

**Suche nach heptahelikalen präsynaptischen Rezeptoren mit
modulierender Wirkung auf die Noradrenalin-Ausschüttung
im Meerschwein und in der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Manush Volker Kumar
aus Bielefeld

2014

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. E. Schlicker
2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. sci. D. Lütjohann

Tag der Mündlichen Prüfung: 29.04.2014

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Direktor: Prof. Dr. med. A. Pfeifer

Für meine Familie und meine Lehrerinnen und Lehrer an der Privatschule an der
Pottenau

Inhaltsverzeichnis

1.	Abkürzungsverzeichnis	7
2.	Einleitung	15
2.1	Die Präsynapse	15
2.2	Heptahelikale Rezeptoren (7-TM-Rezeptoren)	16
2.2.1	Die Koppelung von Rezeptoren an G-Proteine	17
2.2.2	Die pathophysiologische Relevanz der heptahelikalen Rezeptoren	19
2.3	Orexin	20
2.3.1	Orexin-Rezeptoren	22
2.3.2	Die physiologische und pathophysiologische Relevanz des Orexin-Systems	23
2.4	Melanin-concentrating Hormone (MCH)	24
2.4.1	MCH-Rezeptoren	25
2.4.2	Die physiologische und pathophysiologische Relevanz des MCH-Systems	26
2.5	Urotensin II (UT-II)	28
2.5.1	Der Urotensin II Rezeptor	30
2.5.2	Die physiologische und pathophysiologische Relevanz des Urotensins II-Systems	31
2.6	5-Carboxamidotryptamin	31
2.6.1	Wirkung von 5-Carboxamidotryptamin an verschiedenen 5-HT-Rezeptor-Subtypen	32
2.6.2	Präsynaptische 5-HT-Rezeptoren	33
2.7	Parallelen zwischen dem serotoninergen und den drei peptidergen Systemen	34
2.8	Fragestellungen	35
3.	Material und Methoden	36
3.1	Versuchsanordnung	36
3.2	Berechnungen und Statistik	37

3.2.1	Berechnung der basalen und stimulierten Tritiumfreisetzung	37
3.2.2	Statistik	38
3.3	Verwendete Substanzen	38
3.4	Verwendete Geräte und Materialien	39
4.	Ergebnisse	40
4.1	Tritiumaufnahme und -freisetzung unter Kontrollbedingungen	40
4.2	Versuche mit Orexin-B	42
4.3	Versuche mit Melanin-concentrating Hormone	45
4.4	Versuche mit Urotensin II	48
4.5	Versuche mit 5-Carboxamidotryptamin	50
5.	Diskussion	54
5.1	Beurteilung der Versuchsbedingungen	54
5.2	Sympathische Innervation der Gewebe	56
5.3	Beurteilung der Versuche mit Orexin-B	57
5.4	Beurteilung der Versuche mit MCH	58
5.5	Beurteilung der Versuche mit Urotensin II	59
5.6	Beurteilung der Versuche mit 5-Carboxamidotryptamin	60
6.	Zusammenfassung	62
7.	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	65
8.	Literaturverzeichnis	67
9.	Danksagung	93

1. Abkürzungsverzeichnis

[³ H]	Tritium
5-CT	5-Carboxamidotryptamin
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
5-HT _{1A, 1B, 1D, 1F}	Serotonin-Rezeptoren 1A, 1B, 1D und 1F
5-HT _{2A, 2B, 2C}	Serotonin-Rezeptoren 2A, 2B und 2C
5-HT _{4, 6 & 7}	Serotonin-Rezeptoren 4, 6 und 7
5-HT ₅	Serotonin-Rezeptor 5
5-HT ₇	Serotonin-Rezeptor 7
7-TM-Rezeptoren	7-Transmembrandomänen-Rezeptoren
α _{1A, 1B, 1D}	Adrenozeptoren α _{1A} , α _{1B} und α _{1D}
α ₂	Adrenozeptor α ₂
α _{2A, 2B, 2C}	Adrenozeptoren α _{2A} , α _{2B} und α _{2C}
α-MSH	α-Melanozyten stimulierendes Hormon
β ₁₋₃	Adrenozeptoren β ₁ , β ₂ und β ₃
δ	Opioid-Rezeptor δ
κ	Opioid-Rezeptor κ
μ	Opioid-Rezeptor μ
μM	Mikromolar, Mikromol/l
σ _{n-1}	Standardabweichung
A ₁	Adenosin-Rezeptor 1
A _{1 & 3}	Adenosin-Rezeptoren 1 und 3
A _{2A & 2B}	Adenosin-Rezeptoren 2A und 2B
Abb.	Abbildung
AC	Adenylatcyclase
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AM _{1 & 2}	Adrenomedullin-Rezeptoren 1 und 2
AMY ₁₋₃	Amylin-Rezeptoren 1, 2 und 3
APJ	Apelin-Rezeptor
AT	Angiotensin II
AT II	Angiotensin II
AT ₁	Angiotensin ₁ -Rezeptoren

ATP	Adenosintriphosphat
B ₁	basale Tritiumffluxrate 1 ohne Testpharmakon
B ₂	basale Tritiumffluxrate 2 mit Testpharmakon
B ₂ /B ₁	Quotient der basalen Tritiumeffluxraten 2 und 1
B ₁ & 2	Bradykinin-Rezeptoren 1 und 2
BB ₁₋₃	Bombesin-Rezeptoren 1,2 und 3
BLT ₁ & 2	Leukotrien-B-Rezeptoren 1 und 2
C5A ₁	complement component 5a Rezeptor 1
Ca ²⁺	Calcium
CaCl ₂	Calciumchlorid
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CaS	Calcium-sensing receptor
CB ₁ & 2	Cannabinoid ₁ - und Cannabinoid ₂ -Rezeptoren
CB ₁ -R	Cannabinoid ₁ -Rezeptor
CCK ₁	Cholezystokinin ₁ -Rezeptor
CCK ₁ & 2	Cholezystokinin ₁ - und Cholezystokinin ₂ -Rezeptor
CCK ₁ -Rezeptor	Cholezystokinin ₁ -Rezeptor
CCR1-10	Chemokin-Rezeptoren 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 und 10
CCR8	Chemokin-Rezeptor 8
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CGRP	Calcitonin gene-related peptide receptor
Chemerin	Chemerin Rezeptor
Ci	Curie
CNG	cyclic-nucleotide gated
CRF	Corticotropin Releasing Factor
CRF ₁ & 2	Corticotropin Releasing Factor-Rezeptoren 1 und 2
CT	Calcitonin-Rezeptor
CX ₃ CR1	CX ₃ C Chemokin-Rezeptor 1, Fractalkine receptor
CXCR1– 6	C-X-C Chemokin Rezeptoren Typen 1, 2, 3, 4, 5 und 6
CXCR2	C-X-C Chemokin Rezeptor Typ 2
CysLT ₁ & 2	Cysteinyl-Leukotrien-Rezeptoren 1 und 2
D1	Dopamin-Rezeptor 1
D1 & 5	Dopamin-Rezeptoren 1 und 5

D2–4	Dopamin-Rezeptoren 2, 3 und 4
DG	Diacylglycerol
DP ₁	Prostaglandin D2-Rezeptor 1
DP ₂	Prostaglandin D2-Rezeptor 2
dpm	disintegrations per minute (radioaktive Zerfälle pro Minute)
EC ₅₀	mittlere effektive Konzentration
EP ₁	Prostaglandin E-Rezeptor 1
EP _{2 & 4}	Prostaglandin E-Rezeptoren 2 und 4
EP ₃	Prostaglandin E-Rezeptor 3
ERK	extracellular signal-regulated kinase
ET1	Endothelin-1
ET _A	Endothelin-Rezeptor A
ET _B	Endothelin-Rezeptor B
ET _{A & B}	Endothelin-Rezeptoren A und B
FFA _{1 & 2}	Free fatty acid Rezeptoren 1 und 2
FFA _{2 & 3}	Free fatty acid Rezeptoren 2 und 3
FP	Prostaglandin-F-Rezeptor
FPR1	Formylpeptid-1-Rezeptor
FPR2/ALX	Formylpeptid-2-/ Lipoxin-A4-Rezeptor
FSH	Follikelstimulierendes Hormon-Rezeptor, Follitropin-Rezeptor
G _o	G-Protein 0
G ₁₁	G-Protein 11
G ₁₂	G-Protein 12
G ₁₃	G-Protein 13
GAL ₁₋₃	Galanin-Rezeptoren 1, 2 und 3
GAL ₂	Galanin-Rezeptor 2
GABA	γ-Aminobuttersäure
GABA _B	GABA _B -Rezeptor
GDP	Guanosindiphosphat
GEF	Guanine Nucleotide Exchange Factor
G _{gust}	Gustducin
Ghrelin	Ghrelin-Rezeptor
GHRH	growth hormone-releasing hormone receptor

Gi	inhibitorisches G-Protein
G _{i/o}	G-Protein i und/oder G-Protein 0
G _i α	α–Untereinheit des inhibitorischen G-Proteins
GIP	gastric inhibitory polypeptide receptor
GIRK	einwärts gleichrichtender K ⁺ -Kanal
GLP-1 & 2	glucagon-like peptide Rezeptoren 1 und 2
Glucagon	Glucagon-Rezeptor
GnRH ₁ & 2	gonadotropin-releasing hormone Rezeptoren 1 und 2
G _{olf}	olfaktorischer G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GPBA	bile acid receptor, G protein-coupled bile acid receptor
GPCR bzw. GPCRs	G-Protein-gekoppelter Rezeptor bzw. -Rezeptoren
GPE	G protein-coupled oestrogen Rezeptor
GPR14	G protein-coupled receptor 14
GPR24	G protein-coupled receptor 24
GPR81	G protein-coupled receptor 81
GPR109A & B	G protein-coupled receptor 109A und 109B
GPR119	G protein-coupled receptor 119
G-Protein	Guaninnukleotid-bindendes Protein
G _q	G-Protein q
G _{q/11}	G-Protein q und/oder G-Protein 11
G _s	stimulierendes G-Protein
G _s α	α–Untereinheit des stimulierenden G-Proteins
G _t	Transducin
G _t α	α–Untereinheit des Transducin
GTP	Guanosintriphosphat
G _z	G-Protein z
H ₁	Histamin ₁ -Rezeptor
H ₂	Histamin ₂ -Rezeptor
H ₃ & 4	Histamin ₃ - und Histamin ₄ - Rezeptoren
H ₃ -Rezeptoren	Histamin ₃ -Rezeptoren
HSP 90	Hitzeschock-Protein 90
Hz	Hertz
IAP	Islet-activating protein

IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
iNOS	intrazelluläre NO-Synthetase
inf.	inferior
intrazell. [Ca ²⁺]	intrazelluläre Calciumkonzentration
IP	Prostacyclin-Rezeptor
IP ₃	Inositol-1,4,5-trisphosphat
K ⁺	Kalium
KH ₂ HPO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
K _i	Inhibitionskonstante
KISS1	kisspeptin-Rezeptor
LH	Luteinizing hormone-Rezeptor
LHA	lateraler Hypothalamus
LPA ₁₋₄	Lysophosphatidsäure-Rezeptoren 1, 2, 3 und 4
LPA ₁₋₅	Lysophosphatidsäure-Rezeptoren 1, 2, 3, 4, und 5
LPA _{1, 2, 4 & 5}	Lysophosphatidsäure-Rezeptoren 1, 2, 4, und 5
LPA _{3 & 4}	Lysophosphatidsäure-Rezeptoren 3 und 4
LPA ₅	Lysophosphatidsäure-Rezeptor 5
LVR	Landschaftsverband Rheinland
M _{1, 3 & 5}	Muskarin-Rezeptoren 1, 3 und 5
M _{2 & 4}	Muskarin-Rezeptoren 2 und 4
M	Molar, Mol/l
mA	Milliampère
MC ₁₋₅	Melanocortin-Rezeptoren 1, 2, 3, 4 und 5
MCH	Melanin-concentrating Hormone
MCH1	Melanin-concentrating Hormone Rezeptor 1
MCH1 & 2	Melanin-concentrating Hormone Rezeptoren 1 und 2
MCH _{1-R}	MCH ₁ -Rezeptor
MCH _{2-R}	MCH ₂ -Rezeptor
mGlu _{1 & 5}	metabotrope Glutamat-Rezeptoren 1 und 5
mGlu _{2-4 & 6-8}	metabotrope Glutamat-Rezeptoren 2, 3, 4, 6, 7 und 8
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
min bzw. min.	Minute
mM	Millimolar, Millimol/l

Motilin	Motilin-Rezeptor
MT ₁ & 2	Melatonin ₁ - und Melatonin ₂ -Rezeptoren
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
n	Anzahl der Versuche
NA	Noradrenalin
Na ⁺	Natrium
Na ₂ EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz
Nacc Shell	Schale des Nucleus accumbens
NAT	Noradrenalin-Transporter
NF _κ B	nuclear factor kappa B
NK ₁₋₃	Tachykinin-Rezeptoren 1, 2 und 3
NK ₁ -Rezeptor	Tachykinin-Rezeptor 1
nM	Nanomolar, Nanomol/l
NMU1 & 2	Neuromedin U-Rezeptoren 1 und 2
NOP	Nociceptin/Orphanin FQ Peptid-Rezeptor
NPBW1 & 2	Neuropeptid BW Rezeptoren 1 und 2
NPFF	Neuropeptid FF
NPFF1	Neuropeptid FF-Rezeptor 1
NPFF2	Neuropeptid FF-Rezeptor 2
NPS	Neuropeptid-S-Rezeptor
NPW	Neuropeptid W
NPY ₂ -R	Neuropeptid- Y ₂ -Rezeptor
NTS ₁ & 2	Neurotensin-Rezeptoren 1 und 2
oGPCR	orphan GPCR
OR	odorant receptors (Geruchsrezeptoren)
OT	Oxytozin-Rezeptor
OX ₁ & 2	Orexin-Rezeptoren 1 und 2
OX ₁ -R/CB ₁ -R	Orexin ₁ -Rezeptor /Cannabinoid ₁ -Rezeptor- Dimer
OX-B	Orexin-B
OXE	Oxoeicosanoid-Rezeptor
OX-R	Orexin-Rezeptor bzw. Orexin-Rezeptoren
OX ₁ R	Orexin ₁ -Rezeptor
OX ₁ -Rezeptor	Orexin ₁ -Rezeptor

OX ₂ R	Orexin ₂ -Rezeptor
Oxo	Oxotremorin
p	probability value (Signifikanzwert)
P2Y _{1, 2, 4, 6, 11 & 14}	P2Y-Rezeptoren 1, 2, 4, 6, 11 und 14
P2Y ₁₁	P2Y-Rezeptor 11
P2Y _{12 & 13}	P2Y-Rezeptoren 12 und 13
PAC ₁	pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide 1 receptor
PAF-R	Platelet-activating factor Rezeptor
PAR1	Proteinase-activated Rezeptor 1
PAR1-4	Proteinase-activated Rezeptoren 1, 2, 3 und 4
PDE	Phosphodiesterase
PDE 6	Phosphodiesterase 6
PK _{1 & 2}	Prokineticin Rezeptoren 1 und 2
pK _i	logarithmierte Inhibitionskonstante
PLC	Phospholipase C
PLC β	Phospholipase C β
POPOP	1,4-Bis [2-(5-Phenyloxazolyl)]-Benzol
PPO	Polyphenylenoxid
Prä-Pro-OX	Prä-Pro-Orexin
PrRP	prolactin-releasing peptide Rezeptor
PSL	physiologische Salzlösung
PTH _{1 & 2}	Parathormon-Rezeptoren 1 und 2
QRFP	pyroglutamylated RFamide peptide receptor
Rau	Rauwolscin
REM	Rapid-eye-movement
RGS	Regulatoren des G-Protein Signals
Rho	Rho-GTPasen
RXFP1 & 2	Relaxin family peptide Rezeptoren 1 und 2
RXFP3 & 4	Relaxin family peptide Rezeptoren 3 und 4
S ₁	Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 1
S1P _{2 & 3}	Sphingosine 1-phosphate Rezeptoren 2 und 3
S1P _{1 & 3-5}	Sphingosine 1-phosphate Rezeptoren 1, 3, 4 und 5
S1P ₂₋₄	Sphingosine 1-phosphate Rezeptoren 2, 3 und 4

S1P _{2, 4 & 5}	Sphingosine 1-phosphate Rezeptoren 2, 4 und 5
S ₂	Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 2
S ₂ /S ₁	Quotient aus den Tritiumeffluxraten nach den Stimulationsreizen 2 und 1
Secretin	Secretin receptor
SEM	standard error of the mean
SENR	sensory epithelium neuropeptide-like receptor
SLC-1	Somatostatin-like receptor 1
sst ₁₋₅	Somatostatin-Rezeptoren 1, 2, 3, 4 und 5
sst ₂	Somatostatin 2 Rezeptor
sst ₄	Somatostatin 4 Rezeptor
T2R	Geschmacksrezeptoren Typ II
Tab.	Tabelle
TA _{1 & 2}	Trace amine-associated Rezeptoren 1 und 2
TEA	Tetraethylammonium
TP	Thromboxan-Rezeptor
TRH	Thyrotropin-releasing hormone
TRH _{1 & 2}	Thyrotropin-releasing hormone Rezeptoren 1 und 2
TSH	Thyrotropin-Rezeptor
t-Test	Student-t-Test
TTX	Tetrodotoxin
Typen I & II GnRHR	gonadotropin-releasing hormone Rezeptoren 1 und 2
URP	Urotensin II-related peptide
UT	Urotensin II
UT-II	Urotensin II
UT-II Rezeptor	Urotensin II Rezeptor
V _{1a & 1b}	Vasopressin-Rezeptoren 1a und 1b
V ₂	Vasopressin-Rezeptor 2
VPAC _{1 & 2}	vasoactive intestinal peptide Rezeptoren 1 und 2
XCR1	chemokine XC receptor 1
Y _{1, 2 & 4-6}	Neuropeptid-Y-Rezeptoren 1, 2, 4, 5 und 6
Y ₂ -Rezeptor	Neuropeptid-Y-Rezeptor 2
ZNS	zentrales Nervensystem

2. Einleitung

2.1 Die Präsynapse

Die Informationsübertragung von einem Nerven zum nächsten oder von einem Nerven zu dem von ihm versorgten Gewebe (Erfolgsorgan) erfolgt durch die Ausschüttung eines Überträgerstoffs (Neurotransmitter). Die Nahtstelle zwischen vorgeschaltetem Nerven und nachfolgendem Nerven bzw. Erfolgsorgan bezeichnet man als Synapse, den Bereich vor der Synapse als „Präsynapse“. Die Präsynapse umfasst die nicht-myelinisierte Nervenendigung samt ihrer Membran. Die präsynaptische Membran erlangt durch dort gelegene Rezeptoren eine immense Bedeutung bei der Steuerung der Neurotransmitterausschüttung sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem.

Die an der Nervenendigung befindlichen sog. präsynaptischen Rezeptoren werden grob in inhibitorische und fazilitatorische Rezeptoren eingeteilt (Starke, 1977). Ferner unterscheidet man Auto- und Heterorezeptoren. Autorezeptoren sind Rezeptoren, über die der zuvor ausgeschüttete Neurotransmitter seine eigene weitere Freisetzung –meist im Sinne einer negativen Rückkopplung– moduliert. Heterorezeptoren sind hingegen Rezeptoren, über die ein anderer Transmitter oder Mediator wirkt (Starke, 1977). In der hier vorgelegten Studie, bei der die Noradrenalin-Freisetzung vermessen wird und ein von Noradrenalin verschiedenes Monoamin bzw. verschiedene Peptide untersucht werden, handelt es sich ausschließlich um potentielle Heterorezeptoren.

Die präsynaptischen Rezeptoren lassen sich noch in einer weiteren Hinsicht in verschiedene Gruppen einteilen: So gibt es grundsätzlich eine Untergliederung der Rezeptoren in verschiedene Familien wie G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, ligandengesteuerte Ionenkanäle oder Tyrosinkinase (Alexander et al., 2009), und einzelne Vertreter der drei genannten Familien dienen auch als präsynaptische Rezeptoren. In der hier vorgelegten Arbeit geht es um potentielle präsynaptische Rezeptoren, die ausschließlich der Familie der G-Protein-gekoppelten (heptahelikalen) Rezeptoren zugehören.

In den folgenden fünf Abschnitten sollen zunächst die heptahelikalen Rezeptoren im Allgemeinen besprochen werden (2.2). Dann wird auf die vier Substanzen und die von

ihnen aktivierten Rezeptorsysteme eingegangen, nämlich Orexin (2.3), Melanin-concentrating Hormone (2.4), Urotensin II (2.5) und 5-Carboxamidotryptamin als besonders potenten Vertreter an mehreren 5-Hydroxytryptamin (Serotonin)-Rezeptoren (2.6). Am Schluss dieser Einleitung werden die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Fragestellungen aufgeführt (2.8).

2.2 Heptahelikale Rezeptoren (7-TM-Rezeptoren)

Heptahelikale Rezeptoren enthalten 7 die Membran durchsetzende Abschnitte (Transmembranhelices) und sind deshalb auch als 7-TM-Rezeptoren bekannt. Auf Grund ihres geschlängelten Verlaufs durch die Membran hindurch werden sie auch als Serpentinrezeptoren bezeichnet. Sie bestehen aus einer Peptidkette, deren Domänen sich zu einer Tasche anordnen, in der Liganden gebunden werden. Allen heptahelikalen Rezeptoren gemeinsam ist die Koppelung des Signaltransduktionsweges an G-Proteine (GPCRs= G-Protein coupled receptors, Rodbell et al., 1971; Cassel und Selinger, 1976; Maguire et al., 1976; Ross und Gilman, 1977; Ross et al., 1978; Gilman, 1984).

Guaninnukleotid-bindende Proteine (G-Proteine) bestehen aus einer $G\alpha$ -Untereinheit mit GTPase-Aktivität, einer $G\beta$ - und einer $G\gamma$ -Untereinheit. Im inaktiven Zustand hat der Komplex aus $G\alpha\beta\gamma$ ein GDP (Guanosindiphosphat) an der $G\alpha$ -Einheit gebunden. Nach Aktivierung durch einen Agonisten erfolgt ein Austausch des GDP gegen GTP (Guanosintriphosphat), an dem Guanine Nucleotide Exchange Factors (GEF) beteiligt sind. Daraufhin kommt es zur Dissoziation des gesamten Komplexes in eine $G\alpha$ -GTP- und eine $G\beta\gamma$ -Einheit. Sowohl die $G\alpha$ - als auch die $G\beta\gamma$ -Einheit können durch Interaktion mit verschiedenen Effektormolekülen die Signaltransduktionskaskade lenken; die Beendigung des Vorgangs nach erfolgter Transduktion übernimmt die GTPase-Aktivität der $G\alpha$ -Untereinheit; sie hydrolysiert das GTP, wobei wieder GDP entsteht. In der Folge binden die $G\beta$ - und die $G\gamma$ -Untereinheit wieder an die $G\alpha$ -Untereinheit, womit die Ausgangskonformation wieder hergestellt ist (Kahn und Gilman 1984; Gilman, 1987; Neer und Clapham, 1988; Lochrie und Simon, 1988; Fong et al., 1988; Matsuoka et al., 1988; Kim et al., 1989; Freissmuth et al., 1989; Ross, 1992, Strader et al., 1994; Offermanns, 2003; Hill, 2006).

Auf Grund verschiedener $G\alpha$ -Untereinheiten mit unterschiedlichen Effekten werden die G-Proteine in verschiedene Klassen eingeteilt (Yamamura et al., 1977; Pfeuffer, 1977; Rodbell, 1980; Northup et al., 1980; Uchida et al., 1981; Bokoch et al., 1983; Sternweis und Robishaw, 1984; Neer et al., 1984; Stryer, 1983, 1986; Spiegel, 1987; Freissmuth et al., 1989; Kurose, 2003; Offermanns, 2003; Hill, 2006; Andreeva et al., 2006; Kelly et al., 2007; Alexander et al., 2009):

G_q - und G_{11} -Rezeptoren stimulieren mit ihrer α -Untereinheit die Phospholipase C (PLC), wodurch Diacylglycerol (DG) und Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP_3) gebildet und in der Folge vermehrt Ca^{2+} freigesetzt wird.

G_i -, G_o - und G_z -Rezeptoren, zu deren Klasse auch **Gustducin (G_{gust})** und **Transducin (G_t)** gezählt werden, hemmen mit ihrer α -Untereinheit die Adenylatcyclase (AC), erniedrigen den Ca^{2+} -Influx und erhöhen den K^+ -Efflux. Die $\beta\gamma$ -Untereinheiten haben mehrere Effektoren wie den einwärts gleichrichtenden K^+ -Kanal (GIRK), neuronale spannungsgesteuerte Ca^{2+} -Kanäle, die Phosphatidylinositol-3-Kinase sowie die Phospholipase C und somit auch den IP_3 - und Diacylglycerol-Weg. Für **G_{gust}** und **G_t** siehe Tabelle 1.

G_s - und G_{olf} -Rezeptoren stimulieren mit ihrer α -Untereinheit die Adenylatcyclase, die für eine erhöhte Konzentration von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) sorgt. Daraufhin phosphoryliert eine cAMP-abhängige Proteinkinase verschiedene Proteine an Serin bzw. Threonin und bewirkt an diesen eine Konformations-/Aktivitätsänderung (bei G_{olf} direkte Öffnung des CNG (cyclic-nucleotide gated) Kationenkanals mit konsekutiver Depolarisation).

G_{12} - und G_{13} -Rezeptoren aktivieren die GTPase Rho, die Phospholipase D und $C\epsilon$, die intrazelluläre NO-Synthetase (iNOS), Radixin und das Hitzeschock-Protein 90 (HSP 90). Die Signaltransduktion des Rho bewirkt z.B. eine erhöhte Kontraktilität der glatten Gefäßmuskulatur.

2.2.1 Die Koppelung von Rezeptoren an G-Proteine

Die Koppelung der einzelnen Rezeptoren verschiedenster Transmitter an unterschiedliche G-Proteine ist für den Signaltransduktionsweg und die darauf folgende Zellantwort von größter Bedeutung. Die Erforschung der G-Proteine und deren Signaltransduktions-

kaskaden brachte Rodbell und Gilman 1994 den Nobelpreis für Medizin ein und stellt einen Meilenstein in der pharmakodynamischen Forschung dar. Es sind schon zahlreiche GPCRs und deren Signaltransduktionsmechanismen bekannt (Tab. 1).

