

## 1. EINLEITUNG

### 1.1 Intestinale Resorption von Kohlenhydraten

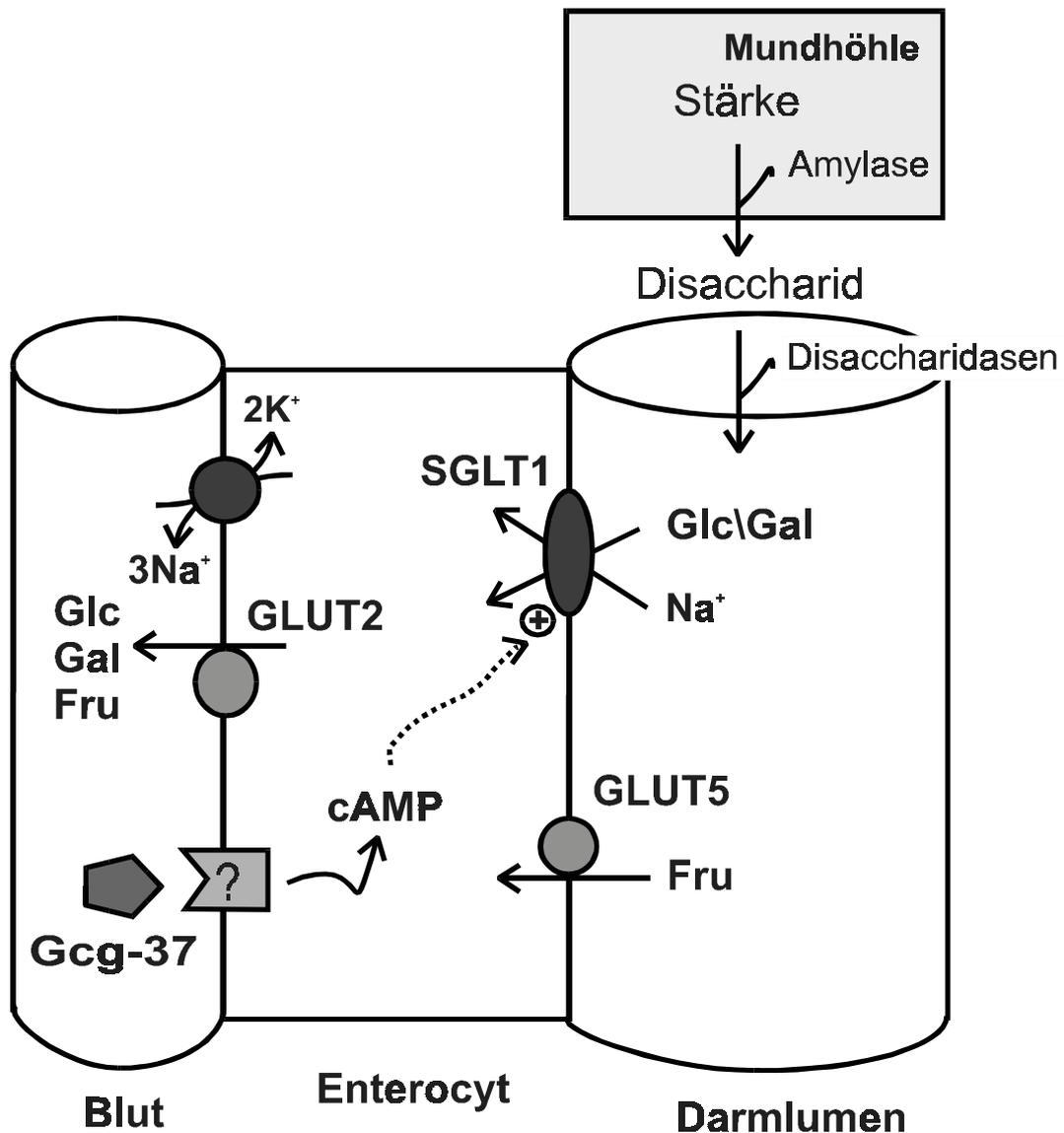
Die Aufnahme der Kohlenhydrate ist für die gesunde Lebensführung von Säugetieren von besonderer Bedeutung. Der größte Anteil der täglich aufgenommenen Kohlenhydrate besteht aus Stärke (ca. 60%), während ca. 30% auf Saccharose und ca. 10% auf Lactose entfallen. Einen weiteren Kohlenhydratbestandteil der Nahrung bildet das tierische Glykogen. Die Stärke wird bereits im Mund durch die Speichel- $\alpha$ -Amylase und dann im Dünndarm durch Pankreas- $\alpha$ -Amylase in Disaccharide (Maltose) gespalten. Die Produkte der Amylaseverdauung werden dann weiter durch die Oligosaccharidasen, die im Bürstensaum der Enterocyten lokalisiert sind, in Monosaccharide aufgespalten. Die dabei freigesetzten Spaltprodukte (Hexosen und Pentosen) werden vorwiegend in der Zottenspitze von Duodenum und Jejunum resorbiert und gelangen letztendlich über die Pfortader zur Leber. Dort werden sie weiter metabolisiert.

