaltete Enzyme (Kinasen) millionenfach verstärkt wird, so dass letztendlich millimolare Mengen an Glucose-1-phosphat aus Glykogen freigesetzt werden. Die Verstärkung erfolgt dadurch, dass jede Kinase Hunderte von nachfolgenden Kinasen phosphoryliert und dadurch aktiviert.

aktiven Zustand verbleiben, bevor sie sich selbst durch die Hydrolyse des gebundenen GTP inaktivieren, können sie das assoziierte Zyklusmolekül sekundenlang aktiv halten, so dass das Enzym große Mengen an cAMP bilden kann. Somit führt ein schwaches extrazelluläres

Signal (Glucagon von nanomolarer Konzentration) zu einem tausendfach stärkeren intrazellulären Signal (cAMP von micromolarer Konzentration). Danach folgt eine Enzymkaskade, welche das Signal weiter verstärkt (Bild 2-5). cAMP-Moleküle aktivieren die **Protein-Kinase A**. Jedes Protein-Kinase A Molekül kann viele **Phosphorylase-Kinase** Moleküle aktivieren, diese wiederum noch mehr **Glykogen-Phosphorylase** Moleküle. Diese spalten in kürzester Zeit große Mengen an Glucose-1-phosphat aus Glykogen ab und führen zu einer Erhöhung der Blutglucose.

## 2.5 Die Wirkung von cAMP wird von der cAMP-abhängigen Proteinkinase-A vermittelt

Die Wirkung von cAMP in tierischen Zellen wird hauptsächlich durch die cAMP abhängige **Protein-kinase-A** vermittelt. Dieses Enzym überträgt die endständige Phosphatgruppe von ATP auf spezifische Serin- oder Threoninreste bestimmter Proteine (z.B. Phosphorylase-Kinase, Glykogen-Synthase). Jene Serine bzw. Threonine, die von der Proteinkinase A phosphoryliert werden, sind in der Aminosäuresequenz des Proteins dadurch gekennzeichnet,

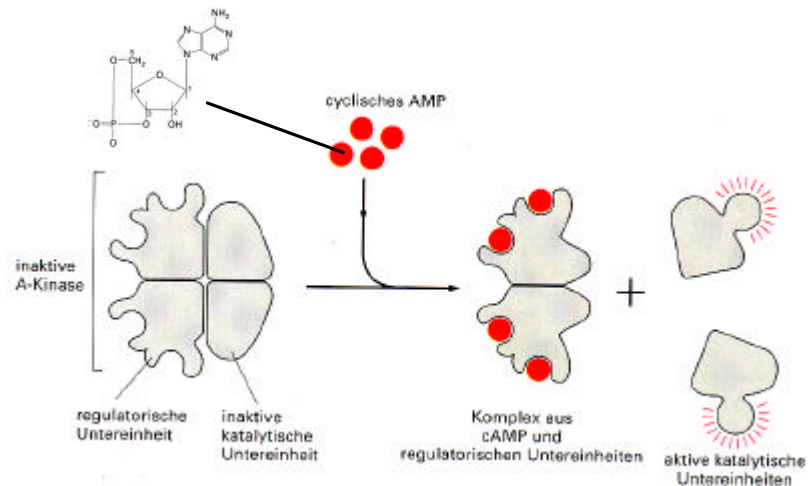


Bild 2-6. Aktivierung der Proteinkinase-A durch cAMP. Zyklisches AMP bindet an die regulatorischen Untereinheiten der Proteinkinase-A. Die Bindung führt zur Freisetzung und Aktivierung der katalytischen Untereinheiten.

zeichnet, dass ihnen zwei oder mehrere basische Aminosäuren vorangestellt sind. Durch die Phosphorylierung der Serine/Threonine wird die **Aktivität** des Zielproteins verändert.

**Zellspezifische Wirkungen der Proteinkinase-A.** Die Proteinkinase-A liegt in der Zelle als heterotetrameres Molekül vor, bestehend aus zwei regulatorischen und zwei katalytischen Untereinheiten (Bild 2-6). Die Bindung von cAMP an die regulatorischen Untereinheiten bewirkt eine Dissoziation des Proteins. Die katalytischen Untereinheiten werden nun frei und aktiv und phosphorylieren verschiedene Substratproteine. Die Substrate der Proteinkinase-A sind von Zelltyp zu Zelltyp verschieden. In der Leber werden Schrittmacherenzyme des Glucose- und Glykogen-Stoffwechsels phosphoryliert, in Darmzellen, wie oben besprochen, ist es ein Chloridkanal. cAMP kann also, in Abhängigkeit von der jeweiligen Zielzelle, vielfältige Reaktionen auslösen (siehe Tabelle 1). Es ist also die spezifische Enzymausstattung der verschiedenen Zellen, die zu unterschiedlichen Wirkungen des cAMP bzw. der Proteinkinase-A führen.

**Spezifische und weniger spezifische Proteinkinasen.** In der Leberzelle ist eines der Substratproteine für Proteinkinase-A die Phosphorylase-Kinase. Letzteres Enzym liegt in der Leberzelle in der **dephosphorylierten** Form vor, wenn die Energieladung der Zelle hoch ist. In der dephosphorylierten Form zeigt das Enzym nur geringe Aktivität. Bei Hunger hingegen, wenn die Glucagonkonzentration im Blut fällt und folglich die cAMP-Konzentration in der Zelle steigt, wird die Phosphorylase-Kinase durch die Proteinkinase-A phosphoryliert und damit aktiviert. Während die Proteinkinase-A viele Substrate hat, also verschiedene Proteine phosphorylieren kann, ist die Phosphorylase-Kinase sehr spezifisch und phosphoryliert nur

die Glykogen-Phosphorylase. Durch die Phosphorylierung wird die Glykogen-Phosphorylase aktiviert und setzt Glucose-1-phosphat Moleküle aus Glykogen frei.

Empfängergewebe	Hormon	Antwort
Schilddrüse (Glandula thyroidea)	Thyreoidea Stimulierendes Hormon (TSH)	Synthese und Sekretion des Thyreoidhormons Thyroxin
Nebennierenrinde	Adrenocorticotropes Hormon (ACTH)	Sekretion von Cortisol
Eierstöcke (Ovarien)	Luteinisierendes Hormon (LH)	Sekretion von Progesteron
Muskeln	Adrenalin	Glykogenabbau
Knochen	Parathormon	Resorption von Knochenmasse
Herz	Adrenalin	Erhöhung des Herzschlags und der Herzmuskelkontraktion
Leber	Glucagon	Glykogenabbau
Niere	Vasopressin (ADH)	Resorption von Wasser

Tabelle 2-1. Einige hormoninduzierte und cAMP-vermittelte zelluläre Antworten.

Warum besteht die Proteinkinase-A aus vier Untereinheiten, zwei katalytischen und zwei regulatorischen, wobei die regulatorischen Untereinheiten insgesamt vier Moleküle cAMP binden? Erinnern wir uns an die Unterschiede der Quartärstrukturen von Myoglobin und Hämoglobin. Myoglobin besteht nur aus einer einzigen Untereinheit, die jeweils ein einziges Sauerstoffmolekül bindet. Die O<sub>2</sub>-Bindungskurve des Myoglobins ist eine hyperbolische, so wie die Kurve 1 in der Bild 2-7.

Hämoglobin hingegen besteht aus vier Untereinheiten und bindet vier Sauerstoffmoleküle. Die Bindung des ersten Sauerstoffmoleküls an eine der Untereinheiten erleichtert die Bindung des zweiten und diese die Bindung des dritten und so fort. Dieses Bindungsverhalten wird als kooperativ bezeichnet; die Bindungskurve ist nicht mehr hyperbolisch sondern sigmoid (Kurven 2 und 4 in Bild 2-7). Die Kurve 2 beschreibt das Bindungsverhalten eines Enzyms mit zwei Untereinheiten und zwei Bindungsstellen, die Kurve 4 die eines Enzyms mit vier Untereinheiten und Bindungsstellen. Der Anfang der Bindungskurve 4 verläuft sehr flach, was bedeutet, dass bei niedriger Sauerstoffkonzentration noch keine Bindung erfolgt, wird dann jedoch plötzlich sehr steil.

Solche sigmoide Bindungskurven zeigen auch zahlreiche Enzyme, die meisten von ihnen sind Schrittmacher von wichtigen Stoffwechselwegen. Ein aus zwei Untereinheiten bestehendes Enzym würde die sigmoide Bindungskurve 2 (siehe Bild 2-7) zeigen.

Die Proteinkinase A, bestehend aus vier Untereinheiten mit vier Bindungsstellen, zeigt also die Bindungskurve 4. Aus dieser Kurve ist klar ersichtlich, dass ein relativ hoher Schwellenwert an cAMP erreicht werden muss, bevor das Enzym aktiviert wird. Danach reicht eine relativ geringe Erhöhung aus, um das Enzym voll zu aktivieren. cAMP erweist sich hier als ein Schalter, ähnlich einem elektrischen Schalter, der auf "an" oder "aus" gestellt sein kann.

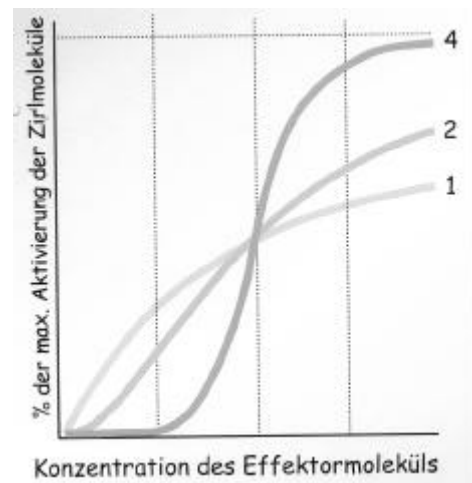


Bild 2-7. Einfache und kooperative Aktivierung von Zielproteinen. Kurve 1 zeigt ein Protein, welches durch geringe Mengen an Aktivator beeinflusst werden kann. Kurve 4 zeigt das Verhalten eines Proteins, welches einen Schwellenwert überschreiten muss, bevor es aktiviert wird. Protein 1 verhält sich wie ein elektrischer Dimmer, Protein 4 dagegen wie ein Schalter.

Wenn der Schwellenwert des Liganden (cAMP) überschritten wird geht der "Schalter" auf "an", bei Unterschreitung auf "aus". Einfache, aus einer Untereinheit bestehende und mit nur einer Bindungsstelle ausgestattete Enzyme könnten nicht in dieser Weise als "Schalter" dienen, sie würden sich eher wie "Dimmer" verhalten.

## 2.6 Katabole Substratproteine der Proteinkinase A werden durch Phosphorylierung aktiviert, anabole inaktiviert

**Koordinierte An- und Abschaltung entgegengerichteter Stoffwechselwege durch Proteinkinase-A.** Proteinkinase-A fördert über die Aktivierung der Glykogensynthase-Kinase (GSK) die Phosphorylierung der Glykogen-Synthase. Dieses Enzym ist Schrittmacher der Glykogen-Biosynthese und liegt in der Zelle bei hoher Energieladung in der dephosphorylierten Form vor, ähnlich wie die Phosphorylase-Kinase. In der dephosphorylierten Form ist die Glykogen-Synthase jedoch, im Gegensatz zur Phosphorylase-Kinase, aktiv. Die Proteinkinase A-vermittelte Phosphorylierung führt zur **Inaktivierung** des anabolen Enzyms Glykogen-Synthase (Bild 2-8), während das katabole Enzym Phosphorylase-Kinase aktiviert wurde. Dies ist biologisch sinnvoll, denn im Hungerzustand muss Glykogen ab- und nicht aufgebaut werden. Wir sehen also, dass durch den selben Mechanismus, nämlich durch die Phosphorylierung von Substratproteinen, eine koordinierte **Anschaltung** kataboler Enzyme (Phosphorylase-Kinase, Glykogen Phosphorylase) bei gleichzeitiger **Abschaltung** anabolen Enzyme (Glykogen-Synthase) erfolgt. Diese Beobachtung gilt allgemein: bei erhöhtem cAMP-Spiegel werden katabole Schrittmachereenzyme durch die Wirkung der Proteinkinase A aktiviert, anabole Schrittmachereenzyme dagegen inaktiviert.

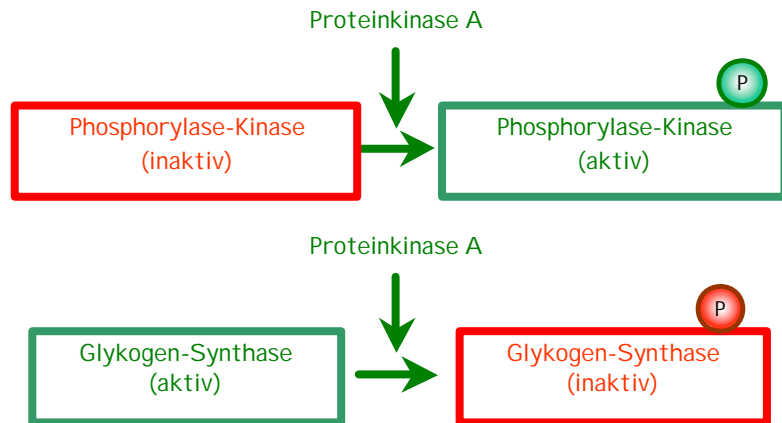


Bild 2-8. Katabole und anabole Wege werden durch die Proteinkinase-A (PKA) koordiniert reguliert

## 2.7 cAMP wirkt nicht nur aktivierend auf vorhandene Enzymproteine sondern kann auch Gene anschalten und zur Neusynthese von Enzymproteinen beitragen

Die Erhöhung des cAMP-Spiegels führt zur Aktivierung der Transkription spezifischer Gene. Gut untersucht ist das Somatostatin-Gen. In Zellen, die das Peptidhormon Somatostatin sezernieren, schaltet cAMP das Gen ein, das für dieses Hormon codiert. Das regulatorische Element (Enhancer) des Somatostatingens enthält eine kurze DNA-Consensus-Sequenz: TGACGTCA, das sogenannte cAMP response element (CRE), das auch in regulatorischen Elementen vieler anderer cAMP-abhängiger Gene nachgewiesen wurde. Dieses Element (Bild 2-9) wird von einem spezifischen Transkriptionsfaktor CREB (cAMP response element binding protein) erkannt, der an das Element bindet und die RNA-Polymerase aktiviert. Ist der Transkriptionsfaktor CREB an einem spezifischen Serinrest phosphoryliert, eine Reaktion, die durch die Proteinkinase A katalysiert wird, dann wird das Gen angeschaltet. Bei sinkendem cAMP-Spiegel, wenn CREB wieder dephosphoryliert wird, wird das Gen auch wieder abgeschaltet.

- ❖ PKA phosphoryliert CREB (cAMP response element binding protein) - einen Transkriptionsfaktor
- ❖ Phosphoryliertes CREB wandert in den Zellkern und bindet an Gene (z.B. an den Enhancer des Somatostatins)
- ❖ cAMP responsive Gene enthalten ein CRE-Element:  
 $5' \text{-TGACGTCA-}3'$   
 eine palindromische Sequenz, an welches CREB als Dimer bindet und die RNA-Polymerase aktiviert.

Bild 2-9. Proteinkinase-A wirkt auch auf die Genexpression.

## 2.8 Serin/Threonin-Proteinphosphatasen heben die Wirkung der Proteinkinase A wieder auf

Für die Zellen ist es wichtig, dass die Wirkung von cAMP nur vorübergehend ist. Dazu müssen die von der Proteinkinase A phosphorylierten Proteine rasch wieder dephosphoryliert werden (Bild 2-10), wenn die Signalkwirkung des Hormons nachlässt. Die Dephosphorylierung phosphorylierter Serin- und Threonin-Reste wird von verschiedenen Phosphoprotein-Phosphatasen katalysiert.

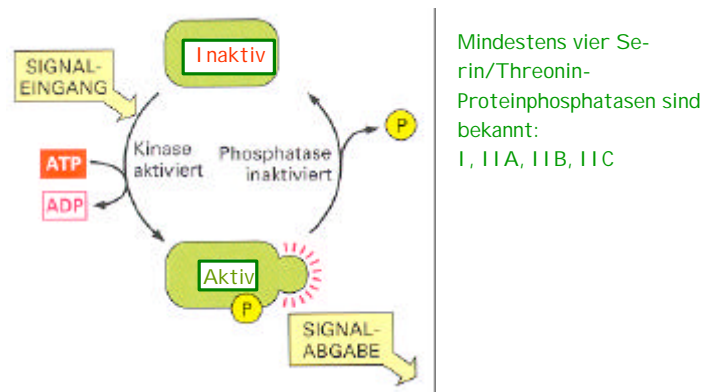


Bild 2-10. Protein-Phosphatasen heben die Wirkung der Proteinkinase-A wieder auf

Die Aktivität jedes Proteins, das über Phosphorylierung reguliert wird, hängt zu jedem Zeitpunkt vom jeweiligen Gleichgewicht zwischen den Kinasen, die es phosphorylieren, und den Phosphatasen, die es immer wieder dephosphorylieren, ab.

## 2.9 Veränderung des Zellstoffwechsels durch Glucagon

Wichtigstes Zielorgan für Glucagon ist die Leber, die eine hohe Dichte an Glucagonrezeptoren aufweist. Glucagon wirkt über die Erhöhung des cAMP-Spiegels im Inneren der Zelle. Alle bekannten Glucagoneffekte lassen sich durch diesen Mechanismus erklären. Bedeutende Glucagonwirkung ist (1) die Steigerung des Glykogenabbaus. Diese Steigerung wird durch die Aktivierung der Glykogen-Phosphorylase und deren Regulator, der Phosphorylase-Kinase, bewerkstelligt. Die Mobilisierung der Glykogenreserven dient in erster Linie der Erhöhung der Blutglucose-Konzentration und der Versorgung des zentralen Nervensystems. Mit der gesteigerten Glykogenolyse (siehe Bild 2-11) geht die (4) koordinierte Hemmung der Glykogenbiosynthese einher, die auf die Phosphorylierung und Inaktivierung der Glykogen-synthase zurückzuführen ist. Daneben stimuliert Glucagon (3) die Oxidation freier Fettsäuren in der Leber (Stimulierung der  $\beta$ -Oxidation über unbekannte Mechanismen), was wiederum eine gesteigerte Ketogenese und Freisetzung von Ketonkörpern ins Blut zur Folge hat. Damit kann der Organismus bei Hunger (Glucosemangel) periphere Organe mit Ketonkörpern zur

Deckung des Energiebedarfs versorgen und damit Glucose - die für die Versorgung des Gehirns dringend benötigt wird - einsparen. Glucagon wirkt (2) stimulierend auf die Gluconeogenese (Blutglucose-steigernd) und (5) hemmend auf die Glykolyse. Glucagon steigert also den Blutglucose-Spiegel. Diese Eigenschaft macht Glucagon zu einem Antagonisten des Insulins.

- (1) Steigerung des Glykogenabbaus
  - ◆ Phosphorylase-Kinase
  - ◆ Glykogen-Phosphorylase
- (2) Stimulierung der Gluconeogenese
  - ◆ Transaminasen
  - ◆ Pyruvatcarboxylase
  - ◆ PEP-Carboxykinyse
  - ◆ Fructose-1,6-bisphosphatase
  - ◆ Glucose-6-phosphatase
- (3) Mobilisierung der Fettreserven
  - ◆ Hormonsensitive Lipase
- (4) Hemmung der Glykogenbiosynthese
  - ◆ Inaktivierung der Glykogensynthase
- (5) Hemmung der Glykolyse
  - ◆ Inaktivierung der Phosphofructokinase
  - ◆ Inaktivierung der Pyruvatkinase

Bild 2-11. Glucagonwirkungen (Leber, Adipocyten)



### 3 Hormone der Bauchspeicheldrüse: Insulin

**Fallbeschreibung** (Bild 3-1). Eine 63 jährige übergewichtige Patientin (Größe 163 cm, Gewicht 83 kg) sucht wegen Beschwerden beim Wasserlassen (Pollakisurie, Strangurie) die Sprechstunde auf. Sie berichtet, diese Beschwerden in der Vergangenheit in leichter Form schon früher verspürt zu haben, „Blasentee“ habe aber immer geholfen. **Untersuchung:** Spur Eiweiß im Urin, Zuckerreaktion ist positiv. Es besteht Leukozyturie und eine signifikante Bakterurie (Coli- Er-reger). Bei der weiteren Diagnostik finden sich Blutzuckerwerte zwischen 220 und 315 mg/dl (normal: 70-110). Der Hb-A1c-Wert ist 12%. Es besteht eine Hyperglyceridämie von 295 mg/dl. Der Blutdruck ist auf 185/95 mmHg erhöht.

Die durch den Harnwegsinfekt veranlasste Untersuchung führt zufällig zur Entdeckung des bei der Patientin bestehenden Typ-II-Diabetes.

Insulin ist ein Hormon, welches - grob formuliert - anabole Stoffwechselfvorgänge fördert, katabole hemmt (Bild 3-2). Die Hauptaufgabe des Insulins im Stoffwechsel ist es, Substrate, die durch die Nahrung aufgenommen wurden, zu den Depots zu befördern. Unter Insulinwirkung wird in der Leber und im Muskel Glucose in **Glykogen** eingelagert oder im Fettgewebe in Fettsäuren umgewandelt. Fettsäuren werden im Fettgewebe in die **Fettdepots** eingelagert, Aminosäuren im Muskel in **Protein** eingebaut. Ein Teil des Muskelproteins steht als Aminosäurepool für die Gluconeogenese zur Verfügung. Insulin fördert **Zellwachstum**. Als einziges Hormon senkt Insulin signifikant den **Blutglucosespiegel** durch eine beschleunigte Aufnahme von Glucose in die Muskulatur und ins Fettgewebe. Somit ist Insulin ein Gegenspieler zu anderen Hormonen wie Glucagon, Adrenalin und Cortisol.

- ❖ Insulin lenkt Substrate in die Depots
  - ◆ Glucose wird als Glykogen gespeichert oder in Fettsäuren umgewandelt
  - ◆ Nahrungsfette werden als Depotfett in Adipocyten abgelagert
  - ◆ Aminosäuren werden in Protein eingebaut; ein Teil des Muskelproteins steht dann für die Gluconeogenese zur Verfügung
- ❖ Insulin senkt den Blutglucosespiegel

Bild 3-2. Insulin, ein anaboles Hormon

#### 3.1 Biosynthese des Insulins

Insulin ist ein Proteohormon und wird in den  $\beta$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des endokrinen Pankreas gebildet. Der endokrine Teil der Bauchspeicheldrüse enthält die Langerhans'schen Inseln, kleine, über das Pankreas verstreute Zellaggregate, in denen verschiedene Zelltypen vorhanden sind: (1) die für die Produktion von Glucagon verantwortlichen  $\alpha$ -Zellen, (2) die  $\beta$ -Zellen, in denen die Insulinbiosynthese und -Speicherung erfolgt, sowie (3) die  $\delta$ -Zellen, die Somatostatin produzieren. Die  $\beta$ -Zellen machen etwa 80% der Zellmasse der Langerhans'schen Inseln aus.

Das Insulingen des Menschen besteht aus drei Exons, die von zwei Introns unterbrochen werden. Exon 1 codiert für einen Teil des Signalpeptids. Exon 2 codiert für den Rest des Signal-

peptids, für das B-Peptid und für einen Teil des C-Peptids. Exon 3 codiert für den Rest des C-Peptids und für das A-Peptid. Insulin wird zunächst in Form einer längeren Vorstufe, als

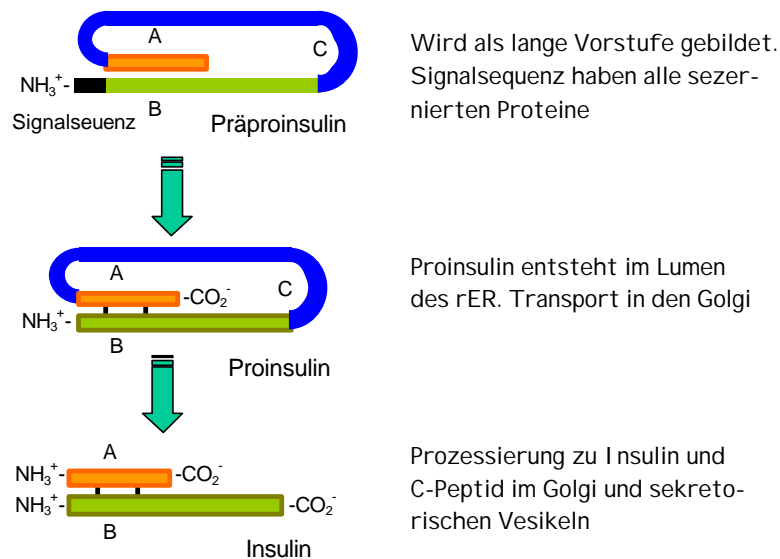


Bild 3-3. Biosynthese des Insulins. Insulin wird als längere Vorstufe, nämlich als Präproinsulin sezerniert. Die Signalsequenz dient der Zielsteuerung.

Präpro-Insulin gebildet (Bild 3-3), das aus dem Signalpeptid, dem B-, C- und A-Peptid besteht. Wie bei anderen sekretorischen Proteinen ist das Signalpeptid verantwortlich dafür, dass die Insulin-synthetisierenden Ribosomen an das raue endoplasmatische Retikulum (ER) gelenkt werden und das Präproinsulin ins Lumen des ER abgegeben wird. Nach Entfernung des Signalpeptids durch die Signalpeptidase im ER wird das entstandene Proinsulin in Vesikeln verpackt und in den Golgi-Apparat transportiert. Aus dem Golgi-Apparat werden  $\beta$ -Granula abgeschnürt, in denen Proinsulin und fertiges Insulin zu finden sind. Die Umwandlung von Proinsulin zu Insulin erfolgt z.T. im Golgi als auch in den Speichergranula. Die Umwandlung erfolgt durch Herausschneiden des C-Peptids, katalysiert von einer spezifischen Protease, einem Mitglied der Familie der Prohormon-Convertasen. Das C-Peptid wird nicht weiter abgebaut, so dass in den Sekretgranula äquimolare Mengen an Insulin und C-Peptid gespeichert werden. Diese Tatsache ist insofern von klinischer Relevanz, weil durch eine spezifische immunologische Bestimmung der C-Peptid-Konzentration im Plasma von Insulin-behandelten Diabetikern auf die noch vorhandene körpereigene Restsekretion von Insulin Rückschlüsse gezogen werden können. Hormonell aktiv ist nur das fertige Insulin, das nur noch aus dem A- und B-Peptid besteht, die durch Schwefel-Brücken miteinander kovalent verbunden sind.