G-Protein	Rezeptoren	Zelluläre Effekte
G _{q/11}	5-HT _{2A, 2B, 2C} , $\alpha_{1A, 1B, 1D}$, AT ₁ , B _{1 & 2} , BB ₁₋₃ , BLT _{1 & 2} , CaS, CCK ₁ , CGRP, CT, CysLT _{1 & 2} , EP ₁ , ET _{A & B} , FFA _{1 & 2} , FP, FPR2/ALX, GAL ₂ , Ghrelin, H ₁ , KISS1, LH, LPA ₁₋₅ (LPA ₅ nur G _q), M _{1, 3 & 5} , MCH1 & 2 , mGlu _{1 & 5} , Motilin, NK ₁₋₃ , NMU _{1 & 2} , NPFF1, NPS, NTS _{1 & 2} , OT, OX _{1 & 2} , P2Y _{1, 2, 4, 6, 11 & 14} , PAF-R, PAR1-4, PK _{1 & 2} , PrRP, PTH _{1 & 2} , QRFP, S1P _{2 & 3} (nur G _q), TP, TRH _{1 & 2} (nur G _q), TSH, Typen I & II GnRHR (GnRH _{1 & 2}), UT , V _{1a & 1b}	PLC↑ DG & IP3↑ intrazell. [Ca ²⁺]↑ Depolarisation
G _{i/o}	5-HT _{1A, 1B, 1D, 1F} , $\alpha_{2A, 2B, 2C}$, δ, κ, μ , A _{1 & 3} , APJ, BLT _{1 & 2} , C5A ₁ , CaS, CB _{1 & 2} , CCR1-10, Chemerin, CX ₃ CR1, CXCR1-6, D2-4, DP ₂ , EP ₃ , ET _B , FFA _{2 & 3} , FPR1, FPR2/ALX (nur G _i), GABA _B , GAL ₁₋₃ , GPE, GPR81, GPR109A & B, H _{3 & 4} , LH, LPA ₁₋₄ , M _{2 & 4} , MCH1 , mGlu _{2-4 & 6-8} , MT _{1 & 2} , NOP, NPBW1 & 2, NPFF2, OT, OX _{1 & 2} , OXE, P2Y _{12 & 13} , PAF-R, PAR1-4, QRFP, RXFP3 & 4, S1P _{1 & 3-5} , sst ₁₋₅ (nur G _i), TSH, UT , XCR1, Y _{1, 2 & 4-6}	AC↓ & PLCβ↑ Ca ²⁺ -Influx↓ K ⁺ -Efflux↑ Hyperpolarisation u.a. Antiapoptose
G _z	CB ₁ , ET _{A & B} , FPR1, μ	AC↓
G _t	Rhodopsin	PDE 6↑ Na ⁺ - & Ca ²⁺ -Influx↓ Hyperpolarisation
G _{gust}	Geschmacksrezeptoren Typ II (T2R)	PDE↑, Depolarisation ATP-Efflux↑
G _s	5-HT _{4, 6 & 7} , β_{1-3} , A _{2A & 2B} , AM _{1 & 2} , AMY ₁₋₃ , CCK _{1 & 2} , CGRP, CRF _{1 & 2} , CT, D1 & 5, DP ₁ , EP _{2 & 4} , ET _A , FSH, GHRH, GIP, GLP-1 & 2, Glucagon, GPBA, GPE, GPR119, H ₂ , IP, LH, LPA _{3 & 4} , MC ₁₋₅ , NPS, OX _{1 & 2} , P2Y ₁₁ , PAC ₁ , PTH _{1 & 2} , RXFP1 & 2, S1P ₂₋₄ , Secretin, TA _{1 & 2} , TSH, V ₂ , VPAC _{1 & 2}	AC↑ Ca ²⁺ -Influx↑ Depolarisation

G _{olf}	D1, Geruchsrezeptoren (OR, odorant receptors)	AC↑ Na ⁺ - & Ca ²⁺ -Influx↑ Depolarisation
G _{12/13}	CaS, GAL2, LPA _{1, 2, 4 & 5} , PAR1, S1P _{2, 4 & 5} , TSH	u.a. Rho↑, HSP 90↑, Radixin↑ Kontraktilität & Karzinogenese↑
G ₁₆	A ₁ , CCR8, CXCR2	NFκB↑ Zytokinproduktion↓

Tab. 1: Übersicht der G-Proteine mit ihren vorgeschalteten 7-TM-Rezeptoren und zellulären Effekten ihrer Signaltransduktion nach Fields und Casey (1997); Yang et al. (2001); Ziltener et al. (2002); Liu et al. (2004); Andric et al. (2005); Kukkonen und Åkerman (2005); Ramanjaneya et al. (2009); Garzón et al. (2009); Alexander et al. (2009); Murata et al. (2010); Kinnamon (2012); Gundlach und Ryan (2013); Monaghan (2013); Monk et al. (2013); Serhan et al. (2013). Im Zusammenhang mit der vorliegenden Studie interessierende Rezeptoren sind fett hervorgehoben.

2.2.2 Die pathophysiologische Relevanz der heptahelikalen Rezeptoren

Veränderungen von G-Proteinen der heptahelikalen Rezeptoren können bestimmten Krankheiten und Syndromen direkt zugeordnet werden. Die Komplexität der Interaktionsmöglichkeiten ergibt sich nicht nur aus den verschiedenen Untereinheiten der G-Proteine, sondern auch aus den modulierenden Eigenschaften der GTPase aktivierenden Regulatoren des G-Protein Signals (RGS) und des Guanine Nucleotide Exchange Factors (GEF), der für den Austausch des GDP gegen GTP verantwortlich ist (Chan und Otte, 1982; Dohlman et al., 1995; Wolfman und Macara, 1990; Buday und Downward, 2008). Die pathophysiologische Rolle sowohl der RGS als auch des GEF sind derzeit Gegenstand eingehender Forschung (Abramow-Newerly et al., 2006; Ip et al., 2012; Park et al., 2011; Rojas et al., 2011, Feig, 2011).

Den einzelnen Untereinheiten der G-Proteine konnten bereits einige Krankheiten zugeordnet werden. So konnte ein Zusammenhang zwischen einer veränderten Funktion bzw. Interaktion mit der α -Untereinheit des AC stimulierenden G-Proteins (G_sα) und

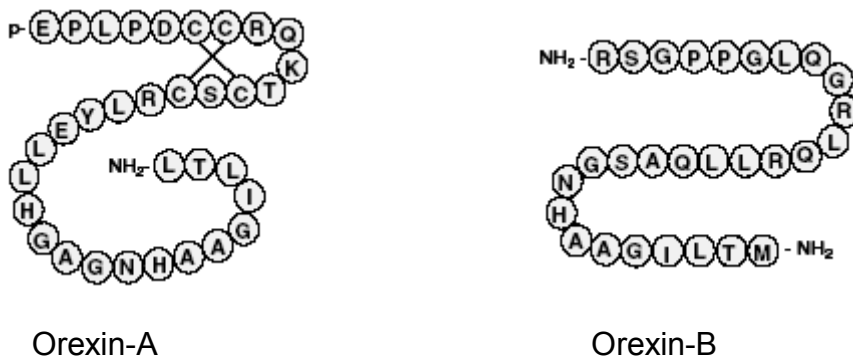
Adenomen der Schilddrüse (Nishihara et al., 2009), dem Cholera-toxin (Sharp et al., 1971; Kahn und Gilman, 1984), M. Parkinson (Avissar et al., 1997), Pseudohypoparathyreoidismus Typ I a und b (Iiri et al., 1994; Zazo et al., 2011), dem McCune-Albright-Syndrom (Chanson et al., 2010), der Testotoxikose (Iiri et al., 1994), der bipolaren affektiven Störung (Spleiss et al., 1998), endokrinen Tumoren (Fragoso et al., 1998) und dem Nierenkarzinom (Kalfa et al., 2006) nachgewiesen werden.

Die Untereinheit $G_{i\alpha}$ konnte dem Pertussistoxin IAP (Islet-activating protein, Katada et al., 1982) und Adenomen der Schilddrüse (Selzer et al., 1993) sowie der Insulinsekretion (Regard et al., 2007), die Untereinheit $G_{i\alpha}$ der Nougaret'schen Nachtblindheit (Moussaif et al., 2006) und der Achromatopsie (Pang et al., 2010) zugeordnet werden. Die G_{12} -Subfamilie ist an der Karzinogenese und Metastasierung beteiligt (Kelly et al., 2007).

Neuere Erkenntnisse über die Bildung von Dimeren aus verschiedenen GPCRs (Maggio et al., 2005; Milligan, 2009; González-Maeso, 2011), u.a. OX_1 -R/ CB_1 -R (Ellis et al., 2006), sowie über die Wechselwirkung der Signaltransduktionskaskaden verschiedener GPCRs (Pissios et al., 2003) zeigen die Komplexität und die Dringlichkeit ihrer Erforschung auf.

2.3 Orexin

Das Orexin-System wurde zuerst von der Arbeitsgruppe von Sakurai et al. (1998) beschrieben. Es handelt sich um zwei Peptide (Orexin-A und Orexin-B; Abb. 1), die aus einem gemeinsamen 130-131 Aminosäuren langen Precursor-Molekül, dem Prä-Pro-Orexin, entstehen.



Orexin-A

Orexin-B

Abb. 1: Aminosäuresequenzen von humanem Orexin-A und Orexin-B nach Sakurai et al. (1998). Einzelheiten sind im Text beschrieben.

Orexin-A ist ein 33 Aminosäuren langes Peptid mit einem N-terminalen Pyroglutamyrest und einer C-terminalen Amidgruppe, bei dem sich zwischen den Cysteinen an den Positionen 6 und 12 sowie zwischen denen an den Positionen 7 und 14 Disulfidbrücken ausbilden (Sakurai et al., 1998). Die Primärstruktur von Orexin-A ist bei der Ratte, der Maus, dem Menschen, dem Schwein, dem Schaf, dem Hund und der Kuh identisch (Sakurai et al., 1998).

Beim Orexin-B sind dagegen nur die Primärstrukturen der Ratte und der Maus deckungsgleich, die des Menschen unterscheidet sich von derjenigen der Nager durch den Austausch zweier Aminosäuren: Das menschliche Orexin-B enthält an den Positionen 2 und 18 ein Serin, das der Nager ein Prolin (2) und ein Asparagin (18). Die Länge von 28 Aminosäuren und die C-terminale Amidierung gelten jedoch für alle Spezies. Orexin-B weist eine 46-prozentige Homologie (13 von 28 Aminosäuren) zu Orexin-A auf, ist aber im Gegensatz zu Orexin-A ein lineares Peptid ohne Disulfidbrücken (Abb. 1, Sakurai et al., 1998).

Als die Arbeitsgruppe um de Lecea et al. (1998) unabhängig von Sakurai et al. (1998) eine mRNA fand, die für ein dem Prä-Pro-Orexin ähnelndes Peptid kodiert, bezeichneten sie die daraus entstehenden Peptide als Hypocretin-1 und -2, weil sie die mRNA für ein Hypothalamus-spezifisches Transkript hielten (de Lecea et al., 1998). Seitdem tauchen die Bezeichnungen Orexine und Hypocretine als Synonyme in der Fachliteratur auf, was jedoch vermieden werden sollte, weil es sich nicht um exakt dieselben Peptide handelt: Hypocretin-1 trägt im Vergleich zu Orexin-A fünf weitere N-terminale Amino-

säuren und ein C-terminales Glycin. Auch Hypocretin-2 ist im Vergleich zu Orexin-B mit einem C-terminalen Glycin versehen (de Lecea et al., 1998; Sakurai et al., 1998). Auch die intrinsische Aktivität der Hypocretine an den Orexin-Rezeptoren ist geringer als die der Orexine (Smart et al., 2000).

2.3.1 Orexin-Rezeptoren

Es sind bis jetzt 2 Orexin-Rezeptoren bekannt, die als Orexin₁-Rezeptor (OX₁R) und Orexin₂-Rezeptor (OX₂R) bezeichnet werden. Beide sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) und weisen eine Sequenzhomologie zu anderen Neuropeptid-Rezeptoren auf. So entspricht die Aminosäuresequenz des Orexin₁-Rezeptors zu 26 % dem Y₂-Rezeptor (NPY₂-R), zu 25 % dem TRH-Rezeptor, zu 23 % dem CCK₁-Rezeptor und zu 20 % dem NK₁-Rezeptor (Neurokinin₁-Rezeptor; Sakurai et al., 1998). Interessanterweise sind diese Rezeptoren -mit Ausnahme des Y₂-Rezeptors (G_{i/o})-genau wie der OX₁-Rezeptor an den G_{q/11}-Signaltransduktionsweg gekoppelt (CCK₁ auch an G_s; Tab. 1, Alexander et al., 2009). Für beide OX-R ist neben dem G_{q/11}-Weg auch eine Kopplung an G_{i/o}- und G_s-Proteine bekannt (Kukkonen und Åkerman, 2005; Ramanjaneya et al., 2009; Alexander et al., 2009). Die beiden humanen Orexin-Rezeptoren gleichen einander zu 64 % in ihrer Aminosäuresequenz und zeigen im Vergleich zur Ratte eine Spezieskonservierung ihrer Sequenz mit 94 % (OX₁R) bzw. 95 % (OX₂R) Identität (Sakurai et al., 1998).

Die Rezeptoraffinitäten (IC₅₀-Werte) der beiden Orexine und die Konzentrationen, die zum halbmaximalen Effekt führen (EC₅₀-Werte), unterscheiden sich bedeutend am OX₁R; am OX₂R sind diese für Orexin-A und Orexin-B dagegen nahezu identisch (Tab. 2, Sakurai et al., 1998). Auf Grund der niedrigen Affinität von Orexin-B am OX₁R im Gegensatz zur hohen Affinität am OX₂R gilt Orexin-B als selektiver Agonist am OX₂R (Sakurai et al., 1998). Orexin-A hingegen ist ein unselektiver Agonist.

	Orexin ₁ -Rezeptor (OX ₁ R)		Orexin ₂ -Rezeptor (OX ₂ R)	
	IC ₅₀	EC ₅₀	IC ₅₀	EC ₅₀
Orexin-A	20 nM	30 nM	38 nM	34 nM
Orexin-B	420 nM	2500 nM	36 nM	60 nM

Tab. 2: Rezeptoraffinität (IC₅₀) von Orexin-A und Orexin-B an den Orexin-Rezeptoren und Konzentrationen, die zum halbmaximalen Effekt (EC₅₀) führen (nach Sakurai et al., 1998).

In vielen Hirnregionen der Ratte wurde die mRNA des OX₁R (präfrontaler und infralimbischer Cortex, Hippocampus, Nucleus paraventricularis thalami, Nucleus ventromedialis hypothalami, Nucleus raphe dorsalis und Locus coeruleus) und des OX₂R (zerebraler Cortex, Nuclei septales, Hippocampus, medialer Thalamus, Nuclei raphe, mehrere hypothalamische Kerne inkl. des histaminergen Nucleus tuberomammillaris) nachgewiesen (Marcus et al., 2001)

2.3.2 Die physiologische und pathophysiologische Relevanz des Orexin-Systems

Auf Grund der Verteilung orexinerger Neurone im ZNS samt ihrer Projektionen und der Verteilung der Orexin-Rezeptoren ließen sich Hypothesen über die physiologische und pathophysiologische Bedeutung des Orexin-Systems aufstellen. Durch den Einsatz von OX-R- bzw. Prä-Pro-OX-Knockout-Mäusen, spezifischen OX-R Antagonisten, intrazerebroventrikulärer Orexin-Injektion u.Ä. konnte die Beteiligung des Orexin-Systems an folgenden Regelkreisen verifiziert werden:

- **Nahrungsaufnahme / Energie-Homöostase** (Sakurai et al., 1998; Sakurai, 2005; Peyron et al., 1998; Elias et al., 1998; Griffond et al., 1999; Date et al., 1999; Moriguchi et al., 1999; Haynes et al., 2000 und 2002; Yamada et al., 2000; Willie et al., 2001; Hara et al., 2001 und 2005; Zheng et al., 2002; Yamanaka et al., 2003; Baldo et al., 2004; van den Top et al., 2004; Muroya et al., 2004; Akiyama et al., 2004; Mieda et al., 2004; Thorpe und Kotz, 2005; Burdakov und Alexopoulos 2005; Burdakov et al., 2006; Li und van den Pol, 2006; Ma et al., 2007)
- **Stoffwechsel (Katabolismus)** (Lubkin und Stricker-Krongrad, 1998)

- **Aufsteigendes Retikuläres Aktivierungssystem (Schlaf- / Wachrhythmus bzw. Vigilanz)** (Hagan et al., 1999; Eggermann et al., 2001; Huang et al., 2001; Xi et al., 2001; Takahashi et al., 2002; Brown et al., 2002; Liu et al., 2002; Yamanaka et al., 2002; 2003; Willie et al., 2001; 2003; Muraki et al., 2004; Sakurai et al., 2005; Lee et al., 2005; Takakusaki et al., 2005; Yoshida et al., 2006; Xie et al., 2006)
- **Limbisches System** (Kayaba et al., 2003; Baldo et al., 2004; Thorpe und Kotz, 2005; Sakurai et al., 2005)
- **Mesolimbische Belohnungsbahn** (Peyron et al., 1998; Nakamura et al., 2000; Fadel und Deutch, 2002; Korotkova et al., 2003; Yoshida et al., 2006)
- **CRF / ACTH-System (Stressreaktion)** (Kuru et al., 2000; Al-Barazanji et al., 2001; Brunton and Russell, 2003; Sakamoto et al., 2004; Winsky-Sommerer et al., 2004)
- **Autonomes Nervensystem** (Peyron et al., 1998; Nambu et al., 1999; Shirasaka et al., 1999; Marcus et al., 2001; Kayaba et al., 2003; Zhang et al., 2006)

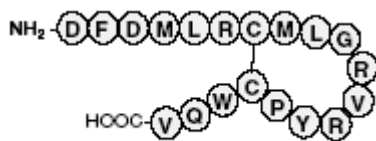
Demnach wird den Orexinen bei Essstörungen, Narkolepsie-Kataplexie (auch Narkolepsie ohne Kataplexie; Siegel, 1999; Thannickal et al., 2000), anderen Schlaf- und Vigilanzstörungen (auch Schlafapnoe-Syndrom, Igarashi et al., 2003; Nakamura et al., 2007), einer inadäquaten Stressantwort und bei der (stoffgebundenen) Sucht (Xie et al., 2006) Bedeutung beigemessen. Mit MK-6096 als reversiblen unselektiven Antagonisten an beiden Orexin-Rezeptoren befindet sich derzeit ein vielversprechendes Pharmakon zur Behandlung der Insomnie in klinischer Entwicklung (Winrow et al., 2012)

2.4 Melanin-concentrating Hormone (MCH)

Die Existenz eines Hormons mit der Funktion, die Hautfarbe zu verändern, wurde schon 1917 vermutet und mit der Fähigkeit, Melanophoren zu aggregieren, in Zusammenhang gebracht (McCord und Allen, 1917). 1958 beschrieb Imai erstmals ein Peptid mit der Funktion, Melanosomen in Melanophoren zu aggregieren, so bezeichnete er es als Melanophore-concentrating hormone (Imai, 1958), dessen bleichende Wirkung später bestätigt werden konnte (Baker und Ball, 1975; Westerfield et al., 1980).

Die Primärstruktur des MCH konnte 1983 nach Extraktion aus der Hypophyse des Ketalachs (*Oncorhynchus keta*) dargestellt werden (Kawauchi et al., 1983). Es wurde nach seiner zuerst bekannten Funktion, dem funktionellen Antagonismus des α -MSH (α -Melanozyten stimulierendes Hormon) und somit der Konzentration von Melanin in Melanophoren, benannt (Kawauchi et al., 1983, Baker, 1993); diese Funktion ist aber bei Säugetieren nicht bekannt und nur bei Knochenfischen wie dem Ketalachs beschrieben worden (Baker und Ball, 1975; Westerfield et al., 1980).

MCH ist ein zyklisches, 17 Aminosäuren langes Peptid, das später auch im Hypothalamus der Ratte (Vaughan et al., 1989) und des Menschen (Presse et al., 1990) nachgewiesen werden konnte. Die Struktur des MCH der Ratte und des Menschen sind identisch und im Vergleich zu der im Knochenfisch (Ketalachs) bei erhaltener Disulfidbrücke und Austausch von 4 Aminosäuren um 2 Aminosäuren länger (Abb. 2). Die Ringstruktur erwies sich als essenziell für die Bioaktivität des MCH (Matsunaga et al., 1992).



MCH

Abb. 2: Aminosäuresequenz des humanen Melanin-concentrating hormone (MCH) nach Presse et al. (1990).

2.4.1 MCH-Rezeptoren

Wie beim Orexin sind derzeit 2 verschiedene MCH-Rezeptoren bekannt. Der MCH₁-Rezeptor wurde von mehreren Gruppen zeitnah unabhängig voneinander entdeckt und als Ligand des bis dahin als orphan GPCR (oGPCR) SLC-1/GPR24 bekannten Rezeptors identifiziert (Bachner et al., 1999; Chambers et al., 1999; Lembo et al., 1999; Saito et al., 1999; Shimomura et al., 1999). Der MCH₁-Rezeptor ist sowohl an G_{i/o}- als auch an G_q-Proteine gekoppelt (Chambers et al., 1999; Saito et al., 1999; Hawes et al., 2000). Darüber hinaus wurde ein Synergismus mit dem G_s-Weg durch Phosphorylierung der ERK (extracellular signal-regulated kinase) nachgewiesen (Pissios et al., 2003). Im

Menschen wurde 2 Jahre später (2001) ein zweiter MCH-Rezeptor entdeckt, der folgerichtig als MCH₂-Rezeptor bezeichnet wird (An et al., 2001; Hill et al., 2001; Mori et al., 2001; Rodriguez et al., 2001; Sailer et al., 2001; Wang et al., 2001). Dem MCH₂-Rezeptor ist nur der G_q-Weg nachgeschaltet (An et al., 2001).

Die Expression des MCH₁-Rezeptors ist im piriformen Cortex und Tuberculum olfactorium am stärksten und in folgenden Regionen ebenfalls stark: im Hippocampus, der Schale des Nucleus accumbens (Nacc Shell) und der Amygdala (Kolakowski Jr. et al., 1996; Saito et al., 2000; Hervieu et al., 2000). Darüber hinaus findet eine mittelstarke Expression des MCH₁-Rezeptors in den Nuclei ventromedialis und arcuatus des Hypothalamus und auch außerhalb des ZNS in geringerem Umfang statt (Kolakowski Jr. et al., 1996; Saito et al., 2000; Bradley et al., 2000). Der MCH₂-Rezeptor hat seine höchste Expressionsdichte im frontalen Cortex, in der Amygdala und im Nucleus accumbens (Sailer et al., 2001; An et al., 2001; Hill et al., 2001). Auch in peripheren Geweben wie Prostata, Darmtrakt und Fettgewebe wurde der MCH₂-Rezeptor nachgewiesen (An et al., 2001; Hill et al., 2001).

Beide MCH-Rezeptoren werden zumeist koexprimiert, jedoch weist der MCH₁-Rezeptor ein breiteres und dichteres Verteilungsmuster auf (Schlumberger et al., 2002). Obwohl beide Rezeptoren auch bei anderen Säugetieren wie dem Hund, dem Rhesusaffen und dem Frettchen gefunden wurden, konnte der MCH₂-Rezeptor bei Nagern nicht nachgewiesen werden (Tan et al., 2002).

2.4.2 Die physiologische und pathophysiologische Relevanz des MCH-Systems

Die pathophysiologische Rolle des MCH kann durch die Verteilung MCH-inkretierender Neurone samt ihren Projektionen und durch die Verteilung der MCH-Rezeptoren vermutet werden. Im ZNS der Säugetiere kommen MCH-Neurone ausschließlich in magnozellularen Neuronen des lateralen Hypothalamus (LHA) und der Zona incerta vor (Pissios et al., 2006). Die monosynaptischen Projektionen dieser Neurone sind denen der orexinergen Neurone im LHA sehr ähnlich, obwohl es sich hier nicht um Koexpression in den gleichen, sondern um verschiedene Neurone mit ähnlichen Charakteristika

handelt (Hong et al., 2011). Die Axone der MCH-Neurone des LHA und der Zona incerta projizieren auch zum Nucleus interanterodorsalis thalami (Bittencourt et al., 1992).

Darüber hinaus wurde MCH in der Medulla oblongata und im Rückenmark mittels Radioimmunoassay nachgewiesen (Zamir et al., 1986). Im Rückenmark wurde eine vermehrte Immunreaktivität im Hinterhorn im Vergleich zum Vorderhorn gefunden (Skofitsch et al., 1985).

Die Verteilung im ZNS weist darauf hin, dass MCH in der Regulation der Nahrungsaufnahme und des Appetits eine Rolle spielt. Auch der Einfluss auf Lernprozesse (olfaktorisches Lernen) und auf Verstärkungsmechanismen in der Belohnungsbahn sprechen für einen regulatorischen Effekt des MCH bei der Nahrungsaufnahme. Es handelt sich um eine Vermehrung des Appetits und der Nahrungsaufnahme, was sowohl durch intrazerebroventrikuläre Injektion in den lateralen Ventrikel der Ratte (Qu et al., 1996; Rossi et al., 1997) als auch durch Injektion in die Nuclei arcuatus, paraventricularis und dorsomedialis hypothalami (Abbott et al., 2003) bewiesen werden konnte.

Bei Ratten wurde bei MCH-Injektionen in den vierten Ventrikel zwar keine Veränderung der Nahrungsaufnahme, jedoch eine verminderte Körperkerntemperatur und ein Trend zu verminderter körperlicher Aktivität beobachtet (Zheng et al., 2005).

Neben der gesteigerten Nahrungsaufnahme und der Energie-konservierenden Wirkung konnte auch eine von der Nahrungsaufnahme unabhängige gesteigerte Wasseraufnahme (Clegg et al., 2003), eine gesteigerte Alkohol- (Duncan et al., 2005) und eine gesteigerte Saccharoseaufnahme (Sakamaki et al., 2005; Duncan et al., 2005) nachgewiesen werden. In einem MCH-Knockout Maus-Modell zeigte sich eine gesteigerte Insulin-Sensitivität bei älteren Mäusen im Vergleich zum Wild-Typ. Genau so erhöhte sich der bei älteren Mäusen auftretende niedrige Energieverbrauch in Ruhe so wie die niedrige motorische Aktivität (Jeon et al., 2006). Die neueren Erkenntnisse von Hong et al. (2011), nämlich Projektionen in die Nuclei tegmentales pedunculopontinus und laterodorsalis sprechen für eine Mitbeteiligung an der Vigilanzsteuerung.

2.5 Urotensin II (UT-II)

Die Urophyse, in der Urotensin sezerniert wird, wurde bereits durch vergleichende anatomische Forschungen im frühen neunzehnten Jahrhundert entdeckt (Arsaky, 1813). Dahlgren beschrieb 1914 im Rückenmark des Rochens „electric motor nerve cells“, die seitdem als Dahlgren´sche Zellen bekannt sind (Dahlgren, 1914). Ähnliche Neurone mit neurosekretorischer Funktion wurden von Speidel in verschiedenen Fisch-Spezies beschrieben (Speidel 1919; 1922) und nach ihrem Entdecker als Speidel´sche Zellen bezeichnet.