Während in Enterocyten des Dünndarms die Resorption der Fructose passiv in Form der Diffusion über den natriumunabhängigen Glucosetransporter-5 (GLUT5) erfolgt, werden die Hexosen (Glucose und Galactose) aktiv in gekoppeltem Transport mit  $\text{Na}^+$  (SGLT1) resorbiert. Die drei intrazellulär akkumulierten Monosaccharide werden auf der basolateralen Zellseite über den natriumunabhängigen Glucosetransporter-2 (GLUT2) aus den Enterocyten ins Blut abgegeben (Wright, 1993; Thorens, 1993; Cheeseman, 1993). Die beim Symport in die Enterocyten eingeströmten  $\text{Na}^+$ -Ionen werden durch die  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase unter ATP-Verbrauch zur Blutseite abgegeben (Hediger & Rhoads, 1994) (Abb. 1). Die nicht resorbierten Kohlenhydratanteile werden im Kolon durch bakterielle Gärung teilweise zersetzt.

### 1.2 Regulation der intestinalen Resorption der Kohlenhydrate

Die Resorption der Kohlenhydrate kann sowohl langfristig als auch kurzfristig reguliert werden. Die langfristige Regulation der Glucoseresorption findet meistens durch Adaptation von Enterocyten und durch Modulation der Zahl von Glucosetransportern statt (Shirazi-Beechey *et al.*, 1991; Philpott *et al.*, 1992; Miyamoto *et al.*, 1993). In den letzten Jahren wurde die kurzfristige Regulation der Glucoseresorption intensiv untersucht, die akut innerhalb von wenigen Minuten durch die Modulation der Aktivität des SGLT1 stattfindet (Gardemann *et al.*, 1992; Stümpel *et al.*, 1996). Es gibt viele Hinweise, dass die natriumabhängige Glucoseresorption durch die intrazelluläre cAMP-Erhöhung stimuliert werden kann (Sharp & Debnam, 1994; Grubb, 1995). Die cAMP-abhängige Aktivierung

des SGLT1 soll durch eine Rekrutierung vom SGLT1 aus Reservevesikeln (durch erhöhte Exocytosen) stattfinden, die unabhängig von der Phosphorylierung des SGLT1 ist (Wright *et al.*, 1997).



**Abb. 1: Schematische Übersicht über die Mechanismen der intestinalen Resorption von Kohlenhydraten.** Ausführliche Erklärung siehe Text. Glc: Glucose, Gal: Galactose, Fru: Fructose, SGLT1: Na<sup>+</sup>/Glucose-Cotransporter (natriumabhängiger Glucosetransporter-1), GLUT5: natriumunabhängiger Glucosetransporter-5, GLUT2: natriumunabhängiger Glucosetransporter-2, Gcg-37: intestinales Glucagon-37. Das Kästchen mit Fragezeichen kennzeichnet den bisher noch nicht identifizierten spezifischen Rezeptor für Glucagon-37, der funktionell nachgewiesen wurde (Stümpel *et al.*, 1998).