### 3.2 Insulinsekretion

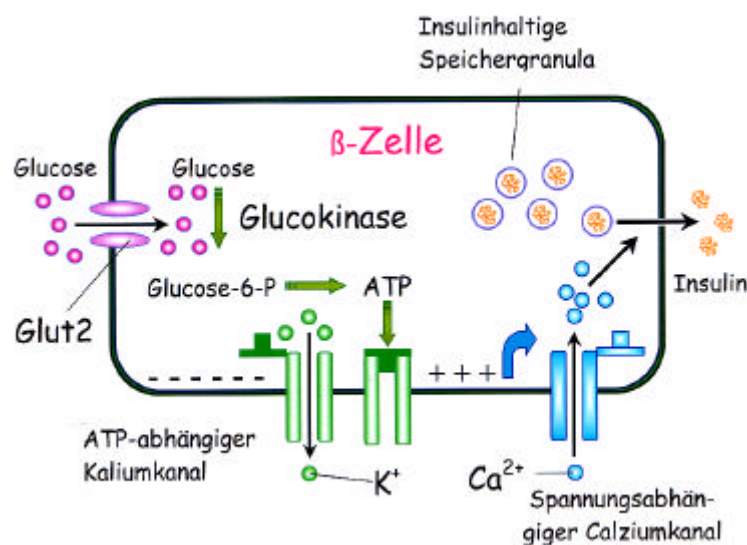
**Die Insulinsekretion hängt von der extrazellulären Glucosekonzentration ab und wird von anderen Substraten sowie Hormonen moduliert.** Der physiologische Reiz zur Insulinsekretion in der  $\beta$ -Zelle wird durch die Erhöhung der Glucosekonzentration in der extrazellulären Flüssigkeit ausgelöst (Bild 3-4 und 3-5). Im Normalbereich des Blutglucosespiegels (3,6 - 5,7 mmol/l entspr. 70-100 mg/dl) ist

- ❖ Förderung
  - ◆ Anstieg der Blutglucose
  - ◆ Leucin, Alanin, Arginin
  - ◆ Fettsäuren, Ketonkörper
  - ◆ Parasympathicus
  - ◆ Darmhormone: GLP-2, GIP
  - ◆ Orale Antidiabetika:
    - der Sulfonylharnstoff-Gruppe: (Tolbutamid, Glibenclamid)
- ❖ Hemmung
  - ◆ Abfall der Blutglucose
  - ◆ Insulin
  - ◆ Somatostatin
  - ◆ Sympathicus ( $\alpha$ -Rezeptor)

Bild 3-4. Insulin-Sekretion. Faktoren, die zur Förderung der Insulinsekretion führen.

die Insulinsekretion nahezu linear proportional zur Änderung der Blutglucosekonzentration. Bei höherer Konzentration (7-15 mM) flacht die Kurve ab und mündet in einem Grenzwert. Jede Erhöhung der Blutglucosekonzentration oberhalb von ca. 3 mM führt also zu einer dosisabhängigen Freisetzung von Insulin ins Plasma. Die Erhöhung der Plasma-Insulinkonzentration bewirkt umgekehrt eine rasche Aufnahme der Glucose in Muskel- und Fettgewebszellen (Bild 3-8; 3-9) mittels des insulinabhängigen Glucosetransportes vom Typ 4 (Glut4), der in beiden Geweben vorkommt.

Die von Glucose ausgelöste Insulinsekretion kann durch Substrate stimuliert werden wie Leucin, Alanin, Arginin, Fettsäuren, Ketonkörper und andere Monosaccharide. Hormone des adrenergen Systems, wie Adrenalin und Noradrenalin, hemmen die Insulinsekretion. Somatostatin, das durch die  $\delta$ -Zellen des Pankreas gebildet wird, hemmt die Insulinausschüttung ebenfalls (Bild 3-4).



**Bild 3-5. Mechanismus der Glucose-abhängigen Insulin-Sekretion.** Mit Hilfe des Glucose-Transporters vom Typ 2 (Glut2) wird die Glucosekonzentration in der  $\beta$ -Zelle sehr schnell der Konzentration im Blut angepasst. Der intrazelluläre "Glucose-Sensor der  $\beta$ -Zelle" ist die Glucokinase: dank der niedrigen Affinität des Enzyms zur Glucose ( $K_M = 16 \text{ mmol/l}$ ) ist die Umsatzgeschwindigkeit der Glucose proportional zur intrazellulären Glucose-Konzentration, nicht nur im Normalbereich der Blutglucose (zwischen 4 und 6  $\text{mmol/l}$ ), sondern weit darüber hinaus. Glucose wird über die Glykolyse, Citratzyklus und Atmungskette zu  $H_2O$  und  $CO_2$  metabolisiert, wobei ADP zu ATP phosphoryliert wird (oxidative Phosphorylierung). Die intrazelluläre ATP-Konzentration ist schließlich ausschlaggebend für die Menge an sezerniertem Insulin. ATP bindet an ATP-abhängige Kaliumkanäle und schließt diese. Dadurch wird der Ausstrom an positiv geladenen Kaliumionen verhindert, die Polarisierung der Membran unterbleibt. Da aber gleichzeitig durch andere Kanäle Natriumionen in die Zelle gelangen können, kann das Ruhepotential der Zelle nicht aufrechterhalten werden und es kommt zu einer Depolarisation der Membran. Dies wird von Spannungs-abhängigen Calciumkanälen registriert, die sich öffnen und Calciumionen in die Zelle einströmen lassen. Calciumionen sind die wichtigsten Stimulatoren für die Verschmelzung von sekretorischen Vesikeln mit der Plasmamembran, was zur Ausschüttung von Insulin führt.

Seit langem ist bekannt, dass die gleiche Menge an Glucose oral verabreicht zu höheren Insulinspiegeln führt als bei intravenöser Zufuhr. Dies ist die Folge einer durch Enterohormonen gesteigerten Insulinsekretion. Das gastrische inhibitorische Peptid (GIP) und das in den Mucosazellen entstehende Glucagon-ähnliche Peptid GLP-1, beeinflussen die Insulinsekretion stimulierend. Unter den Pharmaka üben Sulfonylharnstoffe, wie Tolbutamid und Glibenclamid ausgeprägte stimulierende Wirkung auf die Insulinsekretion aus. Daher werden sie als orale Antidiabetika zur Therapie einiger Formen des Typ II Diabetes eingesetzt.

**Rolle der Glucokinase als Glucose-Sensor der  $\beta$ -Zelle.** Biochemische und elektrophysiologische Untersuchungen führten zur Aufklärung der Mechanismen, die nach Anstieg der Blutglucosekonzentration zu einer Sekretion von Insulin ins Plasma führen. Glucose wird von den  $\beta$ -Zellen in Abhängigkeit von der Blutglucose-Konzentration aufgenommen und verstoffwechselt, wobei letztlich ATP gebildet wird. Verantwortlich für die Glucoseaufnahme ist der **Glucosetransporter 2** (Glut2), der sich durch einen besonders hohen  $K_M$ -Wert (15-20 mM) für Glucose und einer hohen katalytischen Kapazität ( $V_{max}$ ) auszeichnet. Damit ist gewährleistet, dass die Eintrittsgeschwindigkeit der Glucose in die  $\beta$ -Zelle nahezu proportional zu den Schwankungen des Blutglucosespiegels erfolgt. Vererbte Defekte im Gen dieses Transporters führen zu frühkindlichen Formen von Diabetes mellitus. In der Zelle wird Glucose zu Glucose-6-phosphat umgewandelt. Diese Reaktion wird in der Bauchspeicheldrüse von der **Glucokinase** katalysiert, einem Enzym mit einer ebenfalls **hohen Michaeliskonstante** ( $K_m=15$  mM) und hoher **katalytischen Kapazität**. Im physiologischen Blutglucosebereich ist die Glucosephosphorylierung in der  $\beta$ -Zelle nahezu linear proportional zur Blutglucosekonzentration. Letztlich wird Glucose-6-phosphat in den Mitochondrien metabolisiert, was zu einem Anstieg des ATP/ADP-Verhältnisses innerhalb der  $\beta$ -Zellen führt. Da die Glucosephosphorylierung geschwindigkeitsbestimmend für die ATP-Bildung ist, gilt die Glucokinase als der **Glucose-Sensor** der  $\beta$ -Zelle.

**Rolle ATP-abhängiger  $K^+$ -Kanäle und spannungsabhängiger  $Ca^{2+}$ -Kanäle bei der Insulinsekretion.** Die steigende ATP-Konzentration bewirkt die Schließung von **ATP-abhängigen Kaliumkanälen** in der Plasmamembran der  $\beta$ -Zelle (Bild 3-5). Die Verhinderung des Kaliumausstroms durch diesen Kanal führt zur lokalen **Depolarisierung** der Plasmamembran. Lokale Depolarisierung führt zur Öffnung von **spannungsabhängigen Calciumkanälen** und zum Einstrom von Calcium aus dem extrazellulären Raum. Der Anstieg der Konzentration von freiem  $Ca^{2+}$  in der Zelle ist ein wichtiger Auslöser des **regulierten Vesikeltransports** und der Exocytose von Insulin aus den Sekretgranula.

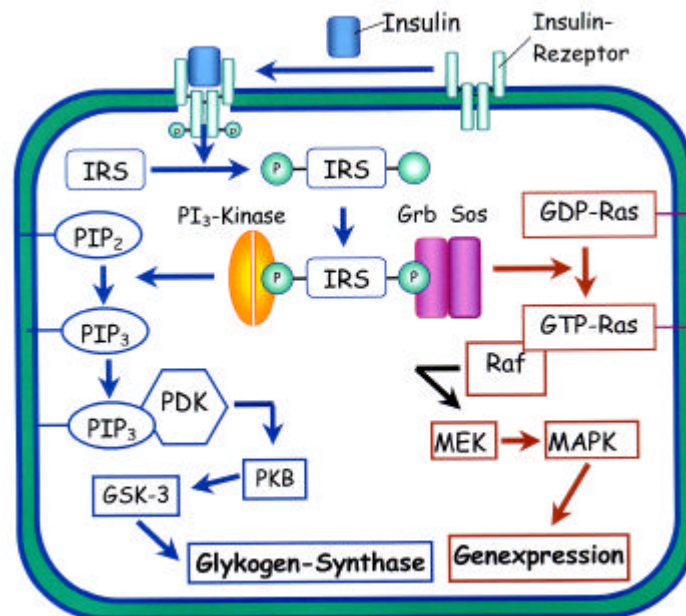
### 3.3 Vermittlung der Insulin-Botschaft in das Zellinnere

**Der Insulinrezeptor.** Der Insulinrezeptor ist ein heterotetrameres Protein bestehend aus zwei  $\alpha$ - und zwei  $\beta$ -Ketten, wobei die  $\beta$ -Ketten über je eine Transmembrandomäne in der Plasmamembran verankert sind. Durch alternatives Spleissen werden in der Zelle zwei Formen der  $\alpha$ -Kette gebildet; der A-Form fehlen 11 Aminosäuren am C-Terminus des Rezeptors, während die B-Form diese Aminosäuren besitzt. Die zwei Rezeptortypen können verschiedene Signaltransduktionswege des Insulins unterschiedlich stark stimulieren. Bekannt ist, dass die A-Form die PI3-Kinase sowie die p70s6-Kinase stärker induziert als die B-Form. Umgekehrt induziert die B-Form die Proteinkinase B stärker.

Der Insulinrezeptor gehört in die Klasse der **enzymgekoppelten Zelloberflächen-Rezeptoren**: er ist eine **Tyrosinkinase**. Nach Bindung des Insulins an die Außenseite des Rezeptors (Bild 3-6) wird die Tyrosinkinase-Aktivität der  $\beta$ -Ketten stimuliert: sie phosphorylieren sich selbst (**Autophosphorylierung**) und andere Proteine, wie **IRS1** und **IRS2** (IRS = Insulin-Rezeptor-Substrat). Die IRS-Proteine werden durch die phosphorylierten Tyrosinreste zu **Ankerplätzen** für Enzyme, die durch das Andocken an IRS aktiviert werden.

**Der Insulinrezeptor vermittelt schnelle und langsame Effekte über verschiedene Signaltransduktionswege.** Zwei der oben genannten Enzyme, die an IRS1 oder IRS2 andocken - und dadurch aktiviert werden - sind bisher näher charakterisiert worden. Eines ist die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3-Kinase). Dieses Enzym fördert die Bildung von **Phosphatidylinositol-3,4,5-Trisphosphat** ( $PIP_3$ ) aus  $PIP_2$  und ATP (Bild 3-7).  $PIP_3$  ist ein zweiter Bote, der in der Membran verankert ist und mit  $PIP_3$ -abhängigen Proteinen in Wechselwirkung tritt. Zu diesen Proteinen gehört **PDK1** ( $PIP_3$ -Dependent-Kinase-1). PDK1 aktiviert

durch Phosphorylierung an Serin- oder Threoninresten weitere Proteinkinasen (und Proteinphosphatasen) die ihrerseits die schnellen Wirkungen des Insulins auslösen. Beispielsweise wird über die Aktivierung der **Proteinkinase B** die Glykogensynthese gefördert, über die **Proteinkinase C** (C-zeta) die Glucoseaufnahme in Muskel- und Fettgewebszellen. Proteinkinase C? fördert den vesikulären Transport und bewirkt, dass Vesikel, die mit Glucose-Transportern 4 (Glut4) vollgepackt sind an die Plasmamembran transportiert werden und mit der Plasmamembran verschmelzen (Bild 3-9). Die nunmehr in der Plasmamembran lokalisierten insulinabhängigen Glucosetransporter Glut4 erlauben in Muskel- und Fettgewebszellen,



**Bild 3-6. Insulin-Wirkungsmechanismen.** Durch die Bindung von Insulin an den Rezeptor wird die Tyrosinkinase-Aktivität des Rezeptors angeschaltet: der Rezeptor phosphoryliert sich selbst. Tyrosin-Phosphatreste im Rezeptor sind Ankerstellen für weitere Proteine, wie z.B. das "Insulin-Rezeptor-Substrat" (IRS), welches durch die Tyrosinkinase Aktivität des Rezeptors ebenfalls phosphoryliert wird. An die Tyrosinphosphate des IRS binden Enzyme, die durch die Wechselwirkung mit IRS aktiviert werden. Eines dieser Enzyme ist die PI-3-Kinase (Phosphatidylinositol-3-Kinase) und das GDP/GTP-Austauschenzym (Grb/Sos). Die PI-3-Kinase führt zur Bildung des "second messengers" PIP<sub>3</sub> (Phosphatidylinositol-3-phosphat), das andere Enzym zur Aktivierung von Ras. PIP<sub>3</sub> aktiviert eine Kaskade, über die die schnellen Wirkungen des Insulins ausgeführt werden. Ras aktiviert eine andere Kaskade, über die die langsamen Wirkungen des Insulins erfolgen (mehr dazu im Text).

wo sie vor allem vorkommen, eine schnelle Glucoseaufnahme. Beim insulinpflichtigen Diabetes mellitus wird dieser Weg aus Insulinmangel (oder -Resistenz) nicht aktiviert, wodurch die Glucose im Blut verbleibt.

**Über die Ras-Kaskade werden die Langzeiteffekte des Insulins ausgelöst.** Ein zweites Enzym, das aus den Proteinen mit den exotischen Namen grb (growth factor bound) und sos (son of sevenless) besteht, wird nach Bindung an IRS1 oder IRS2 ebenfalls aktiviert. Im aktiven Zustand katalysiert es den Austausch von GDP gegen GTP in einem membranständigen Protein namens **Ras** (Rous sarcoma), das als virales Oncogen seit langem bekannt ist. Der GTP-Ras-Komplex aktiviert - über einen spezifischen Kontakt mit Raf, einer Serin/Threonin-Kinase - eine Kaskade (**RAF** ® **MEK** ® **ERK**), auch **Ras-Kaskade** genannt, die letztlich zur Phosphorylierung von Transkriptionsfaktoren (und/oder Cyclinen) führt und somit zur **Genexpression** und/oder zur Zellteilung. Es wird vermutet, dass über diesen Aktivierungsweg viele Gene für anabole Schrittmachereenzyme aktiviert werden und für die **Langzeiteffekte** des Insulins, die nach vielen Minuten bis Stunden einsetzen, verantwortlich sind.

Insulin aktiviert eine ubiquitäre **Phosphodiesterase**, die das wirksame cAMP in das unwirksame AMP überführt. Insulin senkt somit den **cAMP-Spiegel** von Zellen und antagonisiert die Wirkung von Glucagon (und Adrenalin).

### 3.4 Änderungen des Zellstoffwechsels durch Insulin

#### Insulinempfindliche Organe.

Insulin wirkt nicht auf alle Gewebe des Organismus in gleichem Maße, da nicht alle gleich dicht mit Rezeptoren ausgestattet sind. Die höchste Konzentration an Insulinrezeptoren findet man in der Plasmamembran von Leber-, Muskel-, Fettgewebszellen und Lymphozyten. Aufgrund ihrer Masse sind die Muskulatur, das Fettgewebe, und die Leber besonders wichtig. Insulin unempfindliche Organe sind das Gehirn (obwohl einige insulinempfindliche Zentren existieren), Erythrocyten, intestinale Mucosa und die Nieren.

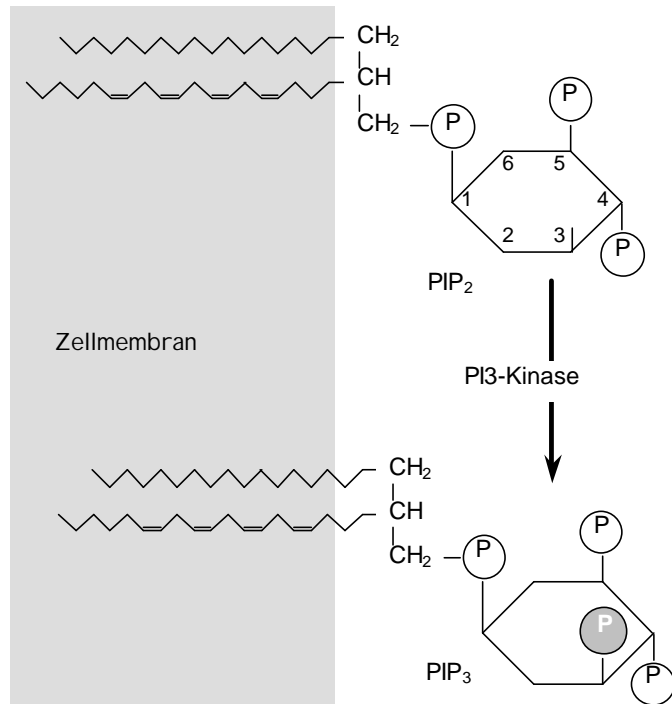


Bild 3-7. Insulin vermittelte Bildung des "second messengers" PIP<sub>3</sub> (Phosphatidylinositol-trisphosphat)

**Insulinwirkungen auf Muskel- und Fettgewebszellen.** Zu den schnellen Wirkungen des Insulins, die in wenigen Minuten eintreten, gehört die Insulin-abhängige Aufnahme von Glucose aus dem Blut in Muskelzellen und Adipozyten (Bild 3-8). Anbetracht der großen Masse

- ❖ Förderung der Glucoseaufnahme
  - ♦ Vesikulärer Transport von Glucosetransportern vom Typ 4 (Glut-4) aus dem Zellinneren zur Plasmamembran (schnelle Insulinwirkung über PI P3/PDK1 → Proteinkinase B)

Bild 3-8. Insulinwirkungen auf Muskel- und Fettgewebszellen

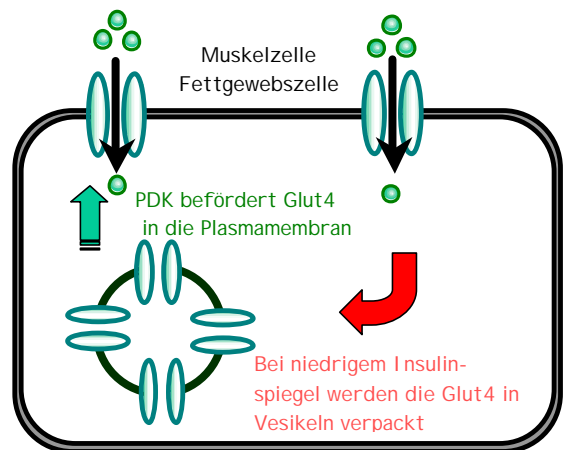


Bild 3-9. Förderung der Glucoseaufnahme in Muskel- und Fettgewebszellen durch Insulin

dieser Gewebe und der Geschwindigkeit der Glucoseaufnahme wird nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit bei gesunden Personen der Blutglucosespiegel kaum erhöht. Insulin steigert die Glucoseaufnahme in diese Zellen, indem es die Anzahl eines spezifischen **Glucosetransporters** (Glut4) in der Plasmamembran erhöht. Dieser Transporter kommt ausschließlich in

Muskelzellen und Adipozyten vor. Sie befinden sich in der Plasmamembran und in einem vesikulären Kompartiment des Golgi-Apparats. Zwischen der Plasmamembran und dem Golgi-Apparat können Glut4-Moleküle durch vesikulären Transport ausgetauscht werden (Bild 3-9). Bei niedrigem Insulinspiegel ist die Endozytose bevorzugt, so dass sich wenig Transporter in der Plasmamembran und viel in den Vesikeln befinden. Insulin verschiebt das Gleichgewicht in Richtung Exozytose, wodurch die Zahl der Transporter in der Plasmamembran stark ansteigt. Die vermehrte Transporterdichte in der Membran kann die Glucoseaufnahme um das zehnfache beschleunigen, bei in vitro Experimenten bis zum zwanzigfachen oder höher. Der intrazelluläre „second messenger“, der diese Reaktionen steuert ist  $\text{PIP}_3$  (Bild 3-7), der unter der Wirkung der Phosphatidy-Inositol-3-Kinase (PI3-Kinase) gebildet wird.

Zu den wichtigen Insulinwirkungen in Muskelzellen gehört auch die Förderung der **Glykogenbildung** und **Proteinsynthese**, in den Fettgewebszellen (Bild 3-10) die Förderung der Fetteinlagerung durch Aktivierung der **Lipoprotein-Lipase**. Durch Hemmung der **hormonsensitiven Lipase** wird der Fettabbau in Adipozyten gehemmt.

- ❖ Förderung der Glucoseaufnahme
- ❖ Fett-Aufnahme
- ◆ Aktivierung der Lipoproteinlipase
- ❖ Stimulierung der Glykolyse
- ◆ Aktivierung der Phosphofruktokinase
- ❖ Fettsäurebioynthese
- ◆ Aktivierung der Pyruvatdehydrogenase
- ◆ Aktivierung der Acetyl-CoA-Carboxylase
- ❖ Triglyceridspeicherung
- ◆ Hemmung der Hormonsensitiven Lipase
- ◆ Aktivierung der Lipoproteinlipase

Bild 3-10. Insulinwirkungen auf Fettgewebszellen.

**Insulinwirkungen auf die Leber.** Die wichtigsten Insulineffekte in der Leber sind: Koordinierte Regulation der Gluconeogenese und Glykolyse, die Förderung der Glykogensynthese und die Umwandlung überschüssiger Glucose in Fettsäuren (Bild 3-11).

Bei der koordinierten Regulation von Glykolyse und Gluconeogenese spielt ein kleines Molekül, nämlich Fructose-2,6-bisphosphat eine zentrale Rolle. Im Zustand der Sättigung wird Insulin freigesetzt, worauf Fructose-2,6-bisphosphat aus Fructose-6-phosphat gebildet wird. Umgekehrt wird im Hungerzustand Glucagon ausgeschüttet, welches die Rückwandlung von Fructose-2,6-bisphosphat in Fructose-6-phosphat fördert (Bild 3-12). Fructose-2,6-bisphosphat hat eine hohe Affinität zur Phosphofruktokinase, dem Schrittmacherenzym der Glykolyse. Sie hat ebenso eine hohe Affinität zur Fructose-1,6-bisphosphatase, dem Schrittmacher der Gluconeogenese. Fructose-2,6-bisphosphat bindet an allosterische Zentren beider Enzyme. Während die Bindung an die Phosphofruktokinase zu einer Aktivierung dieses Schrittmachers führt, führt die Bindung an die Fructose-2,6-bisphosphatase zu einer Hemmung des Enzyms. Folglich wird durch Fructose-2,6-bisphosphat die Glykolyse aktiviert bei gleichzeitiger Hemmung der Gluconeogenese. Umgekehrt, wenn im Hungerzustand die Konzentration von Fructose-2,6-bisphosphat durch Glucagoneinfluss abnimmt, wird die Gluconeogenese aktiviert und die Glykolyse gehemmt.

- ❖ Stimulierung der Glykolyse
- ◆ Aktivierung der Phosphofruktokinase
- ❖ Hemmung der Gluconeogenese
- ◆ Hemmung der Fructose-1,6-bisphosphat Phosphatase
- ❖ Mechanismus:
- ◆ Bildung von Fructose-2,6-bisphosphat, ein allosterischer Ligand der Phosphofruktokinase und der Fructose-1,6-bisphosphatase

Bild 3-11. Wichtige Insulinwirkungen in der Leber.

Fructose-2,6-bisphosphat ist zwar strukturell mit Fructose-1,6-bisphosphat verwandt, ist aber kein Zwischenprodukt der Glykolyse oder der Gluconeogenese. Es fungiert ausschließlich als Regulator, dessen Konzentration in der Zelle mit dem Insulinspiegel ansteigt und mit dem Anstieg des Glucagonspiegels sinkt. Da Fructose-2,6-bisphosphat bereits in sehr niedriger

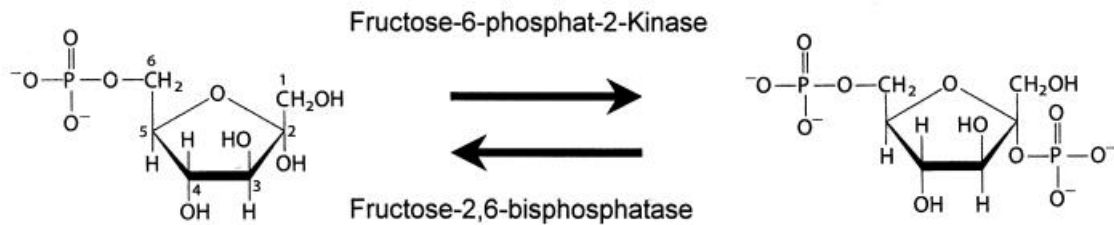


Bild 3-12. Bildung und Abbau von Fructose-2,6-bisphosphat, einem allosterischen Aktivator der Phosphofruktokinase und einem allosterischen Inhibitor der Fructose-2,6-bisphosphatase. Insulin fördert die Bildung von Fructose-2,6-bisphosphat, Glucagon fördert ihre Rückbildung durch Dephosphorylierung. Insulin aktiviert die Fructose-6-phosphat-2-Kinase (auch "Phosphofruktokinase 2" bezeichnet) und hemmt die Fructose-2,6-bisphosphatase. Glucagon wirkt genau umgekehrt: aktiviert die Fructose-2,6-bisphosphatase und hemmt die Fructose-6-phosphat-2-Kinase. Die Konzentration von Fructose-2,6-bisphosphat bestimmt, ob die Leberzelle Glucose zu Pyruvat und Acetyl-CoA abbaut (Glykolyse) oder umgekehrt, aus Aminosäuren und Pyruvat Glucose synthetisiert (Gluconeogenese).

Konzentration (im  $\mu\text{M}$ -Bereich) wirksam ist, wird für seine Synthese nur sehr wenig Fructose-6-phosphat aus dem Stoffwechselweg abgezweigt.