Beide Eponyme bezeichnen -obgleich in verschiedenen Spezies nachgewiesen- neurosekretorische Zellen bzw. Neurone, die vom Rückenmark in die Urophyse oder ein entsprechendes Hämalorgan projizieren (Fridberg, 1962; Brady, 1984; Conlon et al., 1996). Ernst und Berta Scharrer forcierten die Forschungen über neurosekretorische Zellen sowohl in Wirbellosen als auch in Wirbeltieren inklusive des Menschen (Scharrer, 1935; 1937; Bachmann et al., 1954) und gelten als Begründer der modernen Neuroendokrinologie. 1955 formulierte Enami als Erster genauere Thesen über die neuroendokrinen Funktionen der neurosekretorischen Dahlgren-Zellen. Er bezeichnete das entsprechende Organ als „neurophysis caudalis“ bzw. als „Urohypophysis“ (Enami und Imai, 1955; 1956a; 1956b).

Es dauerte jedoch weitere zwei Jahrzehnte, bis den sezernierten Stoffen explizite Wirkungen zugewiesen werden konnten: Eine Blutdruckerniedrigung bei Ratten (Kobayashi et al., 1968) konnte dem damals noch hypothetischen Urotensin I zugewiesen werden (Lederis und Medakovic 1974; Medakovic et al., 1975). Genauso konnte die nachgewiesene Blutdruckerhöhung in Knochenfischen (Bern et al., 1967) auf die Wirkung eines zuvor ebenfalls noch hypothetischen Urotensins II zurückgeführt werden (Zelnik und Lederis, 1973; Chan, 1975); Zelnik und Lederis gelang die erste chromatographische Auftrennung der Urotensine (Zelnik und Lederis, 1973). Bern und Lederis (1969) prägten die Bezeichnung „Urotensin“. Die Isolierung der Urotensine in reiner Form (Urotensin I: Lederis et al., 1982a, 1982b; Ichikawa et al., 1982; Urotensin II: Pearson et al., 1980) ermöglichte die eingehendere Erforschung der Wirkungen und die Identifizierung des korrespondierenden Rezeptors.

Das wissenschaftliche Interesse richtete sich zunehmend auf Urotensin II, das als der bis dato potenteste Vasokonstriktor gilt (Ames et al., 1999). Diese konstriktorische Wirkung konnte 1987 an Arterien der Ratte gezeigt werden (Itoh et al., 1987; Gibson, 1987). Verglichen mit der Wirkung von Endothelin-1 (ET1) wird die arterielle vasokonstriktorische Potenz als fünfzigmal stärker beschrieben (Maguire et al., 2000). Einschränkend muss allerdings gesagt werden, dass 30 % der thorakalen und koronaren Arterien auf UT II nicht bzw. erst nach einer zusätzlichen Zufuhr von ET1 mit einer Konstriktion reagierten (Maguire et al., 2000). Außerdem liegt die maximale Wirkung des Urotensins II interessanterweise bei fast allen von Maguire et al. untersuchten (menschlichen) Geweben unter der von ET1; eine Ausnahme bildete hier die Rattenaorta, bei der sowohl die konstriktorische Potenz als auch der maximale Effekt des Urotensins und des Endothelins in etwa gleich ausfielen (Maguire et al., 2000).

Später konnte die cDNA des Urotensin II Precursor-Moleküls auch im Frosch und im Menschen nachgewiesen werden (Coulouarn et al., 1998). Das menschliche Urotensin II Molekül ist ein Undekapeptid (Abb. 3; Coulouarn et al., 1998); das C-terminale zyklische Hexapeptid, dessen Cysteine durch eine Disulfid-Brücke verbunden sind, weist bei den untersuchten Spezies eine Konservierung auf (Conlon et al., 1996, Davenport und Maguire, 2000).

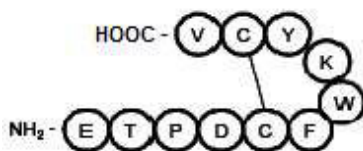


Abb. 3: Aminosäuresequenz des humanen Urotensin-II (nach Coulouarn et al., 1998).

Veränderungen des C-Terminus oder das Entfernen der Disulfidbrücke gingen mit Funktionseinbußen einher und bewiesen somit, dass diese Strukturen für die Bioaktivität essenziell sind (Labarrère et al., 2003). Die Carboxygruppe des C-Terminus ist jedoch

nicht für die Bioaktivität essenziell, und eine Substitution des Phenylalanins an Position 6 bzw. des Tryptophans an Position 7 hat eine antagonistische Wirkung zur Folge (Leprince et al., 2008). Dieses zyklische Peptid zeigt beim Menschen (Coulouarn et al., 1998), bei Nagern (Ratte und Maus, Coulouarn et al., 1999) und beim Schwein (Mori et al., 1999) gegenüber dem ursprünglich bei der Meergrundel, *Gillichthys mirabilis* (Pearson et al., 1980, Bern et al., 1985), gefundenen Struktur eine veränderte Aminosäuresequenz und/oder der Länge des N-Terminus (vergleichende Darstellung bei Davenport und Maguire, 2000; Douglas et al., 2004; Ross et al., 2010).

2.5.1 Der Urotensin II Rezeptor

Urotensin II bindet an einen heptahelikalen Rezeptor (GPCR), der dem sogenannten orphan receptor GPR 14 (Marchese et al., 1995) bzw. dem SENR (sensory epithelium neuropeptide-like receptor; Tal et al., 1995) entspricht (Ames et al., 1999).

Der Urotensin II Rezeptor (UT-II Rezeptor) wurde in verschiedenen Geweben (Niere, Nebenniere, Blase, Kardiomyozyten, glatte Gefäßmuskeln, Skelettmuskeln, Endothelzellen, Hoden, Gastrointestinaltrakt, Pankreas, Milz, Lunge, Schilddrüse und ZNS, inkl. des Rückenmarks) nachgewiesen, so dass von einem quasi ubiquitären Vorkommen des UT-II Rezeptors ausgegangen wird (Ames et al., 1999; Liu et al., 1999; Nothacker et al., 1999; Maguire et al., 2000, 2004; Matsushita et al., 2001; Elshourbagy et al., 2002; Douglas et al., 2004; Zhu et al., 2006; Jégou et al., 2006; Dubessy et al., 2008). Bislang wurden keine Rezeptorsubtypen beschrieben. Die Signaltransduktionskaskade des UT II Rezeptors ist der G_q -Weg (Saetrum Opgaard et al., 2000; Tian et al., 2008).

Es gibt jedoch auch Hinweise für eine $G_{i/o}$ -gekoppelte Signaltransduktionskaskade (Ziltener et al., 2002).

Die Aminosäuresequenz des Urotensin II Rezeptors ähnelt am meisten (zu ca. 27 %) derjenigen des Somatostatin 4 Rezeptors ($ss4$; Marchese et al., 1995; Ames et al., 1999; Davenport et al., 2000). Weitere Sequenzhomologien bestehen zum Somatostatin 2 Rezeptor ($ss2$), den Opioid-Rezeptoren (δ , κ und μ) und den Galanin Rezeptoren (GAL_{1-3} ; Marchese et al., 1995; Ames et al., 1999; Douglas et al., 2004). Alle genannten

Rezeptoren sind mit Ausnahme des Galanin 2 Rezeptors (GAL₂) im Gegensatz zum UT-II Rezeptor G_i-gekoppelt; der GAL₂ ist sowohl G_i- als auch G_q-gekoppelt (s. Tab. 1; Alexander et al., 2009). Für Urotensin II konnte eine agonistische Wirkung an den beiden Somatostatin Rezeptoren 2 und 5 nachgewiesen werden (Malagon et al., 2008). In der Ratte wurde mit dem Urotensin II-related peptide (URP) ein zweiter endogener Ligand am Urotensin II Rezeptor gefunden, der ebenfalls die konservierte C-terminale Hexapeptid-Struktur des Urotensins II aufweist (Sugo et al., 2003, Leprince et al., 2008).

2.5.2 Die physiologische und pathophysiologische Relevanz des Urotensin II-Systems

Zuerst fanden nur Wirkungen des Urotensins auf den Blutdruck Beachtung (s.o: 2.5). In letzter Zeit wurde darüber hinaus die pathophysiologische Relevanz des UT-II im Rahmen des metabolischen Syndroms (Ong et al., 2008, Ross et al., 2010), von Lebererkrankungen (Heller et al., 2002; Kemp et al., 2007; Trebicka et al., 2008; Leifeld et al., 2010), von Nierenerkrankungen (Zhu et al., 2006; Tian et al., 2008), des REM-Schlafes (Huitron-Resendiz et al., 2005) bzw. des Schlaf-Wach-Rhythmus (Ono et al., 2008), der Depression und der Nahrungsaufnahme (do Rego et al., 2008) herausgefunden. Selektive UT II Rezeptor-Antagonisten befinden sich derzeit in der klinischen Forschung und stellen eventuell einen neuen pharmakologischen Ansatz in der Therapie einiger der genannten Erkrankungen dar (Tsoukas et al., 2011).

2.6 5-Carboxamidotryptamin

5-Carboxamidotryptamin (5-CT) ist strukturell dem Monoamin Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) ähnlich (Abb. 4). Serotonin spielt eine überragende Rolle als Neurotransmitter im zentralen Nervensystem und als Neurotransmitter und Mediator in peripheren Geweben. Die Rolle dieses Monoamins wurde in extenso erforscht. Anders als bei den in den vorigen Abschnitten besprochenen Peptiden sind die grundlegenden Eigenschaften dieses Systems heute Lehrbuchwissen (Baumgarten und Göthert, 1997; Göthert und Diener, 2009), sodass auf eine eingehende Beschreibung an dieser Stelle

verzichtet wird. Hier werden nur drei Aspekte besonders herausgestellt, die im Zusammenhang mit den Experimenten dieser Arbeit von Bedeutung sind. So wird auf die Wirkung von 5-CT an verschiedenen 5-HT-Rezeptor-Subtypen hingewiesen (2.6.1) und das Vorkommen verschiedener 5-HT-Rezeptor-Subtypen als präsynaptische Rezeptoren thematisiert (2.6.2). Ferner werden Parallelen zwischen dem Serotonin- und den drei in dieser Arbeit betrachteten Peptid-Systemen (Orexin, MCH und Urotensin II) herausgearbeitet (2.7).

5-CT wirkt an verschiedenen 5-HT-Rezeptoren wie 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT₅ (Hoyer et al., 1994) und 5-HT₇ (Eglen et al., 1997) als Agonist.

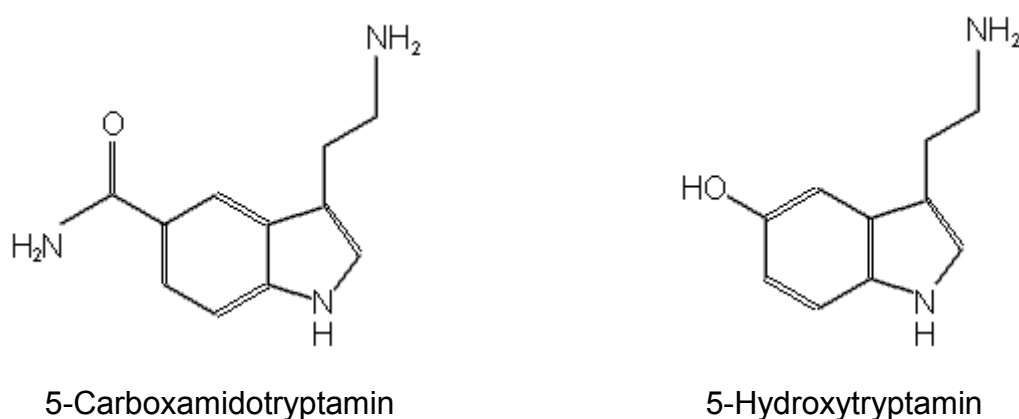


Abb. 4: Strukturformeln von 5-Carboxamidotryptamin und 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) nach Feniuk et al. (1985).

2.6.1 Wirkung von 5-Carboxamidotryptamin an verschiedenen 5-HT-Rezeptor-Subtypen

Für das serotoninerge System ist charakteristisch, dass die Wirkungen über etwa 15 verschiedene Rezeptor-Subtypen vermittelt werden. Fast alle Subtypen sind G-Proteingekoppelt, lediglich der 5-HT₃-Rezeptor gehört zur Familie der ligandengesteuerten Ionenkanäle.

Die Rezeptoraffinität ist in Bezug auf die Subtyp-Präferenz und im Vergleich zu 5-HT beim Menschen und bei der Ratte ähnlich (Tab. 3).

5-HT Rezeptor	5-HT-Affinität (pK _i)		5-CT-Affinität (pK _i)	
	Mensch	Ratte	Mensch	Ratte
5-HT _{1A}	9,7-9,1		10,3-9,4	
5-HT _{1B}	9,0-7,4		8,8-7,7	
5-HT _{1D}	9,0-8,0		9,2-8,6	
5-HT _{1E}	8,2-8,0		5,5-5,1	
5-HT _{1F}	8,0-7,7	7,2	6,1	5,6
5-HT _{2A}	8,4-6,0	6,5-6,0	6,5	
5-HT _{2B}	8,4-7,9	8,0	6,9-6,7	6,8
5-HT _{2C}	8,6-6,8	7,9-6,7	6,7-5,2	
5-HT ₃	6,47			
5-HT ₄	7,0-5,9	8,2-6,7		
5-HT _{5a}	6,9-6,7	6,6	7,7-7,6	7,9
5-HT ₆	7,5-6,8	7,9-6,6	6,1	6,7-5,5
5-HT ₇	9,6-8,1	9,2-8,7	10,0-9,0	9,9-9,5

Tab. 3: Rezeptoraffinität von 5-HT (Serotonin) und 5-CT beim Menschen und bei der Ratte mit K_i (Inhibitionskonstanten) im nanomolaren Bereich nach Andrade et al. (2012); Ito et al. (2000); Richardson und Engel (1986).

2.6.2 Präsynaptische 5-HT-Rezeptoren

Die pharmakologischen Eigenschaften verschiedener präsynaptischer Serotoninrezeptoren wurden bereits ermittelt. So wurde der Autorezeptor in der Ratte als 5-HT_{1B}-Rezeptor identifiziert (Middlemiss, 1984; Engel et al., 1986; Bonanno et al., 1986). Auch der präsynaptische Heterorezeptor sowohl des cholinergen (Maura und Raiteri, 1986) als auch des noradrenergen Systems (Molderings et al., 1987) ist ein 5-HT_{1B}-Rezeptor. Es gibt aber auch präsynaptische Rezeptoren, die anderen Subtypen als dem 5-HT_{1B}-Rezeptor zuzuweisen sind: So ist der präsynaptische Rezeptor mit Hemmwirkung auf die Noradrenalin-Freisetzung in humanen Herzohren ein 5-HT_{1D}-Rezeptor (Schlicker et al., 1997) und der präsynaptische Rezeptor mit inhibierender Wirkung auf die hippocampale Glutamatausschüttung der Maus ist ein 5-HT_{1A}-Rezeptor (Costa et al., 2011).

Für die Untersuchung von präsynaptischen Serotoninrezeptoren ist 5-CT ein wertvolles Pharmakon, da dieser Agonist an mehreren 5-HT-Rezeptor-Subtypen eine höhere Affinität besitzt als Serotonin selbst.

2.7 Parallelen zwischen dem serotoninergen und den drei peptidergen Systemen

Die hier untersuchten drei Peptide und 5-CT beeinflussen –in z.T. gegensätzlicher Weise– vier Grundfunktionen im Organismus. So haben alle Pharmaka eine Wirkung auf den Blutdruck: MCH senkt den mittleren arteriellen Blutdruck (Messina und Overton, 2007), die restlichen Substanzen zeigen eine potentielle hypertensive Wirkung, die beim 5-CT auf die Lungenstrombahn beschränkt ist (Morecroft et al., 1999; Kayaba et al., 2003; Shirasaka et al., 1999; Chan, 1975). Beim Urotensin ist dazu noch eine letale blutdrucksenkende Wirkung bei systemischer Gabe bei narkotisierten Affen (Zhu et al., 2004) und eine endothelabhängige Vasodilatation bekannt (Douglas et al., 2004).

Alle Substanzen beeinflussen ferner die Nahrungsaufnahme. Orexin, MCH und Urotensin haben eine steigernde Wirkung (Matsuo et al., 2011; Qu et al., 1996; Rossi et al., 1997; do Rego et al., 2008). 5-CT hingegen besitzt aufgrund der agonistischen Wirkung an fast allen 5-HT-Rezeptoren eine dazu gegensätzliche Wirkung (Pratt et al., 2009). Sowohl die Hypertonie als auch die erhöhte Nahrungsaufnahme (mit konsekutiver Adipositas und Insulinresistenz) sind wichtige Bestandteile des metabolischen Syndroms.

Eine weitere gemeinsame physiologische Wirkung der Orexine, des Urotensins II und des MCH liegt in der Steuerung der Vigilanz bzw. des Schlaf-Wach-Rhythmus (Hagan et al., 1999; Willie et al., 2001; 2003; Hong et al., 2011; Ono et al., 2008). Auch dem 5-CT kommt u. a. auf Grund der Affinität zum 5-HT₇-Rezeptor eine Bedeutung in der Regulation des Schlafes zu (Thomas et al., 2003).

Schließlich sind der 5-HT_{2A}- (Bönisch et al., 2009) und 5-HT₇-Rezeptor (Sleight et al., 1995), sowie das Orexin-, MCH- und Urotensin-System bei affektiven Störungen beteiligt (Nollet et al., 2011; Lagos et al., 2011; Severinsen et al., 2006; Antal-Zimanyi und Khawaja, 2009; do Rego et al., 2008).

2.8 Fragestellungen

Der vorliegenden Arbeit liegt die Frage nach der präsynaptischen Modulation der Noradrenalin-Ausschüttung durch die drei genannten Peptide und durch 5-Carboxamido-tryptamin in isoliertem Gewebe der Ratte und/oder des Meerschweins zugrunde. Bei den drei Peptiden liegen bisher wenige Informationen zum präsynaptischen Vorkommen ihrer Rezeptoren vor, sodass die Intention war, herauszufinden, ob diese Peptide überhaupt in der Lage sind, die Noradrenalin-Freisetzung zu modulieren. Im Falle des 5-CT ist die Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung in der isolierten Vena cava inferior der Ratte via präsynaptische 5-HT_{1B}-Rezeptoren zwar gut belegt, es sollte aber untersucht werden, ob das Ausmaß der Hemmung („Signal“) in anderen sympathisch innervierten Geweben der Ratte bzw. in entsprechenden Geweben des Meerschweins möglicherweise stärker ausgeprägt ist. Je nach untersuchter Substanz wurden die Versuchsbedingungen so gewählt, dass eher die Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung über einen G_{i/o}-Protein-gekoppelten Rezeptor (MCH, 5-CT) bzw. eher deren Steigerung über einen G_q-Protein-gekoppelten Rezeptor (Orexin, Urotensin II) detektierbar ist.

3. Material und Methoden

3.1 Versuchsanordnung

Männliche Dunkin-Hartley Meerschweine (200-420 g) und männliche Wistar Ratten (115-500 g) wurden dekapitiert. Es wurde die Modulation der Noradrenalin-Ausschüttung an Gewebeschnitten der Aorta, des Atriums, der Milz, der Niere, des Vas deferens und der Vena cava inferior der Ratte und des Meerschweins sowie an zerebralen Cortex-Schnitten der Ratte mit Hilfe der Superfusion untersucht.

Mittels einer Stanze und eines Plexiglasblocks mit eingefräster Vertiefung wurden Cortex-Schnitte mit einem Durchmesser von 3 mm und einer Dicke von 0,3 mm hergestellt. Durch Einsatz eines Skalpell wurden ca. 0,6 mm dicke Ringe der Aorta, der Vena cava inferior und des Vas deferens sowie Würfel der Niere, der Milz und des Atriums mit einer Kantenlänge von ca. 1 mm präpariert. Diese Gewebe wurden dann 60 Minuten lang mit 0,025 μM [^3H]-Noradrenalin (spezifische Aktivität 49,7–56,3 Ci/mmol) bei 37 °C unter ständiger Zufuhr eines Gasmisches (Carbogen) aus 95 % O_2 und 5 % CO_2 in physiologischer Salzlösung (PSL; entspricht modifizierter Krebs-Henseleit-Lösung) inkubiert. Die PSL, die dem menschlichen Blutserum in der Zusammensetzung ähnlich ist, enthielt die in Tab. 4 aufgeführten Komponenten.

NaCl	118	NaHCO_3	25	KCl	4,8
CaCl ₂	1,3 (A)/ 1,95 (B)/ 3,25 (C)	KH_2HPO_4	1,2	MgSO_4	1,2
Glucose	10	Ascorbinsäure	0,06	Na_2EDTA	0,03

Tab. 4: Zusammensetzung der verwendeten physiologischen Salzlösung (mM).
Variationen der CaCl₂-Konzentration: (A)-Inkubationslösung aller Versuche sowie Superfusionslösung von [^3H]-Noradrenalin-vorinkubiertem Rattencortex-Gewebe; (B)-Superfusions-Lösung von [^3H]-Noradrenalin-vorinkubiertem Nierengewebe (nur Versuche von Abb.6); (C)-Superfusionslösung von [^3H]-Noradrenalin-vorinkubierten peripheren Geweben (außer Versuche von Abb. 6)

Die vorinkubierten Gewebeschnitte befanden sich danach in Superfusionskammern auf Polypropylen-Netzen zwischen zwei Platinelektroden; die Superfusion mit PSL erfolgte bei 37 °C mit einem Durchlauf von 0,6 bis 1 ml/min unter kontinuierlicher Begasung mit Carbogen. Ab der 35. bzw. 55. Minute wurden 5-Minuten-Fractionen des Superfusates gesammelt und mit 1,2 Volumenanteilen Lumagel Safe™, einem Szintillationscocktail mit hoher Wasseraufnahmekapazität, gemischt. Unmittelbar nach Versuchsende erfolgte die Auflösung der Gewebestücke in 0,5 ml Soluene™, gefolgt von der Beimischung eines selbst hergestellten Szintillationscocktails mit geringer Wasseraufnahmekapazität (6 mg PPO (Polyphenylenoxid) und 100 µg POPOP (1,4-Bis [2-(5-Phenylloxazolyl)]-Benzol) in 1 ml Toluol). Der Tritiumgehalt der aufgefangenen Superfusatproben sowie der aufgelösten Gewebestücke wurde im Anschluss durch einen Flüssigkeitsszintillationszähler (Beckman LS 6000 TA) bestimmt.

Bei den Superfusionsexperimenten waren als Hilfspharmaka Desipramin, Rauwolscin und/oder Tetraethylammoniumchlorid (320 µM) im Superfusionsmedium enthalten. Einzelheiten werden jeweils im ersten Absatz der Abschnitte 4.2 bis 4.5 erläutert. Die zu untersuchenden Substanzen waren im Superfusionsmedium ab der 62. min. enthalten.

Die Tritiumabgabe wurde während zwei 2-minütiger Perioden (S_1 ; S_2) durch Rechteckimpulse stimuliert. Der Zeitpunkt der Stimulationsperioden lag bei allen Versuchen bei 40 (S_1) und 90 (S_2) Minuten, die Stimulationsparameter waren in der Regel (3 Hz, 200 mA, 2 ms) und in den Versuchen an Cortex-Schnitten 0,3 Hz, 50 mA, 2 ms.

3.2 Berechnungen und Statistik

3.2.1 Berechnung der basalen und stimulierten Tritiumfreisetzung

Der Tritiumgehalt wurde durch Flüssigkeitsszintillationsmessung bestimmt. Die Tritiumabgabe (Efflux) wurde berechnet als Anteil des Tritiums, das zu Beginn der einzelnen 5-Minuten-Sammelperioden im Schnitt vorhanden war (fraktionelle Tritiumeffluxrate). Die spontane, ohne Stimulation gemessene Tritiumfreisetzung (basaler Efflux), wurde durch

Bildung des Quotienten aus den fraktionellen Effluxraten zwischen der 85. und 90. Minute (B_2) und der zwischen der 55. und 60. Minute (B_1) bestimmt.

Aus der Differenz zwischen der basalen und der totalen Tritiumabgabe während der Stimulation und den folgenden 13 Minuten ergab sich die stimulierte Tritiumfreisetzung. Hierbei wurde angenommen, dass die basale Tritiumabgabe von der Fraktion vor dem Reiz bis zur Fraktion 15-20 Minuten nach dem Reiz linear abnimmt. Zur Quantifizierung der Pharmakoneffekte auf den stimulierten Tritiumefflux wurde der Quotient aus der durch Reiz 2 (S_2) und der durch Reiz 1 (S_1) stimulierten Abgabe gebildet und mit dem entsprechenden Quotienten der Kontrollen verglichen.

3.2.2 Statistik

Die Ergebnisse sind angegeben als Mittelwerte \pm Standardabweichung des Mittelwertes (SEM) aus n Experimenten. Hierbei errechnet sich SEM aus dem Quotienten der Standardabweichung und der Wurzel aus der Versuchsanzahl: $SEM = \sigma n^{-1/\sqrt{n}}$; mit σ^{-1} = Standardabweichung und n = Anzahl der Versuche. Der Student-t-Test bei unverbundenen Stichproben diente dem Vergleich der Mittelwerte. Beim Vergleich von zwei oder mehreren Versuchswerten mit der gleichen Kontrolle wurde der t-Test der Bonferroni-Korrektur unterzogen.

3.3 Verwendete Substanzen

- R(-)-(Ring-2,5,6- ^3H)-Noradrenalin NEN, Zaventem, Belgien
(spezifische Aktivität 49,7-56,3 Ci/mmol)
- 5-Carboxamidotryptamin Tocris, England, U.K.
- Melanin-concentrating Hormone (MCH) NeoMPS S.A., Strasbourg, Frankreich
(Ratte, Mensch, Maus)
- Orexin-B (Ratte, Maus) NeoMPS S.A., Strasbourg, Frankreich
- Urotensin II (Mensch [3]) NeoMPS S.A., Strasbourg, Frankreich
- Angiotensin-II-Acetat Bachem Biochemica, Heidelberg, Deutschland

- Desipraminhydrochlorid Ciba-Geigy, Wehr, Deutschland
- Rauwolscinhydrochlorid Roth, Karlsruhe, Deutschland
- Tetraethylammoniumchlorid Sigma-Aldrich, St.Louis,MO, U.S.A.
- Tetrodotoxin (TTX) Sigma, München, Deutschland
- Oxotremorinsesquifumarat Sigma, München, Deutschland
- Procaterolhydrochlorid Grünenthal, Aachen, Deutschland
- Lumagel Safe Lumac*LSC B.V., Groningen, Niederlande
- Soluene™ 6003038 Packard, Meriden, CT, U.S.A.