An dieser Regulation sind zahlreiche gastrointestinalen Hormone beteiligt, die endokrin, parakrin und neurokrin wirken. Es wurde gezeigt, dass GIP (Glucose-dependent insulinotropic polypeptide), GLP-2 (Glucagon-like-peptide 2), pankreatisches Glucagon-29 und intestinales Glucagon-37 die intestinale Glucoseresorption steigern konnten (Debnam & Sharp, 1993; Cheeseman & Tsang, 1996; Cheeseman, 1997; Collie *et al.*, 1997; Stümpel *et al.*, 1997 und 1998). Dagegen hemmt das gastrointestinale Peptid Cholecystokinin (CCK) durch akute Reduktion der SGLT1-Proteinzahl an der Bürstensaummembran der Enterocyten die Glucoseresorption (Hirsh *et al.*, 1996; Hirsh & Cheeseman, 1998).

Die gastrointestinalen Hormone, die die intestinale Glucoseresorption steigern, gehören meistens zur Glucagon-Secretin-Polypeptid-Familie und weisen untereinander eine 30-50% Aminosäureähnlichkeit auf. Zu dieser Familie gehören Glucagon-29, Glucagon-37 (Oxyntomodulin), GLP1 (Glucagon-like-peptide 1), GLP2, GIP, Secretin, VIP (Vasoactive intestinal polypeptide), PACAP (Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide), PTH (Parathormon), Calcitonin, CRF (Corticotrophin releasing Factor) und GHRF (Growth hormone releasing Factor) (Segre & Goldring, 1993). Diese Peptid-Hormone werden im Darm, Pankreas und Nervensystem produziert und können vielfältige Wirkungen entfalten, wobei einige als Neurotransmitter funktionieren können. Dabei sind Glucagon-29, GLP1, GLP2 und Glucagon-37 gewebespezifische Spaltprodukte aus einem Proglucagon (Mojsov *et al.*, 1986; Holst, 1997; Kieffer & Habener, 1999). Durch die alternative posttranslationale Prozessierung des Proglucagons und durch eine gewebespezifische Expression von Prohormon-Convertase 1, 2 und 3 wird das Glucagon-29 in den pankreatischen  $\alpha$ -Zellen und das Glucagon-37, GLP1 und GLP2 in den intestinalen L-Zellen synthetisiert (Kieffer & Habener, 1999).