Fructose-2,6-bisphosphat entsteht durch ATP-abhängige Phosphorylierung aus Fructose-6-phosphat und wird durch Dephosphorylierung wieder in Fructose-6-phosphat zurückverwandelt (Bild 3-12). Diese zwei Reaktionen werden von **einem Protein mit zwei Enzymaktivitäten**, einer Kinase und einer Phosphatase, katalysiert (Bild 3-13). Welche der beiden Aktivitäten vorherrscht, hängt vom hormonellen Zustand ab. Unter Insulin wird die **Fructose-6-**

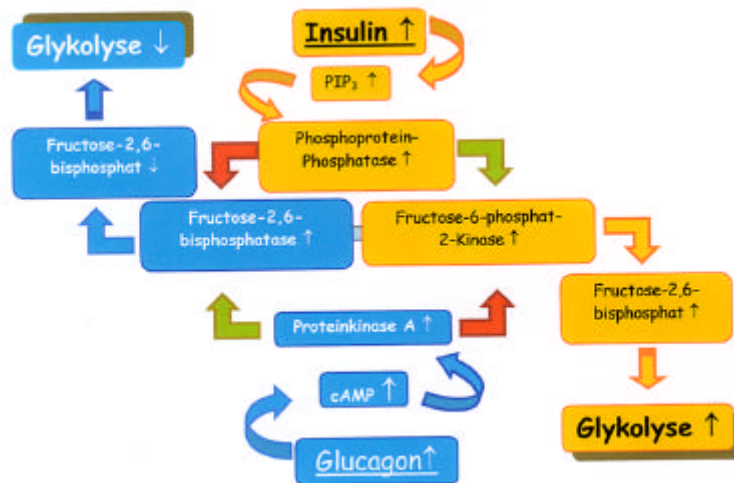


Bild 3-13. Die beiden Enzyme, die Fructose-2,6-bisphosphat reversibel bilden (Fructose-6-phosphat-2-Kinase und Fructose-2,6-bisphosphatase) sind in einem bifunktionellen Protein enthalten. Das Protein kann unter Glucagonwirkung phosphoryliert (blaue Reaktionsfolge), unter Insulinwirkung dephosphoryliert werden (orange Reaktionsfolge). In der dephosphorylierten Form ist die Fructose-6-phosphat-2-Kinase aktiv, die Fructose-2,6-bisphosphatase inaktiv (beachte oberen grünen und roten Pfeil). In der phosphorylierten Form ist es genau umgekehrt: die Fructose-6-phosphat-2-Kinase ist inaktiv und die Fructose-2,6-bisphosphatase aktiv (beachte unteren grünen und roten Pfeil).

**phosphat-2-Kinase** aktiviert, die Phosphatase-Aktivität gehemmt. Unter Glucagon wird umgekehrt die Phosphatase-Aktivität aktiviert und die Kinase-Aktivität gehemmt. Entsprechend erhöht Insulin die intrazelluläre Konzentration an Fructose-2,6-bisphosphat, Glucagon hingegen senkt sie.



**Wichtige Insulinwirkung in der Leber ist die Förderung der Glykogenbildung.** Insulin aktiviert über den Insulinrezeptor zwei Signalwege: einmal die Bildung des "second messengers" PIP<sub>3</sub>, der über eine Phosphorylierungskaskade zur Phosphorylierung von Glykogen-Synthase-Kinase 3 (GSK-3) führt (siehe Bild 3-6). Dadurch wird GSK-3 inaktiviert und ist nicht mehr in der Lage das anabole Enzym Glykogensynthase zu phosphorylieren. Gleichzeitig wirken in der Zelle Protein-Phosphatasen, welche die Glykogensynthase dephosphorylieren und damit aktivieren. Insulin aktiviert über den Rezeptor auch einen zweiten Signalweg (Ras-Kaskade). Dieser Weg führt zur Aktivierung des Gens für die Glykogensynthase. Es werden Glykogensynthase-Moleküle vermehrt gebildet. Insulin wirkt über beide Wege bei der Förderung der Glykogensynthase.

### 3.5 Diabetes mellitus: viele Ursachen führen zum selben Symptom

Unter dem Begriff **Diabetes mellitus** verbirgt sich eine heterogene Gruppe von Erkrankungen, die allesamt durch einen **erhöhten** Spiegel an **Blutglucose** charakterisiert sind. Die  $\beta$ -Zellen der Bauchspeicheldrüse und deren Sekretionsprodukt Insulin, nehmen in der Pathophysiologie dieser Erkrankungen eine zentrale Rolle ein. Typ 1, oder Insulin-abhängiger Diabetes mellitus (IDDM), ist durch ein völliges Fehlen von Insulin charakterisiert und entsteht durch eine autoimmune Zerstörung der insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen der Bauchspeicheldrüse. Beim Typ 2, oder nicht-insulinabhängigem Diabetes mellitus (NIDDM), sind Muskel- und Fettzellen resistent gegen die Wirkung von Insulin, und kompensatorische Mechanismen, die aktiviert werden um die  $\beta$ -Zellen zu höherer Insulinproduktion anzuregen, reichen nicht aus um den Blutglucosespiegel im normalen physiologischen Bereich zu stabilisieren.

Bei der Fallbeschreibung am Anfang dieser Vorlesungsreihe (Bild 1-1) handelte es sich um die juvenile Form von Diabetes mellitus. Diese Klasse wird auch IDDM (Insulin Dependent Diabetes Mellitus) bezeichnet. Die Bezeichnung drückt klar aus, dass eine Insulinabhängigkeit bei den betroffenen Patienten besteht. Die zur Zeit einzig mögliche Therapie besteht in einer lebenslangen Substitution mit Insulin.

Während die Folgen der Zerstörung der  $\beta$ -Zellen bei Typ 1 Diabetes klar sind, so sind es die Ursachen keineswegs. Umwelteinflüsse, die als Auslöser der Autoimmunreaktion bei genetisch prädestinierten Kindern, Heranwachsenden und älteren Menschen vermutet werden, sind noch nicht identifiziert.

Bei der Fallbeschreibung zu diesem Kapitel (Bild 3-1) handelt es sich um Diabetes vom Typ 2, also um "Altersdiabetes". Dieser Typ wird auch NIDDM (Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus) bezeichnet, weil eine ständige Substitution mit Insulin nicht nötig ist, ja sogar in einigen wenigen Fällen keine Wirkung zeigt. Typ 2 Diabetes besteht aus diversen Formen, die alle durch unterschiedliche Grade von **Insulinresistenz** oder **Fehlfunktion der Bauchspeicheldrüse** charakterisiert sind, und letztendlich zu Hyperglykämie führen. Als Ursache für diese Zustände vermutet man eine genetische Veranlagung, die bei entsprechenden Umwelteinflüssen nach Jahren zu tragen kommt.

Die Ursachen des Altersdiabetes sind noch nicht gut erforscht. Es herrscht jedoch die Ansicht vor, dass eine genetische Prädisposition für diese Form des Diabetes besteht. Darunter versteht man, dass einzelne Personen in mehreren relevanten (aber zur Zeit noch weitgehend unbekannt) Genen, unterschiedliche Allele besitzen. Solche Allele könnten in der Evolution des Menschen früher vorteilig gewesen sein, indem sie den Organismus befähigten mehr Fettreserven zu speichern. Bei ständiger fettreicher Ernährung hingegen und gleichzeitiger sitzender Tätigkeit, wie dies in den Industrienationen vorherrscht, kann dieser Vorteil zu einem Nachteil werden und zu Fettleibigkeit führen. Die Nachteile, die diese Allele mit sich bringen, können jedoch zunächst noch kompensiert werden und kommen deshalb kaum zum Tragen. Kommt jedoch ein ständiger Stress durch die Ernährungsweise und durch Trägheit hinzu, so

führt dieser Stress allmählich zu einer Insulin-Resistenz. Insulin-Resistenz bedeutet, dass ein betroffenes Individuum mehr Insulin ausschütten muss um den Blutglucosespiegel zu senken, als ein Individuum ohne den besprochenen ungünstigen Allelen. Eine ständig höhere Insulinkonzentration kann zur vermehrten Internalisierung des Insulin-Rezeptor-Komplexes und beschleunigtem Abbau des Rezeptors führen. Der Organismus versucht diesen Stress wiederum durch eine Mehrproduktion und -Sekretion von Insulin zu kompensieren: ein Teufelskreis, der sich langsam hochschaukelt. Dieser Prozess kann jahrzehnte lang dauern, allmählich aber zu einer teilweisen oder vollständigen Erschöpfung des Inselzell-Apparates führen. Da bei den meisten Patienten die typischen Symptome (hoher Blutzuckerspiegel) erst ab der 5. Dekade des Lebens auftreten, spricht man von Altersdiabetes.

Große Fortschritte wurden in den letzten Jahren bei einigen Sonderformen des Altersdiabetes erzielt, die man als Typ MODY (Maturation Onset Diabetes of the Young) bezeichnet. Hierbei handelt es sich um monogene Formen. Bei MODY-1 liegt ein Defekt in dem Gen für den Transkriptionsfaktor HNF-4a vor. Dieser Faktor wird in entodermal abgeleiteten Organen wie Leber (daher der Name **H**epatocyte **N**uclear **F**actor), Darm und Bauchspeicheldrüse exprimiert. Bei MODY-2 liegt ein Defekt in der Glucokinase vor, dem "Glucose-Sensor" der  $\beta$ -Zelle (siehe Bild 3-5). Bei MODY-3 liegt der Defekt in dem Transkriptionsfaktor HNF-1a, bei MODY-4 im IPF (Insulin Promoter Factor) und bei MODY 5 im HNF-1 $\beta$ -Gen vor. Diese Transkriptionsfaktoren sind an der **Expression des Insulingens** direkt oder indirekt beteiligt. Die Defekte wirken sich auf die **Insulinbiosynthese** oder **-Sekretion** aus und sind autosomal **dominant**, d.h. bereits heterozygote Träger erkranken an Diabetes, und zwar ziemlich früh (maturation onset), ja sogar schon im Kleinkind-Alter. Andere früh auftretenden Formen von Altersdiabetes rühren von Defekten in der mitochondrialen DNA. Diese codiert für Untereinheiten der Atmungsketten-Komplexe und der ATP-Synthase. Da ATP-abhängige Kaliumkanäle bei der Insulinsekretion eine prominente Rolle spielen (siehe Bild 3-5), liegt es an der Hand, dass eine beeinträchtigte ATP-Gewinnung zu einer nicht adäquaten Insulinsekretion und Diabetes führen kann. Zu den in diesem Abschnitt besprochenen Formen des Altersdiabetes gehören, alles in allem, weniger als 10 % der Erkrankten.

Es ist von großer Bedeutung die verschiedenen Formen von Diabetes aufzuklären und klar zu beschreiben, denn davon hängt die Wahl der Therapie ab. Orale Antidiabetika der Sulfonylharnstoff-Klasse, wie Tolbutamid oder Glibenclamid, senken den Blutglucosespiegel durch Förderung der Insulinausschüttung. Obwohl diese Medikamente sowohl bei Patienten mit verminderter Insulinausschüttung als auch bei insulinresistenten Formen wirksam sind, führen sie bei letzteren zu einer beschleunigten Inselzell-Erschöpfung. Der Patient wird dann insulinpflichtig. Verzicht auf orale Antidiabetika bei Verordnung einer strengen Diät und erhöhte körperliche Tätigkeit hätten bei letzteren Formen des Diabetes unter Umständen eine langfristige wesentlich günstigere Wirkung.

## 4 Hormone des Nebennierenmarks, Catecholamine

**Fallbeschreibung (Bild 4-1).** Ein 25-jähriger Patient hat seit mehr als einem Jahr erhöhte Blutdruckwerte, wobei es intermittierend zu krisenhaften Blutdruckanstiegen mit Kopfschmerzen, Schweißausbrüchen und Palpitationen kommt. Ein Bruder des Patienten wurde einige Jahre zuvor wegen eines **Phäochromocytoms** beidseits adrenaletomiert. Die Diagnose eines Phäochromocytoms wird durch extrem hohe Plasmanoradrenalin Spiegel endgültig gesichert; Adrenalin und Dopamin liegen im Normbereich. Sonographisch und computertomographisch finden sich beidseits Nebennierentumoren mit Durchmessern bis zu 8 cm. Ein <sup>131</sup>Jod-meta-Benzylguanidin **Szintigramm** ergibt keine zusätzliche Speicherung in anderen Arealen. Der Patient wird beidseits adrenaletomiert. Die extrem hohen Noradrenalin Spiegel sind postoperativ normalisiert.

Es handelt sich also um eine familiäre Form des Phäochromocytoms. Zeichen einer multiplen endokrinen Neoplasie sind nicht auszumachen, insbesondere können ein medulläres Schilddrüsenkarzinom sowie ein primärer Hyperparathyreoidismus ausgeschlossen werden.

Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin

Noradrenalin und Adrenalin werden als Catecholamine bezeichnet, weil sie chemisch Derivate des Catechols (1,2-Dihydroxybenzols) sind. Sie sind die wichtigsten Hormone für die schnelle Mobilisierung von gespeicherten Substraten und haben Bedeutung für den Organismus bei der Reaktion auf Stresssituationen (Bild 4-2). Ihr Wirkungsspektrum reicht von der Regulation der Durchblutung verschiedener Gewebsareale bis hin zur Steuerung des Stoffwechsels. Catecholamine werden im Nebennierenmark synthetisiert, und zwar in chromaffinen Zellen, die wegen ihrer Färbbarkeit mit Chromsalzen so benannt sind. Dort werden sie in spezifischen, von Membran umhüllten Granula konzentriert, gespeichert und als Reaktion auf neurale Reize ausgeschüttet.

- ❖ Name stammt von Catechol = 1,2-Dihydroxybenzol
- ❖ Noradrenalin
  - ◆ Hormon der motorischen Aktivität
  - ◆ auch Neurotransmitter
- ❖ Adrenalin
  - ◆ Reaktion auf Stresssituation (z.B. Kind springt vor das Auto, Herz fängt an zu rasen)
- ❖ Dopamin
  - ◆ Neurotransmitter (z.B. in der Substantia nigra)
- ❖ Funktion der Catecholamine:
  - ◆ schnelle Mobilisierung gespeicherter Substrate
  - ◆ Einstellung aller Organe auf Stresssituation (Herz, Skelett- und glatte Muskulatur, Drüsen, Kreislauf, Blutdruck etc.)

**Bild 4-2. Catecholamine:** Adrenalin, Noradrenalin, Dopamin. Wichtige Botenstoffe des Organismus um schnelle Reaktionen auszulösen.

### 4.1 Biosynthese der Catecholamine aus Tyrosin

Die Biosynthese der Catecholamine erfolgt aus Tyrosin (Bild 4-3). Schrittmacher ist das erste Enzym der Adrenalinbiosynthese, die Tyrosinhydroxylase. Sie ist eine Monooxygenase, die molekularen Sauerstoff als Substrat und Tetrahydrobiopterin (THB) als Cosubstrat benötigt. Ein Sauerstoffatom wird auf das Tyrosin, das andere auf THB übertragen. Das Produkt ist Dihydroxyphenylalanin (Dopa). Aus dem THB entsteht ein  $\alpha$ -Carbinolamin, aus dem mit Hilfe der Carbinolamin-Dehydratase ein Wasser abgespalten wird. Das entstehende Dihydrobiopterin wird mittels der Dihydropterin-Reduktase wieder zu THB regeneriert. Der zweite Schritt der Biosynthese ist eine von der aromatischen L-Aminosäure-Decarboxylase katalysierte Decarboxylierung zu Dopamin. Dieses Enzym hat ein breites Wirkungsspektrum und ist auch an der Biosynthese anderer biogener Amine, wie Tyramin, Serotonin und Histamin, beteiligt. Die Dopamin- $\beta$ -hydroxylase benötigt Kupfer und Ascorbinsäure und katalysiert die Hydroxylierung der Seitenkette. Das Produkt ist Noradrenalin. Mit Hilfe der Phenylethanolamin-N-Methyltransferase (einfacher zu merkender Name: Noradrenalin-N-Methyltransferase) erfolgt als letzte Reaktion die Methylierung von Noradrenalin zu Adrenalin. Die Methylgruppe stammt von S-Adenosylmethionin (SAM).

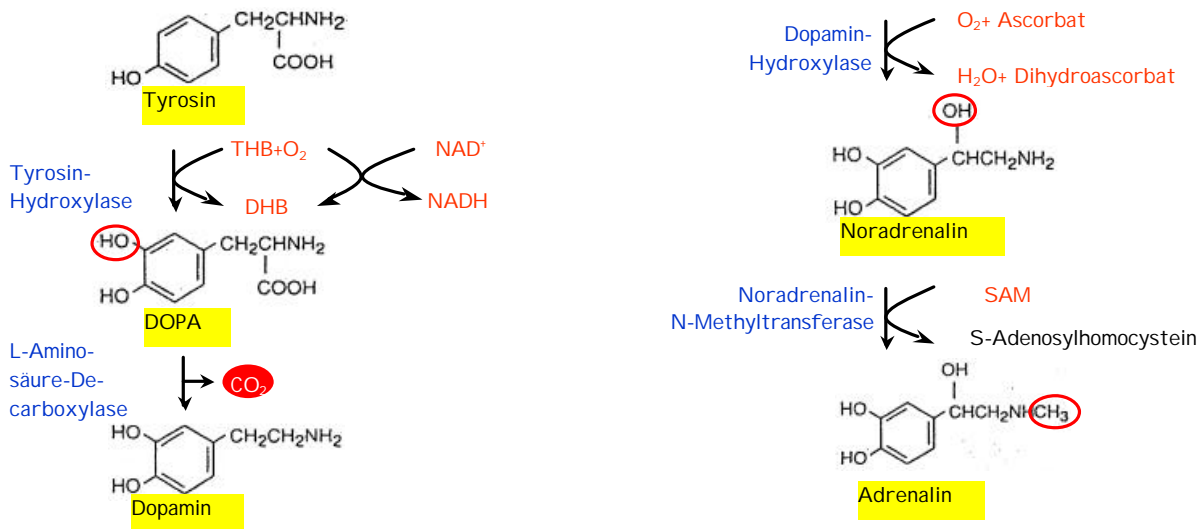


Bild 4-3. Biosynthese der Catecholamine. Ausgangspunkt ist die Aminosäure Tyrosin, aus der durch zweifache Hydroxylierung, Decarboxylierung und Methylierung schließlich Adrenalin entsteht. Dopamin und Noradrenalin sind Zwischenstufen der Adrenalinsynthese.

## 4.2 Regulation der Catecholamin-Biosynthese

Die Adrenalinsynthese wird neural und durch Cortisol reguliert (Bild 4-4). Das Nebennierenmark ist durch **sympathische** Nerven (Nn. splanchnici) cholinerg innerviert. Nervale, über nikotinische Acetylcholinrezeptoren vermittelte Impulse sind für die Aktivierung der Catecholaminbiosynthese im Nebennierenmark verantwortlich. Die Enzyme Tyrosinhydroxylase und Dopamin-β-Hydroxylase werden induziert. Glucocorticoide (Cortisol) sind schwache Induktoren der Tyrosinhydroxylase, jedoch starke Induktoren der Phenylethanolamin-N-Methyltransferase. Die Stressbereitschaft wird durch ACTH aus der Hypophyse aufrechterhalten, das die Versorgung des Nebennierenmarks mit Glucocorticoiden aus der Nebennierenrinde über ein spezielles Venensystem sicherstellt. Da umgekehrt Catecholamine die CRH und ACTH-Sekretion im Hypothalamus bzw. Hypophyse stimulieren, ergeben sich Verstärkereffekte. Vermindert wird die Catecholamin Biosynthese durch die Endprodukte des Reaktionsweges Adrenalin und Noradrenalin, die durch allosterische Rückkopplungshemmung die Tyrosinhydroxylase bzw. die Phenylethanolamin-N-Methyltransferase verlangsamen.

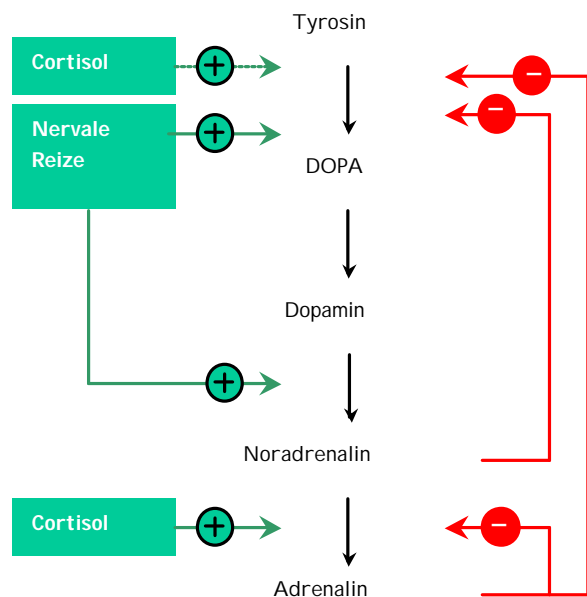


Bild 4-4. Regulation der Catecholaminbiosynthese.

Gut untersucht ist der Mechanismus der Aktivierung der Catecholamin-Biosynthese in Neuronen, die Catecholamine (Dopamin, Noradrenalin oder Adrenalin) als Neurotransmitter verwenden. Durch den nervalen Reiz freigesetztes Acetylcholin bindet an nikotinische Acetylcholinrezeptoren, die bekanntlich Liganden-abhängige Na<sup>+</sup>-Kanäle sind, und öffnen diese. Der kurze Einstrom von Natrium depolarisiert die Membran lokal, worauf sich Spannungsabhängige Ca<sup>2+</sup>-Kanäle öffnen und Ca<sup>2+</sup>-Ionen in die Zelle einfließen lassen. Der Ca<sup>2+</sup>-Einstrom aktiviert die **Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-abhängige Proteinkinase II** (CaM-Kinase II), die

die Tyrosin-Hydroxylase phosphoryliert und dadurch aktiviert. Tyrosin-Hydroxylase ist das Enzym, das den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt in der Catecholaminbiosynthese katalysiert. Freies Calcium ist auch ein Stimulans der vesikulären Sekretion. Auf diese Weise werden sowohl die Biosynthese als auch die Ausschüttung des Neurotransmitter bei Aktivierung der Nervenzelle stimuliert.

### 4.3 Die Catecholaminsekretion wird durch Acetylcholin ausgelöst

Die synthetisierten Catecholamine werden in membranumhüllten Granula konzentriert und gespeichert und mittels Exozytose freigesetzt (Bild 4-5). Der Anstieg der  $Ca^{2+}$ -Konzentration ist ein starker Stimulus für die Exozytose. Sezerniertes Adrenalin stammt überwiegend aus dem Nebennierenmark, sezerniertes Noradrenalin aus Nervenendigungen sympathischer, postganglionärer Nervenzellen. Noradrenalin, das als Neurotransmitter in Synapsen freigesetzt, aber nicht durch die Rezeptoren gebunden wird, kann aus dem synaptischen Spalt in die Blutbahn entweichen und dann die Rolle eines Hormons übernehmen. Aus beiden Quellen werden die Catecholamine durch nervale Reize ausgeschüttet, wobei der Transmitter Acetylcholin ist.

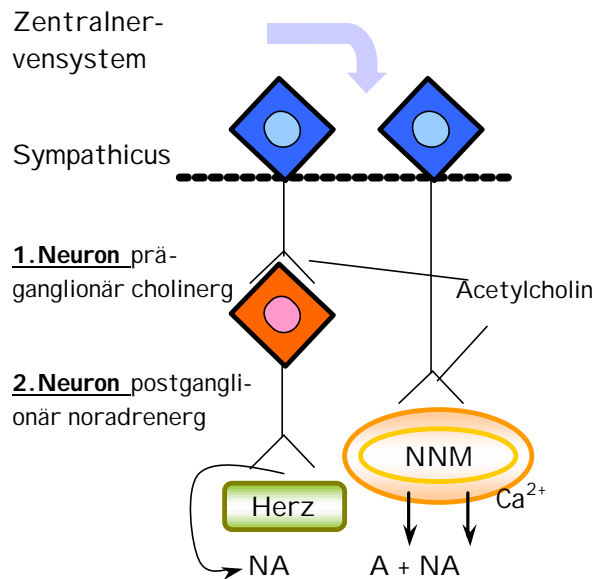


Bild 4-5. Freisetzung der Catecholamine. Die Freisetzung der Catecholamine erfolgt nerval durch den Sympathicus. Das Nebennierenmark ist cholinerg innerviert. Auf einen nervalen Impuls wird Acetylcholin freigesetzt. Acetylcholin fördert die Exozytose von Vesikeln, die mit Adrenalin gefüllt sind.

### 4.4 Catecholamin-Rezeptortypen und Subtypen

Alle Catecholaminrezeptoren gehören zu der Klasse der an heterotrimeren G-Proteinkoppelten Rezeptoren mit sieben Transmembrandomänen, ähnlich dem Glucagonrezeptor (Bild 2-2). Man kennt  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren, die weiter unterteilt werden in  $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2,  $\beta$ -1,  $\beta$ -2

- ❖ 5 Rezeptortypen gefunden:
  - ♦  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3
  - ♦ G-Proteingekoppelte Rezeptoren mit 7 TMD
- ❖  $\beta$  Rezeptoren stimulieren die Adenylatzyklase
  - ♦ führt zum Anstieg des cAMP-Spiegels
- ❖  $\alpha$ 2 Rezeptoren hemmen die Adenylatzyklase
  - ♦ führt zur Senkung des cAMP-Spiegels
- ❖  $\alpha$ 1 Rezeptoren stimulieren die Phospholipase C
  - ♦ führt zur Bildung von zwei neuen "second messenger": Diacylglycerol (DAG) und Inositol-Trisphosphat ( $IP_3$ )

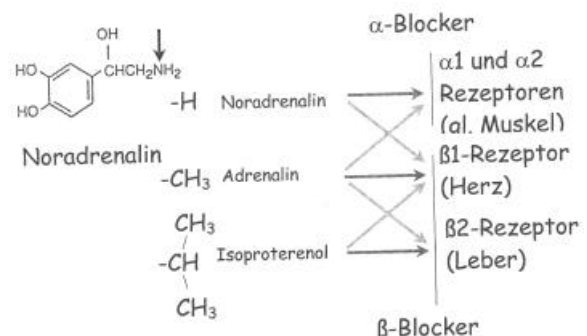


Bild 4-7. Catecholamin-Rezeptortypen.

Bild 4-8. Affinität von Catecholaminen zu ihren Rezeptoren.

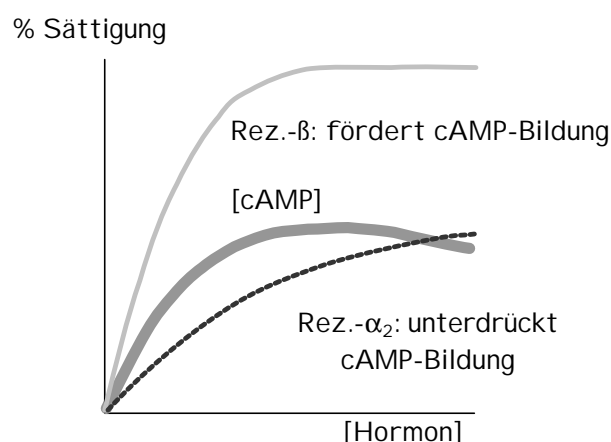
und  $\beta$ -3-Rezeptoren (Bild 4-7). Diese unterscheiden sich in vielerlei Hinsicht voneinander: sie sind durch verschiedene Liganden spezifisch hemmbar oder stimulierbar, haben unterschiedliche Affinitäten zu Adrenalin und Noradrenalin (Bild 4-8) und wirken über unterschiedliche G-Proteine und „second messenger“.  $\beta$ -Rezeptoren stimulieren über so genannte stimulierende G-Proteine ( $G_s$ ) die Bildung von cAMP.  $\alpha$ -2-Rezeptoren führen über inhibitorische G-

Proteine ( $G_i$ ) zur Senkung des cAMP-Spiegels. Die  $\alpha_1$ -Rezeptoren schließlich fördern, über so genannte  $G_i$ -Proteine die Bildung von Diacylglycerin (DAG) und Inositol-Trisphosphat ( $IP_3$ ), zwei weitere "second messenger". Die Verteilung der verschiedenen Rezeptortypen auf diversen Organen und Geweben variiert sehr stark.