Stammlösungen der Pharmaka wurden mit Wasser hergestellt und mit dem Superfusionsmedium bis zur benötigten Konzentration verdünnt.

3.4 Verwendete Geräte und Materialien

- Analysenwaage *Sartorius* 2004 MP 6 Göttingen, Deutschland
- Flüssigkeitsszintillationszähler *Beckman* LS 6000 TA Fullerton, CA, U.S.A.
- Laborwaage *Sartorius* 1610 Göttingen, Deutschland
- Magnetrührer *IKA* RH 464995 Staufen i. Br., Deutschland
- Mikroliterpipette *Eppendorf* Nr. 4780 Hamburg, Deutschland
- Mini Poly-Q-Vials *Beckman* Nr. 59292 München, Deutschland
- Pipettenspitzen *Eppendorf* Nr. 0030063.619 und 627 Hamburg, Deutschland
- Stimulator *Hugo Sachs* 125/T March-Hugstetten, Deutschland
- Superfusionsanlage Eigenbau der Werkstatt des Pharmakologischen Instituts der Universität Bonn
- Thermostat *Eppendorf* Hamburg, Deutschland
- Wasserbad *GFL* 1003 Burgwedel, Deutschland

4. Ergebnisse

4.1 Tritiumaufnahme und –freisetzung unter Kontrollbedingungen

In der vorliegenden Arbeit wurden Präparationen verschiedener Gewebe des Meerschweins und der Ratte mit [^3H]-Noradrenalin vorinkubiert; anschließend wurde mithilfe der elektrischen Stimulation eine quasi-physiologische Noradrenalin-Freisetzung induziert.

Tabelle 5 zeigt den basalen Tritiumefflux (B_1), die durch elektrische Stimulation induzierte [^3H]-Noradrenalin-Abgabe (S_1) und die nach Ende des Superfusionsversuchs noch in den Präparaten befindliche Tritiummenge. Die in den einzelnen Geweben erzielten Werte wurden für die beiden Spezies Meerschwein und Ratte getrennt mit den entsprechenden Werten in der Vena cava inferior verglichen, da dieses Gewebe in der Vergangenheit besonders intensiv in ähnlichen Experimenten untersucht wurde.

Bei beiden Spezies war der basale Tritiumefflux (B_1) weitgehend unabhängig vom untersuchten Gewebe und zeigte nur in Präparaten der Niere einen wesentlich höheren Wert (Tab. 5). Die elektrisch stimulierte [^3H]-Noradrenalin-Abgabe (S_1) zeigte bei beiden Spezies in der Vena cava inferior einen besonders hohen Wert. In drei Geweben, nämlich im Atrium, in der Niere und im Vas deferens fiel dieser Wert bei beiden Spezies niedriger aus als in der Vena cava inferior; in den anderen untersuchten Geweben war der Wert der Tendenz nach ebenfalls niedriger als in der Vena cava inferior, ein statistisch signifikanter Unterschied ließ sich allerdings nicht ermitteln (Tab. 5). Hinsichtlich des Gewebetritiums am Ende der Versuche zeigte sich bei beiden Spezies ein wesentlich niedrigerer Wert in der Niere und ein wesentlich höherer Wert im Vas deferens und nur beim Meerschwein auch ein wesentlich höherer Wert im Atrium. Besonders auffällig ist, dass das Gewebetritium in der Aorta der Ratte nur etwa ein Fünftel des entsprechenden Wertes in der Vena cava inferior annahm. Ansonsten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Tab. 5).

Meerschwein	Gewebstritium am Versuchsende (dpm)	S₁ (% des Gewebstritiums)	B₁ (% des Gewebstritiums/ min)
Aorta	44500 ± 3200	7,45 ± 0,98	0,22 ± 0,02
Atrium	69300 ± 5600 **	4,65 ± 0,49 **	0,15 ± 0,01
Milz	39800 ± 2600	7,57 ± 1,02	0,18 ± 0,01
Niere	21600 ± 2000 **	4,65 ± 0,61 ***	0,34 ± 0,04 **
Vas deferens	80300 ± 8100 ***	4,66 ± 0,49 **	0,10 ± 0,01
Vena cava inf.	43700 ± 3000	9,90 ± 0,48	0,20 ± 0,02
Ratte	Gewebstritium am Versuchsende (dpm)	S₁ (% des Gewebstritiums)	B₁ (% des Gewebstritiums/ min)
Aorta	9700 ± 671 ***	5,32 ± 0,94	0,26 ± 0,01
Atrium	34300 ± 2500	3,31 ± 0,29 ***	0,19 ± 0,01
Milz	54800 ± 2800	5,16 ± 0,42	0,23 ± 0,01
Niere	25300 ± 1100 ***	4,07 ± 0,40 **	0,34 ± 0,01 ***
Vas deferens	95200 ± 6700 ***	3,12 ± 0,17 ***	0,19 ± 0,03
Vena cava inf.	53100 ± 6000	7,28 ± 1,06	0,18 ± 0,02
Cortex	52100 ± 2400	5,23 ± 0,23	0,22 ± 0,01

Tab. 5: Akkumuliertes Gewebstritium am Versuchsende, S₁- und B₁-Werte des Meerschweins und der Ratte. Mittelwerte ± SEM von 16 (Meerschwein) bzw. 21 (Ratte) Versuchen; * P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,005 verglichen mit der Vena cava inferior (inf.). dpm: disintegrations per minute (radioaktive Zerfälle pro Minute)

Der S₁-Wert repräsentiert die durch die erste elektrische Stimulationsperiode (nach 40-42 min) freigesetzte [³H]-Noradrenalin-Menge. Der B₁-Wert bezieht sich auf die Tritiumabgabe in der Sammelperiode von der 55. bis 60. min. Zu beachten ist, dass Reizfrequenz und Ca²⁺-Konzentration (3,25 mM) bei den peripheren Geweben höher waren als beim Cortex (0,3 Hz bzw. 1,3 mM).

In den folgenden Abschnitten (4.2 bis 4.5) werden die Wirkungen von vier Testsubstanzen auf die elektrisch stimulierte [³H]-Noradrenalin-Abgabe im Einzelnen beschrieben. Da die elektrisch stimulierte durch die basale Tritiumabgabe verfälscht werden kann, wurde vorab untersucht, ob die Testsubstanzen einen Effekt auf die basale Tritiumabgabe (B₂/B₁) aufweisen. Dies war jedoch unter keiner der Testsubstanzen der Fall. In Tabelle 6 ist dies im Einzelnen für 5-Carboxamidotryptamin

angegeben, das in sechs Geweben des Meerschweins und der Ratte untersucht wurde. Auch die drei anderen untersuchten Substanzen, nämlich Orexin-B, Melanin-concentrating Hormone und Urotensin II waren ohne Einfluss auf die basale Tritiumabgabe. Auf die Wiedergabe der Werte, die jenen von Tabelle 6 ähnlich sind, wurde verzichtet.

	Meerschwein		Ratte	
	0	5-CT 1 μ M	0	5-CT 1 μ M
Aorta	0,70 \pm 0,03	0,68 \pm 0,06	0,81 \pm 0,04	0,77 \pm 0,05
Atrium	0,75 \pm 0,02	0,76 \pm 0,02	0,79 \pm 0,05	0,70 \pm 0,03
Milz	0,71 \pm 0,03	0,71 \pm 0,03	0,74 \pm 0,03	0,72 \pm 0,03
Niere	0,60 \pm 0,02	0,60 \pm 0,02	0,53 \pm 0,01	0,55 \pm 0,02
Vas deferens	0,77 \pm 0,03	0,72 \pm 0,03	0,79 \pm 0,02	0,77 \pm 0,02
Vena cava inf.	0,65 \pm 0,04	0,60 \pm 0,03	0,71 \pm 0,02	0,74 \pm 0,06

Tab. 6: Basaler Tritiumefflux (B_2/B_1) mit und ohne 5-CT-Gabe beim Meerschwein und bei der Ratte. Mittelwerte \pm SEM von 16 (Meerschwein) bzw. 12 (Ratte) Versuchen.

4.2 Versuche mit Orexin-B

In der Versuchsreihe mit Orexin-B wurden Präparate der Rattenniere 60 min mit [3 H]-Noradrenalin inkubiert und mit physiologischer Salzlösung mit einer Calciumkonzentration von 3,25 mM und den Hilfspharmaka Desipramin und Tetraethylammonium (TEA) superfundiert. Darüber hinaus wurde eine zweite Versuchsreihe mit einer erniedrigten Calciumkonzentration (1,95 mM) durchgeführt. Der erste Reiz (zur Detektion von S_1) erfolgte von der 40. bis 42. Minute. Orexin-B kam ab der 62. min hinzu, so dass der zweite Reiz (zur Detektion von S_2) von der 90. bis 92. min in Anwesenheit von Orexin-B stattfand. Es wurden Rechteckimpulse von 200 mA bei einer Frequenz von 3 Hz verabfolgt. Rauwolscin und Angiotensin II dienten bei beiden Versuchsreihen als Kontrollsubstanzen, die beide eine Vermehrung der elektrisch stimulierten Noradrenalin-Abgabe bewirkten. Um eine Hemmung der Ausschüttung -und so die Auslenkung des Systems in beide Richtungen- zu demonstrieren, wurden Noradrenalin selber und

Oxotremorin, welche die Noradrenalin-Freisetzung bekanntermaßen hemmen (Fozard und Muscholl, 1972; Schultheiß, 2005), als weitere Kontrollsubstanzen gewählt.

Alle Wirkungen der Kontrollsubstanzen erreichten ein signifikantes Niveau, wohingegen alle untersuchten Konzentrationen von Orexin-B dieses nicht erreichten. Die höchste Konzentration von Orexin-B deutete zwar eine Steigerung des Effluxes an, die jedoch durch den hohen Standardfehler des Mittelwertes (SEM) wieder relativiert wurde und folglich ebenfalls insignifikant blieb (Abb. 5).

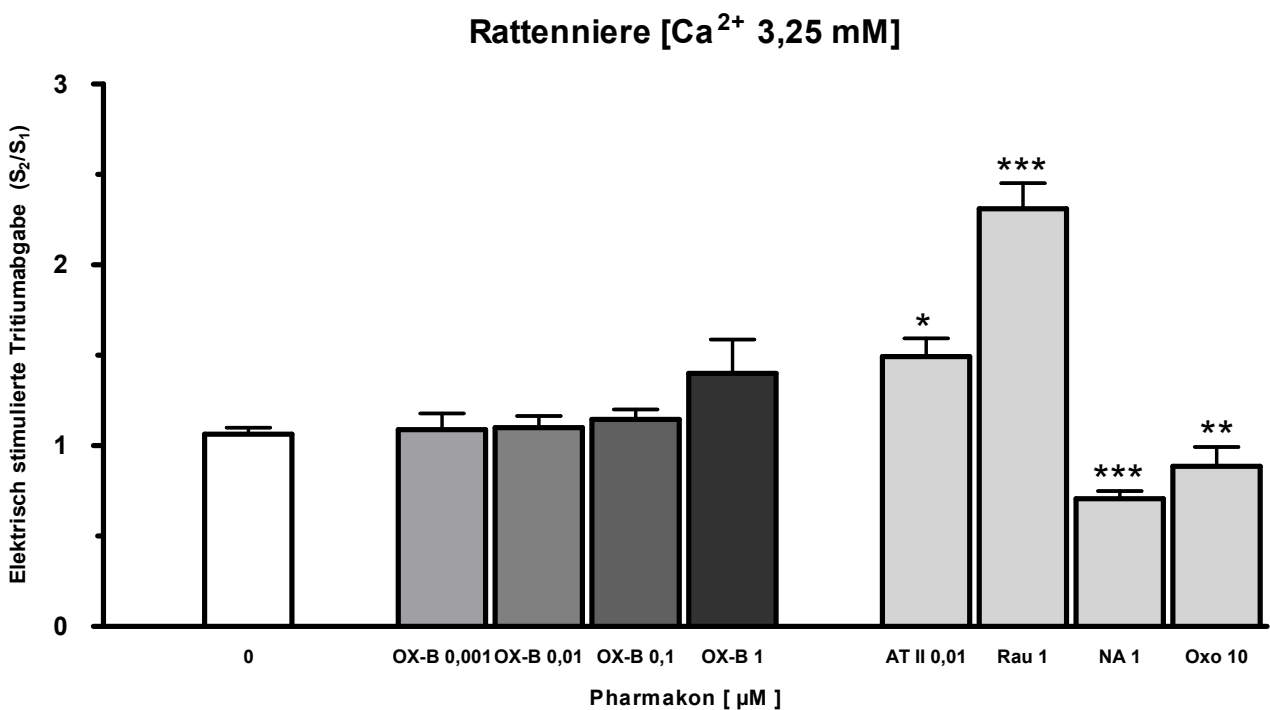


Abb. 5: Effekt von Orexin-B (OX-B) auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Rattenniere bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 3,25 mM. Mittelwerte \pm SEM von 3-8 Experimenten; * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (im Vergleich zur Kontrolle). AT II-Angiotensin II; Rau-Rauwolscin; NA-Noradrenalin; Oxo-Oxotremorin

Die Erniedrigung der Calciumkonzentration im Superfusionsmedium auf 1,95 mM bewirkte eine Erhöhung der Signifikanz der Wirkung von Angiotensin (auf $P < 0,001$) und eine Erniedrigung derselben bei den Oxotremorin-Werten (auf $P < 0,05$). Es traten jedoch keine wesentlichen Veränderungen bezüglich der Wirkung des Orexins auf (Abb. 6).

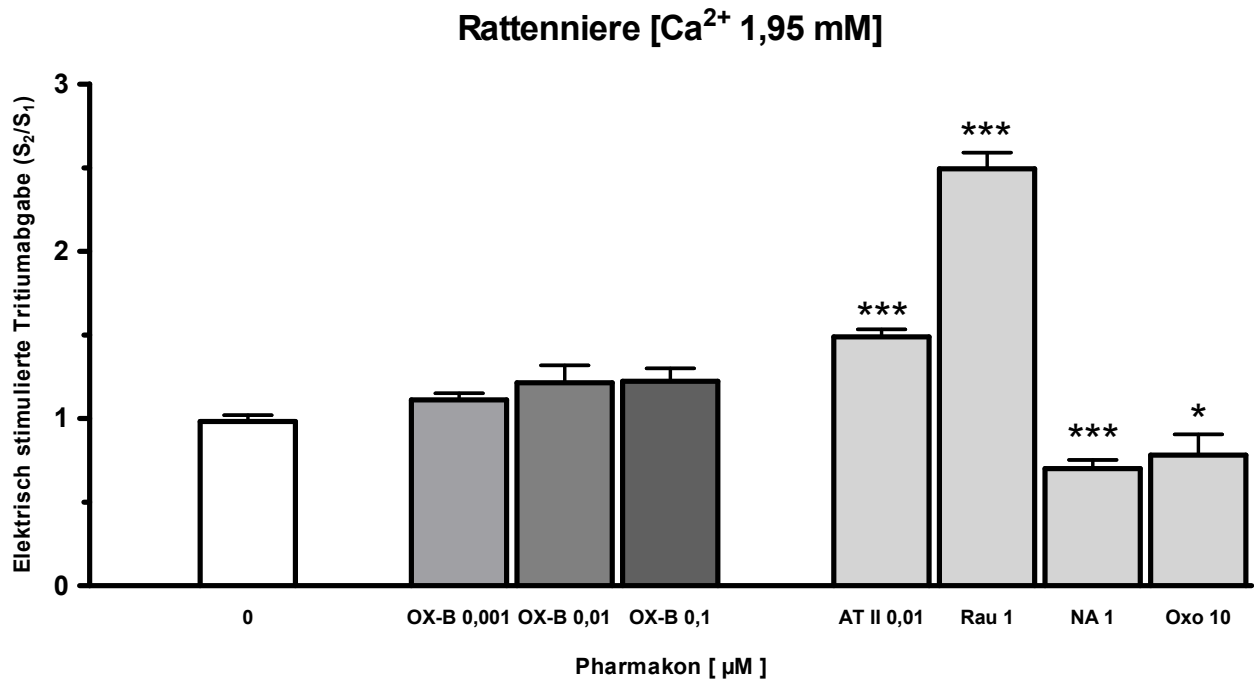


Abb. 6: Effekt von Orexin-B (OX-B) auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin- Abgabe in der Rattenniere bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 1,95 mM. Mittelwerte \pm SEM von 3-24 Experimenten; * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (im Vergleich zur Kontrolle). AT II- Angiotensin II; Rau-Rauwolscin; NA-Noradrenalin; Oxo-Oxotremorin

Auch bei der grafischen Darstellung der fraktionellen Tritiumabgabe pro Minute ergibt sich bei der höchsten Orexin-B-Konzentration (1 μM) und hoher Calciumkonzentration (3,25 mM) kein Unterschied zur Kontrolle (Abb. 7). Demnach konnte an der Rattenniere weder bei der hohen noch bei der niedrigeren Calciumkonzentration eine signifikante präsynaptische Modulation der Noradrenalin-Ausschüttung durch Orexin-B gezeigt werden.

Rattenniere

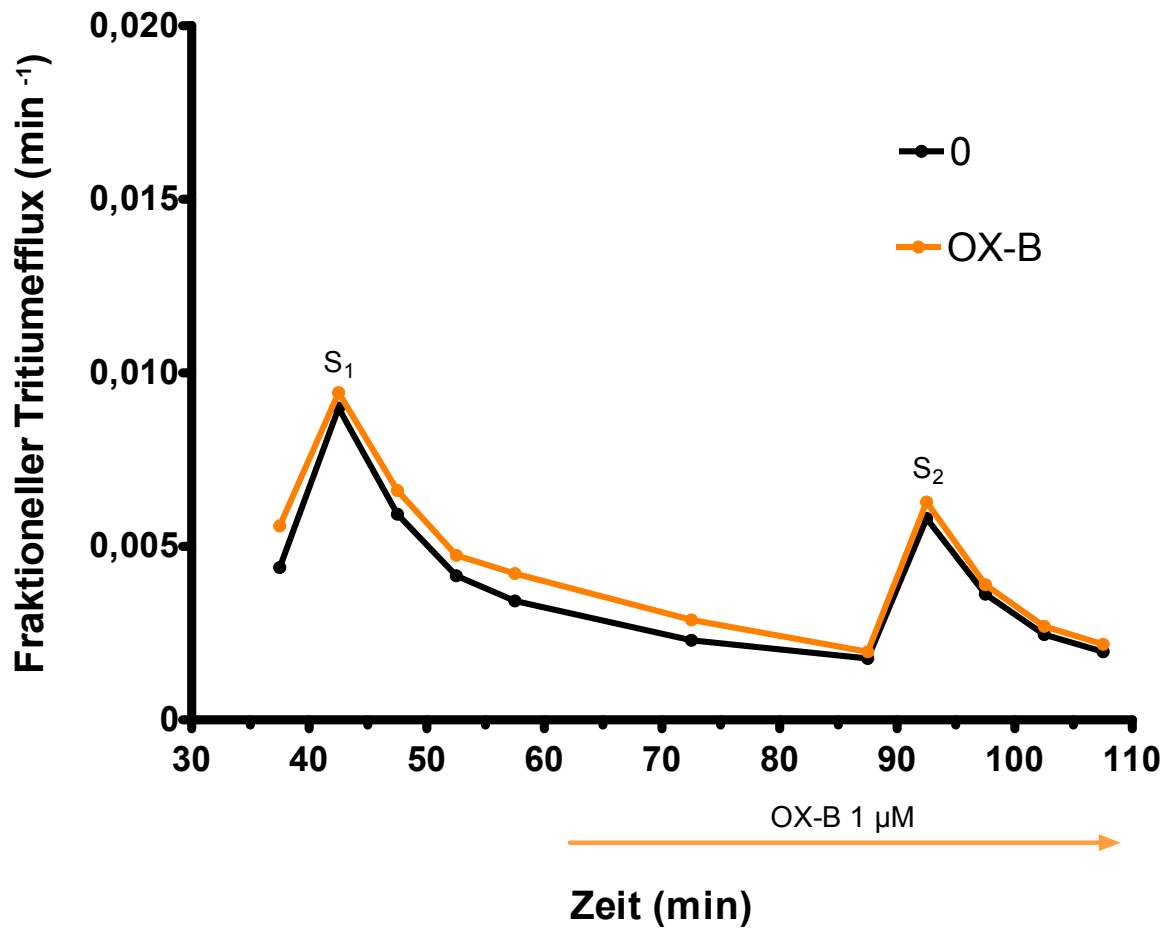


Abb. 7: Zeitlicher Verlauf des Effekts von Orexin-B auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Rattenniere bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 3,25 mM. Mittelwerte von 5 (bei den Kontrollen 18) Experimenten. SEM ist nicht dargestellt. S₁-Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 1; S₂-Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 2

4.3 Versuche mit Melanin-concentrating Hormone

Für die Versuche mit dem Melanin-konzentrierenden Hormon (MCH) am Rattencortex wurden folgende Reizbedingungen gewählt: 50 mA und 0,3 Hz für 2 Minuten bei Minute 40 und 90. Desipramin und Rauwolscin waren als Hilfspharmaka vom Versuchsbeginn an in der Superfusionslösung. Als Kontrollsubstanz mit bekannter präsynaptischer Hemmwirkung auf die Noradrenalin-Ausschüttung noradrenerger Neurone wurde hier

Histamin gewählt (Schlicker et al., 1989).

MCH erreichte bei keiner der untersuchten Konzentrationen (0,01 μM , 0,1 μM und 1 μM) eine signifikante inhibierende Wirkung auf die Noradrenalin-Ausschüttung. Beim Histamin hingegen zeigte sich bei einer Konzentration von 10 μM die erwartete Hemmwirkung auf Signifikanzniveau (Abb. 8).

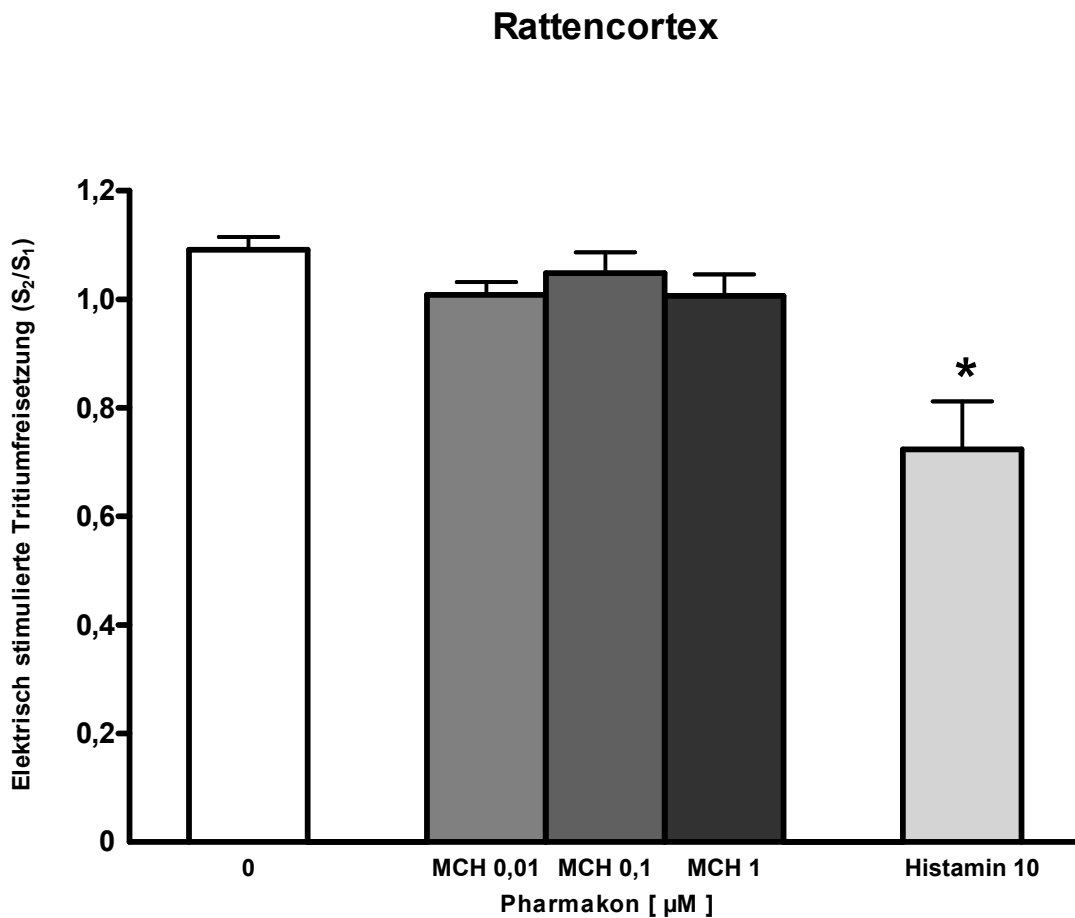


Abb. 8: Effekt von MCH auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe im Rattencortex. Mittelwerte \pm SEM von 3-5 Experimenten; * $P < 0,05$ (im Vergleich zur Kontrolle)

Auch bei der Darstellung des zeitlichen Verlaufs der fraktionellen Tritiumabgabe pro Minute auf der Y-Achse und der Zeit auf der X-Achse ist keine modulierende Wirkung von MCH auf den Noradrenalin-Efflux zu erkennen (Abb. 9).

