

Achim Wolf

Dr. med.

**Wirkung von C- und N-terminalen Angiotensin-Fragmenten im Nucleus Paraventricularis Hypothalami auf die Vasopressin-Freisetzung und das Trinkverhalten bei normotensiven Wistar-Ratten.
Bestimmung der Angiotensin-Freisetzung im Nucleus Paraventricularis Hypothalami bei normotensiven Wistar-Ratten:
Eine Mikrodialysestudie.**

Geboren am 12.03.1967

Reifeprüfung am 05.06.1986 in Mosbach-Neckarelz

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1988 bis SS 1995

Physikum am 24.08.1990 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Mannheim / Luzern (CH)

Staatsexamen am 23.05.1995 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pharmakologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Th. Unger

Der Einfluß von ANG II, C- oder N-terminalen Angiotensin-Fragmenten mikroinjiziert in den hypothalamischen Nucleus Paraventricularis auf die Freisetzung von Arginin-Vasopressin und auf das Trinkverhalten

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von C- und N-terminalen ANG Fragmenten, die bei männlichen, wachen Wistar Ratten in den hypothalamischen PVN mikroinjiziert wurden, auf die Freisetzung von AVP in die Blutzirkulation und auf eine Änderung des Trinkverhaltens hin untersucht. Hierbei konnten ANG II und das C-terminale ANG III einen dosisabhängigen (0,1 - 100 pmol/200 nl) Plasma AVP-Anstieg, der sein Maximum nach Injektion von 100 pmol Peptid erreichte, bewirken ($26,45 \pm 6,0$ bzw. $31,86 \pm 7,0$ pg/ml, beziehungsweise vs. Vehikel $1,6 \pm 2,0$ pg/ml, $n = 7 - 8$, $p < 0,001$). Die gleiche Dosis ANG II und ANG III bewirkte ebenfalls die Auslösung einer

Trinkantwort ($4,3 \pm 0,78$ und $2,91 \pm 0,54$ ml/15 min, $n = 8$). Die Vorbehandlung des PVN mit dem AT_1 -Rezeptorantagonisten Losartan (4 nmol/200 nl) verhinderte die durch 100 pmol ANG II und ANG III ausgelöste AVP Freisetzung ($3,47 \pm 0,43$ vs. $24,78 \pm 8,0$ pg/ml in der Kontrollgruppe, $n = 8$, $p < 0,001$ und $2,20 \pm 1,40$ vs. $31,86 \pm 6,0$ pg/ml in der Kontrollgruppe, $n = 8$, $p < 0,001$) und die Trinkantwort, der AT_2 -Rezeptorantagonist PD 123177 (4 nmol/200 nl) war dagegen unwirksam. Die Gabe von verschiedenen Konzentrationen der C-terminalen Fragmente ANG IV, ANG (4-8) oder ANG (5-8) in den PVN verursachte weder einen AVP-Anstieg, noch eine Trinkantwort. Die Applikation des N-terminalen Fragments ANG (1-7) verursachte einen dosisabhängigen AVP-Anstieg mit einem Maximum bei 100 pmol Peptid ($8,5 \pm 3,5$ vs. $2,3 \pm 1,7$ pg/ml in der Kontrollgruppe, $n = 8$, $p < 0,05$), jedoch war die Wirkung geringer als bei gleichen Dosen ANG II und ANG III. ANG (1-7) hatte keine Wirkung auf das Trinkverhalten. Sowohl die Vorbehandlung des PVN mit Losartan, als auch die mit PD 123177 hemmten die durch 100 pmol ANG (1-7) ausgelöste AVP-Freisetzung. Das N-terminale ANG (1-4) löste in allen getesteten Konzentrationen weder eine Wirkung auf die AVP-Freisetzung, noch auf das Trinkverhalten aus. Die Vorläuferform aller C- und N-terminaler Peptide, ANG I, bewirkte nach der Mikroinjektion in den PVN eine dosisabhängige AVP Freisetzung mit einem Anstiegsmaximum bei 100 pmol ($29,3 \pm 5,9$ vs. $1,87 \pm 0,4$ pg/ml in der Kontrollgruppe, $n = 8$, $p < 0,001$) und löste ebenfalls eine Trinkantwort aus ($3,5 \pm 0,87$ ml/15 min, $n = 8$). Losartan, nicht aber PD 123177 konnte die durch ANG I ausgelöste AVP Freisetzung ($2,89 \pm 1,57$ vs. $29,30 \pm 5,89$ pg/ml in der Kontrollgruppe, $n = 8$, $p < 0,001$) und die Trinkantwort unterdrücken. Die vorgestellten Daten zeigen, daß ANG I und die C-terminalen Fragmente ANG II und ANG III, aber nicht die kürzeren Fragmente eine AVP Freisetzung und eine Trinkantwort über im PVN befindliche AT_1 -Rezeptoren auslösen können. Das N-terminale ANG (1-7) ist in Bezug auf die AVP-Freisetzung weit weniger potent als ANG II und ANG III und hat keine Wirkung auf das Trinkverhalten. Es scheint, daß das Vorhandensein von beiden, Arginin² und Phenylalanin⁸ in der ANG-Peptid Sequenz wichtig für die Auslösung der AVP-Freisetzung und Trinkantwort ist. Zusätzlich lassen die Daten vermuten, daß im PVN das ANG-Konversionsenzym vorkommt, da bekannt ist, daß ANG I biologisch inaktiv ist und die beobachteten Wirkungen möglicherweise über eine Umwandlung in ANG II und/oder ANG III im PVN zustandekommen.

Untersuchung der ANG-Freisetzung im hypothalamischen Nucleus Paraventricularis als Antwort auf eine hyperosmolare Stimulation bei wachen Ratten: Eine Mikrodialyse Studie

Es wird vermutet, daß ANG-Peptide in der zentralen Osmoregulation als Neurotransmitter oder Neuromodulatoren agieren. In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese, daß ANG-Peptide im PVN aufgrund direkter hyperosmolaren Stimulation freigesetzt werden, überprüft. Um das durch die Stimulation des PVN mit hyperosmolaren Lösungen freigesetzte immunoreaktive ANG II (irANG II) zu messen, wurden die Gehirn-Mikrodialyse und RIA Techniken eingesetzt. Bei wachen Ratten führte die Perfusion des PVN mit 0,3 M und 0,6 M NaCl in aCSF zu einem konzentrationsabhängigen Anstieg der irANG II Freisetzung von basal $3,04 \pm 0,46$ pg/100 μ l zu $5,52 \pm 0,53$, ($P < 0,01$, $n = 8$) bzw. $9,01 \pm 1,03$ pg/100 μ l, ($P < 0,001$, $n = 7$). Die direkte Perfusion des PVN mit 1,2 M Glucose (äquiosmolar) führte ebenfalls zu einem Freisetzungsanstieg von irANG II von $3,07 \pm 0,87$ zu $6,24 \pm 0,45$ pg/100 μ l ($P < 0,05$, $n = 5$). Durch die Fraktionierung der ANG-Peptide mittels HPLC und RIA konnte gezeigt werden, daß eine Stimulation mit 0,6 M NaCl-Lösung ungefähr gleich große Mengen an ANG II und ANG III freisetzt ($4,79 \pm 0,69$ bzw. $3,45 \pm 0,76$ pg/100 μ l). Die Daten der vorliegenden Arbeit zeigen, daß sowohl ANG II als auch ANG III im PVN auf direkte hyperosmolare Stimulation hin freigesetzt werden und sie stützen die These, daß ANG-Peptide im PVN als Neurotransmitter in die zentrale Osmoregulation miteinbezogen sind.