Rezeptor	Organ	Wirkung
$\alpha_1$	Schweissdrüsen	Stimulierung der Schweißsekretion
$\alpha_1, \alpha_2$	Darm, Niere, Haut	Konstriktion der Blutgefäße
$\alpha_2$	Pankreas, Fettgewebe	Hemmung: Insulinsekretion, Lipolyse
$\alpha_2$	Epithelkörperchen	Hemmung PTH-Sekretion
$\alpha_1, \beta_1$	Leber, Muskel	Stimulierung der Glykogenolyse
$\beta_1$	Herz	↑ Frequenz, Kontraktilität, Volumen
$\beta_1$	Fettgewebe	Stimulierung der Lipolyse
$\beta_2$	Coronargefäße	Dilatation
$\beta_2$	Lunge	Bronchialdilatation, Dilat. Blutgefäße
$\beta_2$	Skelettmuskel, Leber	Dilatation der Blutgefäße
$\beta_2$	Endokriner Pankreas	Stimulierung der Insulinsekretion
$\beta_3$	Braunes Fettgewebe	Förderung der Thermogenese

Tabelle 4-9. Catecholaminwirkungen (Auswahl).

**Catecholaminrezeptoren haben unterschiedliche Affinitäten zu Adrenalin und Noradrenalin.** Adrenalin wirkt über  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , und allen  $\beta$ -Rezeptoren. Noradrenalin über die  $\alpha$ -Rezeptoren,  $\beta_1$ , aber kaum über  $\beta_2$ . Untersuchungen zeigten, dass die Affinität zum Rezeptor mit der Größe der Gruppe auf dem N-Atom zusammenhängt (Bild 4-8). Diese Erkenntnis führte zur Synthese einer Reihe wichtiger Mimetika und Antagonisten der Catecholamine. Die anatomische Verteilung verschiedener Rezeptortypen in der Zellmembran einiger Gewebe ist in der Tabelle 4-9 zusammengefasst. Die Anwesenheit von cAMP fördernder und



cAMP hemmender Rezeptoren (z.B.  $\beta$  und  $\alpha_2$ ) ist biologisch sinnvoll, denn sie verhindert ein Überschießen des intrazellulären cAMP-Spiegels (Bild 4-10).

#### 4.5 Unterschiedliche G-Proteine vermitteln die Catecholamin-Rezeptor-Wirkungen

Reinigung und biochemische Charakterisierung von G-Proteinen deckten eine unerwartete Vielfalt dieser Proteinfamilie auf (Tabelle 4-11). Klonierung der Gene dieser Proteine zeigen, dass nach heutigem Stand mindestens 15 unterschiedliche Gene allein für die  $\alpha$ -Untereinheit existieren. Weitere Formen entstehen durch alternatives Spleißen. Nachstehende Tabelle führt einige von unterschiedlichen G-Proteinen vermittelte Aktivitäten auf.

G-Proteine legen den Signaltransduktionsweg in der Zelle fest und verstärken das extrazelluläre Signal im Zellinneren. Besonders genau wurde die lichtinduzierte Signalkaskade beim Sehvorgang untersucht (Bild 4-12). Wenn ein Rhodopsinmolekül ein Photon absorbiert, können bis zur Inaktivierung des Rhodopsins bis zu 500 G-Proteine aktiviert werden. Die beim Sehvorgang beteiligten G-Proteine haben einen Trivialnamen: Transducin. Die 500 aktivierten Transducinmoleküle aktivieren 500 Phosphodiesterasen, die in der Lage sind, in kürzester Zeit 100.000 cGMP-Moleküle zu hydrolysieren. Diese Abnahme der cGMP-Konzentration führt zum Schließen von ca. 250  $\text{Na}^+$ -Kanälen. Damit wird pro Sekunde bis zu Zehnmillionen Natriumionen der Zutritt in die Zelle verwehrt, was zu einer Änderung des Membranpotentials von 1 mV führt. Dieses, millionenfach verstärkte Signal wird über Nervenleitung an das Gehirn weitergeleitet.

G-Protein $\alpha$ -Untereinheit	Vorkommen	Vermittelt durch	Effektor für
$G_s$	ubiquitär	Adrenalin- $\beta$ -Rn	Adenylatcyklase cAMP $\uparrow$
$G_i$	ubiquitär	Adrenalin- $\alpha_2$ -R	Adenylatcyklase cAMP $\downarrow$
$G_{off}$	Riechorgan	Olfaktorische-Rn	Adenylatcyklase cAMP $\uparrow$
$G_{+1}, G_{+2}$ (Transducin)	Stäbchen, Zapfen	Rhodopsin	Phosphodiesterase cGMP $\downarrow$
$G_q$	ubiquitär	Adrenalin- $\alpha_1$ -R	Phospholipase C $\beta$ DAG $\uparrow$ , IP $_3$ $\uparrow$

Tabelle 4-11. Diversität der G-Proteine.

**$\beta$ -Rezeptoren aktivieren,  $\alpha_2$ -Rezeptoren hemmen die Adenylat-Cyklase.** Während alle  $\beta$ -Rezeptoren die Adenylatcyklase aktivieren, führt die Wirkung der  $\alpha_2$  Rezeptoren - über die Aktivierung eines  $G_i$ -Proteins - zu einer Erniedrigung des cAMP-Spiegels. Im Unterschied zu den  $\beta$ -Rezeptoren, die ein stimulierendes G-Protein ( $G_s$ ) aktivieren, verhalten sich  $\alpha_2$ -Rezeptoren anders. Sie aktivieren ein inhibitorisches G-Protein ( $G_i$ ), dessen  $\alpha$ -Untereinheit mit der Adenylat-Cyklase eine Wechselwirkung eingeht, diese aber nicht aktiviert, sondern hemmt.  $\alpha_2$ -Rezeptoren senken somit den cAMP-Spiegel in der Zelle.

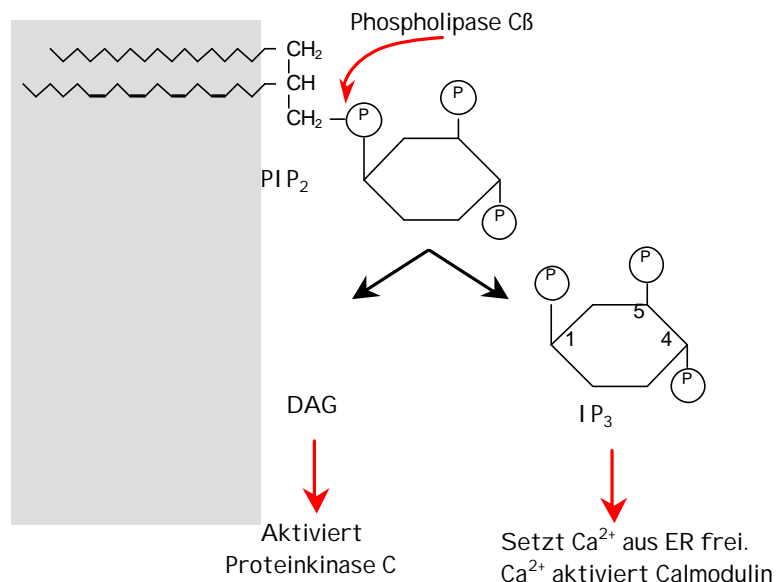


Bild 4-13.  $G_q$ -Protein aktiviert die Phospholipase C $\beta$  (PLC $\beta$ ). Phospholipase C spaltet ein Phospholipid der Membran (PIP $_2$ ); dabei entstehen zwei neue Messenger: DAG und IP $_3$ . Beide second Messenger induzieren Signalkaskaden. DAG fördert über die Proteinkinase C die Phosphorylierung vieler zellulärer Proteine. IP $_3$  öffnet Calciumkanäle des ER; Calcium aktiviert über Calmodulin die Calcium-Calmodulin abhängigen Kinasen (CaM-Kinasen).

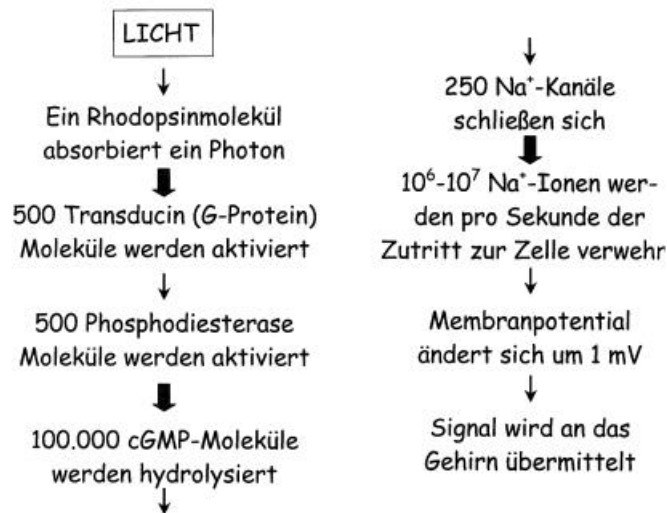


Bild 4-12. G-Proteine legen den Signaltransduktionsweg fest und verstärken das Signal..

**$\alpha_1$ -Rezeptoren führen zur Bildung zweier neuer „second messenger“.**  $\alpha_1$ -Rezeptoren aktivieren über ein  $G_q$ -Protein die Phospholipase C $\beta$  (Bild 4-13). Diese spaltet Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat in Diacylglycerol (DAG) und Inositol-trisphosphat (IP<sub>3</sub>). Diacylglycerol aktiviert die Proteinkinase C $\beta$  (Bild 4-14). Zur Aktivierung benötigt die Proteinkinase C $\beta$  mehrere Komponenten: (a) Ca<sup>2+</sup>, (b) die Wechselwirkung mit einem Membranlipid (Phosphatidylserin) und (c) den direkten Kontakt mit Diacylglycerin.

**IP<sub>3</sub> öffnet Ca<sup>2+</sup>-Kanäle.** IP<sub>3</sub> bindet an Rezeptoren im endoplasmatischen Reticulum (sarkoplasmatisches Reticulum in Muskelgewebe). Der Rezeptor ist eine Untereinheit eines Ca<sup>2+</sup>-Kanals (Bild 4-15), der geöffnet wird, wonach Ca<sup>2+</sup>-Ionen in das Cytosol strömen können.

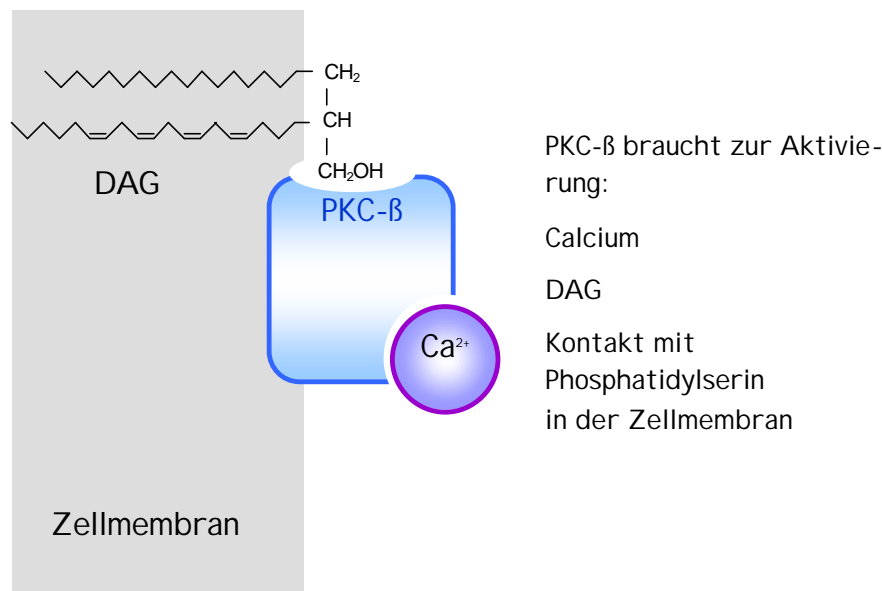


Bild 4-14. Diacylglycerin (DAG) aktiviert die Proteinkinase C $\beta$  (PKC- $\beta$ )

Ca<sup>2+</sup> kann direkt mit Proteinen in Wechselwirkung treten und diese aktivieren (z.B. an Troponin C bei der Muskelkontraktion). Viele Zellen enthalten ein Ca<sup>2+</sup>-bindendes Protein namens Calmodulin, die nach Bindung von 4 Ca<sup>2+</sup>-Ionen sogenannte Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-abhängige Ki-



nasen (CaM-Kinasen) aktiviert. CaM-Kinasen aktivieren weitere Proteine durch spezifische Phosphorylierung (Tabelle 4-16).  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin kann aber auch direkt an Proteine binden und diese in ihrer Aktivität beeinflussen. Beispiel: Die durch die cAMP-abhängige Proteinkinase-A aktivierte Phosphorylase in Muskeln wird durch Wechselwirkung mit  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin in ihrer Aktivität noch weiter verstärkt (Bild 4-15). Das selbe gilt für die Phosphorylase-Kinase. Man sieht, dass in Muskelzellen die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren synergistisch den Glykogenabbau fördern. CaM-Kinase II aktiviert viele Schrittmacherenzyme (Tabelle 4-16). Zu diesen gehören Schrittmacher der Fettsäure-, Glykogen- und Cholesterinsynthese sowie der Glykolyse. Auch Phospholipase A2 wird durch CaM-Kinase II aktiviert so wie der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGF-Rezeptor).

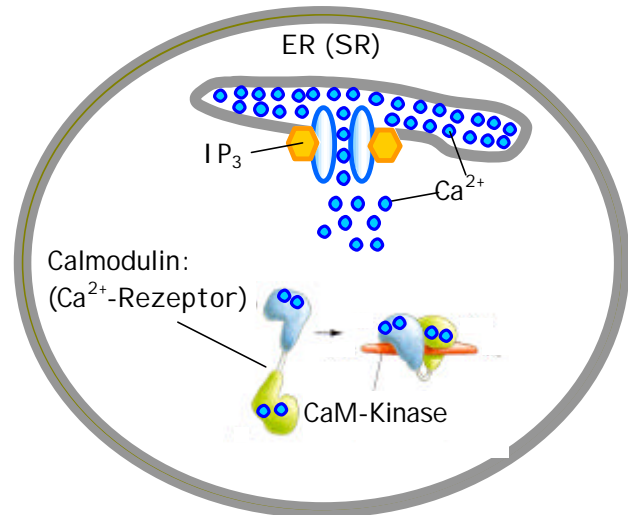


Bild 4-15.  $\text{IP}_3$  setzt  $\text{Ca}^{2+}$  aus ER (SR) frei. Freies Calcium bindet an Calmodulin, einem intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Rezeptor. Dieser aktiviert die CaM-Kinasen, welche eine Reihe wichtiger Schrittmacher aktivieren (z.B. die Phosphorylase-Kinase) oder inaktivieren (siehe Bild 4-18).

Freies  $\text{Ca}^{2+}$  hat in der Zelle nur eine sehr kurze Lebensdauer. Nach Einstrom aus dem Extrazellulärraum oder aus Speichern des endoplasmatischen Reticulums, wird nicht gebundenes  $\text{Ca}^{2+}$  über eine ATP-abhängige Pumpe oder einem Na-Antiporter aus der Zelle entfernt (genaueres in der 7. Vorlesungsstunde über den  $\text{Ca}^{2+}$ -Haushalt; z.B. Bild 7-4). Wie lässt sich ein vorübergehender Anstieg des  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegels, der nur wenige Sekunden anhält, nachweisen? Es gibt eine größere Zahl an membrangängigen  $\text{Ca}^{2+}$  bindenden Molekülen, die nach Eintritt in die Zelle durch Esterasen so modifiziert wird, dass sie die Membran nach außen nicht mehr passieren kann. Wenn diese Verbindungen Calcium binden, fluoreszieren sie sehr stark, was photometrisch einfach nachzuweisen ist. Die Fluoreszenz lässt nach kurzer Zeit wieder nach, weil die intrazelluläre Konzentration an Calciumionen rasch wieder abnimmt.

Protein	Funktion
Acetyl-CoA-Carboxylase	Fettsäuresynthese
ATP-Citrat-Lyase	Fettsäuresynthese
Glykogensynthase-Kinase	Glykogensynthese
HMG-CoA-Reduktase	Cholesterinsynthese
Phosphofruktokinase	Glykolyse
Phospholipase A2	Arachidonsäure-Freisetzung
EGF-Rezeptor	Zellproliferation

Tabelle 4-16. Substrate der CaM-Kinasen

## 4.6 Catecholaminwirkungen

Allgemein steigern Catecholamine die Bereitschaft des Organismus hohe Leistungen zu erbringen. Adrenalin erhöht die Pulsfrequenz und das Herzminutenvolumen und reduziert den peripheren Gefäßwiderstand bei gleichzeitiger Konstriktion der Blutgefäße von Darm, Niere und Haut. Damit wird eine bessere Durchblutung des Skelettmuskels auf Kosten des Darms erreicht. Das Leistungsvermögen des Organismus wird zusätzlich durch Bereitstellung von Energiequellen (Glucose aus dem Abbau von Glykogen, Fettsäuren und Glycerin aus dem Abbau von Fetten) gesteigert. Die Gluconeogenese aus Aminosäuren in der Leber trägt weiter zu einer besseren Versorgung des Organismus (Gehirn) mit Glucose bei. Die Insulinsekretion (die eine Senkung des cAMP-Siegels zur Folge hätte) wird gehemmt.

- ➔ Blutglucose steigernd
- ➔ Muskel:
  - 1 Glucoseaufnahme wird gefördert
- ➔ Leber:
  - 1 Gluconeogenese aus Aminosäuren wird gefördert (durch Aktivierung der Schrittmacherenzyme der Gluconeogenese)
  - 2 Glykogenabbau wird stimuliert (durch Aktivierung der Phosphorylase-Kinase)
  - 3 Glykogensynthese wird gehemmt (durch Aktivierung der Glykogensynthase-Kinase)
  - 4 Glykolyse wird gehemmt (durch Hemmung der Phosphofruktokinase)
  - 5 Protein- und Aminosäuremetabolismus (durch Aktivierung proteolytischer Enzyme, von Transaminasen, der Serindehydratase und Tryptophanoxidase)
  - 6 Ketonkörperbildung wird gefördert
- ➔ Fettgewebszellen:
  - 1 Glucoseaufnahme wird gehemmt
  - 2 Fettmobilisierung wird gefördert (durch Aktivierung der hormonsensitiven Lipase)
- ➔ Hormonproduzierende Drüsen
  - ① Glucagonsekretion wird gefördert (Synergie)
  - ② Insulinsekretion wird gehemmt
  - ③ CRH-Ausschüttung wird gefördert

## 4.7 Catecholaminmetabolismus

Catecholamine werden zum größten Teil in der Leber und in der Niere abgebaut und die Abbauprodukte im Urin ausgeschieden. Zwei Enzyme sind beim Abbau des Adrenalins und des Noradrenalins besonders wichtig: Catecholamin-O-Methyltransferase (COMT), das die Methylierung der OH-Gruppe in der meta-Stellung des Rings katalysiert, und die Monoaminoxidase (MAO), welche das primäre bzw. sekundäre Amin des Noradrenalins bzw. Adrenalins zum Aldehyd oxidiert. Dabei entsteht Vanillinmandelaldehyd und Ammoniak bzw. Methylamin. Vanillinmandelaldehyd kann entweder zum entsprechenden Alkohol reduziert, oder zu Vanillinmandelsäure (VMA) oxidiert werden. Vanillinmandelsäure hat für die klinische Diagnostik eine gewisse Bedeutung: eine Erhöhung der VMA im Urin kann auf einen catecholaminproduzierenden Tumor hinweisen. Ein kleiner Teil der Catecholamine wird unverändert im Urin ausgeschieden.

## 5 Hormone der Nebennierenrinde: Cortisol

**Fallbeschreibung (Bild 5-1).** Ein 35-jähriger Patient klagt seit einem Jahr über Depressivität sowie stammbetonten Fettansatz. Bei muskulärer Schwäche der Beine zieht sich der Patient bei einem banalen Sturz eine Unterschenkelfraktur zu. Das Röntgenbild zeigt eine erhebliche Osteoporose. Bei der klinischen Untersuchung fallen abdominale Striae rubrae sowie eine arterielle Hypertonie bei normalen Elektrolytwerten auf. Im weiteren Verlauf kommt es zur Ausbildung rundlicher Gesichtszüge mit Fettpolster im Nacken und im Supraklavikulärbereich. Die Cortisolbestimmung im 24-h-Urin ist deutlich erhöht.

Überproduktion von Cortisol ist die Ursache für **Morbus Cushing**. Viele der beobachteten Beschwerden des Patienten lassen sich heute molekular erklären. Die Depressionen allerdings sind auf molekularer Basis noch nicht verstanden. Der stammbetonte Fettansatz, Stiernacken, Mondgesicht sind Folge der Lipidmobilisierung durch Cortisol (Bild 5-2). Da die Lipide nicht verbrannt werden, werden sie im Körper umverteilt. Die Osteoporose rührt von der Wirkung des Cortisols auf die Osteoblasten. Die Muskelschwäche ist die Folge des Proteinabbaus, die durch Cortisol gefördert wird; auch die Striae rubrae entstehen durch Schädigung der elastischen Fasern. Die arterielle Hypertonie wiederum ist molekular noch nicht ganz verstanden. Ursache des M. Cushing ist meistens, wie auch in unserem Fallbeispiel, ein Hypophysenadenom.



Depression

Stammbetonten Fettansatz  
Stoffwechselstörung  
(Stiernacken, Mondgesicht)

Osteoporose (Unterschenkelfraktur)

Muskelschwäche

Arterielle Hypertonie

Striae rubrae (Schädigung der  
elastischen Fasern)

Ursache: Hypophysenadenom

Nach: Classen, Diehl, Köchliak, Innere Medizin, 2. Auflage, Urban & Schwarzenberg 1993

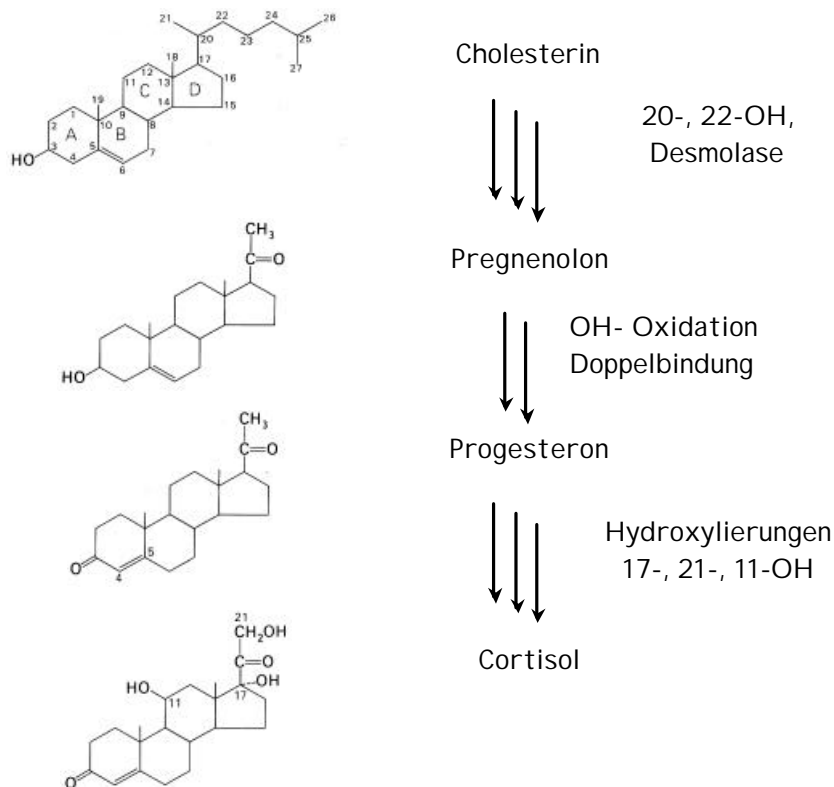
Bild 5-2. Morbus Cushing Patient

Cortisol ist der Hauptvertreter der Glucocorticoide; darunter werden Nebennierenrinden-Hormone (Cortisol, Cortison, Corticosteron) und strukturverwandte synthetische Verbindungen (z.B. Dexamethason, Triamcinolon etc.) verstanden, die den Intermediärstoffwechsel, insbesondere den Zuckerstoffwechsel beeinflussen. Dies wird durch die Vorsilbe „Gluco-“, ausgedrückt. „corticoid“ weist auf die Herkunft aus der Nebennierenrinde hin (Rinde = Cortex). Cortisol ist bezüglich seiner Wirkung auf den Intermediärstoffwechsel in mehrfacher Hinsicht ein Antagonist des Insulins: Insulin hemmt die hepatische Gluconeogenese, Cortisol stimuliert sie; Insulin senkt den Blutglucosespiegel, Cortisol erhöht ihn; Insulin stimuliert den Aufbau von Proteinen aus Aminosäuren, Cortisol fördert den Proteinabbau zu Aminosäuren (Proteolyse); Insulin hemmt die Lipolyse während Cortisol sie stimuliert.

Unter normalen Bedingungen sezernieren die Nebennieren eines erwachsenen Menschen ungefähr 30 mg Cortisol pro Tag. Unter hohem Stress (z.B. bei Krankheit, lang anhaltendem Hunger) kann die Cortisolproduktion und damit die Blut-Cortisolkonzentration um ein mehrfaches ansteigen. Hohe Konzentrationen spielen eine wichtige Rolle bei der Bewältigung von (z.B. krankheitsverursachten) Stress durch den Körper. Sie wirken Entzündungsvorgängen entgegen und werden deshalb zur Behandlung gewisser chronischer Entzündungen (z.B. der primär chronischen Gelenkentzündung) eingesetzt. Hohe Glucocorticoidkonzentrationen beeinflussen außerdem die Leukocyten des peripheren Bluts, indem sie eine Granulocytose (Zunahme der neutrophilen Granulocyten), eine Lympho- und Eosinopenie (Abnahme der Lymphocyten, besonders der T-Lymphocyten, und der Eosinophilen) verursachen.

### 5.1 Biosynthese und Sekretion des Cortisols

Die Biosynthese des Cortisols erfolgt aus **Cholesterin**. Zuerst wird die Seitenkette des Cholesterins in Position 20 und 22 hydroxyliert. Durch die Hydroxylierungen ist die C-C-Bindung labilisiert; nun kann die Seitenkette (Isocapronaldehyd) durch das Enzym Desmolase ab-



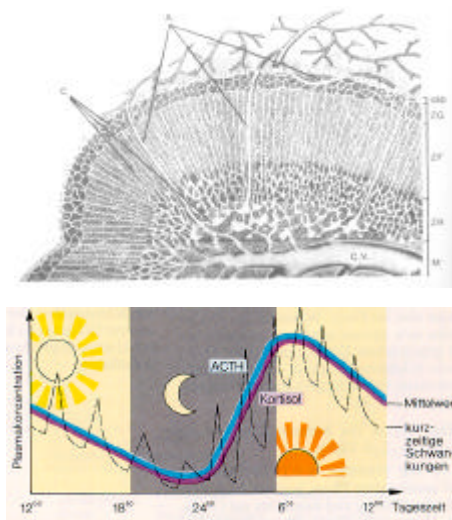
**Bild 5-3. Die Cortisol-Biosynthese erfolgt aus Cholesterin.** Zuerst wird die Seitenkette in Position 20 und 22 hydroxyliert. Durch die Hydroxylierungen ist die C-C-Bindung labilisiert; nun kann die Seitenkette (Isocapronaldehyd) abgespalten werden. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Cortisolbiosynthese ist die Abspaltung der Seitenkette, die in der mitochondrialen Matrix durch die **Desmolase** erfolgt. Dabei entsteht Pregnenolon. Die nächsten zwei Schritte erfolgen in Cytosol; dabei wird die OH-Gruppe zu C=O oxidiert und die Doppelbindung im Steroidgerüst umgeklappt; dabei entsteht Progesteron. Die letzten 3 Schritte vom Progesteron zu Cortisol sind Hydroxylierungen. Die Hydroxylierung in den Positionen 11 und 18 (bei der Aldosteronsynthese) erfolgen in Mitochondrien, während die Hydroxylierungen in den Positionen 17 und 21 im Cytosol ablaufen.

gespalten werden. Die Abspaltung der Seitenkette ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Cortisolbiosynthese, der in der mitochondrialen Matrix erfolgt. Durch Abspaltung der Seitenkette entsteht Pregnenolon. Die nächsten zwei Schritte erfolgen in Cytosol, während die nachfolgenden Hydroxylierungen in den Mitochondrien (11-, 18-Hydroxylierung) bzw. im Cytosol (17-, 21-Hydroxylierung) ablaufen. Cortisol wird nach der Sekretion im Blutplasma wegen seiner schlechten Löslichkeit an **Transcortin** (einem Serumprotein) gebunden transportiert. Der Cortisolspiegel unterliegt einem **circadianen** Rhythmus (Bild 5-4): die höchste Serumkonzentration wird in den Morgenstunden erreicht.