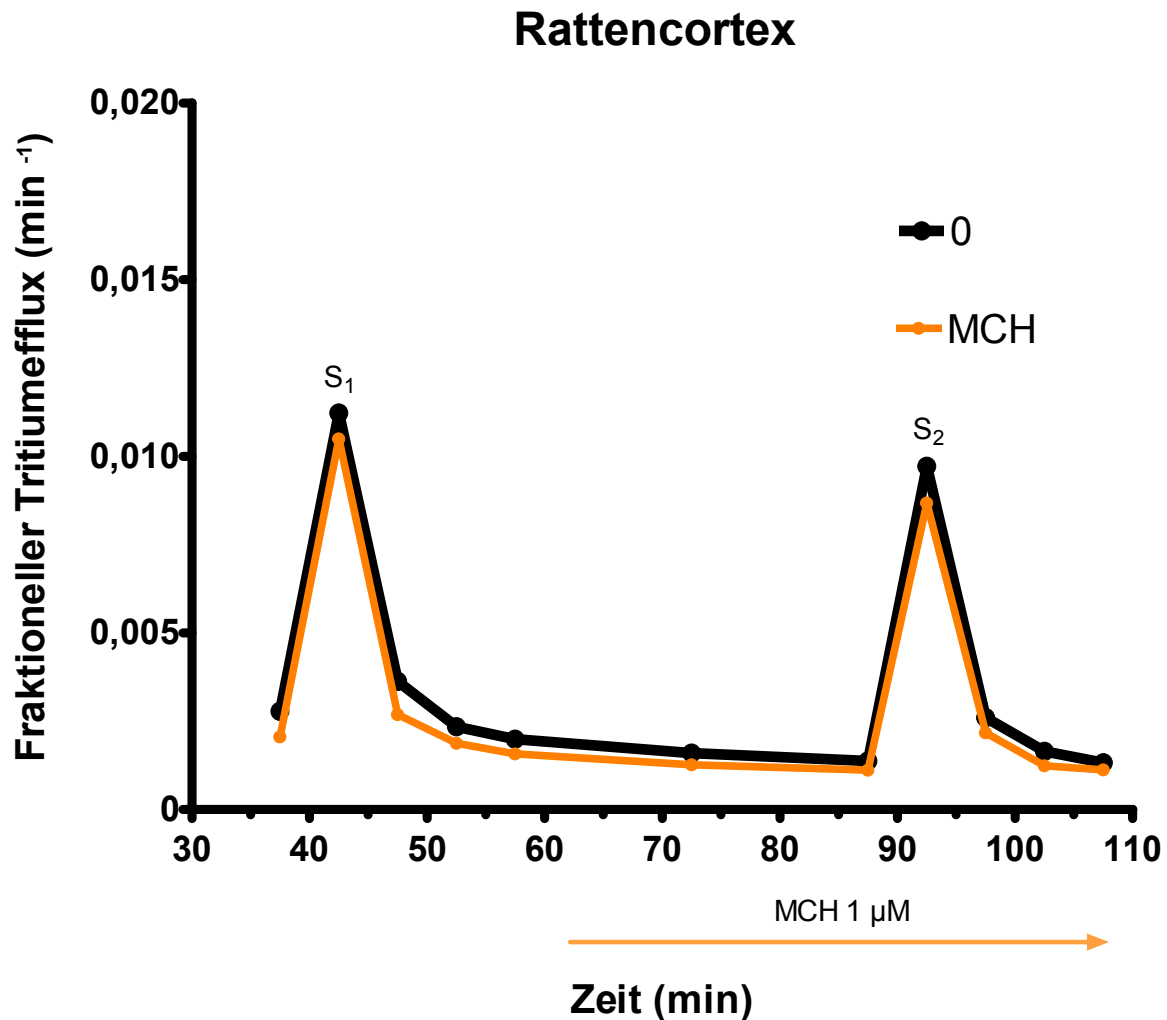


Abb. 9: Zeitlicher Verlauf des Effekts von MCH auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe im Cortex der Ratte. Mittelwerte von 3 (bei den Kontrollen 5) Experimenten. SEM ist nicht dargestellt. S₁-Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 1; S₂-Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 2

Die hemmende Wirkung des Histamins (Abb. 8) wurde in einer anderen Versuchsreihe von dem EP₃-Rezeptor-Agonisten Sulproston noch bei weitem übertroffen. Schon Konzentrationen von 0,01 μM, 0,1 μM und 1 μM Sulproston entfalteten ihre potente Hemmwirkung mit sehr hoher Signifikanz ($p < 0,001$), so dass auch hier eine gute Auslenkung des Systems gezeigt werden konnte (Abb. 10).

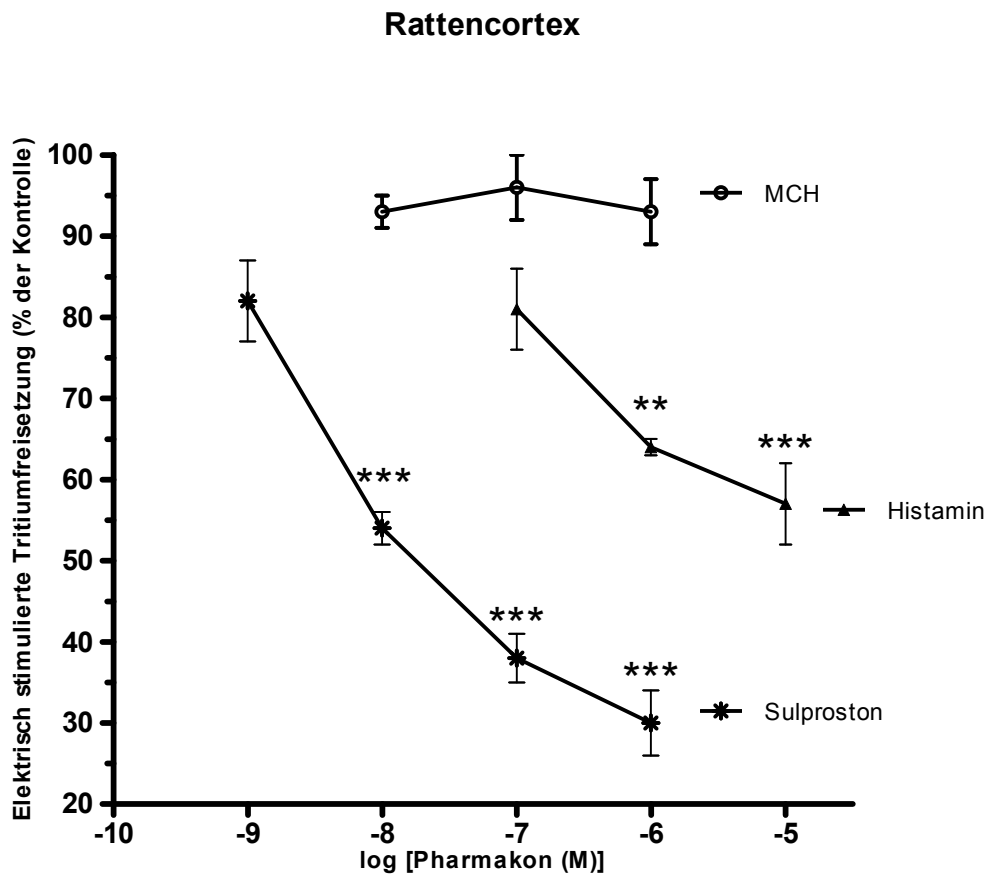


Abb. 10: Effekt von MCH auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe am Cortex der Ratte im Vergleich zu Histamin und Sulproston. Mittelwerte von 3-5 Experimenten; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (im Vergleich zur Kontrolle, nicht gezeigt)

4.4 Versuche mit Urotensin II

Die Versuchsanordnung der Urotensin II-Versuche an der Rattenniere entspricht exakt derjenigen der Orexin-Versuche (TEA und Desipramin als Hilfspharmaka) mit der Ausnahme, dass in keiner Versuchsreihe mit niedrigerer Calciumkonzentration, sondern nur mit einer Konzentration von 3,25 mM gearbeitet wurde.

Um die Auslenkbarkeit des Versuchssystems zu demonstrieren, wurden hier Angiotensin II und Noradrenalin selber eingesetzt, von denen bekannt ist, dass sie den Noradrenalin-Efflux steigern bzw. hemmen. Die Modulation durch diese beiden Kontrollsubstanzen wurde -wie erwartet- signifikant. Alle untersuchten Urotensin II-Konzentrationen zeigten dagegen keine Wirkung auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe (Abb. 11).

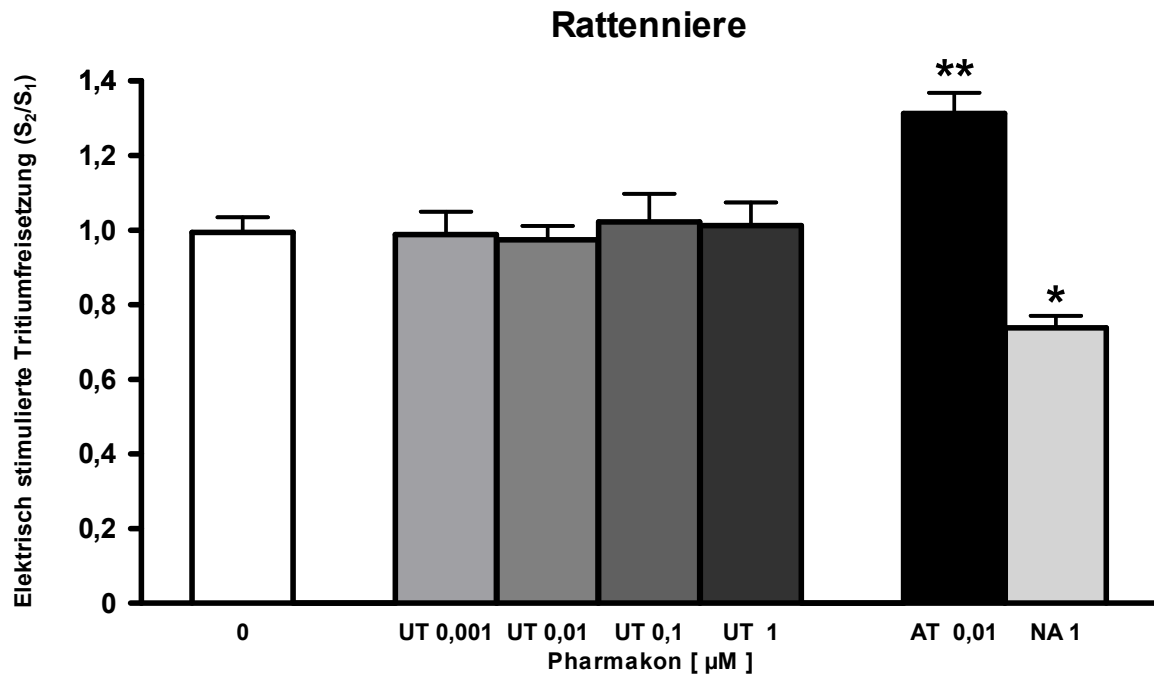


Abb. 11: Effekt von Urotensin II (UT) auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Niere der Ratte. Mittelwerte \pm SEM von jeweils 5 Experimenten; * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (im Vergleich zur Kontrolle). UT-Urotensin II; AT-Angiotensin II; NA-Noradrenalin

Es wurden Konzentrationen von 0,001-1 μM untersucht. Beim Angiotensin II wurde wie bei den Versuchen mit Orexin eine Konzentration von 0,01 μM und beim Noradrenalin eine Konzentration von 1 μM eingesetzt (Abb. 11). Die S_2/S_1 -Werte der Urotensin-Versuche blieben allesamt insignifikant und zeigten auch keine konzentrationsabhängige Tendenz zu einer Modulation der Noradrenalin-Ausschüttung.

Bei der Darstellung der fraktionellen Tritiumabgabe pro Minute ist im Verlauf des Versuchs und besonders im Vergleich beider Reize ebenfalls kein Effekt von Urotensin II zu verzeichnen (Abb. 12).

Rattenniere

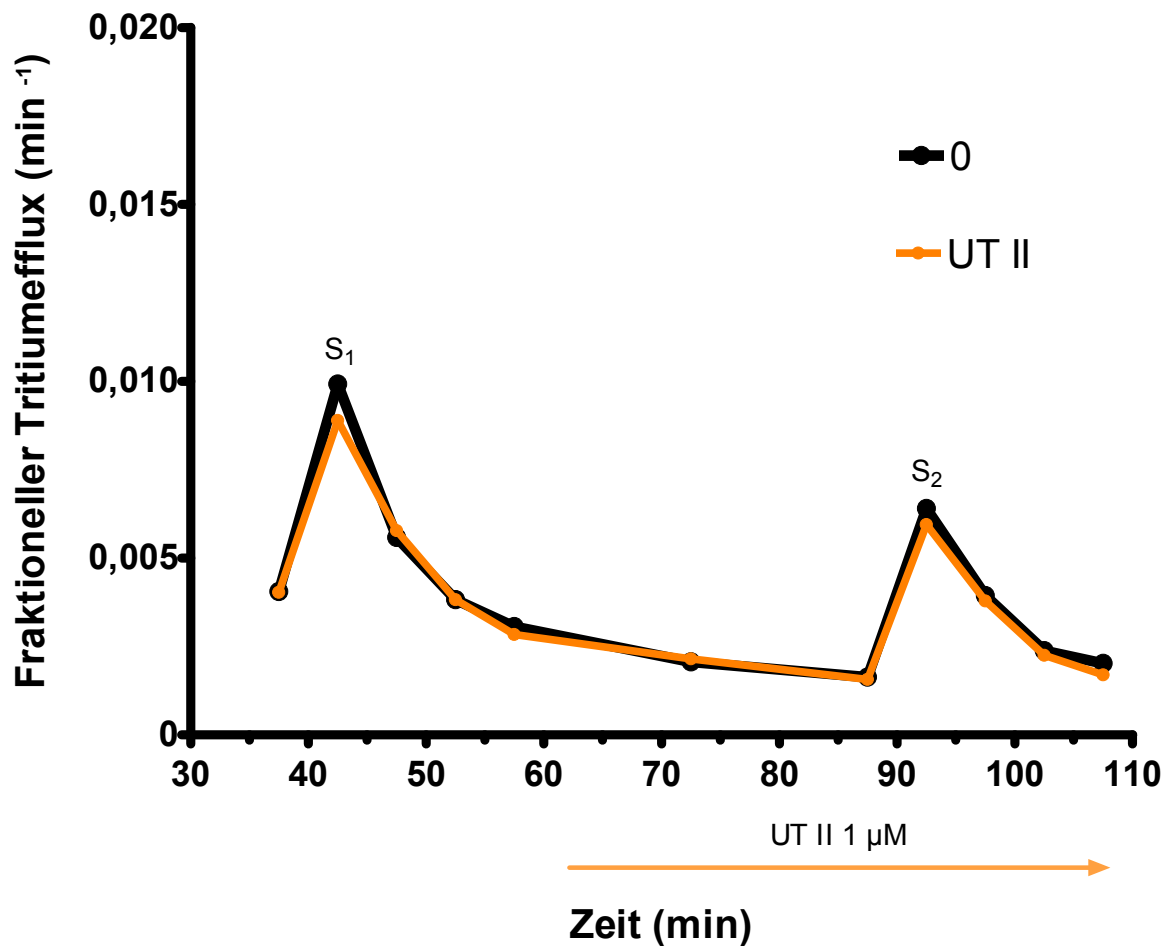


Abb. 12: Zeitlicher Verlauf des Effekts von Urotensin II (UT) auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Niere der Ratte. Mittelwerte von 5 (bei den Kontrollen 6) Experimenten. SEM ist nicht dargestellt. S₁-Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 1; S₂-Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 2

4.5 Versuche mit 5-Carboxamidotryptamin

Die Versuchsbedingungen waren wie für Urotensin II besprochen. Allerdings wurde Rauwolscin anstelle von TEA als Hilfspharmakon verwendet.

Bei den Versuchen mit Präparaten von peripheren Geweben der Ratte trat zwar bei allen Geweben eine diskrete Hemmung auf, signifikant wurde sie jedoch nur bei der Vena cava inferior (Abb. 13)

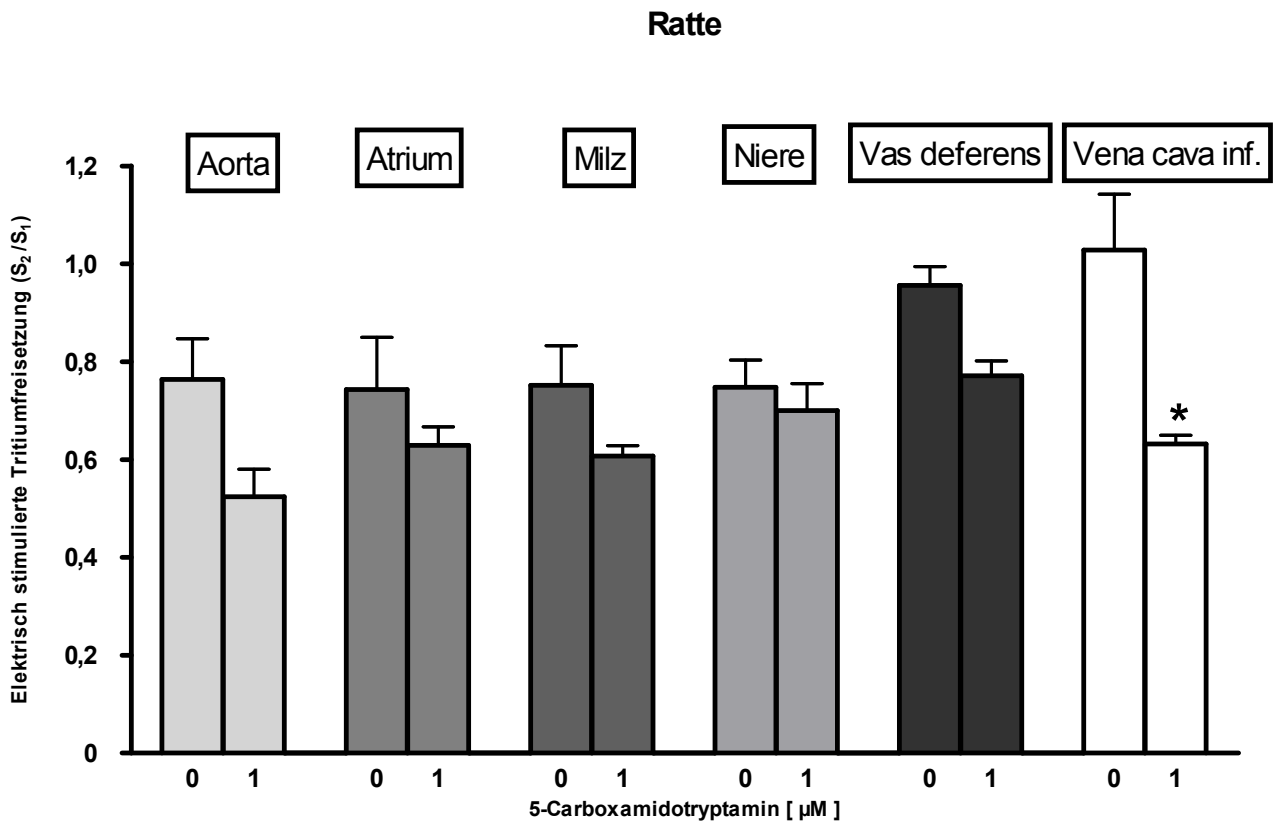


Abb. 13: Effekt von 5-Carboxamidotryptamin auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in Präparaten verschiedener peripherer Gewebe der Ratte. Mittelwerte \pm SEM von 3-7 Experimenten; *P<0,05 (im Vergleich zur Kontrolle)

Bei den Versuchen am Meerschwein unter gleichen Bedingungen wie denen an der Ratte bewirkte 5-Carboxamidotryptamin der Tendenz nach ebenfalls an allen Geweben eine Hemmung, die außer an der Vena cava inferior auch noch an der Aorta und an der Niere signifikant wurde (Abb. 14).

Meerschwein

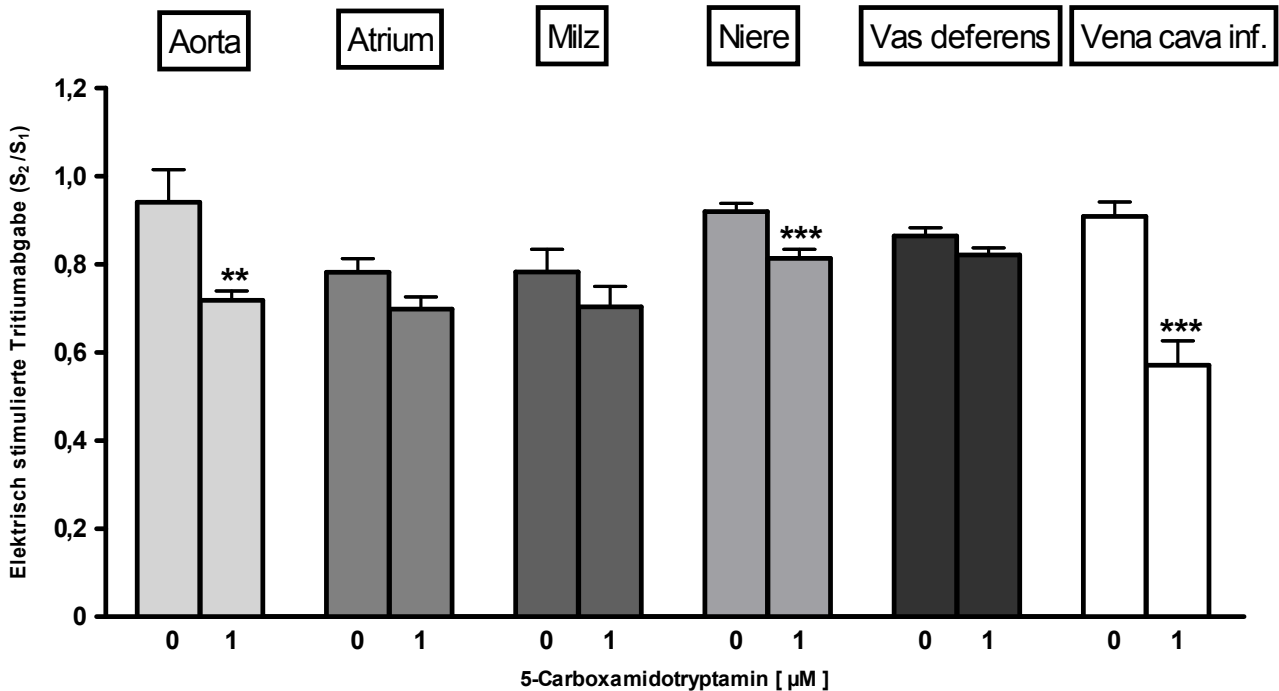


Abb. 14: Effekt von 5-Carboxamidotryptamin auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in Präparaten verschiedener peripherer Gewebe des Meerschweins. Mittelwerte \pm SEM von 5-8 Experimenten; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (im Vergleich zur Kontrolle)

Danach wurde die Vena cava inferior des Meerschweins isoliert betrachtet. Bei einer Konzentration von 1 μM ist eine signifikante Hemmung der Noradrenalin-Ausschüttung in Anwesenheit von 5-CT beim zweiten Reiz (S_2) im Vergleich zum ersten (S_1) zu sehen. Der Vergleich beider Reize unter Kontrollbedingungen (0) erreichte dagegen das Signifikanzniveau nicht, obwohl auch hier der Noradrenalin-Efflux in der Tendenz nach dem zweiten Reiz schwächer ausfiel als nach dem ersten Reiz (Abb. 15).

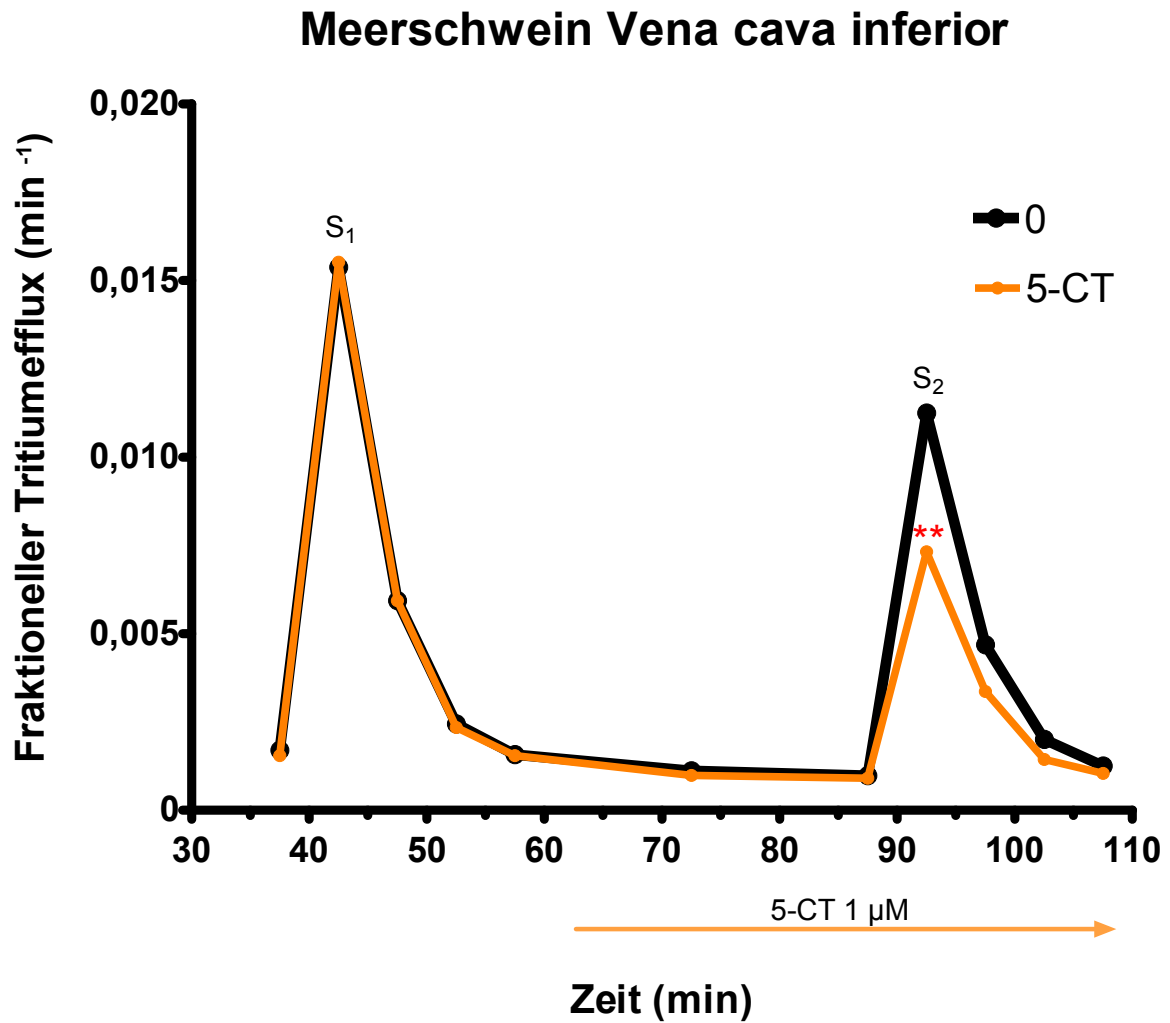


Abb. 15: Zeitlicher Verlauf des Effekts von 5-Carboxamidotryptamin (5-CT) auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Vena cava inferior des Meerschweins. Mittelwerte von 5 Experimenten; ** $P < 0,01$ (im Vergleich zum S_1 -Wert). SEM ist nicht dargestellt. S_1 -Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 1; S_2 -Tritiumefflux nach Stimulationsreiz 2

5. Diskussion

5.1 Beurteilung der Versuchsbedingungen

Die Superfusion, bei der Gewebepräparate mit physiologischer Salzlösung umspült werden, ist eine lange etablierte Methode (Finkleman, 1930; Gaddum 1953). Der Einsatz der Superfusion zur Erforschung der Neurotransmitterfreisetzung und entsprechender präsynaptisch modulierender Pharmaka begann in den 1970er Jahren (Starke, 1977; Starke et. al., 1989).