### **1.3 Glucagon-37 (Oxyntomodulin)**

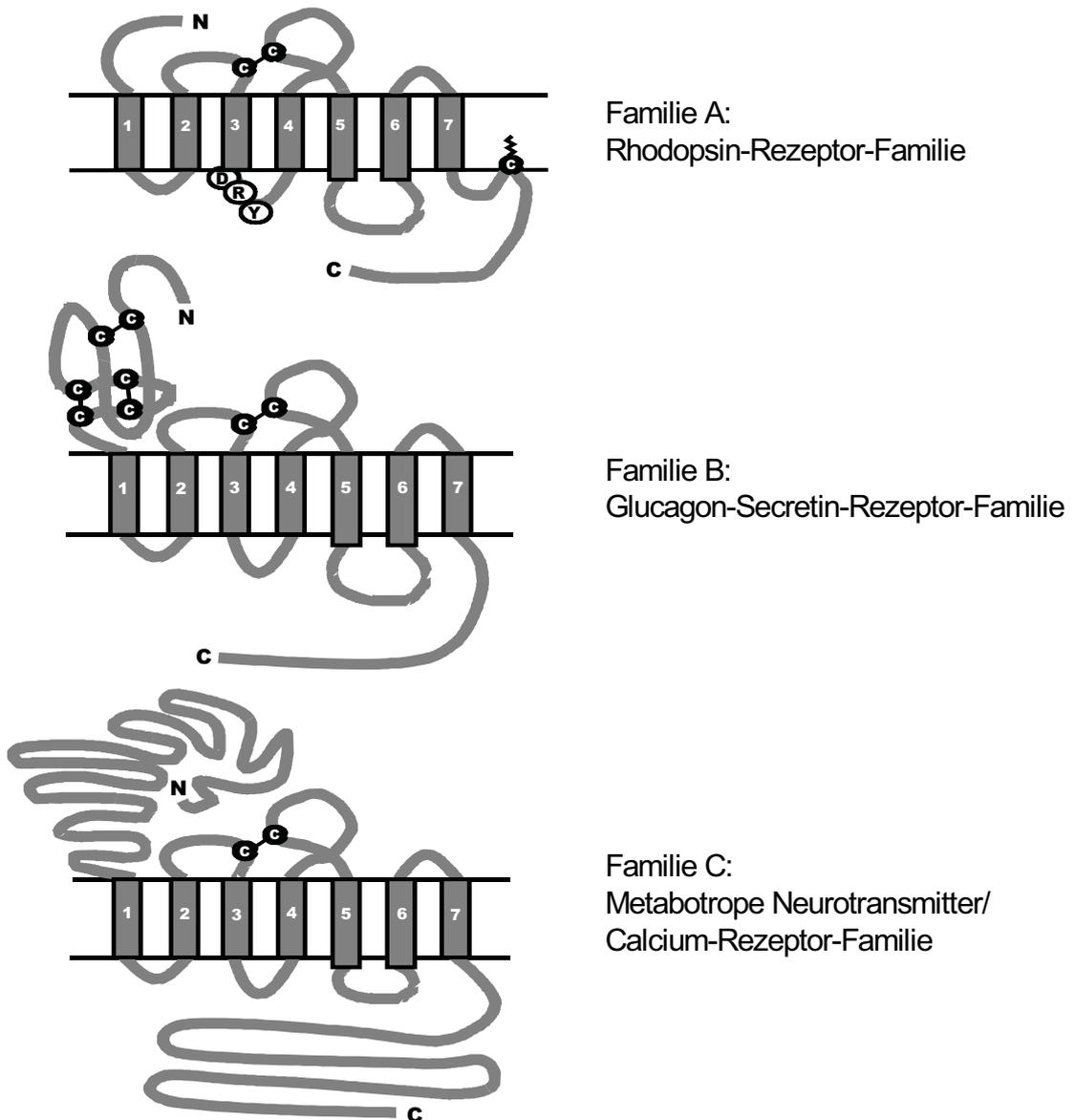
Das intestinale Glucagon-37 (Gcg37), das aus 37 Aminosäuren besteht und nach Nahrungsaufnahme sezerniert wird, unterscheidet sich vom pankreatischen Glucagon-29 (Gcg29) nur durch eine C-terminale Octapeptid-Extension (Bataille *et al.*, 1981). Die Funktion des Gcg37 scheint sehr vielseitig zu sein. Zuerst wurde gezeigt, dass das Gcg37 durch cAMP-Erhöhung die postprandiale HCl-Sekretion im Magen inhibierte (Jarrousse *et al.*, 1986). Daher wurde das Gcg37 als Oxyntomodulin (OXM) bezeichnet. Das Oxyntomodulin reduziert die postprandiale gastroduodenale Motilität (Schjoldager *et al.*, 1989) und zeigt eine anorexische Wirkung (Dakin *et al.*, 2000). Zusätzlich zeigten die funktionellen Untersuchungen im isolierten perfundierten Dünndarm und in isolierten Enterocyten der Ratte mit Gcg37 eine akute Steigerung der intestinalen

Glucoseresorption (Stümpel *et al.*, 1998). Dabei war einerseits Gcg37 in der Dünndarm-Perfusion deutlich potenter in der Steigerung der Glucose-Resorption und andererseits Gcg29 in der Leber-Perfusion deutlich potenter in der Stimulation der Glucose-Freisetzung. Auch in isolierten, reinen Fraktionen der Enterocyten konnten unterschiedliche Dosiswirkungskurven für Gcg37 und Gcg29 nachgewiesen werden. Dies und andere Untersuchungen (Depigny *et al.*, 1984; Emami *et al.*, 1986; Rodier *et al.*, 1999; Anini *et al.*, 2000; Dakin *et al.*, 2001) belegen die Existenz eines bisher unbekanntes, spezifischen Rezeptors für intestinales Gcg37 auf den Enterocyten, der über die cAMP-Erhöhung sein Signal überträgt und zur Glucagon-Secretin-Rezeptor-Familie gehört.