Ort der Cortisol-Biosynthese ist die Nebennierenrinde (Cortex). Sie gliedert sich morphologisch und funktionell in drei Zonen (Bild 5-4), die alle aus Epithelzellsträngen aufgebaut sind, zwischen denen reichlich Blutkapillaren liegen: die äußere schmale „geknäuelte“ **Zona glomerulosa**, die breiteste, mittlere „gebündelte“ **Zona fasciculata** und die innerste „netzförmige“ **Zona reticularis**. Aldosteron und etwa die Hälfte des zirkulierenden Corticosterons werden in der Zona glomerulosa gebildet. Cortisol und der Rest des Corticosterons werden in der Zona fasciculata und reticularis produziert, während die adrenale Androgenproduktion in der Zona reticularis stattfindet. Cortisol (das wichtigste Glucocorticoid) spielt eine Bedeutende Rolle als Regulator des Intermediärstoffwechsels und als Modulator des Immunsystems. Aldosteron (wichtigstes Mineralocorticoid) reguliert das Ionenmilieu.

## 5.2 Regulation der Cortisolsynthese

Die Synthese und Ausschüttung von Steroidhormonen wird von vorgeschalteten Hormonen gesteuert (Bild 5-5). Die Sekretion von Cortisol erfolgt nach Stimulation der Nebennierenrin-



Z. glomerulose: Aldosteronsynthese  
 Z. fasciculata: Cortisolsynthese  
 Z. reticularis: adrenale Androgene  
 NN.-Mark: Catecholaminsynthese

Die Cortisolausschüttung folgt einer circadianen Tagesrhythmik  
 Höchste Konz.: ca. 6 Uhr früh

Bild 5-4. Bildungsort für Cortisol ist die Zona fasciculata der Nebennierenrinde.

de durch das hypophysäre Hormon **ACTH** (Adrenocorticotropes Hormon, auch Corticotropin genannt), welches wiederum nach einem Stimulus durch das hypothalamische Hormon **CRH** (Corticotropin Releasing Hormon) sezerniert wird. Cortisol und ACTH beeinflussen wiederum rückkoppelnd die Hypophyse und den Hypothalamus, so dass ein Regelkreis entsteht. Das Immunsystem stimuliert über Zytokine (Interleukin-1, Interleukin -6, Tumor-Nekrose-Faktor-a) die Cortisolsynthese auf allen drei Ebenen (Hypothalamus, Hypophyse und Nebennierenrinde).

**Corticotropin Releasing Hormon (CRH)** wird von Nervenzellen (Neuroendokrinen Zellen) des Hypothalamus gebildet (Bild 5-6). An den Enden der Axone werden die CRH-Moleküle in das lokale Kapillarsystem im Infundibulum, in das sich die Arteria hypophysialis superior aufzweigt, freigesetzt. Durch die Portalvene gelangen die Hormone in das Kapillarnetz des Hypophysenvorderlappens und werden von CRH-Rezeptoren der Zellen des Hypophysenvorderlappens (Adenohypophyse) gebunden.

**Adrenocorticotropes**

**Hormon (ACTH)** wird in Zellen des Hypophysenvorderlappens als eine längere Vorstufe synthetisiert. Aus der Vorstufe werden durch limitierte Proteolyse mehrere Hormone freigesetzt (siehe Bild 5-7): neben ACTH die Melanocyten stimulierenden Hormone ( $\alpha$ -MSH,  $\beta$ -MSH,  $\gamma$ -MSH), Lipotrope Hormone ( $\beta$ -LPH,  $\gamma$ -LPH) und verschiedene endogene Opiate (Endorphine, Enkephaline). Die Vorstufe (dieser vielen) Hormone wird deshalb auch Proopiomelanocortin (POMC) genannt.

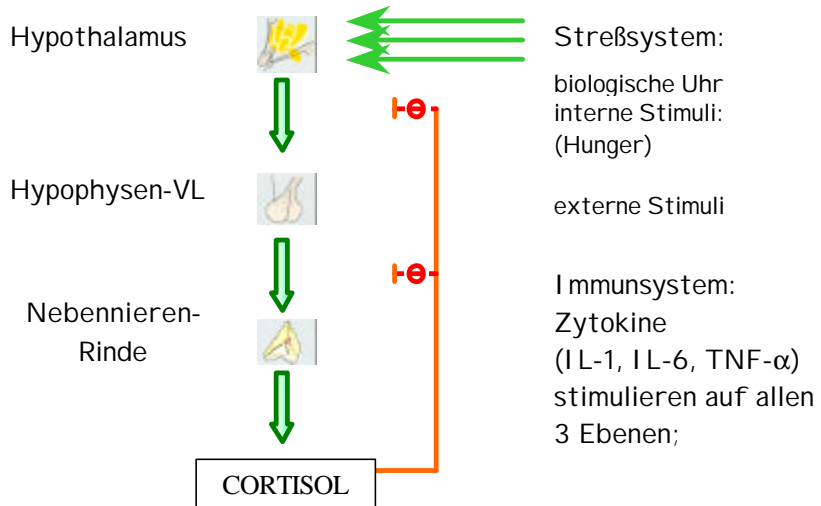


Bild 5-5. Die Cortisol-Freisetzung wird durch übergeordnete Zentren kontrolliert. Cortisol selbst wirkt über einen Rückkopplungsmechanismus hemmend auf die übergeordneten Zentren Hypothalamus und Hypophyse. Auch Zytokine, wichtige Mediatoren des Immunsystems, wirken auf Hypothalamus und Hypophyse.

Die Vorstufe (dieser vielen) Hormone wird deshalb auch Proopiomelanocortin (POMC) genannt.

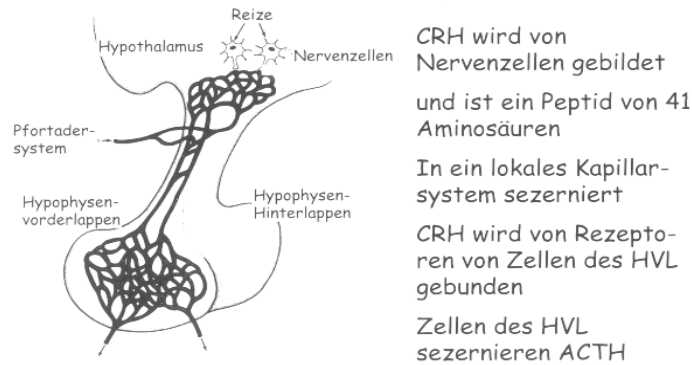
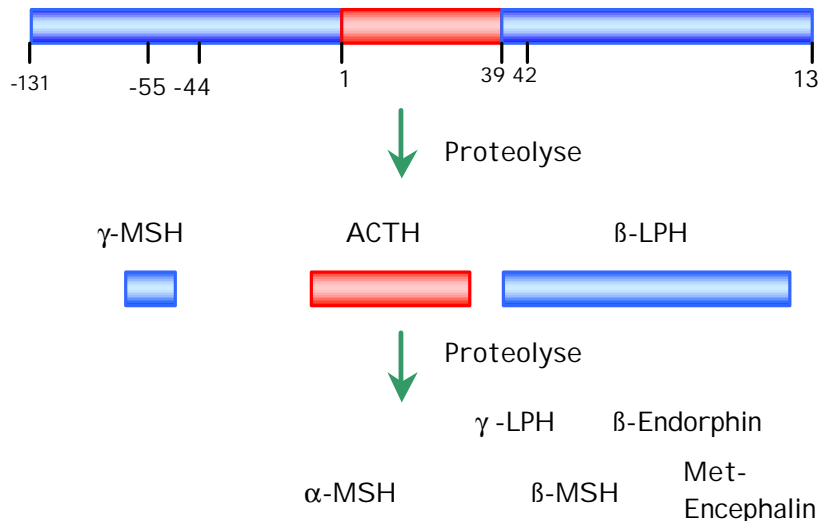


Bild 5-6. CRH wird von Nervenzellen gebildet und in ein lokales Kapillarsystem sezerniert

Proopiomelanocortin (POMC):



Bil 5-7. ACTH wird zusammen mit weiteren Hormonen aus einer längeren Vorstufe durch spezifische Proteolyse gebildet

### 5.3 Cortisol-Wirkungsmechanismus

Der Rezeptor für Cortisol ist im Cytosol lokalisiert (im Gegensatz zu membranständigen Rezeptoren wie dem Insulinrezeptor,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren für Catecholamine, Glucagonrezeptor etc.). Der Cortisolrezeptor liegt im Cytosol jedoch nicht in freier Form, sondern an ein so genanntes Hitzeschockprotein (hsp90) gebunden vor (Bild 5-8). Dieser merkwürdige Name rührt daher, weil viele tierische Zellen, die einem "Hitzeschock" ausgesetzt werden, eine kleine Zahl von Proteinen spezifisch synthetisieren, die die Zelle vor dem Hitzestress schützen. Hsp90 gehört zu diesen. Unter Hitzeschock versteht man eine Erhöhung der Inkubationstemperatur auf ca. 42°C, einer Temperatur, bei der das Leben eines Menschen bereits bedroht ist. Hsp90 fungiert als Inhibitor des Cortisolrezeptors. hsp90 maskiert die DNA-Bindungsdomäne

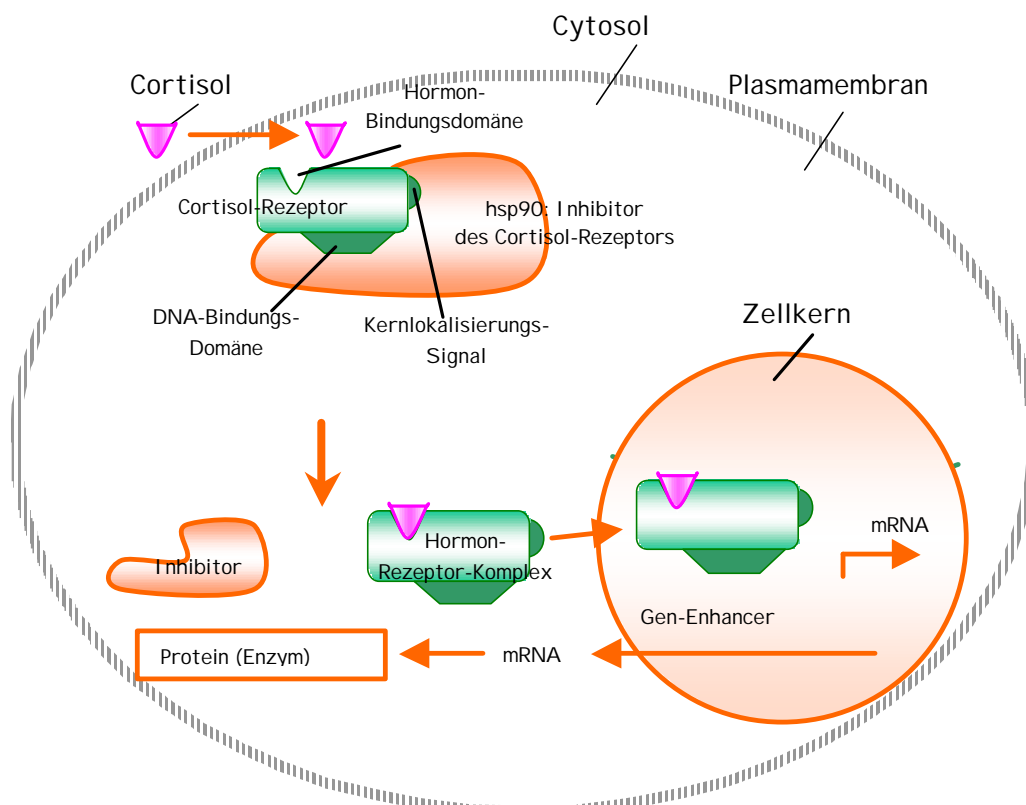


Bild 5-8. Cortisol wirkt über einen intrazellulären Rezeptor auf die Expression spezifischer Gene.

und das Kernlokalisierungs-Signal des Cortisolrezeptors und verhindert so die Wanderung des Rezeptors in den Zellkern. Nach Bindung des Hormons dissoziiert der Inhibitor ab und der Hormon-Rezeptor-Komplex wandert in den Zellkern, wo er an spezifische Sequenzen in so genannten **Enhancern** oder im **Promotor** an die DNA bindet. Die Bindung der Steroidhormon-Rezeptoren an die DNA bewirkt, in Kooperation mit anderen, häufig gewebsspezifischen Transkriptionsfaktoren, eine **selektive Expression** bestimmter Gene. In Muskelzellen werden z.B. Gene, die für **Proteasen** codieren, aktiviert. Proteasen bauen die Muskelproteine ab und die freigesetzten Aminosäuren gelangen über die Blutbahn zur Leber. In der Leber werden **Aminosäure**-metabolisierende **Schrittmacherenzyme** (Transaminasen), **gluconeogenetische** Schrittmacherenzyme sowie die **Glykogen-Synthase** induziert. Somit kann die Leber Glucose und Glykogen aus Aminosäuren synthetisieren und den Blutglucosespiegel auch während langanhaltender Hungerperioden stabilisieren.

## 5.4 Cortisolwirkungen

**Cortisolwirkungen auf den Zuckerstoffwechsel** Cortisol fördert die Gluconeogenese und stabilisiert während Hungerperioden den Blutglucosespiegel. Dies gewährleistet die Funktion des zentralen Nervensystems, das von der Blutglucose abhängig ist.

Ausgangsstoffe für die Gluconeogenese, wie Lactat, Pyruvat, Oxalacetat etc. sind in der Leber nur in limitierten Mengen vorhanden und müssen daher erst aus anderen Quellen zur Verfügung gestellt werden. **Muskelprotein** stellt einen großen Pool an Aminosäuren dar, aus denen bei Hunger Glucose synthetisiert werden kann. Cortisol induziert in Muskelzellen Gene für Proteasen, die einen Teil der Muskelproteine hydrolysieren und die Aminosäuren über die

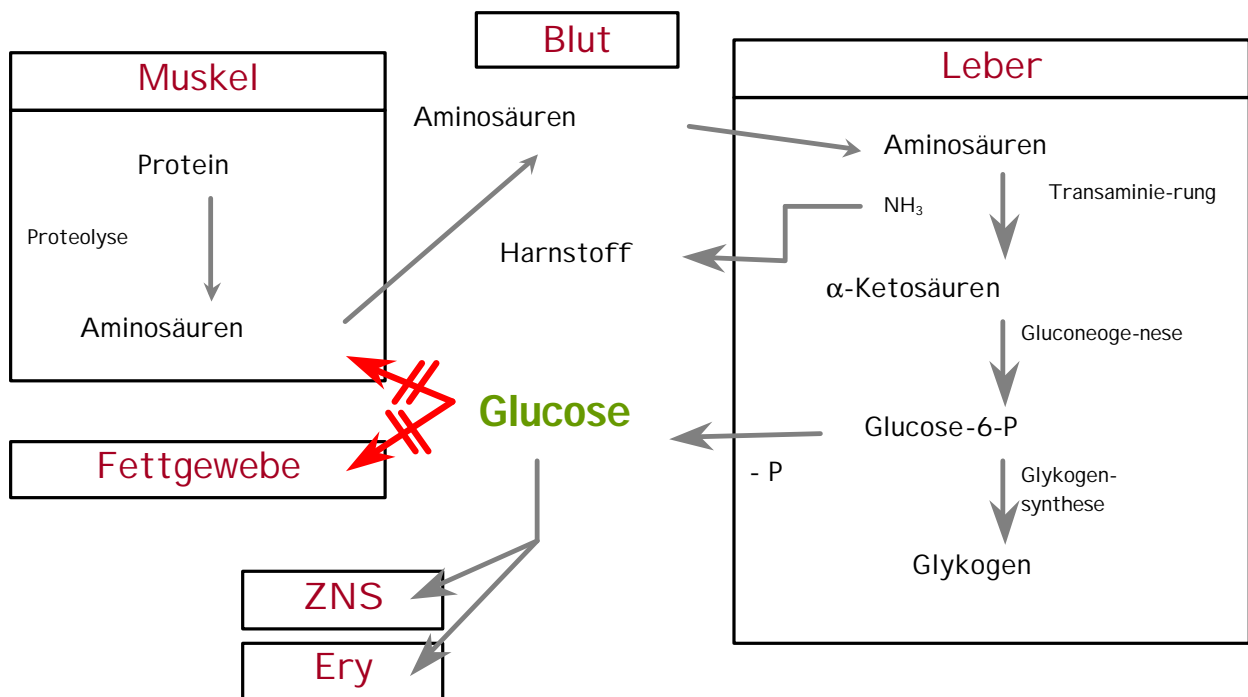


Bild 5-9. Wirkungen des Cortisols auf den Zuckerstoffwechsel.

Blutbahn der Leber zur Verfügung stellen (Bild 5-9). In der Leber fördert Cortisol die Expression Aminosäure metabolisierender Enzyme, vor allem von Transaminasen, der Serin-Dehydratase, der Tryptophan-Oxidase und viele mehr. Besonders gut untersucht ist die Reaktion des Gens der Tyrosin-Transaminase auf die Wirkung von Cortisol.

Die aus den Aminosäuren gebildeten  $\alpha$ -Ketosäuren (Pyruvat,  $\alpha$ -Ketoglutarat) werden über Oxalacetat in die Gluconeogenese geschleust. Die Leber speichert einen Teil der gewonnenen Glucose als Glykogen, ein anderer Teil wird durch Glucose-6-phosphatase dephosphoryliert und kann danach ins Blut abgegeben werden. Die Blutglucose versorgt das ZNS. Andere Organe decken ihren Bedarf an Energie (ATP) aus der Verwertung von Ketonkörpern, die aus Fettsäuren unter Cortisol-Einfluss gebildet werden. Damit die (wertvolle) Glucose von der Muskulatur und von Fettgewebszellen nicht verbraucht werden kann, wird unter Cortisol die Glucoseaufnahme in diese Zellen spezifisch gehemmt.

**Cortisolwirkungen auf den Lipidstoffwechsel** Cortisol aktiviert in Adipocytin die hormonsensitive Lipase die aus dem Triacylglycerin-Depot Fettsäuren freisetzt (Bild 5-10). Freie Fettsäuren können begrenzt von Zellen aufgenommen und metabolisiert werden. Größere Mengen an Fettsäuren werden im Hungerzustand jedoch von der Leber abgebaut und in Ke-



tonkörpern umgewandelt. Ketonkörper, besonders  $\beta$ -Hydroxybutyrat, ist gut löslich und kann das Vielfache des Normalen Wertes im Blut erreichen. Ketonkörper sind hervorragend für die oxidative Phosphorylierung und ATP-Gewinnung geeignet. Selbst das Gehirn kann sich nach mehreren Hungertagen an die Verwertung von Ketonkörpern adaptieren und bis zu 50 % seines Energiebedarfs aus  $\beta$ -Hydroxybuttersäure decken. Durch Mobilisierung der Fettreserven kann viel Glucose (und letzten Endes Protein) eingespart werden.

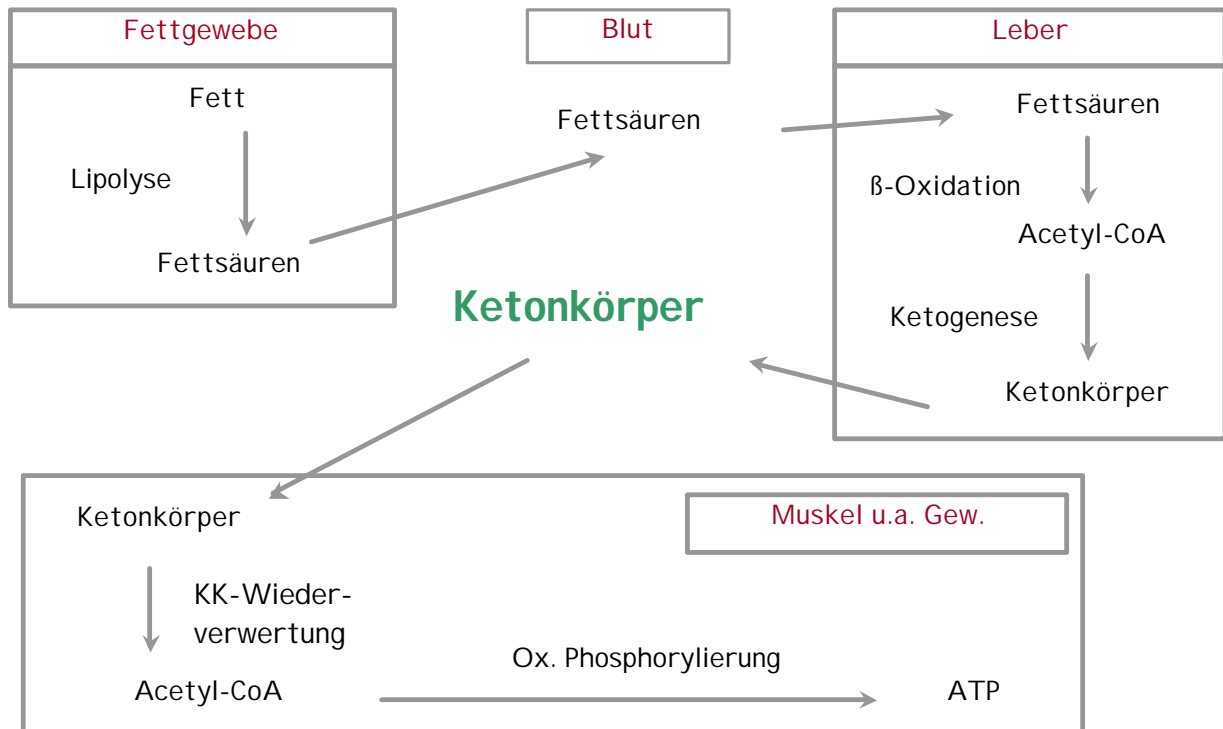


Bild 5-10. Wirkungen des Cortisols auf den Lipidstoffwechsel.

**Cortisol wirkt entzündungshemmend.** Über Wunden in den Körper eingedrungene Bakterien, andere Mikroorganismen oder fremde Antigene führen zunächst zur Aktivierung des unspezifischen Immunsystems. Gewebshormone erleichtern durch Erhöhung der Gewebspermeabilität den Zugang von Makrophagen und anderen immunkompetenten Zellen zu den betroffenen Stellen. Oft kann es jedoch zu Überreaktionen kommen, indem etwa die Makrophagen nicht nur fremde, sondern auch körpereigene Zellen angreifen und phagozytieren. Es kommt

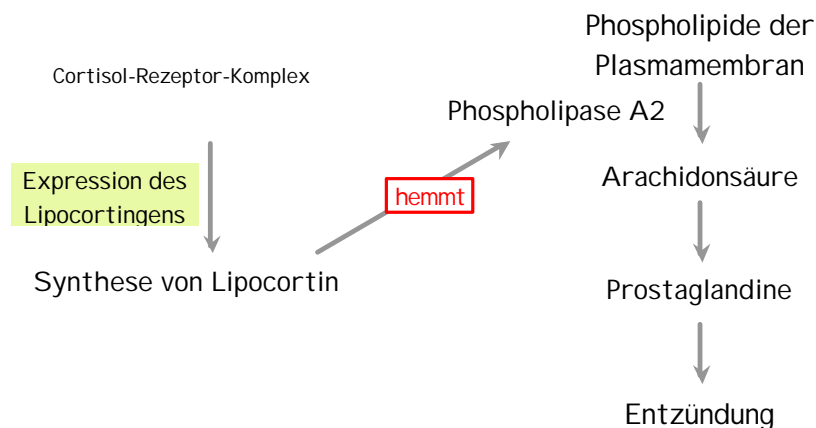


Bild 5-11. Entzündungshemmende Wirkung von Glucocorticoiden (Cortisol).

zu unerwünschten und oft schwer zu beherrschenden Entzündungen.

Zu den entzündungsfördernden Gewebshormonen gehören etwa die Prostaglandine, die im menschlichen Körper aus Arachidonsäure gebildet werden (Bild 5-11). Arachidonsäure wird mittels der Phospholipase A2 aus Membranlipiden freigesetzt. Cortisol aktiviert in peripheren Epithelzellen das Gen für Lipocortin. Lipocortin selbst - ein Protein - ist ein potenter Inhibitor der Phospholipase A2 und kann auf diesem Weg die Bildung von Prostaglandinen hemmen. Letztlich beruht die entzündungshemmende Wirkung des Cortisols auf der Hemmung der Prostaglandinsynthese.

**Cortisol wirkt immunsuppressiv.** Cortisol hemmt sehr effektiv immunologische Vorgänge. Synthetische Cortisolderivate (Dexamethason, Triamcinolon) werden deshalb auch dann therapeutisch eingesetzt, wenn überschießende Abwehraktivitäten des Immunsystems zu einer Schädigung des Organismus führen könnten. Gefürchtet sind gegen eigene Organe gerichtete Autoimmunreaktionen, wie z.B. gegen  $\beta$ -Zellen des Pankreas beim juvenilen Diabetes mellitus. Cortisolderivate werden auch bei allergischen Reaktionen therapeutisch eingesetzt.