Um das noradrenerge System und die modulierenden präsynaptischen Rezeptoren untersuchen zu können, fand eine Vorinkubation der Gewebeschnitte mit tritiummarkiertem Noradrenalin statt. Das [³H]-Noradrenalin wird über den Noradrenalin-Transporter (NAT) in die Neuronen aufgenommen und gelangt in die entsprechenden Speichervesikel. Bei einem Stimulus (hier durch elektrische Feldstimulation) und einem darauf folgenden Aktionspotential kommt es zur Noradrenalin-Freisetzung. Die Speichervesikel werden Ca²⁺-abhängig entleert. Das [³H]-Noradrenalin befindet sich danach in der Superfusionslösung, deren Tritiumgehalt mittels Flüssigkeitsszintillationsmessung detektiert wird. Somit ist ein Rückschluss auf den elektrisch evozierten Noradrenalin-Efflux möglich. Wegen der vollständigen Unterdrückung der Freisetzung sowohl durch Ca²⁺-Entzug als auch durch Blockade der spannungsabhängigen Natriumkanäle durch Tetrodotoxin (TTX) ist von einer quasi-physiologischen Noradrenalin-Freisetzung auszugehen (Narahashi et al., 1964; Blaustein et al., 1972; Feuerstein et al., 1990; Göthert und Schlicker, 1991; Goldbach et al., 1998; Narahashi, 2008). Die Frequenz der elektrischen Stimulation soll möglichst gering gehalten werden, weil bei hohen Reizfrequenzen zwar die Transmitterfreisetzung steigt, deren Modulierbarkeit jedoch abnimmt (Starke, 1977). Leider konnte nur bei den Versuchen am Rattencortex eine niedrige Frequenz gewählt werden (0,3 Hz), während die Experimente an den peripheren Geweben wegen des niedrigen Niveaus der Noradrenalin-Freisetzung eine höhere Frequenz erforderten (3 Hz).

Die Wiederaufnahme in die präsynaptische Nervenendigung ist im Falle des Noradrenalins der bedeutendste Weg der Beseitigung aus dem Extrazellularraum. Um

diesen Na⁺-Kotransporter zu hemmen und so eine möglichst hohe [³H]-Noradrenalin-Konzentration für die Messungen zu erhalten, wurde Desipramin eingesetzt, welches eine hohe Affinität zum Noradrenalin-Transporter aufweist (Lee et al., 1982; Molderings et al., 1988; Schlicker et al., 1990; Trendelenburg et al., 1995).

Die Ca²⁺-Konzentration spielt in der Präsynapse eine bedeutende Rolle, weil Ca²⁺-Ionen für die Verschmelzung der Transmitterspeichervesikel mit der präsynaptischen Membran nötig sind und somit eine hohe Ca²⁺-Konzentration zu einer hohen Neurotransmitterausschüttung führt (Starke, 1977). Allerdings gilt auch, dass die Modulierbarkeit der Freisetzung umso höher ist, je niedriger die Ca²⁺-Konzentration der Superfusionslösung gewählt wird. In den Versuchen an peripheren Geweben wurde meist eine Ca²⁺-Konzentration von 3,25 mM in der Superfusionslösung gewählt, was sowohl im Vergleich zur Ca²⁺-Konzentration des Interstitiums (1,3 mM) als auch zu der im Plasma (2,5 mM) als erhöht anzusehen ist, was sich begünstigend auf die Vesikelverschmelzung und so auch auf die Transmitterausschüttung auswirkt (Starke, 1977). Eine Versuchsreihe mit Orexin-B wurde zur Referenz mit einer Ca²⁺-Konzentration in der Superfusionslösung durchgeführt, die in etwa dem Mittel aus den Werten im Interstitium und Plasma entsprach (1,95 mM) und ein höheres Maß an präsynaptischer Modulierbarkeit erwarten ließ (Starke, 1977).

Eine weitere Steigerung der Freisetzung wird durch die Zugabe von Rauwolscin (zur Blockade des α_2 -Autorezeptors) erreicht, weil dadurch einer negativen Rückkopplung des Noradrenalins auf seinen Autorezeptor entgegengewirkt wird. Außerdem wird dadurch eine präsynaptische inhibitorische Wirkung durch andere Rezeptoren als den α_2 -Autorezeptor verstärkt (Schlicker und Göthert, 1998). Aus diesem Grund wurde bei den Versuchen mit 5-CT und MCH, bei denen eine Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung erwartet wurde, routinemäßig Rauwolscin angewandt.

Bei den Versuchen mit Orexin-B und Urotensin II konnte wegen der G_q-Proteinkopplung der Rezeptoren eine Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung erwartet werden. Deshalb wurde TEA (Tetraethylammonium) anstelle des Rauwolscins als Hilfspharmakon eingesetzt, um durch eine Hemmung von Kaliumkanälen und dadurch

vermehrte Ausschüttung von endogenem Noradrenalin die α_2 -Autorezeptoren zu aktivieren und so einen fazilitatorischen Effekt auf die Noradrenalin-Ausschüttung zu begünstigen (Cox et al., 2000). Eine gleichzeitige Blockade von α_2 -Autorezeptoren schwächt die präsynaptische fazilitatorische Wirkung ab oder hebt sie gänzlich auf (Mota und Guimarães, 2002). Deshalb konnte bei den Versuchen mit UT II und Orexin-B kein Rauwolscin eingesetzt werden. Rauwolscin diente bei den Orexinversuchen allerdings als eine der Kontrollsubstanzen, um die Auslenkbarkeit des Systems zu verifizieren.

5.2 Sympathische Innervation der Gewebe

Die Unterschiede in der sympathischen Innervation der Gewebe innerhalb einer Spezies und zwischen verschiedenen Spezies werden durch die Darstellung des akkumulierten Gewebstritiums am Versuchsende anschaulich (Tab. 5). Als Referenzgewebe wurde hier die Vena cava inferior gewählt, weil deren starke sympathische Innervation bei der Ratte bereits nachgewiesen war (Molderings et al., 1987). Beim Meerschwein zeigten sich in diesem Gefäß ähnliche Werte. Bei beiden Spezies stechen bei der Vena cava inferior auch die besonders hohen Werte des ersten Reizes (S_1) hervor, die für eine gute Reagibilität des Gewebes auf die elektrische Reizung sprechen (Tab. 5).

Beim Meerschwein ist eine im Vergleich zur Vena cava inf. verstärkte sympathische Innervation im Atrium und im Vas deferens und eine erniedrigte Innervation in der Niere auffällig. Bei der Ratte zeigte sich ebenfalls eine vermehrte Innervation am Vas deferens und eine erniedrigte an der Niere, jedoch war hier die extrem schwache Innervation der Aorta am auffälligsten (Tab. 5). Darüber hinaus trat eine starke Spezies spezifische Differenz bei den Aortenschnitten zu Tage, die eine im Vergleich zur Ratte viel stärkere sympathische Innervation des Meerschweingewebes erkennen lässt (Tab. 5). Bemerkenswert ist ferner, dass das Ausmaß der Noradrenalin-Freisetzung bei beiden Spezies im Atrium, in der Niere und im Vas deferens signifikant niedriger war als in der Vena cava; für die Aorta und die Milz war die Noradrenalin-Freisetzung in beiden Spezies der Tendenz nach niedriger.

5.3 Beurteilung der Versuche mit Orexin-B

Bei der Auswahl der Versuchsbedingungen war zu beachten, dass beide Rezeptoren für die Orexine (OX₁R und OX₂R) sowohl an den G_{q/11}-Weg als auch an G_{i/o}- und G_s-Proteine gekoppelt sind (Kukkonen und Åkerman, 2005; Ramanjaneya et al., 2009; Alexander et al., 2009). Die Niere wurde gewählt, weil in diesem Gewebe bereits mehrere Rezeptoren mit modulierender Wirkung auf die Noradrenalin-Freisetzung beschrieben wurden (Rump und Schollmeyer, 1989; Schultheiß, 2005).

Orexine zeigten an neuronalem Gewebe zuvor mehrfach einen exzitatorischen Effekt, so auch an noradrenergen Neuronen des Locus coeruleus (Horvath et al., 1999; van den Pol et al., 2002). Auch der histaminerge Nucleus tuberomammillaris, in dem von beiden OX-R ausschließlich der Orexin₂-Rezeptor exprimiert wird (Marcus et al., 2001), reagierte bei Anwesenheit von Orexin mit einer Exzitation (Yamanaka et al., 2002). Shirasaka et alii (1999) berichteten von einer Erhöhung des Noradrenalins im Plasma der Ratte nach zentraler Orexinapplikation. Da nach diesen Befunden die Kopplung von freisetzungsmulierenden Orexin-Rezeptoren plausibel ist (Zhu et al., 2003; Tang et al., 2008), wurden für die hier beschriebenen Versuche Bedingungen inklusive des Tetraethylammoniums gewählt, um eine erwartete fazilitatorische Wirkung zu begünstigen (Cox et al., 2000).

Orexin-B hatte in den hier vorgestellten Versuchen keine Wirkung auf die Noradrenalin-Freisetzung. Dies galt auch bei Verwendung einer niedrigeren Ca²⁺-Konzentration der Superfusionslösung (1,95 statt 3,25 mM), die grundsätzlich die Modulierbarkeit der Noradrenalin-Freisetzung durch präsynaptische Rezeptoren begünstigt (Starke, 1977). Die in den Experimenten eingesetzte Konzentration von Orexin-B war hoch genug, denn das Peptid zeigte in den hier verwendeten Konzentrationen in der Arbeit von Horvath et al. (1999) an Schnitten des Rattenhirns einen klaren Effekt.

Ferner wurde für die hier verwendete Nierenpräparation gezeigt, dass eine Modulation der Noradrenalin-Freisetzung via G_q-, G_s- und G_{i/o}-Protein-gekoppelte Rezeptoren möglich ist. So führte Angiotensin II, das G_q-Protein-gekoppelte AT₁-Rezeptoren aktiviert ,

zur Steigerung der Freisetzung (Stegbauer et al., 2005; Alexander et al., 2009). Umgekehrt hemmten Noradrenalin selbst sowie Oxotremorin, welche die $G_{i/o}$ -Protein-gekoppelten α_2 -Rezeptoren bzw. muskarinischen Acetylcholin-Rezeptoren aktivieren, die Freisetzung (Rauwolscin, ein α_2 -Rezeptor-Antagonist, führte entsprechend zur Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung). In der Studie von Reutelsterz (2009), die unter identischen Versuchsbedingungen durchgeführt wurde, führte Procaterol über die G_s -Protein-gekoppelten β_2 -Adrenozeptoren zur Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung.

Immerhin erscheint eine weitere Untersuchung der Wirkung von Orexin-B aussichtsreich, denn das Peptid zeigte in der höchsten untersuchten Konzentration von 1 μM (die nur in den Superfusionsversuchen mit einer Ca^{2+} -Konzentration von 3,25 mM eingesetzt wurde) der Tendenz nach eine Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung (um 29 %).

5.4 Beurteilung der Versuche mit MCH

Die Versuche zur Wirkung von MCH auf die Noradrenalin-Freisetzung wurden auf die Identifizierung von inhibitorischen MCH_1 -Rezeptoren hin fokussiert. Eine Detektion von MCH_2 -Rezeptoren kam nicht in Betracht, da dieser Subtyp bei Ratten nach heutigem Kenntnisstand nicht exprimiert wird (s. Einleitung, 2.4). Grundsätzlich sind MCH_1 -Rezeptoren auch G_q -Protein-gekoppelt, allerdings spielen präsynaptische G_q -Protein-gekoppelte Rezeptoren bei der Modulation der Noradrenalin-Freisetzung im Gehirn keine Rolle (Starke, 1977). Für die vorliegende Studie wurde der zerebrale Cortex gewählt, der in der Vergangenheit für die Identifizierung zahlreicher Typen von präsynaptischen Rezeptoren verwendet wurde (Schlicker und Göthert, 1998). Um die Detektierbarkeit noch zu verbessern, wurde der α_2 -Autorezeptor-Antagonist Rauwolscin eingesetzt (Schlicker und Göthert, 1998).

MCH beeinflusste die Noradrenalin-Freisetzung im verwendeten Konzentrationsbereich jedoch nicht. Die hier eingesetzte Konzentration von 1 μM ist adäquat, da mit dieser Konzentration eine Hemmung der Freisetzung von γ -Aminobuttersäure (GABA) und

Glutamat im Hypothalamus der Ratte erzielt werden konnte (Gao und van den Pol, 2001). Auch die Möglichkeit, dass unter den hier gewählten Versuchsbedingungen freisetzungsmulierende präsynaptische G_i -Protein-gekoppelte Rezeptoren gar nicht detektierbar sind, kann von der Hand gewiesen werden, da Histamin (über H_3 -Rezeptoren) und Sulproston (über Prostaglandin- EP_3 -Rezeptoren) erwartungsgemäß die Noradrenalin-Freisetzung hemmten (Schlicker et al., 1989; Günther et al., 2010).

5.5 Beurteilung der Versuche mit Urotensin II

Für die Versuche mit Urotensin II wurde Nierencortex eingesetzt, weil dort die Dichte von Urotensin II Rezeptoren sehr hoch ist (Disa et al., 2006; Song et al., 2006). Außerdem erlaubt dieses Gewebe grundsätzlich die Identifizierung von G_q -Protein-gekoppelten Rezeptoren, welche die Noradrenalin-Freisetzung steigern (z. B. AT_1 -Rezeptoren, s. Abb. 5, 6 und 11). Um möglichst optimale Voraussetzungen hierfür zu schaffen, wurden als Hilfspharmaka Desipramin und TEA eingesetzt.

Urotensin II zeigte jedoch im untersuchten Konzentrationsbereich (1-1000 nM) keine Wirkung auf die Noradrenalin-Freisetzung. Die eingesetzten Konzentrationen des Peptids sind hoch genug, um eine Wirkung am UT-Rezeptor zu erzielen. Der K_i -Wert von 1,4 nM aus einer Radioliganden-Bindungsstudie an der Rattenniere (Disa et al., 2006) sowie der EC_{50} -Wert von 1,9 nM (Rattenaorta (Behm et al., 2004) wird weit übertroffen. Darüber hinaus konnte von Ono et al. (2008) bereits mit 10 nM Urotensin II eine gesteigerte Noradrenalin-Ausschüttung am zerebralen Cortex der Ratte gezeigt werden. Die grundsätzliche Möglichkeit, dass es durch Aktivierung eines G_q -Protein-gekoppelten Rezeptors (AT_1) zur Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung kommt, wurde in parallel durchgeführten Versuchen erneut gezeigt (s. auch Abschnitt 5.3).

Nun gibt es auch Hinweise, dass der UT-Rezeptor $G_{i/o}$ -Protein-gekoppelt ist (Ziltener et al., 2002). In diesem Zusammenhang ist es wichtig, zu betonen, dass unter den gewählten Versuchsbedingungen grundsätzlich auch ein $G_{i/o}$ -Protein-gekoppelter präsynaptischer inhibitorischer Rezeptor detektierbar ist. Das wird aus Abbildung 11 deutlich, in

welcher der inhibitorische Effekt von exogen zugeführtem, über den $G_{i/o}$ -Protein-gekoppelten α_2 -Autorezeptor wirkenden Noradrenalin gezeigt ist. Aus dieser Abbildung ist allerdings auch ersichtlich, dass die Versuchsbedingungen nur einen relativ schwachen Effekt von Noradrenalin $1 \mu\text{M}$ zulassen, das unter optimalen experimentellen Bedingungen eine Hemmung von 80-100 % bewirken müsste (Starke, 2001). Falls der maximal über einen $G_{i/o}$ -Protein-gekoppelten inhibitorischen Heterorezeptor erzielbare Hemmeffekt gering ist, könnten die hier gewählten Versuchsbedingungen den Nachweis einer Hemmung möglicherweise verschleiern. Zur weiteren Klärung wären hier Versuche in Gegenwart von Rauwolscin (statt TEA) sinnvoll.

5.6 Beurteilung der Versuche mit 5-Carboxamidotryptamin

Die Versuche mit 5-CT an peripheren Gewebeschnitten der Ratte (Aorta, Atrium, Milz, Niere, Vas deferens und Vena cava inferior) erbrachten keine Inhibition der Noradrenalin-Freisetzung außer der bekannten Wirkung des 5-HT_{1B} -Rezeptors an der Vena cava inf. (Molderings et al., 1987). Eine angedeutete Inhibition erreichte bei keinem der anderen Gewebe Signifikanzniveau (Abb. 13).

Bei den Versuchen an der Aorta des Meerschweins konnte eine signifikante Hemmung der Noradrenalin-Ausschüttung durch 5-CT nachgewiesen werden. Auch an der Niere und der Vena cava des Meerschweins konnte eine signifikante Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung gezeigt werden (Abb. 14). In den anderen Geweben des Meerschweins traten keine signifikanten Hemmungen auf. Die gewählte Methode der Superfusion kann das Vorhandensein solcher Heterorezeptoren zwar bei signifikanter Modulation nachweisen, der definitive Ausschluss bei nicht signifikanten Ergebnissen ist jedoch nicht möglich. Tabelle 3 zeigt, dass die Konzentration von 5-CT von $1 \mu\text{M}$ verglichen zur Affinität oder Wirkungsstärke an verschiedenen Serotonin-Rezeptor-Subtypen sehr hoch ist, so dass bei Vorhandensein von Rezeptoren ein Effekt zu erwarten wäre.

Eine besondere Motivation, die Wirkung von 5-CT auf die Noradrenalin-Freisetzung in

peripheren Geweben von Ratte und Meerschwein zu untersuchen, bestand zusätzlich darin, dass in einer Arbeit an Mäusen, die den 5-HT_{1B}-Rezeptor nicht exprimieren (homozygote Knockout-Tiere), die Vermutung geäußert wurde, dass die präsynaptische Hemmwirkung von 5-CT möglicherweise auch über 5-HT₅- und/oder 5-HT₇-Rezeptoren vermittelt wird (Piñeyro et al., 1995). Hier ist insbesondere an den 5-HT_{5a}-Rezeptor zu denken, der wahrscheinlich G_{i/o}-Protein-gekoppelt ist (Alexander et al., 2009) und für den 5-CT eine hohe Affinität besitzt (Tab. 3).

In einem Kooperationsprojekt mit der Firma Abbott wurde der hochselektive 5-HT_{5a}-Rezeptor-Antagonist A-763079 in Schnitten des Hippocampus und zerebralen Cortex der Maus von unserem Labor untersucht. Es zeigte sich, dass die Wirkung von 5-CT auf die Serotoninfreisetzung durch eine hohe Konzentration dieses Antagonisten nicht beeinflusst wurde, was gegen dessen Beteiligung bei der hemmenden Wirkung von 5-CT spricht (Drescher et al., 2007). Da der Serotonin-Rezeptor-Subtyp nun je nach Spezies, Lokalisation und Transmitter sehr variiert (s. Einleitung), war es durchaus gerechtfertigt, auch in peripheren Geweben verschiedener Spezies nach der Hemmwirkung von 5-CT auf die Noradrenalin-Freisetzung zu schauen. Entsprechende Versuche in drei Präparationen des Meerschweins, nämlich Aorta, Vena cava und Niere, in denen 5-CT die Noradrenalin-Freisetzung hemmt und der Serotonin-Rezeptor-Subtyp erst zu klären wäre, könnten hier sehr interessant sein.

6. Zusammenfassung

An der Nahtstelle zwischen Nervenende und dem von dem entsprechenden Nerven versorgten Gewebe befindet sich die sog. Synapse, also ein Spalt, in den ein Überträgerstoff freigesetzt wird. Solche Synapsen gibt es auch im Gehirn zwischen Nervenende und nachgeschaltetem Nerven. Ein wichtiger Überträgerstoff, der sowohl im Gehirn als auch in der Peripherie eine Rolle spielt, ist das Noradrenalin. Dieses beeinflusst das versorgte Gewebe oder den nachfolgenden Nerven über sog. postsynaptische Rezeptoren; allerdings wirkt freigesetztes Noradrenalin über präsynaptische Rezeptoren (Autorezeptoren) auch auf seine eigene Freisetzung im Sinne einer negativen Rückkopplung. Präsynaptische Rezeptoren an der noradrenergen Nervenendigung gibt es aber auch für andere Überträgerstoffe (Heterorezeptoren), und um diese geht es in der vorliegenden Arbeit.

Für die Untersuchung wurden Hirnschnitte oder isolierte periphere Gewebe mit [³H]-Noradrenalin überströmt und die durch elektrische Feldstimulation freigesetzte Menge an [³H] als Maß für die quasi-physiologische Noradrenalin-Freisetzung vermessen. Als Stoffe, die möglicherweise die Noradrenalin-Freisetzung modulieren, wurden die drei Peptide Orexin-B, Melanin-concentrating Hormone (MCH) und Urotensin II eingesetzt, ferner 5-Carboxamidotryptamin (5-CT). Letzteres ist ein Pharmakon, das an mehreren Subtypen von Serotonin-Rezeptoren eine besonders ausgeprägte aktivierende Wirkung zeigt. Die drei Peptide und Serotonin haben gemein, dass sie die Nahrungsaufnahme, Herz-Kreislauf-Funktionen und die Affektivität beeinflussen, allerdings z.T. in gegensätzlicher Richtung. Über präsynaptische Wirkungen der drei Peptide ist bisher in der Literatur nur selten berichtet worden. Präsynaptische Serotonin-Rezeptoren sind zwar bekannt, allerdings sollte untersucht werden, ob durch Wechsel des peripheren Organs bzw. der Spezies ein stärker ausgeprägter Hemmeffekt erzielt werden kann.

Die experimentellen Bedingungen richteten sich danach, ob eher ein inhibitorischer oder fazilitatorischer präsynaptischer Rezeptor erwartet werden konnte. Wurde ein inhibitorischer Rezeptor erwartet, so wurde dem Versuchsmedium Rauwolscin, ein Hemmstoff des präsynaptischen Autorezeptors, beigefügt; bekanntermaßen wird der über einen

inhibitorischen Heterorezeptor hervorgerufene Hemmeffekt durch Blockade des Autorezeptors verstärkt oder überhaupt erst ermöglicht. Wurde ein fazilitatorischer Rezeptor erwartet, so wurde Tetraethylammonium (TEA) verwendet, das zu einer vermehrten Noradrenalin-Freisetzung und -Wirkung am Autorezeptor führt. Dieses Szenario begünstigt die Identifizierung eines fazilitatorischen Heterorezeptors.

In Gewebeproben der Rattenniere, die in Gegenwart von TEA überströmt wurden, beeinflusste Orexin-B in Konzentrationen von 1 bis 1000 nM die Noradrenalin-Freisetzung nicht. Als Positivkontrollen dienten Noradrenalin und Oxotremorin, die –wie erwartet– eine Hemmung verursachten, sowie Angiotensin II und Rauwolscin, welche die Noradrenalin-Freisetzung steigerten.

In Schnitten des zerebralen Cortex der Ratte, die in Gegenwart von Rauwolscin überströmt wurden, beeinflusste MCH in Konzentrationen von 10 bis 1000 nM die Noradrenalin-Freisetzung nicht. Als Positivkontrollen dienten Histamin und Sulproston, die beide –wie erwartet– die Noradrenalin-Freisetzung hemmten.

In Proben der Rattenniere, die mit TEA überströmt wurden, blieb Urotensin II im Konzentrationsbereich von 1 bis 1000 nM ohne Wirkung auf die Noradrenalin-Freisetzung. Angiotensin II und Noradrenalin, die als Positivkontrollen dienten, zeigten erwartungsgemäß einen steigernden bzw. hemmenden Effekt.

Die Versuche zu 5-CT wurden an 6 peripheren Geweben der Ratte und des Meerschweins durchgeführt; routinemäßig war Rauwolscin im Medium enthalten. Wie schon bekannt (Molderings et al., 1987), hemmte 5-CT 1000 nM die Noradrenalin-Freisetzung in der isolierten Vena cava inf. der Ratte (hier um 39 %). In 5 weiteren Geweben dieser Spezies (Aorta, Atrium, Milz, Niere und Vas deferens) zeigte 5-CT der Tendenz nach eine Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung, allerdings war die Wirkung in keinem Fall statistisch signifikant. Auch in der Vena cava inf. des Meerschweins wirkte 5-CT inhibitorisch (um 37 %). Zusätzlich hemmte 5-CT die Noradrenalin-Freisetzung auch in der Aorta (um 23 %) und Niere (um 12 %) dieser Spezies; in den 3 weiteren Geweben (Atrium, Milz und Vas deferens) wurde lediglich eine inhibitorische Tendenz beobachtet.

Die hier vorgelegte Studie zeigt, dass die drei Peptide Orexin-B, MCH und Urotensin II die Noradrenalin-Freisetzung selbst in hohen Konzentrationen nicht beeinflussen, also möglicherweise in den hier untersuchten Geweben keine präsynaptischen Rezeptoren für diese 3 Peptide vorkommen. Die Studie zeigt erstmalig, dass präsynaptische inhibitorische Serotonin-Rezeptoren, welche die Noradrenalin-Freisetzung hemmen, in der Aorta, Vena cava inferior und Niere des Meerschweins nachweisbar sind.

