

Eva-Maria Möllenhoff
Dr. sc. hum.

Untersuchungen zur Bedeutung der Expression von Transkriptionsfaktoren im Rattengehirn für die zentrale Osmoregulation

Geboren am 30.03.1961 in Beckum

Reifeprüfung am 12.05.1980 in Warendorf

Studiengang der Fachrichtung Pharmazie vom SS 1981 bis SS 1985

1. Staatsexamen 19.04.1983 an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
2. Staatsexamen 23.04.1985 an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
3. Staatsexamen 09.06.1986 an an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Promotionsfach: Pharmakologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Thomas Unger

Intracerebroventrikuläre (icv) Injektionen von Angiotensin II (Ang II) oder hypertoner Kochsalzlösung führen zur Expression von induzierbaren Transkriptionsfaktoren (ITF), in vier spezifischen Hirnarealen, der medianen präoptischen Region (MnPO), dem Subfornicalorgan (SFO), dem Nucleus paraventricularis (PVN) und dem Nucleus supraopticus (SON), Hirnregionen, die an der Osmoregulation beteiligt sind. Über die Bindung an Konsensus-Sequenzen im Promotorbereich von Genen können die ITF die Transkription von Genen modulieren und zu neuroplastischen Änderungen im Gehirn führen. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Regulation von Transkriptionsfaktoren, der beteiligten Rezeptorsysteme und möglicher Zielgene in der zentralen Osmo- und Blutdruckregulation.

Normotensiven Wistar-Ratten wurde über einen Zeitraum von einer Woche Ang II in 24 Stunden-Intervallen icv verabreicht. Untersuchungen der AT1 Rezeptor-vermittelten Expression der ITF ergab eine deutliche Zunahme der c-Fos Expression nach einmaliger Behandlung in MnPO, SFO, PVN und SON, jedoch eine Reduktion in den untersuchten Hirnregionen nach repetitiver Stimulation. Die Expression der c-fos mRNA, die mittels kompetitiver RT-PCR/HPLC-UV untersucht wurde, korrelierte mit dem des Proteins, so daß man von einer Regulation auf transkriptioneller Ebene ausgehen kann. c-Jun wurde anders als nach singulärer Injektion nach einwöchiger Behandlung mit Ang II im SON exprimiert. Die Expression von JunB, JunD, Krox-24, sowie der konstitutiven Transkriptionsfaktoren, CREB, SRF und ATF-2 war nach einwöchiger Behandlung gegenüber einer einmaligen Ang II Injektion unverändert. Als mögliches Zielgen der durch Ang II induzierten ITF (Kokalisation von c-Fos/c-Jun mit dem AT1 Rezeptor) wurde die Expression der AT1 Rezeptoren in MnPO, SFO, PVN und SON immunhistochemisch untersucht. Untersuchungen mittels Antisense-Oligonukleotiden bestätigten, daß c-Fos in die Transkription des AT1 Rezeptors involviert ist. Damit spannt sich ein Bogen von der Bindung des Peptids Ang II an

seinen Rezeptor über die Ang II induzierte ITF Expression zur Regulation der Transkription des AT1 Rezeptors.

In einem zweiten Protokoll wurde die Expression der ITF, c-Fos, c-Jun, JunB, JunD und Krox-24, nach icv Injektion von hypertoner Kochsalzlösung (0,20M, 0,30M und 0,60M NaCl) untersucht. Es kam zu einer dosisabhängigen Expression der ITF in MnPO, SFO, PVN und SON, mit Ausnahme von Krox-24 im SFO. Das Expressionsmuster war dem nach icv Injektion von Ang II sehr ähnlich. Die Untersuchung der an der ITF Expression beteiligten Rezeptorsysteme ergab, daß nach milder osmotischer Stimulation (0,20M NaCl) überwiegend angiotensinerge Mechanismen (AT1 Rezeptoren), nach starkem osmotischen Reiz (0,60M NaCl) jedoch überwiegend cholinerge Bahnen (muskarinerge Rezeptoren) involviert sind. Die Expression von Krox-24 wurde ausschließlich über muskarinerge Rezeptoren vermittelt. Doppelfärbungen zeigten eine Kollokalisierung von c-Fos und c-Jun mit Vasopressin und Oxytocin in den magnozellulären Neuronen des PVN und SON sowie von Krox-24 mit Oxytocin und weisen damit die Gene beider Peptide als Zielgene aus.

Die ITF sind wahrscheinlich nicht unmittelbar in die zentrale Osmoregulation involviert. Sie können aber über die Modulation der Transkription von Genen zu morphologischen und funktionellen Veränderungen im ZNS führen, die ihrerseits Veränderungen in der Regulation des Volumen- und Elektrolythaushaltes und damit der Blutdruckkontrolle auslösen können.