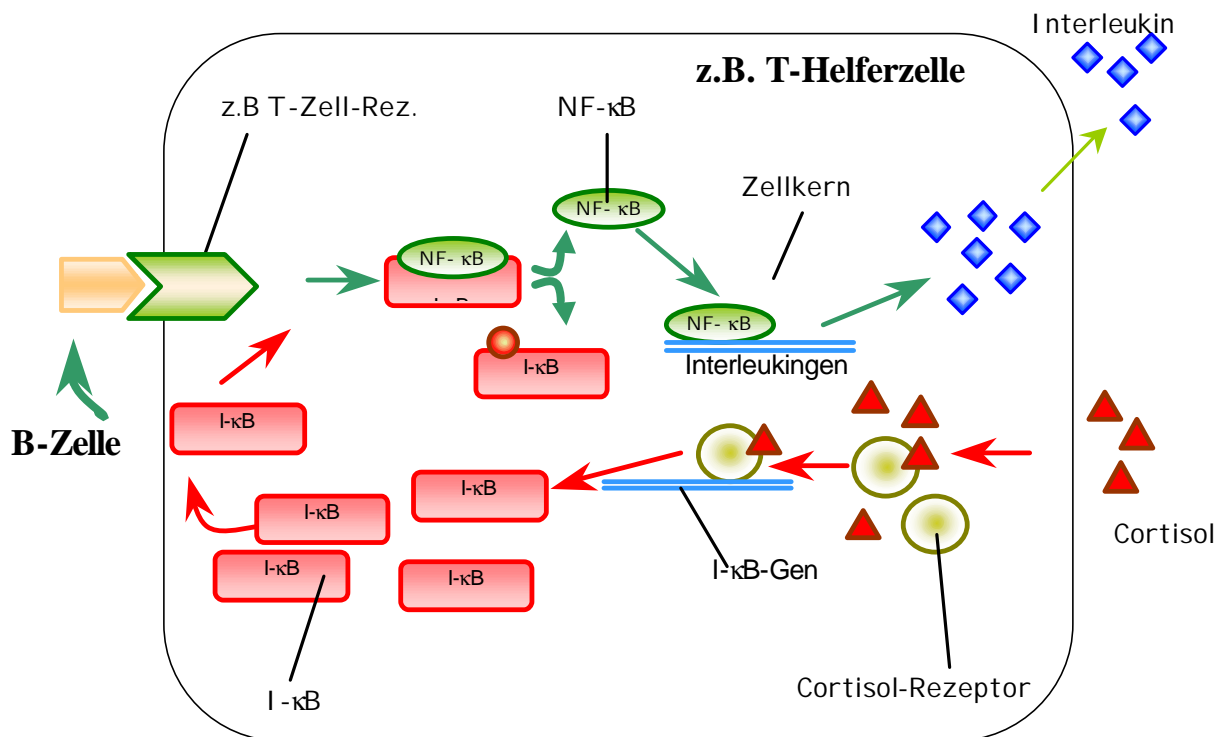


Bild 5-13. Cortisol stimuliert die Expression des I-κB-Gens in Helferzellen

Für das Funktionieren des Immunsystems müssen antigeninduzierte Differenzierungs- und Proliferierungs-Schritte von T- und B-Zell-Vorstufen eingeleitet werden. Beispielsweise wird eine B-zelle durch spezifischen Kontakt mit einer T-Helferzelle zur Differenzierung zu einer reifen Plasmazelle aktiviert, die anschließend sich stark vermehrt und große Mengen an Antikörpern sezerniert. Bei diesem Schritt werden in den T-Helferzellen Interleukingene induziert und Interleukinmoleküle produziert. Interleukine regen die Plasmazellen zur raschen Vermehrung an, die dann große Mengen an Antikörpern produzieren.

Cortisol unterbindet die Proliferation von T- und B-Zellen. Man dachte lange Zeit, dass der Cortisolrezeptor in B-Zellen an postulierte Silencer-Elemente von Interleukingenen bindet und dadurch die Expression der Interleukingene unterdrückt. Mittlerweile wurden mehrere Interleukingene kloniert und sequenziert. Erstaunlicherweise wurden jedoch bei keinem Regulationselemente gefunden, die auf Cortisol vermittelte Signale reagieren, Statt dessen wurden bei Interleukingenen Elemente entdeckt, die den Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B (NF-kappa-B) binden. Wie also bewirkt Cortisol die Unterdrückung der B-Zell-Reifung?

NF $\kappa$ B liegt im Cytosol der B-Zelle als dimeres Protein vor, bestehend aus dem NF $\kappa$ B selbst und seinem Inhibitor I $\kappa$ B. I $\kappa$ B verhindert das Eindringen von NF $\kappa$ B in den Zellkern und die Aktivierung von Interleukingenen. Findet ein Kontakt der B-Zelle mit einer T-Helferzelle statt, so wird über den T-Zell-Rezeptor eine Signalkaskade ausgelöst, ähnlich wie wir dies von membranständigen Hormonrezeptoren bereits kennen. Infolge dieser Signalkaskade wird eine Proteinkinase aktiviert, die den Inhibitor des NF $\kappa$ B, nämlich I $\kappa$ B, phosphoryliert. Dieses Phosphat dient als Signal für den proteolytischen Abbau des Inhibitors, worauf der Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B freigesetzt wird und die Kernmembran passieren kann. Danach führt die Bindung von NF $\kappa$ B an den Enhancer zur Induktion der Interleukingene und zur Produktion großer Mengen an Interleukinen.

Cortisol hingegen aktiviert das Gen für I $\kappa$ B (Bild 5-13) und führt zur Bildung einer großen Zahl von NF $\kappa$ B-Inhibitoren im Cytosol. Diese verhindern, dass ein NF $\kappa$ B-Molekül nach Aktivierung durch den T-Zell-Rezeptor in den Zellkern wandert und die Interleukingene induziert. Cortisol interferiert also mit der induzierten Interleukinsynthese und verhindert dadurch die Reifung der B-Zellen zu reifen Plasmazellen und deren Vermehrung. Die Antigen induzierte Immunantwort bleibt aus.

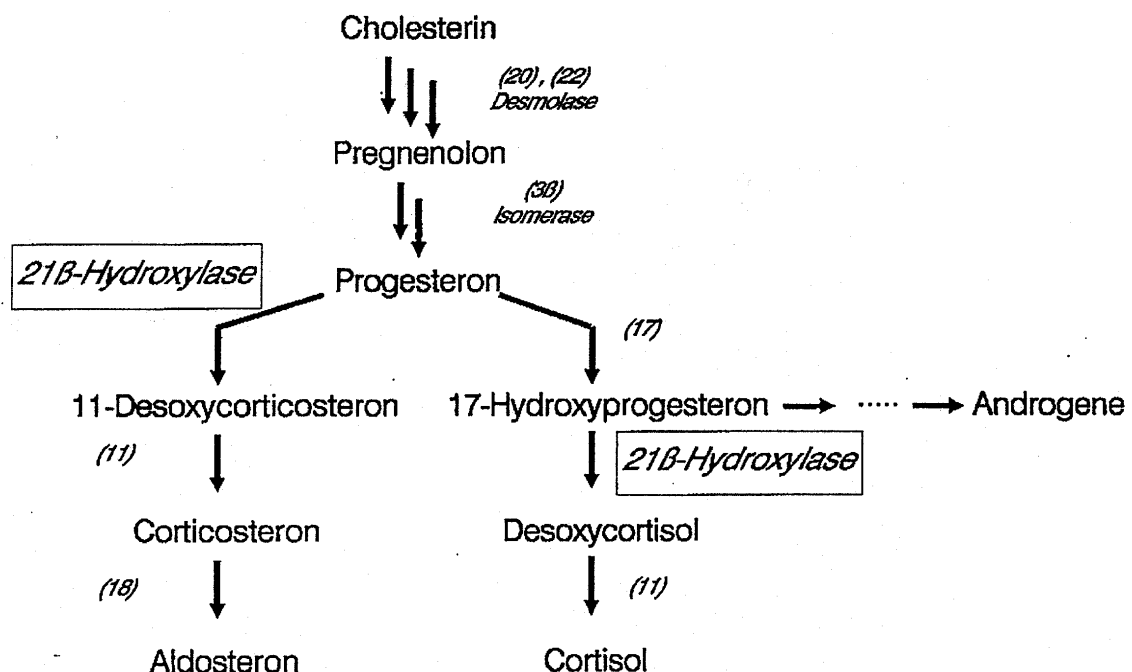
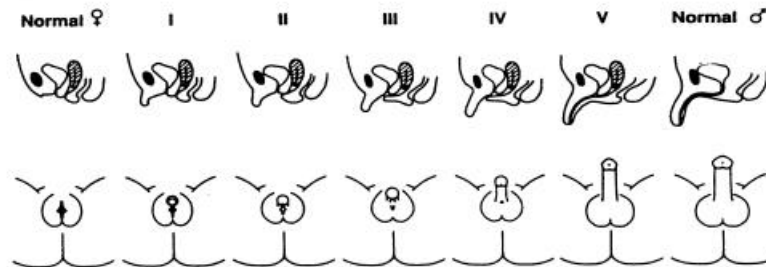


Bild 5-14. Defekt im 21-Hydroxylasegen führt zu Cortisolmangel (Adrenogenitales Syndrom, AGS).

**Defekte im 21-Hydroxylasegen führen zu Cortisolmangel.** Das congenitale adrenogenitale Syndrom (AGS) ist durch Cortisol- und Aldosteronmangel charakterisiert. Durch die Fehlfunktion des 21-Hydroxylasegens sind beide Biosynthesewege, sowohl zum Aldosteron, als auch zum Cortisol blockiert (Bild 5-14). Es reichern sich Progesteron und 17-Hydroxyprogesteron an. Durch den drastisch erniedrigten Cortisolspiegel entfällt die Rück-



Vierjähriges Mädchen mit AGS Schweregrad IV

Bild 5-15. Schweregrade der Virilisierung bei Mädchen nach Prader bei condenitalem adreno-genitalem Syndrom

kopplung zur Hypophyse und zum Hypothalamus mit der Folge, dass vermehrt CRH und ACTH ausgeschüttet werden. ACTH wiederum aktiviert die Desmolase, was zu einer weiteren Bildung von Progesteron und 17-Hydroxyprogesteron führt. Aus diesen Substanzen werden vermehrt adrenale Androgene gebildet. Diese führen bei Mädchen zu Virilisierung (Bild 5-15), bei Knaben zu Pseudopubertas praecox. Je nach Schwere des Aldosteronmangels kann beim adrenogenitalen Syndrom Salzverlust auftreten. Therapiemöglichkeiten bestehen durch Hormonsubstitution.

## 6 Hormone der Schilddrüse

**Fallbeschreibung (Bild 6-1).** Eine 35 jährige Frau besucht den Hausarzt und klagt über unangenehmes Herzklopfen (Palpitatio cordis) und lähmende Müdigkeit. Sie berichtet, dass sie in letzter Zeit 4 kg an Gewicht verlor trotz gutem Appetit und ohne Maßnahmen um abzunehmen. Sie berichtet über gelegentliche Durchfälle.

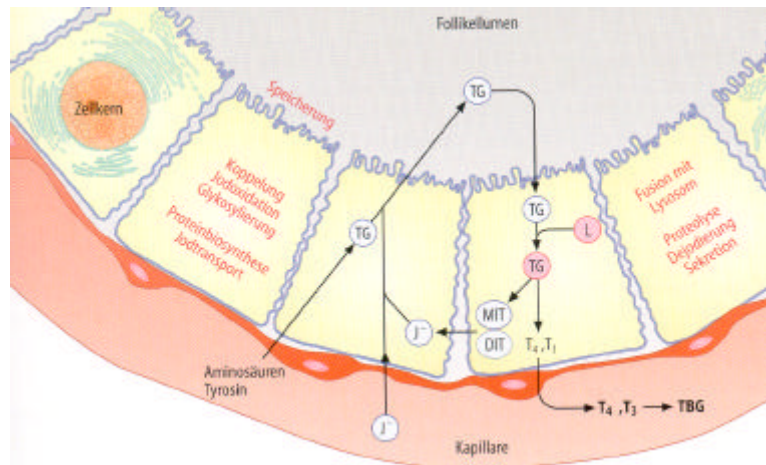
Bei der Untersuchung fühlt sich ihre Haut warm und feucht an, der ausgestreckte Arm zeigt einen leichten Tremor. Sie hat Tachycardie (110/min). Der Labortest ergibt einen erniedrigten TSH-Spiegel ( $<0.05$  mU/L; normal: 0,4-4).

Der Nachweis von Antikörpern, die gegen den TSH-Rezeptor gerichtet sind, bestätigen den Verdacht auf **M. Basedow** (Graves disease).

aus Baynes and Dominiczak, Medical Biochemistry, Mosby press 1999.

**Bild 6-2. Symptome einer Schilddrüsenüberfunktion** sind Innere Unruhe, Schlaflosigkeit, Agitation durch Sympathikusreizung mit Tremor, Mydriasis (Pupillenerweiterung). Häufig tritt Tachykardie (Anstieg der Herzfrequenz) mit Rhythmusstörungen auf. Es besteht Wärmeintoleranz, Hyperhydrosis. Trotz Appetitsteigerung erfolgt häufig Gewichtsabnahme wegen dem gesteigerten Stoffumsatz und häufig auftretenden Diarrhoen. Gesteigerte Ermüdbarkeit.

Schilddrüsenhormone spielen sowohl während der Entwicklung, als auch zeitlebens, eine zentrale Rolle im Stoffwechsel. Schilddrüsenhormonmangel (Hypothyreose) führt zu einer Verlangsamung sehr vieler Stoffwechselprozesse, mit Senkung des  $O_2$ -Verbrauchs, der Wärmeproduktion, des Protein- und Fettumsatzes, Verlangsamung oder Erlöschen der Sehnenreflexe, Verlangsamung des Pulses (Bradykardie), depressiver Verstimmung, etc., und in der Wachstumsphase zudem zu irreversiblen Entwicklungsstörungen, namentlich des ZNS (z.B. mit Schwachsinn, Taubheit) oder des Skeletts (z.B. Kleinwuchs, Knochendeformitäten), und zwar um so mehr, je früher, länger und ausgeprägter der Hormonmangel ist.



Aus: Löffler, Petrides: Biochemie und Pathobiochemie

Bild 6-3. Biosynthese: Schilddrüsenhormone werden an Thyreoglobulin gebunden synthetisiert.

### 6.1 Biosynthese der Schilddrüsenhormone

Die menschliche Schilddrüse, ein weiches und normalerweise nicht tastbares Organ, besteht aus ca.  $10^6$  kleiner, bis 0.5 mm großer Bläschen (Follikel), deren Wandung von einem einschichtigen Epithel ausgekleidet ist (Bild 6-3). Im Lumen wird ein Sekret, das sogenannte **Kolloid** gespeichert. Ein erheblicher Anteil des Kolloids besteht aus Thyreoglobulin. Die Biosynthese der Schilddrüsenhormone **Thyroxin** und **Trijodthyronin** erfolgt in den Epithelzellen und im Follikellumen. Sie beinhaltet folgende Schritte: (1) Die Aufnahme und Anreicherung von Jod aus dem Plasma durch die follikulären Zellen, (2) Synthese von Thyreoglobulin. (3) Oxidation des Jodids ( $J^-$ ) zu Jod ( $J_2$ ) durch die membrangebundene Peroxidase. Durch das

selbe Enzym erfolgt die Jodierung von Tyrosinresten im Thyreoglobulin (Bild 6-5) unter Bildung von Monojodtyrosin (MJT) und Dijodtyrosin (DJT). (4) Kopplungsreaktion von zwei DJT (Bild 6-6) unter Bildung von Thyroxin (T<sub>4</sub>). Ein-Elektronen-Transfer durch die Schilddrüsen-**Peroxidase** führt zu Jod-**Radikalen**, die mit Tyrosin reagieren. Auch die Kopplungsreaktion läuft über einen Radikalmechanismus, ebenfalls von der Peroxidase katalysiert. Dabei wird der aromatische Rest des jodierten Tyrosins auf ein anderes jodiertes Tyrosin übertragen, **ohne** dass ein **Bruch** in der Proteinkette erfolgt. Zurück bleibt ein Dehydroalaninrest, der zu Serin umgewandelt wird. (5) Sekretion des Thyreoglobulins in das Follikellumen wo es gespeichert wird. (6) Regulierte Rückaufnahme des jodierten Thyreoglobulins in die Epithelzelle. (7) Fusion mit Lysosomen und proteolytischem Abbau unter Freisetzung von T<sub>4</sub>. (8) Wiederverwertung des Jods aus MJT, DJT und rT<sub>3</sub> durch Dejodierung und Rezyklisierung. (9) Sekretion der Hormone ins Plasma. (10) Umwandlung von T<sub>4</sub> (Vorstufe) in T<sub>3</sub> (aktives Hormon) durch Dejodasen in der Peripherie.

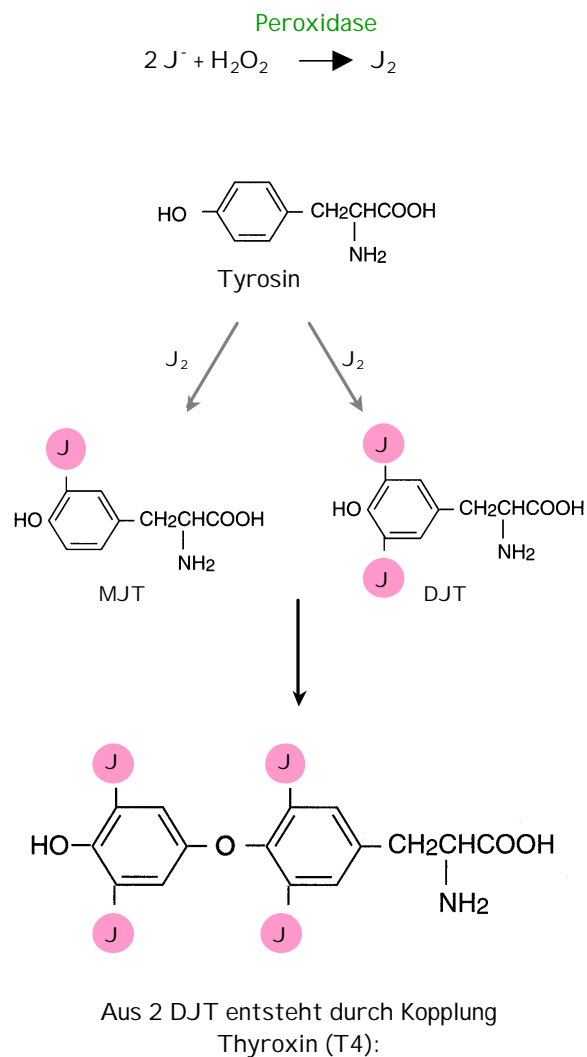


Bild 6-5. Thyroxin entsteht aus Tyrosin.

Die normale Schilddrüsenfunktion ist von einer täglichen Zufuhr von 150-300 µg Jodid abhängig. In Gegenden, wo die Menge an aufgenommenem Jod 25-50 µg/Tag unterschreitet, tritt endemisch Kropf auf. Der Transport von Jodid in die Follikelzellen wird von der **Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase** getrieben (ist von Ouabain hemmbar). Die Aufnahme erfolgt **gegen** einen **Gradienten** von 20:1, bei Mangel sogar bis 300:1.

## 6.2 Regulation der T<sub>3</sub> und T<sub>4</sub>-Sekretion durch den Hypothalamus und durch die Hypophyse

Der Hypothalamus erhält Informationen von verschiedenen Stellen des ZNS (Limbisches System, interne Stimuli (Ernährungslage), externe Stimuli (Kälte, Hitze). Diese Einflüsse werden integriert und über neurosekretorische Zellen an die Hypophyse weitergegeben (Bild 6-8). Diese Weitergabe erfolgt durch die Sekretion des Tripeptids **TRH** (Thyrotropin-Releasing-Hormone). TRH wird im Hypothalamus aus einem Pro-Hormon durch **Proteolyse** freigesetzt, in Vesikel verpackt und an die Nervenenden weitertransportiert. TRH stimuliert die Sekretion von Thyrotropin (**TSH**) durch die Hypophyse. Thyrotropin (TSH) besteht aus zwei Untereinheiten α- und β. Die α-Untereinheit besitzt 92 Aminosäuren und die β-Untereinheit 110. Aktiv ist das Hormon nur wenn α und β-Untereinheit assoziiert sind. Täglich werden 50-200 µg TSH sezerniert, das eine Halbwertszeit im Plasma von ca. 50 min. hat.

**Funktion des TSH-Rezeptors.** Der TSH-Rezeptor ist ein **Glykoprotein** (Bild 6-10). TSH aktiviert über den Rezeptor sowohl das **Phosphoinositol**- als auch das **cAMP-System**. Über  $IP_3$  wird der Transport des Jods aus der Epithelzelle ins Follikellumen und die Jodierung des Thyreoglobulins reguliert. Über das **cAMP-System** wird die Jodidaufnahme aus dem Plasma kontrolliert. Die Freisetzung von  $T_4$  ist ebenfalls von TSH abhängig. Der Sympathicus, Parasympathicus und Prostaglandin E wirken modulierend auf die Schilddrüse.

Thyroxin und Trijodthyronin wirken in einer Rückkopplungs-Schleife hemmend auf den Hypothalamus und die Hypophyse und unterdrücken die Sekretion von TRH bzw. TSH- (Bild 6-8). Die TSH-Konzentration im Blut der Menschen ist sehr unterschiedlich (Bild 6-9); von Individuum zu Individuum kann bei euthyroiden Patienten ein zehnfacher Unterschied bestehen. Der Normalbereich für TSH reicht von 0,4 bis 4 mU/L.

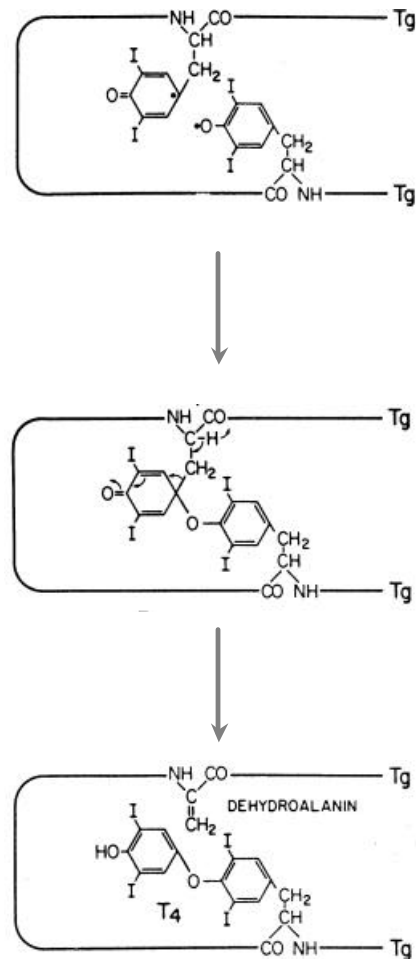


Bild 6-6 Kopplung zweier DJT zu Thyroxin (TG-gebunden).

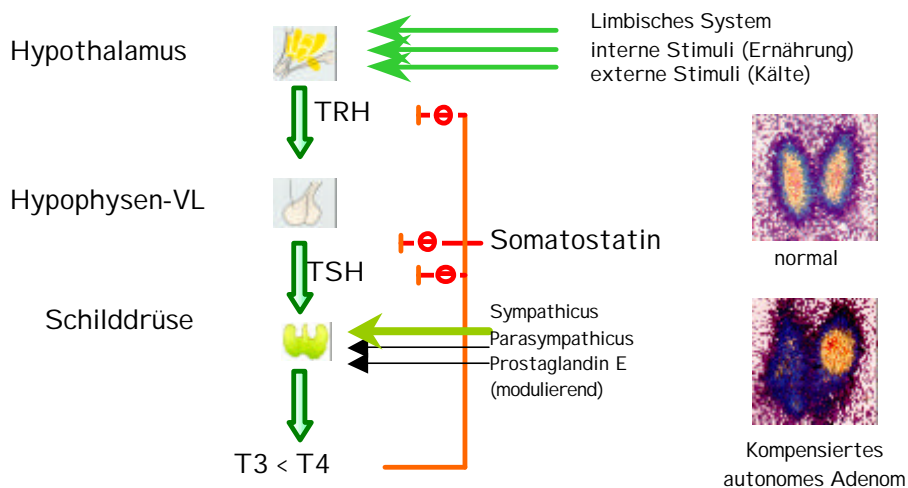


Bild 6-8. Die Thyroxinfreisetzung wird durch übergeordnete Zentren kontrolliert

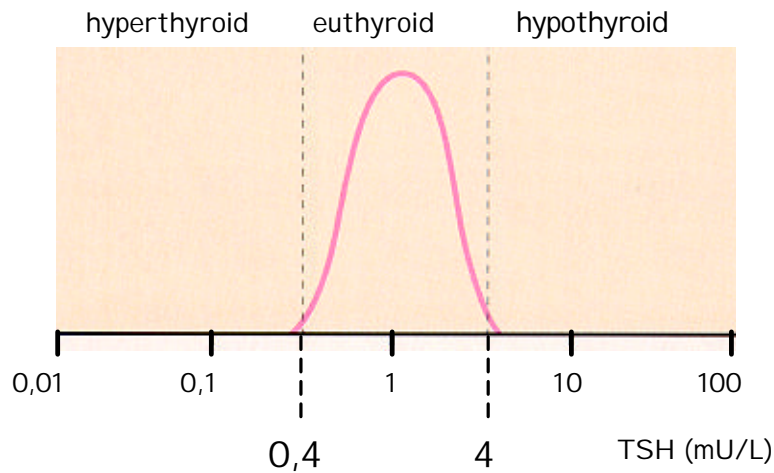


Bild 6-9. Bei klinischen Untersuchungen wird meist nur der TSH-Spiegel bestimmt. TSH-Konzentrationen, die sich um eine Größenordnung unterscheiden, sind normal.

- Ist membranständig (Schilddrüsenzellen)
- Aktiviert zwei Signalwege: cAMP und  $IP_3$ -Weg. Diese aktivieren die Jodidaufnahme bzw. TGB-Synthese
- Besteht aus 2 Untereinheiten:  $\alpha$  und  $\beta$
- Die  $\alpha$ -UE ist identisch mit  $\alpha$ -UE von Luteinisierendem Hormon (LH) und FSH
- Autoantikörper, die den Rezeptor stimulieren, führen zu Hyperthyroidismus (M. Basedow; engl. Graves disease)

Bild 6-10. Eigenschaften des TSH-Rezeptors.

T4 und T3 binden mit hoher Affinität an Thyroxin bindendes Globulin (TBG):  $K_D=2 \times 10^{-10}$  bzw.  $2 \times 10^{-9}$

Und mit deutlich geringerer Affinität ( $10^{-8}$  -  $10^{-6}$ ) an TBPA (Transthyretin) und Albumin

**Nur freies Hormon ist biologisch aktiv**

Bei Schwangeren wird die Serunkonzentration an TBG verdoppelt; folglich erhöht sich der Gesamt-T4-Spiegel. Der Spiegel an freiem T4 bleibt gleich

Dies ist ein Mechanismus zur Regulation der Hormonkonzentration

Bild 6-11. Nur ein geringer Teil der sezernierten Schilddrüsenhormone liegt in freier Form vor; der Rest ist an Protein gebunden.



**Struktur des TSH-Rezeptors.** Der TSH-Rezeptor ist ein membranständiger Rezeptor bestehend aus zwei Untereinheiten: einer kleineren (92 kD)  $\alpha$ - und einer größeren (110 kD)  $\beta$ -Untereinheit. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass sich zwei weitere Hormone, nämlich das Follikel Stimulierende Hormon (FSH) und Luteinisierendes Hormon (LH) die selbe  $\alpha$ -Untereinheit teilen. Es wird angenommen, dass die gemeinsame  $\alpha$ -Untereinheit die Bindung des jeweiligen Hormons erleichtert, die  $\beta$ -Untereinheit hingegen die Spezifität der folgenden Hormonwirkungen bestimmt.

Beim eingangs besprochenen Fall des Patienten mit einer Schilddrüsenüberfunktion (Bild 6-1) handelt es sich in Wirklichkeit um eine Autoimmunerkrankung, bei der Antikörper gegen den eigenen TSH-Rezeptor gerichtet sind. Es gibt Antikörper, welche die Funktion des TSH-Rezeptors blockieren, aber auch solche, die die Funktion der Rezeptors stark stimulieren. Im ersteren Fall wird der Patient zu wenig Schilddrüsenhormone produzieren und sezernieren (z.B. Hashimoto-Hypothyreoidismus) im letzteren Fall kommt es zu einer Schilddrüsen-Überfunktion (z.B. Morbus Basedow; in der angelsächsischen Literatur Graves disease bezeichnet). Die Autoantikörper stimulieren unentwegt den TSH-Rezeptor, worauf zu viel Thyroxin produziert wird. Thyroxin wirkt hemmend auf die Hypophyse, worauf zu wenig TSH sezerniert wird, doch wirkt sich dies nicht auf die Produktion von Thyroxin ( $T_4$ ) und Trijodthyronin ( $T_3$ ) aus, weil der TSH-Rezeptor durch die Antikörper unabhängig von TSH geworden ist.