7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen	Seite
<u>Abbildung 1</u>	
Aminosäuresequenzen von humanem Orexin-A und Orexin-B	21
<u>Abbildung 2</u>	
Aminosäuresequenz des humanen Melanin-concentrating hormone (MCH)	25
<u>Abbildung 3</u>	
Aminosäuresequenz des humanen Urotensin-II	29
<u>Abbildung 4</u>	
Strukturformeln von 5-Carboxamidotryptamin und 5-Hydroxytryptamin (Serotonin)	32
<u>Abbildung 5</u>	
Effekt von Orexin-B (OX-B) auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Rattenniere bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 3,25 mM	43
<u>Abbildung 6</u>	
Effekt von Orexin-B (OX-B) auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Rattenniere bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 1,95 mM	44
<u>Abbildung 7</u>	
Zeitlicher Verlauf des Effekts von Orexin-B auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Rattenniere bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 3,25 mM	45
<u>Abbildung 8</u>	
Effekt von MCH auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe im Rattencortex	46
<u>Abbildung 9</u>	
Zeitlicher Verlauf des Effekts von MCH auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe im Cortex der Ratte	47
<u>Abbildung 10</u>	
Effekt von MCH am Cortex der Ratte im Vergleich zu Histamin und Sulproston	48
<u>Abbildung 11</u>	
Effekt von Urotensin II auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Niere der Ratte	49

Abbildung 12

Zeitlicher Verlauf des Effekts von Urotensin II auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Niere der Ratte **50**

Abbildung 13

Effekt von 5-Carboxamidotryptamin in Präparaten verschiedener peripherer Gewebe der Ratte **51**

Abbildung 14

Effekt von 5-Carboxamidotryptamin in Präparaten verschiedener peripherer Gewebe des Meerschweins **52**

Abbildung 15

Zeitlicher Verlauf des Effekts von 5-Carboxamidotryptamin auf die elektrisch stimulierte Noradrenalin-Abgabe in der Vena cava inferior des Meerschweins **53**

Tabellen Seite**Tabelle 1**

Übersicht der G-Proteine mit ihren vorgeschalteten 7-TM- Rezeptoren und zellulären Effekten ihrer Signaltransduktion **18/19**

Tabelle 2

Rezeptoraffinität (IC_{50}) von Orexin-A und Orexin-B an den Orexin-Rezeptoren und Konzentrationen, die zum halbmaximalem Effekt (EC_{50}) führen **23**

Tabelle 3

Rezeptoraffinität von 5-HT (Serotonin) und 5-CT beim Menschen und bei der Ratte **33**

Tabelle 4

Zusammensetzung der verwendeten physiologischen Salzlösung (mM) **36**

Tabelle 5

Akkumuliertes Gewebstritium am Versuchsende, S_1 - und B_1 -Werte des Meerschweins und der Ratte **41**

Tabelle 6

Basaler Tritiumefflux (B_2 / B_1) mit und ohne 5-CT-Gabe bei Meerschwein und Ratte **42**

8. Literaturverzeichnis

Abbott CR, Kennedy AR, Wren AM, Rossi M, Murphy KG, Seal LJ, Todd JF, Ghatei MA, Small CJ, Bloom SR. Identification of hypothalamic nuclei involved in the orexigenic effect of melanin-concentrating hormone. *Endocrinology* 2003; 144: 3943-3949

Abramow-Newerly M, Roy AA, Nunn C, Chidiac P. RGS proteins have a signalling complex: interactions between RGS proteins and GPCRs, effectors, and auxiliary proteins. *Cell Signal* 2006; 18: 579-591

Akiyama M, Yuasa T, Hayasaka N, Horikawa K, Sakurai T, Shibata S. Reduced food anticipatory activity in genetically orexin (hypocretin) neuron-ablated mice. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 3054-3062

Al-Barazanji KA, Wilson S, Baker J, Jessop DS, Harbuz MS. Central orexin-A activates hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stimulates hypothalamic corticotropin releasing factor and arginine vasopressin neurones in conscious rats. *J Neuroendocrinol* 2001; 13: 421-424

Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to Receptors and Channels (GRAC), 4th Edition. *Br J Pharmacol* 2009; 158 Suppl 1: 1-254

Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, Loudon CS, Foley JJ, Sauermelch CF, Coatney RW, Ao Z, Disa J, Holmes SD, Stadel JM, Martin JD, Liu WS, Glover GI, Wilson S, McNulty DE, Ellis CE, Elshourbagy NA, Shabon U, Trill JJ, Hay DW, Ohlstein EH, Bergsma DJ, Douglas SA. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature* 1999; 401: 282-286.

An S, Cutler G, Zhao JJ, Huang SG, Tian H, Li W, Liang L, Rich M, Bakleh A, Du J, Chen JL, Dai K. Identification and characterization of a melanin-concentrating hormone receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 7576-7581

Andrade R, Barnes NM, Baxter G, Bockaert J, Branchek T, Cohen ML, Dumuis A, Eglén RM, Göthert M, Hamblin M, Hamon M, Hartig PR, Hen R, Herrick-Davis K, Hills R, Hoyer D, Humphrey PPA, Latté KP, Maroteaux L, Martin GR, Middlemiss DN, Mylecharane E, Peroutka SJ, Saxena PR, Sleight A, Villalon CM, Yocca F, 2012: IUPHAR Database, 5-Hydroxytryptamine receptors. <http://iuphar-db.org/DATABASE/FamilyMenuForward?familyId=1> (Zugriffsdatum: 26.01.2012)

Andreeva AV, Vaiskunaite R, Kutuzov MA, Profirovic J, Skidgel RA, Voyno-Yasenetskaya T. Novel mechanisms of G protein-dependent regulation of endothelial nitric-oxide synthase. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 975-982

Andric SA, Zivadinovic D, Gonzalez-Iglesias AE, Lachowicz A, Tomic M, Stojilkovic SS. Endothelin-induced, long lasting, and Ca²⁺ influx-independent blockade of intrinsic secretion in pituitary cells by G_z subunits. *J Biol Chem* 2005; 280: 26896-26903

Antal-Zimanyi I, Khawaja X. The role of melanin-concentrating hormone in energy homeostasis and mood disorders. *J Mol Neurosci* 2009; 39: 86-98

Avissar S, Barki-Harrington L, Herishanu Y, Schreiber G. Reduced Gs protein function and G alpha s levels in leukocytes of patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 1997; 12: 167-174

Arsaky A. *De piscium cerebro et medulla spinali*. Inaugural-Dissertation, Universität Halle, 1813

Bachmann R, Scharrer E, Scharrer B. Innersekretorische Drüsen Teil 5, Die Nebenniere - Neurosekretion. In: von Möllendorff W, Bargmann W, Hrsg. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Bd. 6, Blutgefäß- und Lymphgefäßapparat. Berlin: Springer Verlag, 1954

Bachner D, Kreienkamp H, Weise C, Buck F, Richter D. Identification of melanin concentrating hormone (MCH) as the natural ligand for the orphan somatostatin-like receptor 1 (SLC-1). *FEBS Lett* 1999; 457: 522-524

Baker BI, Ball JN. Evidence for a dual pituitary control of teleost melanophores. *Gen Comp Endocrinol* 1975; 25: 147-152

Baker BI. Melanin-concentrating hormone: A general vertebrate neuropeptide. *Intern Rev Cytol* 1991; 126: 1-47

Baker BI. The role of melanin-concentrating hormone in colour change. *Ann NY Acad Sci* 1993; 680: 279-289

Baldo BA, Gual-Bonilla L, Sijapati K, Daniel RA, Landry CF, Kelley AE. Activation of a subpopulation of orexin/hypocretin-containing hypothalamic neurons by GABAA receptor-mediated inhibition of the nucleus accumbens shell, but not by exposure to a novel environment. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 376-386

Baumgarten HG, Göthert M. Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS. *Handb Exp Pharmacol* 129. Berlin: Springer, 1997

Behm DJ, Herold CL, Camarda V, Aiyar NV, Douglas SA. Differential agonistic and antagonistic effects of the urotensin-II ligand SB-710411 at rodent and primate UT receptors. *Eur J Pharmacol* 2004; 492: 113-116

Bern HA, Nishioka RS, Chester-Jones I, Chan DKO, Rankin JC, Ponniah S. The urophysis of teleost fish. *J Endocrinol* 1967; 37: 11-12

Bern HA, Lederis K. A reference preparation for the study of active substances in the caudal neurosecretory system of teleosts. *J Endocrinol* 1969; 45 Suppl: 11-12

Bern HA, Pearson D, Larson BA, Nishioka RS. Neurohormones from fish tails: the caudal neurosecretory system. I. "Urophysiology" and the caudal neurosecretory system of fishes. *Recent Prog Horm Res* 1985; 41: 533-552

Bittencourt JC, Presse F, Arias C, Peto C, Vaughan J, Nahon J-L, Vale W, Sawchenko PE. The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immuno- and hybridization histochemical characterization. *J Comp Neurol* 1992; 319: 218-245

Blaustein MP, Johnson EM Jr, Needleman P. Calcium-dependent norepinephrine release from presynaptic nerve endings in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 2237-2240

Bokoch GM, Katada T, Northup JK, Hewlett EL, Gilman AG. Identification of the predominant substrate for ADP-ribosylation by islet activating protein. *J Biol Chem* 1983; 258: 2072-2075

Bonanno G, Maura G, Raiteri M. Cholinergic terminals in rat hippocampus possess 5-HT_{1B} receptors mediating inhibition of acetylcholine release. *Eur J Pharmacol* 1986; 31;126: 317-321

Bönisch H, Schlicker E, Göthert M, Maier W. Psychopharmaka - Pharmakotherapie psychischer Erkrankungen. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K, Hrsg. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. München: Urban & Fischer, 2009: 307-334

Bradley RL, Kokkotou EG, Maratos-Flier E, Cheatham B. Melanin-concentrating hormone regulates leptin synthesis and secretion in rat adipocytes. *Diabetes* 2000; 49: 1073-1077

Brady DR. Caudal neurosecretory system of the paddlefish, *Polyodon spathula*. *Zool Anz Jena* 1984; 213: 215-233

Brown RE, Sergeeva OA, Eriksson KS, Haas HL. Convergent excitation of dorsal raphe serotonin neurons by multiple arousal systems (orexin/hypocretin, histamine and noradrenaline). *J Neurosci* 2002; 22: 8850-8859

Brunton PJ, Russell JA. Hypothalamic-pituitary-adrenal responses to centrally administered orexin-A are suppressed in pregnant rats. *J Neuroendocrinol* 2003; 15: 633-637

Buday L, Downward J. Many faces of Ras activation. *Biochim. Biophys Acta* 2008; 1786: 178-187

Burdakov D, Alexopoulos H. Metabolic state signalling through central hypocretin/orexin neurons. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 795-803

Burdakov D, Jensen LT, Alexopoulos H, Williams RH, Fearon IM, O'Kelly I, Gerasimenko O, Fugger L, Verkhatsky A. Tandem-pore K⁺ channels mediate inhibition of orexin neurons by glucose. *Neuron* 2006; 50: 711-722

Cassel D, Selinger Z. Catecholamine-stimulated GTPase activity in turkey erythrocyte membranes. *Biochim Biophys Acta* 1976; 452: 538-551

Chambers J, Ames RS, Bergsma D, Muir A, Fitzgerald LR, Hervieu G, Dytko GM, Foley JJ, Martin J, Liu WS, Park J, Ellis C, Ganguly S, Konchar S, Cluderay J, Leslie R, Wilson S, Sarau HM. Melanin-concentrating hormone is the cognate ligand for the orphan G-protein-coupled receptor SLC-1. *Nature* 1999; 400: 261-265

Chan DK. Cardiovascular and renal effects of urotensins, I and II in the eel, *Anguilla rostrata*. *Gen Comp Endocrinol* 1975; 27: 52-61

Chan RK, Otte CA. Isolation and genetic analysis of *Saccharomyces cerevisiae* mutants supersensitive to G1 arrest by a factor and alpha factor pheromones. *Mol Cell Biol* 1982; 2: 11-20

Chanson P, Salenave S, Young J. Ovarian dysfunction by activating mutation of GS alpha: McCune-Albright syndrome as a model. *Ann Endocrinol (Paris)* 2010; 71: 210-213

Clegg DJ, Air EL, Benoit SC, Sakai RS, Seeley RJ, Woods SC. Intraventricular melanin-concentrating hormone stimulates water intake independent of food intake. *Am. J. Physiol. Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284: R494-R499

Conlon JM, Yano K, Waugh D, Hazon N. Distribution and molecular forms of urotensin II and its role in cardiovascular regulation in vertebrates. *J Exp Zool* 1996; 275: 226-238

Costa L, Trovato C, Musumeci SA, Catania MV, Ciranna L. 5-HT(1A) and 5-HT(7) receptors differently modulate AMPA receptor-mediated hippocampal synaptic transmission. *Hippocampus* 2011; 22: 790-801

Coulouarn Y, Lihmann I, Jegou S, Anouar Y, Tostivint H, Beauvillain JC, Conlon JM, Bern HA, Vaudry H. Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15803-15808

Coulouarn Y, Jégou S, Tostivint H, Vaudry H, Lihmann I. Cloning, sequence analysis and tissue distribution of the mouse and rat urotensin II precursors. *FEBS Lett* 1999; 457: 28-32

Cox SL, Schelb V, Trendelenburg AU, Starke K. Enhancement of noradrenaline release by Angiotensin II and bradykinin in mouse atria: evidence for cross-talk between Gq/11-protein and Gi/o-protein-coupled receptors. *Br J Pharmacol* 2000; 129: 1095-1102

Dahlgren U. The electric motor nerve centers in the skates (Rajidae). *Science* 1914; 40: 862-863

Date Y, Ueta Y, Yamashita H, Yamaguchi H, Matsukura S, Kangawa K, Sakurai T, Yanagisawa M, Nakazato M. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 748-753

Davenport AP, Maguire JJ. Urotensin II: fish neuropeptide catches orphan receptor. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 80-82

de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg EL, Gautvik VT, Bartlett FS 2nd, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 322-327

Disa J, Floyd LE, Edwards RM, Douglas SA, Aiyar NV. Identification and characterization of binding sites for human urotensin-II in Sprague-Dawley rat renal medulla using quantitative receptor autoradiography. *Peptides* 2006; 27: 1532-1537

Dohlman HG, Apaniesk D, Chen Y, Song J, Nusskern D. Inhibition of G-protein signaling by dominant gain-of-function mutations in *Sst2p*, a pheromone desensitization factor in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 3635-3643

do Rego JC, Leprince J, Scalbert E, Vaudry H, Costentin J. Behavioral actions of urotensin-II. *Peptides* 2008; 29: 838-844

Douglas SA, Dhanak D, Johns DG. From 'gills to pills': urotensin-II as a regulator of mammalian cardiorenal function. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 76-85

Drescher KU, Amberg W, Kling A, Wicke K, Gross G, Schoemaker H, Sullivan JP, Żelazczyk D, Schlicker E, Göthert M, Garcia-Ladona FJ. Pharmacological characterization of 5HT_{5A} antagonists: effect on serotonin autoreceptors and acetylcholine release. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2007; 375 Suppl. 1: 25-26

Dubessy C, Cartier D, Lectez B, Bucharles C, Chartrel N, Montero-Hadjadje M, Bizet P, Chatenet D, Tostivint H, Scalbert E, Leprince J, Vaudry H, Jégou S, Lihmann I. Characterization of urotensin II, distribution of urotensin II, urotensin II-related peptide and UT receptor mRNAs in mouse: evidence of urotensin II at the neuromuscular junction. *J Neurochem* 2008; 107: 361-374

Duncan EA, Proulx K, Woods SC. Central administration of melanin-concentrating hormone increases alcohol and sucrose/ quinine intake in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 958-964

Eggermann E, Serafin M, Bayer L, Machard D, Saint-Mleux B, Jones BE, Mühlethaler M. Orexins/hypocretins excite basal forebrain cholinergic neurones. *Neuroscience* 2001; 108: 177-181

Eglen RM, Jasper JR, Chang DJ, Martin GR. The 5-HT7 receptor: orphan found. *Trends Pharmacol Sci* 1997; 18: 104-107

Elias CF, Saper CB, Maratos-Flier E, Tritos NA, Lee C, Kelly J, Tatro JB, Hoffman GE, Ollmann MM, Barsh GS, Sakurai T, Yanagisawa M, Elmquist JK. Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. *J Comp Neurol* 1998; 402: 442-459

Ellis J, Padiani JD, Canals M, Milasta S, Milligan G. Orexin-1 receptor-cannabinoid CB1 receptor heterodimerization results in both ligand-dependent and -independent coordinated alterations of receptor localization and function. *J Biol Chemistry* 2006; 281: 38812-38824

Elshourbagy NA, Douglas SA, Shabon U, Harrison S, Duddy G, Sechler JL, Ao Z, Maleeff BE, Naselsky D, Disa J, Aiyar NV. Molecular and pharmacological characterization of genes encoding urotensin-II peptides and their cognate G-protein-coupled receptors from the mouse and monkey. *Br J Pharmacol* 2002; 136: 9-22

Enami M, Imai K. Studies in neurosecretion. V. Caudal neurosecretory system in several freshwater teleosts. *Endocr J* 1955; 2: 107-116

Enami M, Imai K. Studies in neurosecretion. VI. Neurophysis-like organization near the caudal extremity of the spinal cord in several estuarine species of teleosts. *Proc Jap Acad* 1956a; 32: 197-200

Enami M, Imai K. Studies in neurosecretion. VII. Further observations on the caudal neurosecretory system and the neurohypophysis spinalis (urohypophysis) in marine teleosts. *Proc Jap Acad* 1956b; 32: 633-638

Engel G, Göthert M, Hoyer D, Schlicker E, Hillenbrand K. Identity of inhibitory presynaptic 5-hydroxytryptamine (5-HT) autoreceptors in the rat brain cortex with 5-HT1B binding sites. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1986; 332: 1-7

Fadel J, Deutch AY. Anatomical substrates of orexin-dopamine interactions: lateral hypothalamic projections to the ventral tegmental area. *Neuroscience* 2002; 111: 379-387

Feig LA. Regulation of neuronal function by Ras-GRF exchange factors. *Genes Cancer* 2011; 2: 306-319

Feniuk W, Humphrey PP, Perren MJ, Watts AD. A comparison of 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in rabbit aorta and dog saphenous vein: evidence for different receptor types obtained by use of selective agonists and antagonists. *Br J Pharmacol* 1985; 86: 697-704

Feuerstein TJ, Dooley DJ, Seeger W. Inhibition of norepinephrine and acetylcholine release from human neocortex by omega-conotoxin GVIA. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 252: 778-785

Fields TA, Casey PJ. Signalling functions and biochemical properties of pertussis toxin-resistant G-proteins. *Biochem J* 1997; 321: 561-571

Finkleman B. On the nature of inhibition in the intestine. *J Physiol* 1930; 70: 145-157

Fong HK, Yoshimoto KK, Eversole-Cire P, Simon MI. Identification of a GTP-binding protein alpha subunit that lacks an apparent ADP-ribosylation site for pertussis toxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 3066-3070

Fozard JR, Muscholl E. Effects of several muscarinic agonists on cardiac performance and the release of noradrenaline from sympathetic nerves of the perfused rabbit heart. *Br J Pharmacol* 1972; 45: 616-629

Fragoso MC, Latronico AC, Carvalho FM, Zerbini MC, Marcondes JA, Araujo LM, Lando VS, Frazzatto ET, Mendonca BB, Villares SM. Activating mutation of the stimulatory G protein (gsp) as a putative cause of ovarian and testicular human stromal Leydig cell tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2074-2078

Freissmuth M, Casey PJ, Gilman AG. G proteins control diverse pathways of transmembrane signaling. *FASEB J* 1989; 3: 2125-2131

Fridberg G. Studies in the caudal neurosecretory system in teleosts. *Acta Zool* 1962; 43: 1-77

Gaddum JH. The technique of superfusion. *Br J Pharmacol Chemother* 1953; 8: 321-326

Gao XB, van den Pol AN. Melanin concentrating hormone depresses synaptic activity of glutamate and GABA neurons from rat lateral hypothalamus. *J Physiol* 2001; 533: 237-252

Garzón J, de la Torre-Madrid E, Rodríguez-Muñoz M, Vicente-Sánchez A, Sánchez-Blázquez P. Gz mediates the long-lasting desensitization of brain CB1 receptors and is essential for cross-tolerance with morphine. *Mol Pain* 2009; 5: 11

Gibson A. Complex effects of *Gillichthys* urotensin II on rat aortic strips. *Br J Pharmacol* 1987; 9: 205-212

Gilman AG. G proteins and dual control of adenylate cyclase. *Cell* 1984; 36: 577-579

Gilman AG. G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 615-649

Goldbach R, Allgaier C, Heimrich B, Jackisch R. Postnatal development of muscarinic autoreceptors modulating acetylcholine release in the septohippocampal cholinergic system. I. Axon terminal region: hippocampus. *Brain Res Dev Brain Res* 1998; 108: 23-30

González-Maeso J. GPCR oligomers in pharmacology and signaling. *Mol Brain* 2011; 4: 20

Göthert M, Schlicker E. Regulation of serotonin release in the central nervous system by presynaptic heteroreceptors. In: Feigenbaum J, Hanani M, Hrsg. *Presynaptic Regulation of Neurotransmitter Release: A Handbook*. Tel Aviv: Freund Publishing House, 1991: 845-876

Göthert M, Diener HC. Pharmakologie des Serotonins - Pharmakotherapie primärer Kopfschmerzen. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K, Hrsg. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. München: Urban & Fischer, 2009: 201-209

Griffond B, Risold PY, Jacquemard C, Colard C, Fellmann D. Insulin-induced hypoglycemia increases preprohypocretin (orexin) mRNA in the rat lateral hypothalamic area. *Neurosci Lett* 1999; 262: 77-80

Gundlach AL, Ryan PJ, 2013: Galanin receptors: GAL₂ receptor. <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/ObjectDisplayForward?objectId=244> (Zugriffsdatum: 03.10.2013)

Günther J, Schulte K, Wenzel D, Malinowska B, Schlicker E. Prostaglandins of the E series inhibit monoamine release via EP₃ receptors: proof with the competitive EP₃ receptor antagonist L-826,266. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2010; 381: 21-31

Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, Evans ML, Wattam TA, Holmes S, Benham CD, Taylor SG, Routledge C, Hemmati P, Munton RP, Ashmeade TE, Shah AS, Hatcher JP, Hatcher PD, Jones DN, Smith MI, Piper DC, Hunter AJ, Porter RA, Upton N. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10911-10916

Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yagami K, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron* 2001; 30: 345-354

Hara J, Yanagisawa M, Sakurai T. Difference in obesity phenotype between orexin-knockout mice and orexin neuron-deficient mice with same genetic background and environmental conditions. *Neurosci Lett* 2005; 380: 239-242

Hawes BE, Kil E, Green B, O'Neill K, Fried S, Graziano MP. The melanin-concentrating hormone receptor couples to multiple G proteins to activate diverse intracellular signaling pathways. *Endocrinology* 2000; 141: 4524-4532

Haynes AC, Jackson B, Chapman H, Tadayyon M, Johns A, Porter RA, Arch JR. A selective orexin-1 receptor antagonist reduces food consumption in male and female rats. *Regul Pept* 2000; 96: 45-51

Haynes AC, Chapman H, Taylor C, Moore GB, Cawthorne MA, Tadayyon M, Clapham JC, Arch JR. Anorectic, thermogenic and anti-obesity activity of a selective orexin-1 receptor antagonist in ob/ob mice. *Regul Pept* 2002; 104: 153-159

Heller J, Schepke M, Neef M, Woitas R, Rabe C, Sauerbruch T. Increased urotensin II plasma levels in patients with cirrhosis and portal hypertension. *J Hepatol* 2002; 37: 767-772

Hervieu GJ, Cluderay JE, Harrison D, Meakin J, Maycox P, Nasir S, Leslie RA. The distribution of the mRNA and protein products of the melanin-concentrating hormone (MCH) receptor gene, *slc-1*, in the central nervous system of the rat. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 1194 -1216

Hill J, Duckworth M, Murdock P, Rennie G, Sabido-David C, Ames RS, Szekeres P, Wilson S, Bergsma DJ, Gloger IS, Levy DS, Chambers JK, Muir AI. Molecular cloning and functional characterization of MCH2, a novel human MCH receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 20125-20129

Hill SJ. G-protein-coupled-receptors: past, present and future. *Br J Pharmacol* 2006; 147: 27-37

Hong EY, Yoon YS, Lee HS. Differential distribution of melanin-concentrating hormone (MCH)- and hypocretin (Hcrt)-immunoreactive neurons projecting to the mesopontine cholinergic complex in the rat. *Brain Res* 2011; 1424: 20-31

Horvath TL, Peyron C, Diano S, Ivanov A, Aston-Jones G, Kilduff TS, van Den Pol AN. Hypocretin (orexin) activation and synaptic innervation of the locus coeruleus noradrenergic system. *J Comp Neurol* 1999; 415: 145-159

Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PP. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev* 1994; 46: 157-203

Huang ZL, Qu WM, Li WD, Mochizuki T, Eguchi N, Watanabe T, Urade Y, Hayaishi O. Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 9965-9970

Huitron-Resendiz S, Kristensen MP, Sánchez-Alavez M, Clark SD, Grupke SL, Tyler C, Suzuki C, Nothacker HP, Civelli O, Criado JR, Henriksen SJ, Leonard CS, de Lecea L. Urotensin II modulates rapid eye movement sleep through activation of brainstem cholinergic neurons. *J Neurosci* 2005; 25: 5465-5474

Ichikawa T, McMaster D, Lederis K, Kobayashi H. Isolation and amino acid sequence of urotensin I, a vasoactive and ACTH-releasing neuropeptide, from the carp (*Cyprinus carpio*) urophysis. *Peptides* 1982; 3: 859-867

Igarashi N, Tatsumi K, Nakamura A, Sakao S, Takiguchi Y, Nishikawa T, Kuriyama T. Plasma orexin-A levels in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Chest* 2003; 124: 1381-1385

Iiri T, Herzmark P, Nakamoto JM, van Dop C, Bourne HR. Rapid GDP release from Gs alpha in patients with gain and loss of endocrine function. *Nature* 1994; 371: 164-168

Imai K. Extraction of melanophore concentrating hormone (MCH) from the pituitary of fishes. *Endocrinol Japan* 1958; 5: 34-48

Ip AK, Tso PH, Lee MM, Wong YH. Elevated expression of RGS19 impairs the responsiveness of stress-activated protein kinases to serum. *Mol Cell Biochem* 2012; 362: 159-168

Ito H, Kiso T, Miyata K, Kamato T, Yuki H, Akuzawa S, Nagakura Y, Yamano M, Suzuki M, Naitoh Y, Sakai H, Iwaoka K, Yamaguchi T. Pharmacological profile of YM-31636, a novel 5-HT₃ receptor agonist, in vitro. *Eur J Pharmacol* 2000; 409: 195-201

Itoh H, Itoh Y, Rivier J, Lederis K. Contraction of major artery segments of rat by fish neuropeptide urotensin II. *Am J Physiol* 1987; 252: R361-R366

Jégou S, Cartier D, Dubessy C, Gonzalez BJ, Chatenet D, Tostivint H, Scalbert E, LePrince J, Vaudry H, Lihmann I. Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 2006; 495: 21-36

Jeon JY, Bradley RL, Kokkotou EG, Marino FE, Wang X, Pissios P, Maratos-Flier E. MCH - / - mice are resistant to aging associated increases in body weight and insulin resistance. *Diabetes* 2006; 55: 428-434

Kahn RA, Gilman AG. ADP-ribosylation of Gs promotes the dissociation of its alpha and beta subunits. *J Biol Chem* 1984; 259: 6235-6240

Kalfa N, Lumbroso S, Boulle N, Guiter J, Soustelle L, Costa P, Chapuis H, Baldet P, Sultan C. Activating mutations of Gsalpha in kidney cancer. *J Urol* 2006; 176: 891-895

Katada T, Amano T, Ui M. Modulation by islet-activating protein of adenylate cyclase activity in C6 glioma cells. *J Biol Chem* 1982; 257: 3739-3746

Kawauchi H, Kawazoe I, Tsubokawa M, Kishida M, Baker BI. Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitaries. *Nature* 1983; 305: 321-323