#### 1.4 Glucagon-Secretin-Rezeptor-Familie

Die Hormone der Glucagon-Secretin-Polypeptid-Familie wirken über ihre Rezeptoren, die zu den sogenannten Guaninnucleotid-bindenden Protein (G-Protein) gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) gehören, die eine der größten Rezeptorfamilien bei Säugetieren bilden. Die Signalübertragung von ca. 80 % der Hormone und Neurotransmitter erfolgt über diese Rezeptorfamilie, die alle sieben Transmembrandomänen (TMD) aufweisen (7TMD-Rezeptoren). Darüberhinaus enthalten die 7TMD-Rezeptoren eine extrazelluläre N-terminale Domäne, drei extrazelluläre Schleifen (ECL), drei intrazelluläre Schleifen (ICL) und eine intrazelluläre C-terminale Domäne (Abb. 2). Dabei sind die N-terminale Domäne und die extrazellulären Schleifen an der Bindung der Liganden beteiligt, während die intrazellulären Schleifen und die C-terminale Domäne für die Bindung und Aktivierung der G-Proteine eine wichtige Rolle spielen (Wess, 1998). Die 7TMD-Rezeptoren lassen sich aufgrund ihrer Homologie in drei Untergruppen einteilen (Probst *et al.*, 1992; Kolakowski, 1994); die Rhodopsin-Rezeptor-Familie (Familie A), die Glucagon-Secretin-Rezeptor-Familie (Familie B) und die metabotrope Neurotransmitter-Rezeptor-Familie (Familie C). Die zahlreichen Rezeptoren der Familie A, B, C wirken über verschiedene G-Proteine und überwiegend cyclische Nukleotide als Second-Messenger (s. Tab. 1). Die einzelnen GPCR-Familien unterscheiden sich deutlich in ihrer Struktur. Die Rezeptoren der Familie A sind durch eine kurze extrazelluläre N-terminale Domäne und ein palmitoyliertes Cystein in der C-terminalen Domäne gekennzeichnet, das möglicherweise zur Bildung einer vierten intrazellulären Schleife (ICL) führt. Zusätzlich ist an der cytoplasmatischen Seite der dritten TMD aller Rezeptoren der Familie A die Asp-Arg-Tyr-Konsensus (DRY) weitgehend evolutionär erhalten geblieben (Kolakowski, 1994). Diese DRY-Konsensus soll offenbar bei der Koppelung der G-Proteine an Rezeptoren eine wichtige Rolle spielen (Wess, 1998). Im Gegensatz zur Familie A ist die Glucagon-

Secretin-Rezeptor-Familie (Familie B) durch eine lange N-terminale Domäne (ca. 100 Aminosäuren) charakterisiert, in der sechs Cysteine miteinander drei Disulfid-Brücken bilden sollen. Zur Familie C gehören bisher nur wenige Rezeptoren, nämlich Glutamat-, GABA- und Calcium-Rezeptoren, die durch eine außerordentlich lange N-terminale Domäne (500-600 Aminosäuren) auffallen. Allen Familien gemeinsam ist die Disulfid-Brücke zwischen den extrazellulären Schleifen (ECL) 1 und 2 (Gether, 2000) (Abb. 2).



**Abb. 2: Schematische Darstellung der GPCR-Superfamilie (nach Gether, 2000).** Die Familie A ist durch eine sehr kurze N-terminale Domäne gekennzeichnet. Im Gegensatz dazu weist die Familie B eine relativ lange mit 3 Disulfid-Brücken und die Familie C eine sehr lange N-terminale Domäne ohne SH-Brücken auf. 1-7: erste bis siebte Transmembrandomäne, C: C-terminales Ende, N: N-terminales Ende, C-C: Disulfid-Brücke, DRY: Asp-Arg-Tyr-Konsensus.