### 6.3 Nur ein geringer Teil des sezernierten Thyroxins liegt in freier Form vor

Im Serum sind die schlecht wasserlöslichen Schilddrüsenhormone zu über 99 % an Serumproteine gebunden, namentlich an das Thyroxin Bindende Globulin (TBG), an Transthyretin (Thyroxin Bindende Präalbumin, TBPA) sowie das Albumin und werden in dieser Form transportiert (Bild 6-11). Das Thyroxin Bindende Globulin (TBG) hat eine bemerkenswert hohe Affinität zu  $T_4$  ( $K_D = 2 \cdot 10^{-10}$  mol/L) und für  $T_3$  ( $K_D = 2 \cdot 10^{-9}$  mol/L). Diese Affinitäten liegen in der Größenordnung von Hormonrezeptoren. Die anderen Proteine, Thyroxin bindendes Präalbumin und Albumin binden die Schilddrüsenhormone mit geringerer Affinität. Der freie Hormonanteil beträgt 0,3 % beim  $T_3$  und 0,03 % beim  $T_4$ . Nur freies Hormon ist biologisch aktiv. Es wird also angenommen, dass die TBG gebundenes Hormon sozusagen eine Vorratsform für Schilddrüsenhormone darstellt. Diese Eigenart ist wohl dadurch bedingt, dass Jod ein sehr seltenes Element ist und nicht beliebig zur Verfügung steht. Bei Schwangeren - wo vorauszusehen ist, dass größere Mengen an Thyroxin benötigt werden - wird die Serumkonzentration an TBG verdoppelt. Folglich erhöht sich der Gesamt- $T_4$ -Spiegel; der Spie-

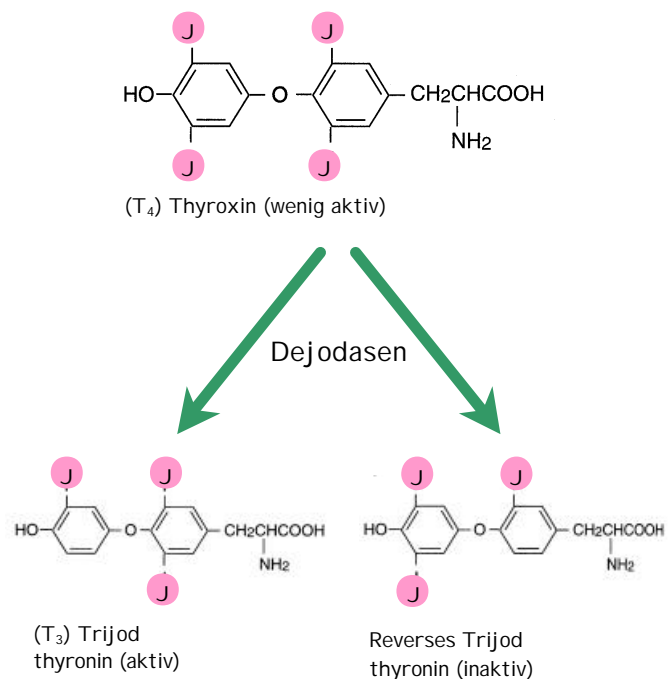


Bild 6-12. Dejodasen wandeln  $T_4$  in die aktive ( $T_3$ ) oder inaktive (rev $T_3$ ) Form um.

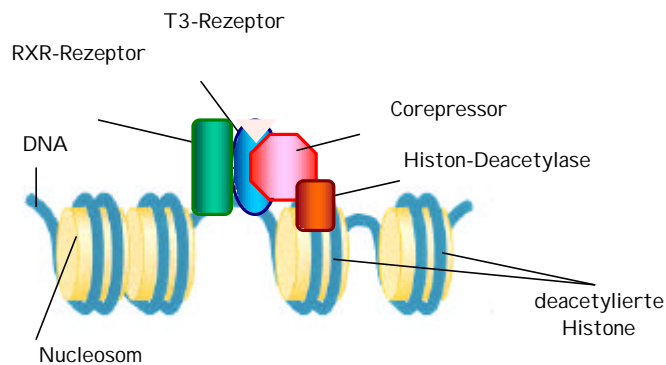
gel an freiem  $T_4$  jedoch bleibt gleich. Die Schwangere Frau ist auf den kommenden Bedarf durch den heranwachsenden Fetus vorbereitet. Die Synthese und der Abbau von TBG stellt somit einen weiteren Mechanismus zur Regulation der Hormonkonzentration dar.

#### 6.4 Thyroxin ( $T_4$ ) ist eine Vorstufe für Trijodthyronin ( $T_3$ ), dem eigentlichen Hormon

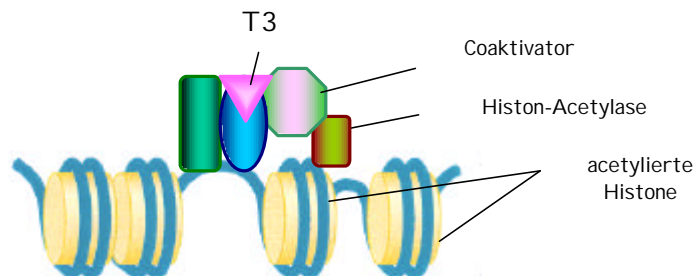
Die Schilddrüse sowie viele andere Gewebe enthalten Dejodasen, welche Jodthyronine deiodieren (Bild 6-12). Die Dejodierung von  $T_4$  führt zu dem biologisch aktiven  $T_3$ , wenn die Dejodierung am äußeren Ring erfolgt oder zu dem inaktiven reversen  $T_3$  ( $rT_3$ ), wenn die Dejodierung am inneren Ring erfolgt.  $T_3$  ist 3-5 mal aktiver als  $T_4$ , und gilt daher als das eigentliche Hormon,  $T_4$  dagegen als Vorstufe. Weiterführende Dejodierungen inaktivieren die Schilddrüsenhormone und dienen der Wiederverwertung des Jodids.

#### 6.5 Molekularer Wirkungsmechanismus der Schilddrüsenhormone

$T_3$  gelangt in die Zielzelle und von dort in den Zellkern. Dort bindet das Hormon an den Rezeptor. Der Hormon-Rezeptor befindet sich bereits an spezifische DNA-Sequenzen (Promotor, Enhancer) gebunden. An dieser Stelle muss darauf hingewiesen werden, dass im Zellkern die DNA nicht frei (nackt) vorliegt, sondern durch Histone zu Nucleosomen und Chromatinstrukturen höherer Ordnung verpackt sind. Der  $T_3$ -Rezeptor bindet, meist als heterodimeres Molekül, zusammen mit einem anderen Rezeptor (RXR-Rezeptor) an die regulatorische DNA-Sequenz (Bild 6-13). Seit kurzem weiß man, dass diese Bindung nicht zur Aktivierung, sondern umgekehrt, zur Reprimierung des Gens führt. Dies kommt daher, weil der unbesetzte Rezeptor einen **Corepressor** rekrutiert, der eine **Histon-Deacetylase**-Aktivität besitzt und die erreichbaren Histone deacetyliert. Die Deacetylierung spezifischer Stellen in Histonen scheint als Signal für die Reprimierung eines Gens zu dienen. Bindet jedoch das Hormon an den Rezeptor, so wird der Corepressor durch einen **Coaktivator** ersetzt, dieser besitzt eine **Histon-Acetylase**-Aktivität und akti-



In Abwesenheit von  $T_3$ : Gen wird durch deacetylierte Histone reprimiert



In Anwesenheit von  $T_3$ : Gen wird durch acetylierte Histone aktiviert

Bild 6-13.  $T_3$  wirkt über einen im Zellkern befindlichen Rezeptor

viert das betreffende Gen. Schilddrüsenhormone induzieren spezifische mRNA-Synthese; die mRNAs werden im Cytosol zu Proteinen translatiert (Schilddrüsenhormon abhängige Proteine).

Vor über zwei Jahrzehnten wurde bereits ein virales Oncogen namens v-Erb A aus einem Hühnervirus isoliert und sequenziert. Dieses Protein stellte sich als der Schilddrüsenhormon-Rezeptor heraus, der jedoch einen Aminosäureaustausch in der Hormon bindenden Domäne besaß. Dieser Austausch führte zur Inaktivierung des Rezeptors: dieser konnte kein Hormon mehr binden. Es stellte sich die Frage, warum ein Thyroidrezeptor, der zur Hormonbindung nicht befähigt ist, zu einer malignen Entartung der betroffenen Zelle führen kann. Heute kennt man möglicherweise die Antwort. Sollte die Aktivierung eines Tumor-Suppressor-Gens von Thyroxin abhängig sein, so wäre die richtige Antwort einfach: der Corepressor würde durch das Schilddrüsenhormon nicht gegen den Coaktivator ausgetauscht und folglich das Tumor-Suppressor-Gen nicht durch das Hormon aktivierbar.

## 6.6 Wirkungen der Schilddrüsenhormone

**Schilddrüsenhormone beschleunigen den Grundumsatz.** Die Schilddrüse mit ihren Hormonen spielt eine unersetzliche Rolle für den Organismus, bei der eine Vielzahl von biochemischen Reaktionen peripherer Gewebe direkt oder indirekt betroffen sind. Die Summe der Wirkungen führt zur Kontrolle des **Grundumsatzes** des Stoffwechsels (Bild 14). Der Grundumsatz (GU) ist proportional dem Sauerstoffverbrauch und der Körperoberfläche des Organismus. Der GU wird in Kalorien pro  $m^2$  pro Stunde ausgedrückt. Gemessen wird der GU über den  $O_2$ -Verbrauch einer liegenden und vollkommen ruhenden Person 12 Stunden nach der Nahrungsaufnahme. Für einen normalgewichtigen Mann ist der GU 35-40 Cal/ $m^2$ /h oder 0.6 Cal/ $m^2$ /min, für Frauen 6-10 % geringer. Bei Hormondefizienz kann der Wert auf 20-25 fallen. Bei Hyperthyreose kann der Wert dagegen auf 60-65 ansteigen.

**Kohlenhydratstoffwechsel.** Schilddrüsenhormone erhöhen den Blutglucosespiegel. Die Schrittmacherenzyme der Gluconeogenese aus Aminosäuren werden induziert (Bild 6-15). Der Glykogenabbau wird durch Induktion der Phosphorylase gesteigert.

**Lipidstoffwechsel.** Der Lipidstoffwechsel ist kompliziert, da sowohl die Fettsäuresynthese als auch die Lipolyse gesteigert werden (Bild 6-15). Enzyme der Fettsäuresynthese werden induziert: das Malatenzym und die Glucose-6-phosphat Dehydrogenase, die NADPH für die Fettsäurebiosynthese zur Verfügung stellen. Die Fettsäure-Synthase selbst wird auch induziert. Gleichzeitig erfolgt eine verstärkte Lipolyse (Fettmobilisierung im Fettgewebe), vermutlich durch Aktivierung der hormonsensitiven Lipase.

**Cholesterinstoffwechsel.** Auch dieser ist auf den ersten Blick verwirrend. Die Cholesterinsynthese wird über die Aktivierung der HMG-CoA-Reduktase gesteigert (Bild 6-16), bei gleichzeitig erhöhtem Cholesterinumsatz und -Abbau. Durch die Wirkung der Schilddrüsenhormone sinkt netto der Cholesterinspiegel.

**Lysosomen.** Lysosomale Enzyme (Hyaluronidase, Cholesterinesterase und Kathepsin D) werden induziert. Prominent ist die Hyaluronidase, die unter Thyroxin induziert wird. Bei Schilddrüsenhormonmangel werden Hyaluronsäuren verlangsamt abgebaut, wonach durch Anhäufung von Mucoproteinen unter der Haut die Person eine aufgedunsene Erscheinung als Folge von Veränderungen des Wasser- und Elektrolyt-Haushalts zeigt (Myxödem).

**Myokard.** Bei Hormonüberschuss beobachtet man eine Änderungen der Herzleistung (Bild 6-17). Eine gesteigerte Herztätigkeit, mit beschleunigtem Puls (Tachykardie) rührt von der erhöhten Zahl der  $\beta$ -Rezeptoren auf Zellen des Myokards. Auch die Myosinexpression ist ver-

ändert: unter Thyroxin erfolgt ein Umschalten des  $V_3$ -Isoenzym der Myosin-ATPase zum  $V_1$ -Isoenzym mit höherer ATPase-Aktivität.

**Wachstum, Differenzierung, Verhalten.** Abhängig davon, ob der Hormonspiegel überschritten oder unterschritten ist, gibt es eine Reihe von auffälligen Effekten auf den Stoffwechsel, die sich auf unterschiedlichen Ebenen der Organisation des Organismus manifestieren. Solche Effekte reichen von Verhaltensänderungen (Depressivität) über Beeinträchtigung des Wachstums: Schilddrüsenhormone fördern das Wachstum durch Induktion des Wachstumshormons (Somatostatin hemmt umgekehrt die Sekretion von TSH und wirkt wachstumshemmend), bis hin zu Myopathien des Skelettmuskels, Störung des Knochenwachstums und Immunsystems. Im braunen Fettgewebe von Kleinkindern wird durch die verstärkte Expression des Thermogeningens die Körpertemperatur kontrolliert.

1. Grundumsatz wird erhöht
  - ❖ Sauerstoffverbrauch ↑
  - ❖ Substratumsatz ↑
  - ❖ Energiegewinnung ↑
    - ATP-Synthase (+)
  - ❖ Thermogenese ↑
2. Blut
  - ❖ Blutglucose ↑
3. Kohlenhydratstoffwechsel
  - ❖ Gluconeogenese aus Aminosäuren ↑ (L)
    - Schrittmacherenzyme der Gluconeogenese induziert
  - ❖ Glykogenabbau ↑ ➢ Phosphorylase wird induziert
4. Lipidstoffwechsel (kompliziert)
  - ❖ Fettsäuresynthese ↑
    - Malatenzym induziert → [NADPH] ↑
    - Glucose-6-phosphat Dehydrogenase induziert → [NADPH] ↑
    - Fettsäuresynthase induziert
  - ❖ Lipolyse ↑
5. Cholesterinstoffwechsel (kompliziert)
  - ❖ Cholesterinsynthese ↑ (L)
    - HMG-CoA-Reduktase induziert
  - ❖ Cholesterinumsatz und -Abbau ↑ ❖ Cholesterinspiegel ↓ (netto)
6. Lysosomen
  - ❖ Lysosomale Enzyme induziert
    - Hyaluronidase ↑
7. Wachstum ↑
  - ❖ STH (Wachstumshormon) gesteigert
8. Differenzierung
  - ❖ Hirnentwicklung wird gefördert ❖ Anlage der Ossifikationszentren
9. Myokard
  - ❖ Zahl der β-Rezeptoren erhöht [Kontraktilität]
  - ❖ Myosinexpression ↑
    - Typ V3 → V1 mit erhöhter ATPase-Aktivität
  - ❖ Peripherer Gefäßwiderstand ↓
10. Braunes Fettgewebe
  - ❖ Expression des Thermogenin-Gens → Körpertemperatur ↑

Bilder 6-14 bis 6-17. Wirkungen der Schilddrüsenhormone auf den Stoffwechsel/Organismus

## 7 Calcium regulierende Hormone: Parathormon, Calcitonin, 1,25-Dihydroxycholecalciferol

**Störungen des Calciumhaushaltes.** Das Leben des Menschen ist an ziemlich enge Grenzen des Serum-Calciumspiegels gebunden (Bild 7-1). Serumwerte  $>2,4$  mmol/l bedeuten Hypercalzämie (Bild 7-2) und äußern sich vorwiegend in neurologisch-psychiatrischen und kardiovaskulären Symptomen sowie in metastatischen Verkalkungen. Jede mäßige oder schwere Hypercalzämie ist zwingend behandlungsbedürftig. Eine hypercalzämische Krise ist ein internistischer Notfall. Serumwerte  $<2,1$  mmol/l bedeuten Hypocalzämie und führen zu gesteigerter neuromuskulärer Erregbarkeit mit typischen Karpopedal- und fazialen Muskelspasmen und Tetanie. Der Normalwert der **extrazellulären** Calciumkonzentration ist also 2,4 mmol/l, wobei die Hälfte (1,2 mmol/l) in freier Form vorliegt (freies Calcium). Diese ist für die biologische Funktion bedeutend und ist entsprechend gut reguliert. Die andere Hälfte liegt komplexiert von organischen (Chelat-bildenden) Ionen, wie Citrat, Heparin etc. vor, oder an Protein gebunden. Die intrazelluläre Konzentration ist mit 0,0001 mmol/l (entspr.  $10^{-7}$  mol/l) wesentlich niedriger. Das Verhältnis von intrazellulärem zu extrazellulärem freiem Calcium ist 1:10.000.

Extrazelluläre Konzentration:  
2,4 mmol/l (1,2 frei; 1,2 gebunden).

Intrazelluläre Konzentration:  
0,0001 mmol/l ( $10^{-4}$  mmol/l).

Verhältnis:  
intrazellulär : extrazellulär = 1 : 10.000

Bild 7-1. Der intra- und extrazelluläre Calciumspiegel wird in engen Grenzen konstant gehalten.

Somit ist nicht verwunderlich, dass sich ein fein aufeinander abgestimmtes System zur Konstanthaltung des Serum-Calciumspiegels entwickelt hat. Zu niedrige Konzentrationen stimulieren die Bildung von **1,25-Dihydroxycholecalciferol**, welches die Calcium-Resorption im Darm fördert. Wenn die Calcium-Aufnahme durch die Nahrung für die Aufrechterhaltung des normalen Serum-Spiegels nicht ausreicht, stimuliert **Parathormon** zusammen mit 1,25-Dihydroxycholecalciferol die Calcium-Freisetzung aus dem Knochen. **Calcitonin**, als Antagonist der anderen Hormone, senkt den Plasmaspiegel. Calcium und Phosphat sind, bedingt durch das niedrige Löslichkeitsprodukt von Calciumphosphat, in reziproker Weise eng miteinander gekoppelt.

### 7.1 Wichtige Funktionen des Calciums im menschlichen Organismus

Calcium ist das häufigste Mineral im menschlichen Körper. Das meiste befindet sich im Knochen, doch auch die relativ geringe Menge, die sich außerhalb des Knochens befindet, hat für die Aufrechterhaltung zellulärer Funktionen größte Bedeutung (Bild 7-3). Calcium ist wesentlich für die Blutgerinnung; durch Bindung an Carboxylglutamat-Resten der Gerinnungsfaktoren ist  $\text{Ca}^{2+}$  an der **Aktivierung der Gerinnungsfaktoren** beteiligt. Calcium ist für die **Aktivität verschiedener Enzyme** notwendig. Die **Muskelkontrakti-**

**Hypercalzämien:**

Serumwerte  $>2,4$  mmol/l äußern sich vorwiegend in neurologisch-psychiatrischen und kardiovaskulären Symptomen sowie in metastatischen Verkalkungen.

Jede mäßige oder schwere Hypercalzämie ist zwingend behandlungsbedürftig. Eine hypercalzämische Krise ist ein internistischer Notfall.

**Hypocalzämie:**

Serumwerte  $<2,1$  mmol/l führen zu gesteigerter neuromuskulärer Erregbarkeit mit typischen Karpopedal- und fazialen Muskelspasmen.

Bild 7-2. Störungen des Calciumhaushalts.

on und die normale **neuromuskuläre Erregbarkeit** würden ohne Calcium nicht funktionieren. Verringerung der extrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration führt zu einer Erniedrigung der Schwelle der **Erregbarkeit** von Muskel- und Nervenzell-Membranen. Dies kann zu **Tetanie** führen. Die Erhöhung der extrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration führt zu einer Abnahme der  $\text{Na}^+$ -Permeabilität und damit der Erregbarkeit der Membran. Calcium spielt bei **sekretorischen Vorgängen** aller Art (z.B. Insulinausschüttung) eine entscheidende Rolle.

**Calcium ist zweiter Bote bei der Weitergabe hormoneller Signale** (Bild 7-4, S. 55).  $\text{Ca}^{2+}$  dient als **Signal-Überträger** bei verschiedenen Arten der **Zellaktivierung**. Es existieren **ligandenabhängige** und **spannungsabhängige**  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle, über die der Einstrom von Calcium ins Cytosol gesteuert wird. Acetylcholin beispielsweise bindet an den nikotinischen Rezeptor, der sich daraufhin öffnet. Der nikotinische Acetylcholinrezeptor ist eine Untereinheit eines kationen-spezifischen Ionenkanals, der nach Öffnung  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in die Zelle einströmen lässt. **Spannungsabhängige**  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle sind an verschiedenen Prozessen beteiligt. Sie spielen bei der Muskelkontraktion eine wichtige Rolle. Wir haben sie auch im Zusammenhang mit der Sekretion von Hormonen (explizit bei der Insulinsekretion) kennen gelernt.

1. Knochenmineralisierung:  
Calcium und Phosphat bilden den anorganischen Teil des Knochens sowie des Dentins und des Schmelzes der Zähne.  
ca. 1% des KnochenCalciums ist als Pool verfügbar.
2.  $\text{Ca}^{2+}$  und Blutgerinnung:  
Durch Bindung an Carboxyglutamat der Gerinnungsfaktoren an der Aktivierung beteiligt.
3.  $\text{Ca}^{2+}$  und Muskelkontraktion:  
Auslösung der Kontraktion
4.  $\text{Ca}^{2+}$  als Signal bei der Zellaktivierung:  
Funktion als „Second Messenger“

Bild 7-3. Wichtige Funktionen des Calciums im menschlichen Organismus.

$\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom in das Cytosol kann auch aus  **$\text{Ca}^{2+}$ -Speichern im ER** oder dem sarkoplasmatischen Retikulum (SR) erfolgen. Der Einstrom wird von Hormonen ausgelöst, die den Phosphatidyl-Inositol-Signaltransduktionsweg aktivieren. Dieser Weg wird durch Catecholamine über den  $\alpha_1$ -Rezeptor eingeleitet und führt zur Aktivierung der Phospholipase C $\beta$ . Wie wir bereits gelernt haben, spaltet Phospholipase C $\beta$   $\text{PIP}_2$  zu DAG und  $\text{IP}_3$ ; letzteres Molekül bindet an Kanäle des ER (siehe Bild 4-15, S.31) und öffnet sie, wonach  $\text{Ca}^{2+}$  aus dem ER ins Cytosol strömt.

Calcium wird in der Zelle von Proteinen (intrazellulären Rezeptoren) gebunden. Im Herzmuskel von **Troponin**, das aus drei Untereinheiten besteht, von denen Troponin C (C =  $\text{Ca}^{2+}$ ) als Calciumrezeptor dient und an der Regulation der Muskelkontraktion beteiligt ist.

**Ein anderer intrazellulärer Rezeptor ist Calmodulin.** Dieser bindet vier  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen pro Protein und wird dadurch aktiviert. Calmodulin kann sich an andere Proteine, wie Phosphorylase und Phosphorylase-Kinase der Muskelzellen anlagern. Calmodulin ist Aktivator der sogenannten  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin abhängigen Kinasen (CaM-Kinasen). Zu diesen gehören:

- \* Myosin leichte Ketten Kinase
- \* Phosphorylase-Kinase
- \* CaM-Kinase III (aktiviert den Elongationsfaktor der Proteinbiosynthese)
- \* CaM-Kinase II (multifunktionell). Die CaM-Kinase II ihrerseits hat viele Substrate, von denen einige in der Tabelle 7-5 aufgeführt sind.

Protein	Funktion
Acatyl-CoA-Carboxylase	Schrittmacher der Fettsäuresynthese
ATP-Citrat-Lyase	Schrittmacher der Fettsäuresynthese
HMG-CoA-Reduktase	Schrittmacher der Cholesterinsynthese
Phosphofruktokinase	Schrittmacher der Glykolyse
Phospholipase A-II	Arachidonsäure-Freisetzung
Rezeptor für epidermalen Wachstumsfaktor (EGF-Rezeptor)	Zellproliferation
Intermediärfilamente	Cytoskelett-Assemblierung
Microtubulus assoziierte Proteine (MAPs)	Mikrotubulus-Assemblierung

Tabelle 7-5. Substrate der CaM-Kinase II

Beteiligt sind drei Organe: Knochen, Niere und Darm

Beteiligt sind drei Hormone:

Parathormon: Knochenresorption ↑, Bildung von Calcitriol ↑;

Phosphatausscheidung ↑, Calciamausscheidung ↓;

Calcitonin: Knochenmineralisierung ↑; Calciumaus-

scheidung in der Niere ↑; Ⓡ Serum-Calcium -

1,25-Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol, Vit.-D3-Hormon):

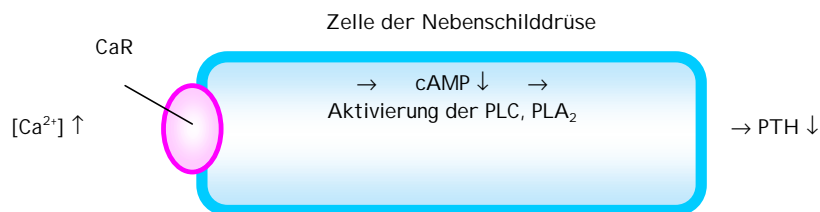
Calcium-Resorption im Darm ↑; Knochenresorption ↑,

Ⓡ Serum-Calcium -

Bild 7-6. Kontrolle des Serum-Calciumspiegels.

PTH wird in Zellen der Nebenschilddrüse synthetisiert; ist ein Polypeptid von 84 Aminosäuren

Sekretion:



[Ca<sup>2+</sup>] im Serum bindet an einen Kalziumrezeptor (CaR)

(CaR) ist ein „7-TMD-Rezeptor“; aktiviert über G-Protein die PLC, PLA<sub>2</sub> und PLD; senkt den cAMP-Spiegel. Welcher Effekt für PTH-Sekretion wichtig ist, ist nicht bekannt.

Bild 7-7. Biosynthese und Sekretion des Parathormons



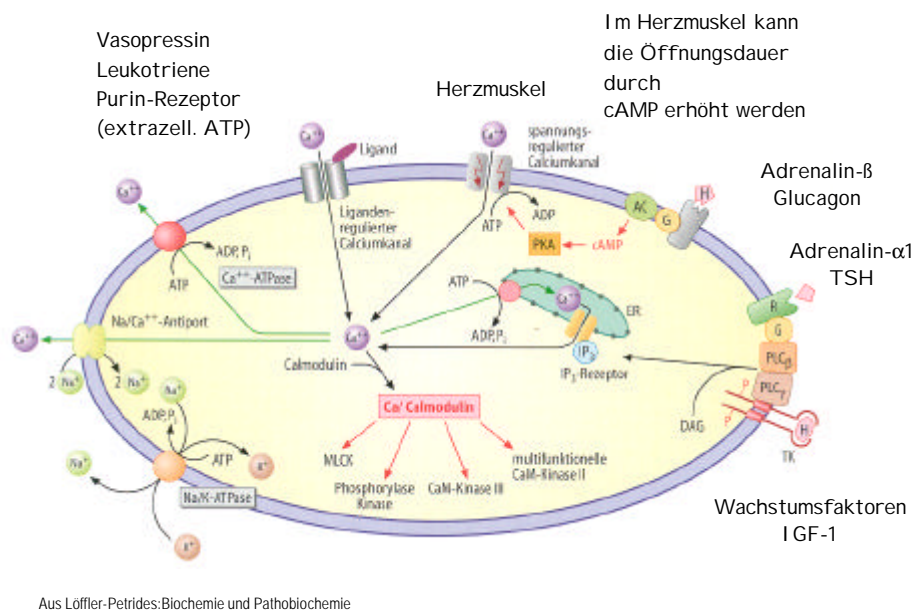
## 7.2 Mechanismen, die den intrazellulären Calciumspiegel niedrig halten

Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration im Cytosol der meisten Säugetiere ist niedriger als  $10^{-7}$  mol/l. Relativ zur extrazellulären Konzentration, die bei  $1,2 \times 10^{-3}$  mol/l liegt, besteht an der Plasmamembran damit ein 10.000-facher Konzentrationsunterschied (Gradient). Zu den wichtigen Transportsystemen, die den intrazellulären Spiegel niedrig halten gehören (Bild 7-4):

- \*  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasen (auch am ER)
- \* ein  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ -Antiportsystem
- \* ein nur bei  $\text{Ca}^{2+}$ -Überladung benutztes System, das die Anreicherung von Calciumphosphat in den Mitochondrien ermöglicht.

## 7.3 Täglicher Calciumbedarf des Körpers

Der tägliche Bedarf schwankt von Individuum zu Individuum erheblich, bedingt durch verschiedene Faktoren, die den Zugriff auf das vorhandene Calcium beeinflussen. So ist beispielsweise für die Nutzung des Nahrungs-Calciums Vitamin D in ausreichender Menge nötig, dessen Bildung von der UV-Einstrahlung auf die Haut abhängig ist. Unsere zivilisierte Lebensform schirmt die Haut vor UV-Licht durch die Bekleidung ab. Ebenso kann eine Eiweißreiche Diät das Calciumgleichgewicht durch verstärkte Ausscheidung beeinträchtigen. Körperliche Aktivität fördert die Effizienz des Calciumeinbaus in die Knochen. Somit zeigten



**Bild 7-4. Regulation der intrazellulären Calciumkonzentration.** An der Senkung der intrazellulären Calciumkonzentration sind Pumpen, an der Erhöhung Kanäle beteiligt.

Untersuchungen an peruanischen Indianern, die in großen Höhen einer starken UV-Strahlung ausgesetzt sind, von eiweißarmer, nahezu ausschließlich vegetarischer Kost, leben und schwere körperliche Arbeit leisten, dass sie gut mit einer täglichen Calcium-Zufuhr von 300-400 mg auskommen. Studien an normalen Nordamerikanern zeigten hingegen, dass sie eine tägliche Zufuhr von 800-1200 mg benötigen. Während der Schwangerschaft und der Wachstumsphase steigt der Calciumbedarf darüber hinaus noch an.

## 7.4 Regulation des Plasma-Calciumspiegels

Für optimales Wachstum und Funktionieren des Körpers benötigen lebende Organismen eine angemessene Zufuhr von Calcium und Phosphat mit der Nahrung. Höhere Lebewesen, wie der Mensch, sind an eine kontinuierliche Zufuhr angewiesen. Die Plasmakonzentration beider Ionen wird, wie wir gesehen haben, in erstaunlich engen Grenzen gehalten. Im wesentlichen spielen drei Organe für diese Homöostase eine entscheidende Rolle (Bild 7-6): das Darmsystem, durch welches diese Ionen in das innere Milieu aufgenommen werden, der Knochen, der die Ionen speichert und bei Bedarf zur Regulation des Serumspiegels Calciumionen abgeben kann und die Niere, welche die Geschwindigkeit der Ausscheidung bestimmt.

Die hauptsächlichsten endokrinen Regulatoren des Calcium- und Phosphathaushaltes sind die beiden Peptidhormone **Parathormon** (PTH) und **Calcitonin** (CT) sowie das vom Steroidgerüst abgeleitete **1,25-Dihydroxycholecalciferol**, auch Calcitriol genannt, das aus der Vorstufe Vitamin D gebildet wird.

Die Plasmakonzentration von Phosphat ist eng mit der des Calciums verknüpft, wird jedoch nicht so stringent reguliert wie die des Calciums. Unter normalen Bedingungen ist die Phosphatkonzentration des Plasmas etwa 1,2 mM. Etwa 10 % sind an Protein gebunden, der Rest ist in freier Form als  $\text{HPO}_4^{2-}$  oder  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  vorhanden. Das relative Verhältnis dieser beiden Anionen ist vom pH des Plasmas abhängig.

## 7.5 Parathormon

**Biosynthese und Sekretion des Parathormons.** Parathormon ist ein aus 84 Aminosäuren bestehendes Protein das in den Zellen der Nebenschilddrüse aus einer längeren Vorstufe gebildet wird. Das Präpro-PTH wird zuerst synthetisiert und dann als Prohormon in die Cisternen des rauhen ER entlassen. Wenige Minuten danach erreicht das Pro-PTH den Golgi-Apparat wo es prozessiert und in Vesikeln gepackt wird. Bis zur Sekretion bleibt das Hormon in Vesikeln.

**Parathormon Sekretion.** Die Parathormon-Sekretion wird durch den extrazellulären Calciumspiegel gesteuert (Bild 7-7). Sinkt die Konzentration ab, so wird vermehrt Parathormon gebildet und sezerniert. Bei erhöhter Calciumkonzentration nimmt die PTH-Sekretion ab. Die Regulation erfolgt über einen **Calcium-Rezeptor**, der in der Plasmamembran der Zellen der Epithelkörperchen verankert ist. Es handelt sich um einen aus der Familie der 7-Transmembrandomänen-Rezeptoren der über ein inhibitorisches G-Protein ( $G_i$ ) mit der Adenylatcyklase verbunden ist. Aktivierung des Rezeptors durch Calcium führt zu einer Abnahme der intrazellulären cAMP-Spiegels. Unter diesen Bedingungen ist die Sekretion gehemmt. Der Rezeptor aktiviert auch die Phospholipase  $C\beta$  und -A2. Welcher dieser Signalwege letztlich für die PTH-Sekretion ausschlaggebend ist, ist noch nicht voll aufgeklärt.

Der biologische Abbau von PTH erfolgt in der Leber nach Internalisierung, möglicherweise auch in der Niere.

**Mechanismus der Parathormonwirkungen.** Parathormon erhöht den Plasma-Calciumspiegel durch Wirkungen am Knochen, in der Niere und im Dünndarm (Bild 7-8). In Zellen dieser Gewebe wurde eine dichte Besetzung der Plasmamembran mit einem spezifischen PTH-Rezeptor nachgewiesen. Auch dieser Rezeptor gehört in die Familie der Rezeptoren mit 7 Transmembran-Domänen, die über ein stimulierendes G-Protein ( $G_s$ ) mit der Adenylatcyklase verbunden ist. Der PTH-Rezeptor erhöht den intrazellulären cAMP-Spiegel. PTH-Rezeptoren findet man auch in weiteren Geweben wie Leber, Lunge, Testes, Uterus, Ovar, Brustdrüse, Haut, Skelettmuskel und Myocard. Hier ist die Funktion noch nicht aufge-

klärt. Im Knochen sind die PTH-Rezeptoren auf der Membran der Osteoblasten, nicht jedoch der Osteoklasten gefunden worden.

### Biologische Wirkungen des Parathormons.

- 1 Am Knochen führt PTH nach einer etwa einstündigen Latenzphase zu einer Mobilisierung von Calcium aus dem Knochen.
- 2 In der Niere führt PTH zu einer verstärkten Phosphat- und einer verminderten Calcium-Ausscheidung. Die zweite wichtige Funktion des PTH besteht in der verstärkten Hydroxylierung von 25-Hydroxycholecalciferol zum biologisch wirksamen 1,25-Dihydroxycholecalciferol.
- 3 1,25-Dihydroxycholecalciferol steigert dann in der Dünndarmmucosa die Calciumresorption.

Die PTH-vermittelte Mobilisierung von Calcium aus dem Knochen wird durch die Tätigkeit der Osteoklasten bewerkstelligt. Verwunderlich ist, dass Osteoklasten keine PTH-Rezeptoren

- Wirkungsmechanismus:
  - PTH bindet an Rezeptoren von Osteoblasten, Nieren- und Darmzellen.
  - Erhöht den cAMP-Spiegel in der Zelle
- Führt in Osteoblasten
  - zur Interleukin-1 Freisetzung
  - IL-1 aktiviert Osteoklasten, die den Knochen abbauen, folglich Serum-Kalcium-Spiegel steigern
- In der Niere
  - Zu verstärkter Phosphat- und verminderter  $\text{Ca}^{2+}$ -Ausscheidung.
  - Hydroxylierung von 25-Hydroxycholecalciferol (Calcitriol, D3-Hormon).
- In der Dünndarmmucosa
  - Stimuliert die  $\text{Ca}^{2+}$ -Resorption (?)

Bild 7-8. Parathormonwirkungen.

besitzen. Die Tatsache, dass nur die Osteoblasten, nicht aber die Osteoklasten Rezeptoren für Parathormon besitzen deutet auf eine indirekte Wirkung des Parathormons auf die Osteoklasten. Es besteht folgende Beziehung beim Knochenumbau zwischen Osteoblasten und Osteoklasten (nach Löffler, Basiswissen, S. 674):

- \* Osteoblasten werden durch PTH aktiviert und setzen Interleukin-1 frei.
- \* Interleukin-1 führt zu einer Aktivierung von Osteoklasten. Diese produzieren Proteasen, die Protease Kathepsin und eine saure Phosphatase. Unter dem Einfluss dieser Produkte wird der Knochen unterhalb des Osteoklasten bis auf eine Tiefe von etwa 70  $\mu\text{m}$  resorbiert, wobei die freiwerdenden Calciumionen von Osteoklasten aufgenommen und in den Extrazellulärraum transportiert werden.

- \* Anschließend hört die Aktivität der Osteoklasten auf und diese werden durch programmierten Zelltod eliminiert. Freiwerdende Faktoren stimulieren wiederum die Osteoblasten.
- \* Aktivierte Osteoblasten sind für die Auffüllung der von den Osteoklasten erzeugten „Löcher“ (sog. Lakune) verantwortlich. Sie synthetisieren Kollagene und Proteoglykane, die den Defekt wieder schließen und lagern anschließend Calcium und Phosphationen unter Bildung von Hydroxyapatit ein.

Eine Aktivierung der Osteoblasten erfolgt auch durch andere Hormone, wie Östrogene und Wachstumshormon, während Glucocorticoide die Aktivität dieser Zellen hemmen.

## 7.6 Calcitonin (Thyreocalcitonin)

Calcitonin (CT) ist ein Peptidhormon, das in den **C-Zellen** der Schilddrüse gebildet wird. Bei Erhöhung der Konzentration von freiem Calcium im Plasma wird Calcitonin sezerniert (Bild 7-9). Calcitonin hemmt die Freisetzung von Calcium aus dem Knochen und fördert, über die Aktivierung der Osteoblasten, Knochenanbauprozesse. Die Ausscheidung von überschüssigem Calcium durch die Niere wird von Calcitonin gefördert (Bild 7-14).

- CT ist ein Peptidhormon und wird in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet
- Bei Erhöhung der  $Ca^{2+}$ -Konzentration wird CT freigesetzt
  - Hemmt die Freisetzung von  $Ca^{2+}$  aus dem Knochen; fördert Knochenanbau;
  - fördert  $Ca^{2+}$ -Ausscheidung durch die Niere.
- Senkt den Serum-Calcium-Spiegel

Bild 7-9. Eigenschaften des Calcitonins.

Im Hypothalamus entsteht aus dem selben Gen, jedoch durch alternatives Spleißen der mRNA-Vorstufe, ein anderes Produkt, nämlich das „Calcitonin Gene-Related Product“ (CGRP). Die Funktion ist noch unbekannt.

## 7.7 1,25-Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol)

Die molekulare Struktur des Calcitriols hat eine enge Verwandtschaft zur Struktur der klassischen Steroidhormone. Es ist ein historischer Zufall, dass Calciferole als Vitamine und nicht als Hormone eingestuft wurden. Da bei der Biosynthese aus 7-Dehydrocholesterin (Provitamin  $D_3$ ) einer der Schritte UV abhängig ist, nämlich die Umwandlung von 7-Dehydrocholesterin zu Cholecalciferol (Vitamin  $D_3$ ), wird diese Substanz bei mangelnder Lichteinwirkung zu einem essentiellen Nahrungsbestandteil, wie andere Vitamine. Das Tragen von Kleidung schirmt zivilisierte Menschen weitgehend von UV-Licht ab, infolgedessen müssen sie Cholecalciferol mit der Nahrung aufnehmen. Erst seit 1965-70 wird von der Wissenschaft die Bedeutung des „Vitamins D“ als **Hormon** betont. Das tierische 7-Dehydrocholesterin (Provitamin  $D_3$ ) unterscheidet sich von dem pflanzlichen Ergosterol (Provitamin  $D_2$ ) nur durch eine Doppelbindung und einer weiteren Methylgruppe in der Seitenkette (Bild 7-11). Aus Ergosterol kann künstlich durch UV-Bestrahlung Ergocalciferol (Vitamin  $D_2$ ) hergestellt werden, das bei Mensch und Tier (nicht jedoch bei Vögeln) genau so aktiv ist wie Vitamin  $D_3$ . Aus Vitamin  $D_3$  (wie auch aus  $D_2$ ) werden durch zwei Hydroxylierungs-Schritte, (Position 25 in der Leber, Position 1 in der Niere), 1,25-Dihydroxycholecalciferol gebildet. Diese Substanz, die auch Calcitriol genannt wird, ist das aktive Hormon.

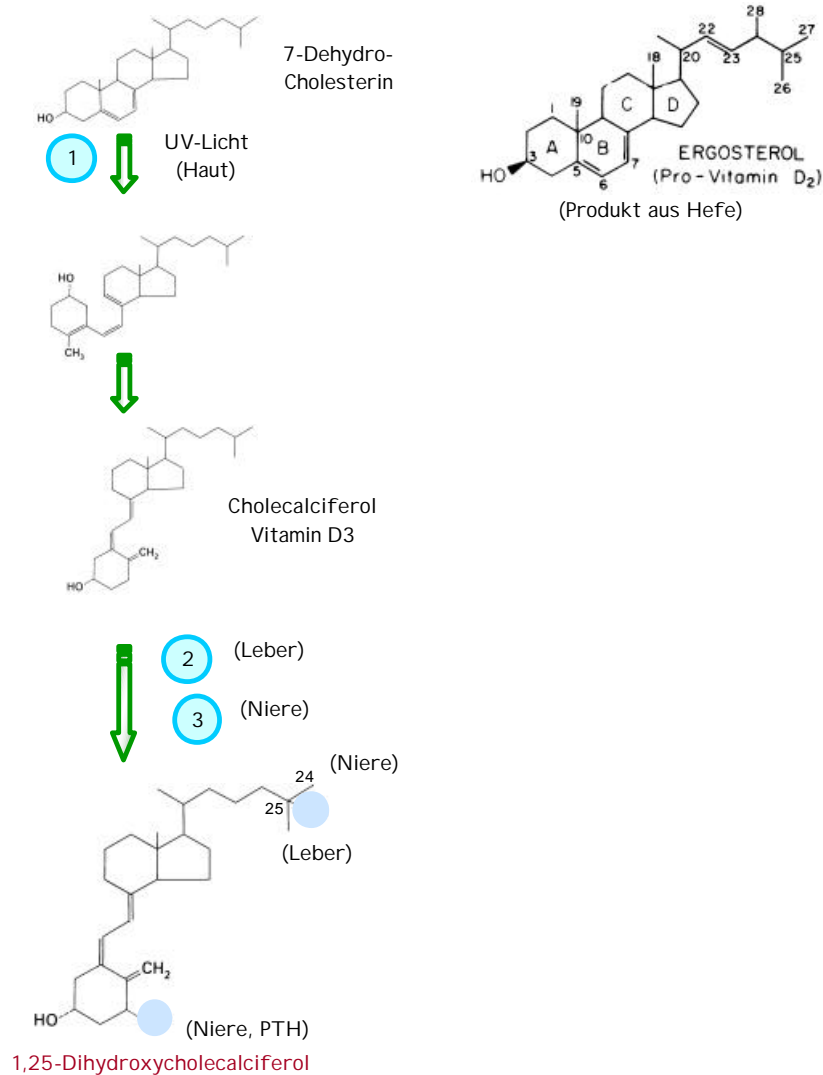
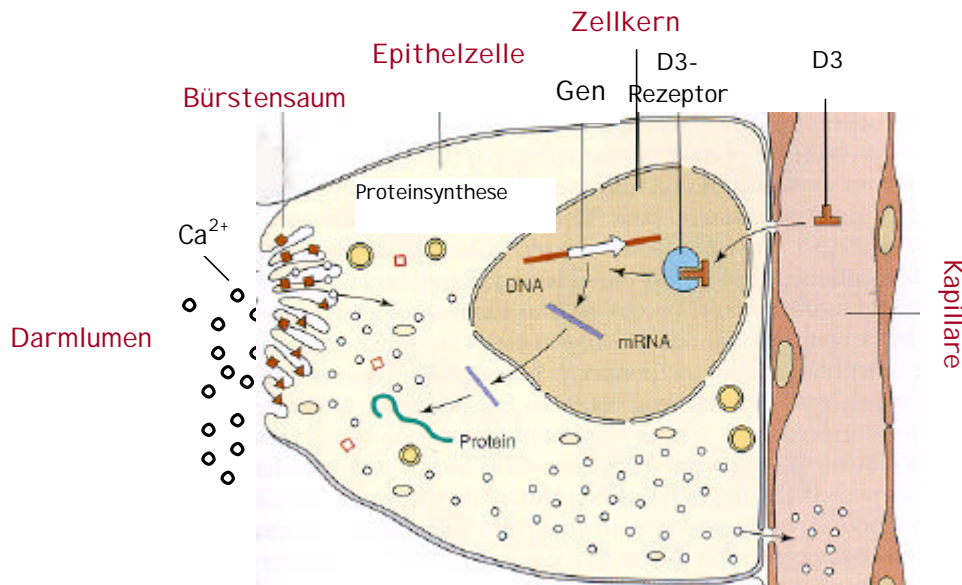


Bild 7-11. Biosynthese von 1,25-Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol, Vit.D3-Hormon)

Anbetracht der Bedeutung der Calciferole für die Regulation der extrazellulären Calciumkonzentration unterliegt die Biosynthese von 1,25-Dihydroxycholecalciferol einer sehr genauen Regulation. Die Bildung von 25-Hydroxycholecalciferol in der Leber unterliegt einer einfachen Rückkopplungshemmung. Von dort gelangt die Substanz zur Niere und wird weiter hydroxyliert. Bei niedrigen Serum-Calciumkonzentrationen wird die OH-Gruppe in Position 1 eingeführt, was zur Bildung des aktiven Hormons 1,25-Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol) führt. Dieser Schritt wird von Parathormon gefördert. Bei hohem Calciumspiegel wird nicht in Position 1, sondern statt dessen in Position 24 hydroxyliert; das Produkt ist das inaktive 24,25-Dihydroxycholecalciferol. Dieser Schritt dient als Schutz gegen eine Hypervitaminose.

**Calcitriol aktiviert Gene in Darmzellen.** 1,25-Dihydroxycholecalciferol bindet an einen intrazellulären Rezeptor in Darm-, Knochen- und Nierenzellen und aktiviert Gene, deren Produkte u.a.  $\text{Ca}^{2+}$ -bindende Proteine sind, die sich an der Absorption, Ausscheidung oder Transport von  $\text{Ca}^{2+}$  beteiligen. In Epithelzellen des Darms wird die  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Pumpe), Calbindin, die alkalische Phosphatase und weitere Membranproteine induziert (Bild 7-12). Durch die Calciumpumpe wird  $\text{Ca}^{2+}$  von der luminalen Seite in die Zelle gepumpt. In der Zelle wird  $\text{Ca}^{2+}$  von Calbindin, einem Calcium bindenden Protein gebunden und zur basolateralen Seite transportiert. Durch einen noch nicht völlig verstandenen Mechanismus, an dem Calbindin ebenfalls beteiligt sein soll, wird  $\text{Ca}^{2+}$  an das Blut abgegeben. Auf diese Weise fördert Calcitriol die  $\text{Ca}^{2+}$ -Resorption im Darm und fördert die Erhöhung des Calciumspie-



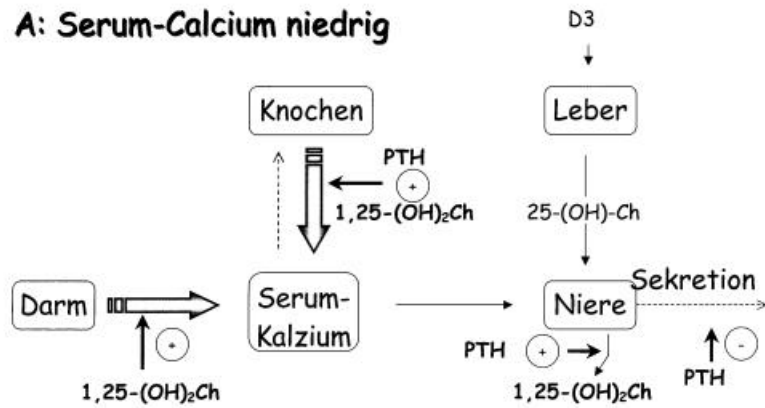
**Bild 7-12. Calcitriol aktiviert Gene in Darmzellen.** Durch Genaktivierung induzierte Proteine sind: Calbindin, alkalische Phosphatase,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase. Nach Nemere und Norman: *Biochim. Biophys. Acta* 694 (1982) 307.

gels.

In den Bildern 7-13 bis 7-16 werden die wesentlichen Calciumströme und die Rolle der drei beteiligten Hormone unter vier Bedingungen dargestellt. Bild 7-13: bei niedrigem Serum-Calciumspiegel wird  $\text{Ca}^{2+}$  unter Einwirkung von Calcitriol aus dem Darm resorbiert und unter Parathormon aus dem Knochen freigesetzt. Parathormon hemmt die Sekretion durch die Niere. Bei hohem Serum-Calciumspiegel (Bild 7-14) wird die Calciumausscheidung durch die Niere unter Calcitonin-Einfluss gefördert und die Knochenresorption gehemmt. Dies führt zu verstärktem Knocheneinbau. Gleichzeitig wird in der Niere die inaktive Form des Calcitriols, nämlich 24,25-Dihydroxycholecalciferol bevorzugt gebildet und damit die Absorption im Darm gemindert. Bei Vitamin-D-Mangel (Bild 7-15) sind alle Ströme erniedrigt. Der Serum-Calciumspiegel wird durch die Wirkung von Parathormon mittels Calcium-Mobilisierung aus dem Knochen und Hemmung der Calciumausscheidung durch die Niere aufrechterhalten. Bei starker Vitamin-D Überdosierung, was auch bei starker Sonneneinstrahlung auftreten kann, werden praktisch alle Ströme verstärkt (Bild 7-16). Gefördert werden die Absorption aus dem Darm, jedoch gleichzeitig auch die Sekretion durch die Niere von Calcitriol bzw. Calcitonin. Die Umwandlung des Vitamins zum inaktiven Hormon wird gefördert. Netto erfolgt eine Knochendemineralisierung durch den Überschuss an 1,25-Dihydroxycholecalciferol.



**A: Serum-Calcium niedrig**



**B: Serum-Calcium hoch**

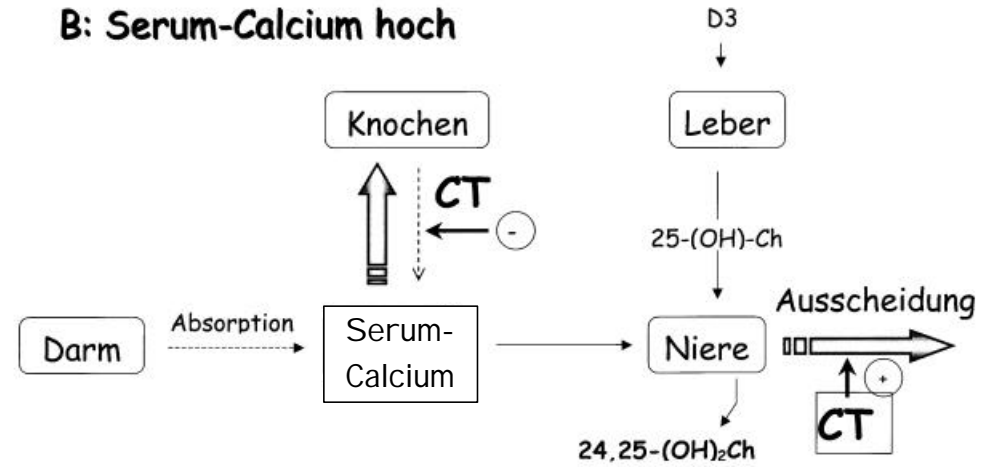
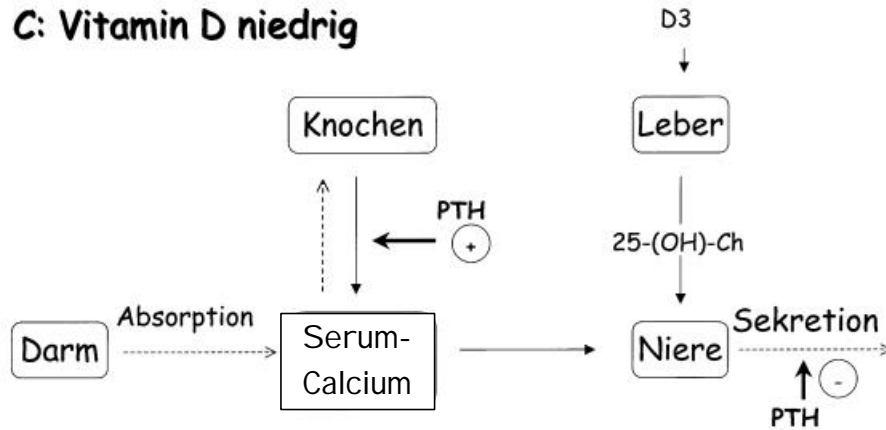


Bild 7-13. Zusammenfassung: Kontrolle des Serum-Calciumspiegels

Bild 7-14. Zusammenfassung: Kontrolle des Serum-Calciumspiegels

**C: Vitamin D niedrig**



**D: Vitamin-D Überdosierung (10-100 fach)**

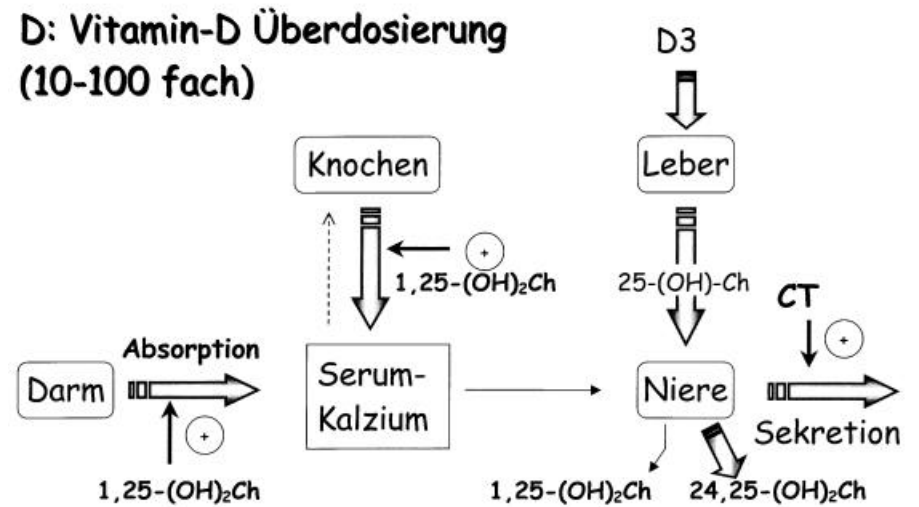


Bild 7-15. Zusammenfassung: Kontrolle des Serum-Calciumspiegels

Bild 7-16. Zusammenfassung: Kontrolle des Serum-Calciumspiegels