Kayaba Y, Nakamura A, Kasuya Y, Ohuchi T, Yanagisawa M, Komuro I, Fukuda Y, Kuwaki T. Attenuated defense response and low basal blood pressure in orexin knockout mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 285: R581-R593

Kelly P, Casey PJ, Meigs TE. Biologic functions of the G12 subfamily of heterotrimeric G proteins: growth, migration, and metastasis. *Biochemistry* 2007; 46: 6677-6687

Kemp W, Krum H, Colman J, Bailey M, Yandle T, Richards M, Roberts S. Urotensin II: a novel vasoactive mediator linked to chronic liver disease and portal hypertension. *Liver Int* 2007; 27: 1232-1239

Kim D, Lewis DL, Graziadei L, Neer EJ, Bar-Sagi D, Clapham DE. G-protein beta gamma-subunits activate the cardiac muscarinic K⁺-channel via phospholipase A2. *Nature* 1989; 337: 557-560

Kinnamon SC. Taste receptor signalling - from tongues to lungs. *Acta Physiol (Oxf)* 2012; 204: 158-168

Kobayashi H, Matsui T, Hirano T, Iwata T, Ishii S. Vasodepressor substance in the fish urophysis. *Annot Zool Japan* 1968; 41: 154-158

Kolakowski Jr LF, Jung BP, Nguyen T, Johnson MP, Lynch KR, Cheng R, Heng HH, George SR, O'Dowd BF. Characterization of a human gene related to genes encoding somatostatin receptors. *FEBS Lett* 1996; 398: 253-258

Korotkova TM, Sergeeva OA, Eriksson KS, Haas HL, Brown RE. Excitation of ventral tegmental area dopaminergic and nondopaminergic neurons by orexins/hypocretins. *J Neurosci* 2003; 23: 7-11

Kukkonen JP, Åkerman KEO. Intracellular signal pathways utilized by the hypocretin/orexin receptors. In: de Lecea L, Sutcliffe JG, Hrsg. *Hypocretins. Integrators of Physiological Signals*. Berlin: Springer Verlag, 2005: 221-231

Kurose H. Galph12 and Galph13 as key regulatory mediator in signal transduction. *Life Sci* 2003; 74: 155-161

Kuru M, Ueta Y, Serino R, Nakazato M, Yamamoto Y, Shibuya I, Yamashita H. Centrally administered orexin/hypocretin activates HPA axis in rats. *Neuroreport* 2000; 11: 1977-1980

Labarrère P, Chatenet D, Leprince J, Marionneau C, Loirand G, Tonon MC, Dubessy C, Scalbert E, Pfeiffer B, Renard P, Calas B, Pacaud P, Vaudry H. Structure-activity relationships of human urotensin II and related analogues on rat aortic ring contraction. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2003; 18: 77-88

Lagos P, Urbanavicius J, Scorza MC, Miraballes R, Torterolo P. Depressive-like profile induced by MCH microinjections into the dorsal raphe nucleus evaluated in the forced swim test. *Behav Brain Res* 2011; 218: 259-266

Lecea L, de et al., 1998 s. de Lecea

Lederis K, Medaković M. Pharmacological observations on the hypotensive action of extracts of teleost fish *Urophyses* (urotensin I) in the rat. *Br J Pharmacol* 1974; 51: 315-324

Lederis K, Vale W, Rivier J, MacCannell KL, McMaster D, Kobayashi Y, Suess U, Lawrence J. Urotensin I - a novel CRF-like peptide in *Catostomus commersoni* urophysis. *Proc West Pharmacol Soc* 1982a; 25: 223-227

Lederis K, Letter A, McMaster D, Moore G, Schlesinger D. Complete amino acid sequence of urotensin I, a hypotensive and corticotropin-releasing neuropeptide from *Catostomus*. *Science* 1982b; 218: 162-165

Lee CM, Javitch JA, Snyder SH. Characterization of [³H]desipramine binding associated with neuronal norepinephrine uptake sites in rat brain membranes. *J Neurosci* 1982; 2: 1515-1525

Lee MG, Hassani OK, Jones BE. Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 2005; 25: 6716-6720

Leifeld L, Clemens C, Heller J, Trebicka J, Sauerbruch T, Spengler U. Expression of urotensin II and its receptor in human liver cirrhosis and fulminant hepatic failure. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1458-1464

Lembo PM, Grazzini E, Cao J, Hubatsch DA, Pelletier M, Hoffert C, St-Onge S, Pou C, Labrecque J, Groblewski T, O'Donnell D, Payza K, Ahmad S, Walker P. The receptor for the orexigenic peptide melanin-concentrating hormone is a G-protein-coupled receptor. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 267-271

Leprince J, Chatenet D, Dubessy C, Fournier A, Pfeiffer B, Scalbert E, Renard P, Pacaud P, Oulyadi H, Ségalas-Milazzo I, Guilhaudis L, Davoust D, Tonon MC, Vaudry H. Structure-activity relationships of urotensin II and URP. *Peptides* 2008; 29: 658-673

Li Y, van den Pol AN. Differential target-dependent actions of coexpressed inhibitory dynorphin and excitatory hypocretin/orexin neuropeptides. *J Neurosci* 2006; 26: 13037-13047

Liu AM, Wong YH. G16-mediated activation of nuclear factor kappaB by the adenosine A1 receptor involves c-Src, protein kinase C, and ERK signaling. *J Biol Chem* 2004; 279: 53196-53204

Liu Q, Pong SS, Zeng Z, Zhang Q, Howard AD, Williams DL Jr, Davidoff M, Wang R, Austin CP, McDonald TP, Bai C, George SR, Evans JF, Caskey CT. Identification of urotensin II as the endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPR14. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 266: 174-178

Liu RJ, van den Pol AN, Aghajanian GK. Hypocretins (orexins) regulate serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus by excitatory direct and inhibitory indirect actions. *J Neurosci* 2002; 22: 9453-9464

Lochrie MA, Simon MI. G protein multiplicity in eukaryotic signal transduction systems. *Biochemistry* 1988; 27: 4957-4965

Lubkin M, Stricker-Krongrad A. Independent feeding and metabolic actions of orexins in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 253: 241-245

Ma X, Zubcevic L, Brüning JC, Ashcroft FM, Burdakov D. Electrical inhibition of identified anorexigenic POMC neurons by orexin/hypocretin. *J Neurosci* 2007; 27: 1529-1533

Maggio R, Novi F, Scarselli M, Corsini GU. The impact of G-protein-coupled receptor hetero-oligomerization on function and pharmacology. *FEBS J* 2005; 272: 2939-2946

Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Orphan-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol* 2000; 131: 441-446

Maguire JJ, Kuc RE, Wiley KE, Kleinz MJ, Davenport AP. Cellular distribution of immunoreactive urotensin-II in human tissues with evidence of increased expression in atherosclerosis and a greater constrictor response of small compared to large coronary arteries. *Peptides* 2004; 25: 1767-1774

Maguire ME, Van Arsdale PM, Gilman AG. An agonist-specific effect of guanine nucleotides on binding to the beta adrenergic receptor. *Mol Pharmacol* 1976; 12: 335-339

Malagon MM, Molina M, Gahete MD, Duran-Prado M, Martinez-Fuentes AJ, Alcain FJ, Tonon MC, Leprince J, Vaudry H, Castaño JP, Vazquez-Martinez R. Urotensin II and urotensin II-related peptide activate somatostatin receptor subtypes 2 and 5. *Peptides* 2008; 29: 711-720

Marchese A, Heiber M, Nguyen T, Heng HH, Saldivia VR, Cheng R, Murphy PM, Tsui LC, Shi X, Gregor P, et al. Cloning and chromosomal mapping of three novel genes, GPR9, GPR10, and GPR14, encoding receptors related to interleukin 8, neuropeptide Y, and somatostatin receptors. *Genomics* 1995; 29: 335-344

Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol* 2001; 435: 6-25

Matsunaga TO, Hruby VJ, Lebl M, Castrucci AM, Hadley ME. Synthesis and bioactivity studies of two isosteric acyclic analogues of melanin concentrating hormone. *Life Sci* 1992; 51: 679-685

Matsuo E, Mochizuki A, Nakayama K, Nakamura S, Yamamoto T, Shioda S, Sakurai T, Yanagisawa M, Shiuchi T, Minokoshi Y, Inoue T. Decreased intake of sucrose solutions in orexin knockout mice. *J Mol Neurosci* 2011; 43: 217-224

Matsuoka M, Itoh H, Kozasa T, Kaziro Y. Sequence analysis of cDNA and genomic DNA for a putative pertussis toxin-insensitive guanine nucleotide-binding regulatory protein alpha subunit. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 5384-5388

Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N, Hirata Y. Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens* 2001; 19: 2185-2190

Maura G, Raiteri M. Cholinergic terminals in rat hippocampus possess 5-HT_{1B} receptors mediating inhibition of acetylcholine release. *Eur J Pharmacol* 1986; 129: 333-337

McCord CP, Allen FP. Evidences associating pineal gland function with alterations in pigmentation. *J Exp Zool* 1917; 23: 207-224

Medakovic M, Chan DK, Lederis K. Pharmacological effects of urotensins. I. Regional vascular effects of urotensins I and II in the rat. *Pharmacology* 1975; 13: 409-418

Messina MM, Overton JM. Cardiovascular effects of melanin-concentrating hormone. *Regul Pept* 2007; 139: 23-30

Middlemiss DN. Stereoselective blockade at [³H]5-HT binding sites and at the 5-HT autoreceptor by propranolol. *Eur J Pharmacol* 1984; 101: 289-293

Mieda M, Williams SC, Sinton CM, Richardson JA, Sakurai T, Yanagisawa M. Orexin neurons function in an efferent pathway of a food-entrainable circadian oscillator in eliciting food-anticipatory activity and wakefulness. *J Neurosci* 2004; 24: 10493-10501

Milligan G, Kostenis E. Heterotrimeric G-proteins: a short history. *Br J Pharmacol* 2006; 147: 46-55

Milligan G. G protein-coupled receptor hetero-dimerization: contribution to pharmacology and function. *Br J Pharmacol* 2009; 158: 5-14

Molderings GJ, Fink K, Schlicker E, Göthert M. Inhibition of noradrenaline release via presynaptic 5-HT_{1B} receptors of the rat vena cava. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1987; 336: 245-250

Molderings GJ, Likungu J, Hentrich F, Göthert M. Facilitatory presynaptic angiotensin receptors on the sympathetic nerves of the human saphenous vein pulmonary artery. Potential involvement in beta-adrenoceptor-mediated facilitation of noradrenaline release. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1988; 338: 228-233

Monaghan AE, 2013: IUPHAR Database, Chemerin receptor: chemerin receptor. <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/ObjectDisplayForward?objectId=79> (Zugriffsdatum: 29.09.2013)

Monk P, Woodruff T, Coulthard L, Hawksworth O, 2013: Complement peptide receptors. <http://iuphar-db.org/DATABASE/FamilyMenuForward?familyId=5> (Zugriffsdatum: 03.10.2013)

Morecroft I, Heeley RP, Prentice HM, Kirk A, MacLean MR. 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in human small muscular pulmonary arteries: importance of the 5-HT_{1B} receptor. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 730-734

Mori M, Sugo T, Abe M, Shimomura Y, Kurihara M, Kitada C, Kikuchi K, Shintani Y, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Urotensin II is the endogenous ligand of a G-protein-coupled orphan receptor, SENR (GPR14). *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265: 123-129

Mori M, Harada M, Terao Y, Sugo T, Watanabe T, Shimomura Y, Abe M, Shintani Y, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Cloning of a novel G protein-coupled receptor, SLT, a subtype of the melanin-concentrating hormone receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 283: 1013-1018

Moriguchi T, Sakurai T, Nambu T, Yanagisawa M, Goto K. Neurons containing orexin in the lateral hypothalamic area of the adult rat brain are activated by insulin-induced acute hypoglycemia. *Neurosci Lett* 1999; 264: 101-104

Mota A, Guimarães S. Interaction between alpha₂-autoreceptors and receptors mediating the effects of angiotensin II and bradykinin in the heart of newborn rats. *Eur J Pharmacol* 2002; 453: 265-270

Moussaïf M, Rubin WW, Kerov V, Reh R, Chen D, Lem J, Chen CK, Hurley JB, Burns ME, Artemyev NO. Phototransduction in a transgenic mouse model of Nougaret night blindness. *J Neurosci* 2006; 26: 6863-6872

Muraki Y, Yamanaka A, Tsujino N, Kilduff TS, Goto K, Sakurai T. Serotonergic regulation of the orexin/hypocretin neurons through the 5-HT_{1A} receptor. *J Neurosci* 2004; 24: 7159-7166

Murata Y, Yasuo T, Yoshida R, Obata K, Yanagawa Y, Margolskee RF, Ninomiya Y. Action potential-enhanced ATP release from taste cells through hemichannels. *J Neurophysiol* 2010; 104: 896-901

Muroya S, Funahashi H, Yamanaka A, Kohno D, Uramura K, Nambu T, Shibahara M, Kuramochi M, Takigawa M, Yanagisawa M, Sakurai T, Shioda S, Yada T. Orexins (hypocretins) directly interact with neuropeptide Y, POMC and glucose-responsive neurons to regulate Ca²⁺ signaling in a reciprocal manner to leptin: orexigenic neuronal pathways in the mediobasal hypothalamus. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 1524-1534

Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, Hosoya Y, Yanagisawa M, Goto K. Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res* 1999; 827: 243-260

Nakamura A, Zhang W, Yanagisawa M, Fukuda Y, Kuwaki T. Vigilance state-dependent attenuation of hypercapnic chemoreflex and exaggerated sleep apnea in orexin knockout mice. *J Appl Physiol* 2007; 102: 241-248

Nakamura T, Uramura K, Nambu T, Yada T, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Orexin-induced hyperlocomotion and stereotypy are mediated by the dopaminergic system. *Brain Res* 2000; 873: 181-187

Narahashi T, Moore JW, Scott WR. Tetrodotoxin blockage of sodium conductance increase in lobster giant axons. *J Gen Physiol* 1964; 47: 965-974

Narahashi T. Tetrodotoxin: a brief history. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2008; 84: 147-154

Neer EJ, Lok JM, Wolf LG. Purification and properties of the inhibitory guanine nucleotide regulatory unit of brain adenylate cyclase. *J Biol Chem* 1984; 259: 14222-14229

Neer EJ, Clapham DE. Roles of G protein subunits in transmembrane signalling. *Nature* 1988; 333: 129-134

Nishihara E, Amino N, Maekawa K, Yoshida H, Ito M, Kubota S, Fukata S, Miyauchi A. Prevalence of TSH receptor and G α mutations in 45 autonomously functioning thyroid nodules in Japan. *Endocr J* 2009; 56: 791-798

Nollet M, Gaillard P, Minier F, Tanti A, Belzung C, Leman S. Activation of orexin neurons in dorsomedial/perifornical hypothalamus and antidepressant reversal in a rodent model of depression. *Neuropharmacology* 2011; 61: 336-346

Northup JK, Sternweis PC, Smigel MD, Schleifer LS, Ross EM, Gilman AG. Purification of the regulatory component of adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 6516-6520

Nothacker HP, Wang Z, McNeill AM, Saito Y, Merten S, O'Dowd B, Duckles SP, Civelli O. Identification of the natural ligand of an orphan G-protein-coupled receptor involved in the regulation of vasoconstriction. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 383-385

Offermanns S. G-proteins as transducers in transmembrane signalling. *Prog Biophys Mol Biol* 2003; 83: 101-130

Ong KL, Wong LY, Cheung BM. The role of urotensin II in the metabolic syndrome. *Peptides* 2008; 29: 859-867

Ono T, Kawaguchi Y, Kudo M, Kushikata T, Hashiba E, Yoshida H, Kudo T, Furukawa K, Douglas SA, Guerrini R, Calo' G, Hirota K. Urotensin II evokes neurotransmitter release from rat cerebrocortical slices. *Neurosci Lett* 2008; 440: 275-279

Pachoud B, Adamantidis A, Ravassard P, Luppi PH, Grisar T, Lakaye B, Salin PA. Major impairments of glutamatergic transmission and long-term synaptic plasticity in the hippocampus of mice lacking the melanin-concentrating hormone receptor1. *J Neurophysiol* 2010; 104: 1417-1425

Pang JJ, Alexander J, Lei B, Deng W, Zhang K, Li Q, Chang B, Hauswirth WW. Achromatopsia as a potential candidate for gene therapy. *Adv Exp Med Biol* 2010; 664: 639-646

Park SW, Shen X, Tien LT, Roman R, Ma T. Methamphetamine-induced changes in the striatal dopamine pathway in mu-opioid receptor knockout mice. *J Biomed Sci* 2011; 18: 83

Pearson D, Shively JE, Clark BR, Geschwind II, Barkley M, Nishioka RS, Bern HA. Urotensin II: a somatostatin-like peptide in the caudal neurosecretory system of fishes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 5021-5024

Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 1998; 18: 9996-10015

Pfeuffer T. GTP-binding proteins in membranes and the control of adenylate cyclase activity. *J Biol Chem* 1977; 252: 7224-7234

Piñeyro G, Castanon N, Hen R, Blier P. Regulation of [3H]5-HT release in raphe, frontal cortex and hippocampus of 5-HT1B knock-out mice. *Neuroreport* 1995; 7: 353-359

Pissios P, Trombly DJ, Tzameli I, Maratos-Flier E. Melanin-Concentrating Hormone Receptor 1 Activates Extracellular Signal-Regulated Kinase and Synergizes with Gs-Coupled Pathways. *Endocrinology* 2003; 144: 3514-3523

Pissios P, Bradley RL, Maratos-Flier E. Expanding the scales: The multiple roles of MCH in regulating energy balance and other biological functions. *Endocrine Reviews* 2006; 27: 606-620

Pol AN, van den et al., 2002 s. van den Pol

Pratt WE, Blackstone K, Connolly ME, Skelly MJ. Selective serotonin receptor stimulation of the medial nucleus accumbens causes differential effects on food intake and locomotion. *Behav Neurosci* 2009; 123: 1046-1057

Presse F, Nahon JL, Fischer WH, Vale W. Structure of the human melanin-concentrating hormone mRNA. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 632-637

Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, Piper M, Pelleymounter MA, Cullen MJ, Mathes WF, Przypek R, Kanarek R, Maratos-Flier E. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature* 1996; 380: 243-247

Ramanjaneya M, Conner AC, Chen J, Kumar P, Brown JE, Jöhren O, Lehnert H, Stanfield PR, Randeva HS. Orexin-stimulated MAP kinase cascades are activated through multiple G-protein signalling pathways in human H295R adrenocortical cells: diverse roles for orexins A and B. *J Endocrinol* 2009; 202: 249-261

Regard JB, Kataoka H, Cano DA, Camerer E, Yin L, Zheng YW, Scanlan TS, Hebrok M, Coughlin SR. Probing cell type-specific functions of Gi in vivo identifies GPCR regulators of insulin secretion. *J Clin Invest* 2007; 117: 4034-4043

Rego JC, do et al., 2008 s. do Rego

Reutelsterz A. Affinität und intrinsische Aktivität von zwei Gruppen neu synthetisierter Substanzen an β -Adrenozeptoren. Inaugural-Dissertation, Universität Bonn, 2009

Richardson BP, Engel G. The pharmacology and function of 5-HT₃ receptors. *Trends Neurosci* 1986; 9: 424-428

Rodbell M, Birnbaumer L, Pohl SL, Krans HM. The glucagon-sensitive adenylyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. V. An obligatory role of guanylnucleotides in glucagon action. *J Biol Chem* 1971; 246: 1877-1882

Rodbell M. The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction. *Nature* 1980; 284: 17-22

Rodriguez M, Beauverger P, Naime I, Rique H, Ouvry C, Souchaud S, Dromaint S, Nagel N, Suply T, Audinot V, Boutin JA, Galizzi JP. Cloning and molecular characterization of the novel human melanin-concentrating hormone receptor MCH2. *Mol Pharmacol* 2001; 60: 632-639

Rojas JM, Oliva JL, Santos E. Mammalian son of sevenless Guanine nucleotide exchange factors: old concepts and new perspectives. *Genes Cancer* 2011; 2: 298-305

Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: R1156-R1172

Ross EM, Gilman AG. Resolution of some components of adenylate cyclase necessary for catalytic activity. *J Biol Chem* 1977; 252: 6966-6969

Ross EM, Howlett AC, Ferguson KM, Gilman AG. Reconstitution of hormone-sensitive adenylate cyclase activity with resolved components of the enzyme. *J Biol Chem* 1978; 253: 6401-6412

Ross EM. G proteins and receptors in neuronal signaling. In: Hall ZW, Hrsg. *An Introduction to Molecular Neurobiology*. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates, Inc, 1992: 181-206

Rossi M, Choi SJ, O'Shea D, Miyoshi T, Ghatei MA, Bloom SR. Melanin-concentrating hormone acutely stimulates feeding, but chronic administration has no effect on body weight. *Endocrinology* 1997; 138: 351-355

Rump LC, Schollmeyer P. Modulation of renal transmitter release by presynaptic receptors. *Klin Wochenschr* 1989; 67: 865-869

Saetrum Opgaard O, Nothacker H, Ehlert FJ, Krause DN. Human urotensin II mediates vasoconstriction via an increase in inositol phosphates. *Eur J Pharmacol* 2000; 406: 265-271

Sailer AW, Sano H, Zeng Z, McDonald TP, Pan J, Pong SS, Feighner SD, Tan CP, Fukami T, Iwaasa H, Hreniuk DL, Morin NR, Sadowski SJ, Ito M, Ito M, Bansal A, Ky B, Figueroa DJ, Jiang Q, Austin CP, MacNeil DJ, Ishihara A, Ihara M, Kanatani A, Van der Ploeg LH, Howard AD, Liu Q. Identification and characterization of a second melanin-concentrating hormone receptor, MCH-2R. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 7564 - 7569

Saito Y, Nothacker HP, Wang Z, Lin SH, Leslie F, Civelli O. Molecular characterization of the melanin-concentrating-hormone receptor. *Nature* 1999; 400: 265-269

Saito Y, Nothacker HP, Civelli O. Melanin-concentrating hormone receptor: an orphan receptor fits the key. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11: 299-303

Sakamaki R, Uemoto M, Inui A, Asakawa A, Ueno N, Ishibashi C, Hirono S, Yukioka H, Kato A, Shinfuku N, Kasuga M, Katsuura G. Melanin-concentrating hormone enhances sucrose intake. *Int J Mol Med* 2005; 15: 1033-1039

Sakamoto F, Yamada S, Ueta Y. Centrally administered orexin-A activates corticotropin-releasing factor-containing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and central amygdaloid nucleus of rats: possible involvement of central orexins on stress-activated central CRF neurons. *Regul Pept* 2004; 118: 183-191

Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu W, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and Orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92: 573-585

Sakurai T. Roles of orexin/hypocretin in regulation of sleep/wakefulness and energy homeostasis. *Sleep Med Rev* 2005; 9: 231-241

Sakurai T, Nagata R, Yamanaka A, Kawamura H, Tsujino N, Muraki Y, Kageyama H, Kunita S, Takahashi S, Goto K, Koyama Y, Shioda S, Yanagisawa M. Input of orexin/hypocretin neurons revealed by a genetically encoded tracer in mice. *Neuron* 2005; 46: 297-308

Scharrer E. Über die Beteiligung des Zellkernes an sekretorischen Vorgängen in Nervenzellen. *Frankfurt Z Path* 1935; 47: 143-151

Scharrer E. Vergleichende Untersuchungen über die zentralen Anteile des vegetativen Systems. *Z Anat* 1937; 106: 162-192

Schlicker E, Fink K, Hinterthaler M, Göthert M. Inhibition of noradrenaline release in the rat brain cortex via presynaptic H3 receptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1989; 340: 633-638

Schlicker E, Schunack W, Göthert M. Histamine H3 receptor mediated inhibition of noradrenaline release in pig retinal discs. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1990; 342: 497-501

Schlicker E, Fink K, Molderings GJ, Price GW, Duckworth M, Gaster L, Middlemiss DN, Zentner J, Likungu J, Göthert M. Effects of selective h5-HT1B (SB-216641) and h5-HT1D (BRL-15572) receptor ligands on guinea-pig and human 5-HT auto- and hetero-receptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997; 356: 321-327

Schlicker E, Göthert M. Interactions between the presynaptic α_2 -autoreceptor and presynaptic inhibitory heteroreceptors on noradrenergic neurones. *Brain Res Bull* 1998; 47: 129-132

Schlumberger SE, Talke-Messerer C, Zumsteg U, Eberle AN. Expression of receptors for melanin-concentrating hormone (MCH) in different tissues and cell lines. *J Recept Signal Transduct Res* 2002; 22: 509-531

Schultheiß T. Modulation der Neurotransmitterfreisetzung durch Cannabinoide und andere präsynaptisch angreifende Liganden. Inaugural-Dissertation, Universität Bonn, 2005

Selzer E, Wilfing A, Schiferer A, Hermann M, Grubeck-Loebenstein B, Freissmuth M. Stimulation of human thyroid growth via the inhibitory guanine nucleotide binding (G) protein Gi: constitutive expression of the G-protein alpha subunit Gi alpha-1 in autonomous adenoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1609-1613

Serhan CN, Chiang N, Ye RD, Bäck M, Dahlén SE, Drazen J, Evans JE, Rovati GE, Shimizu T, Yokomizo T, 2013: Formylpeptide receptors: FPR2/ALX. <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/ObjectDisplayForward?objectId=223> (Zugriffsdatum: 29.09.2013)

Severinsen JE, Als TD, Binderup H, Kruse TA, Wang AG, Vang M, Muir WJ, Blackwood DH, Mors O, Børghlum AD. Association analyses suggest GPR24 as a shared susceptibility gene for bipolar affective disorder and schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006; 141B: 524-533

Sharp GW, Hynie S, Lipson LC, Parkinson DK. Action of cholera toxin to stimulate adenyl cyclase. *Trans Assoc Am Physicians* 1971; 84: 200-211

Shimomura Y, Mori M, Sugo T, Ishibashi Y, Abe M, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Sumino Y, Fujino M. Isolation and identification of melanin-concentrating hormone as the endogenous ligand of the SLC-1 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261: 622-626

Shirasaka T, Nakazato M, Matsukura S, Takasaki M, Kannan H. Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *Am J Physiol* 1999; 277: R1780-R1785

Siegel JM. Narcolepsy: a key role for hypocretins (orexins). *Cell* 1999; 98: 409-412.

Skofitsch G, Jacobowitz DM, Zamir N. Immunohistochemical localization of a melanin concentrating hormone-like peptide in the rat brain. *Brain Res Bull* 1985; 15: 635-649

Sleight AJ, Carolo C, Petit N, Zwingelstein C, Bourson A. Identification of 5-hydroxytryptamine₇ receptor binding sites in rat hypothalamus: sensitivity to chronic antidepressant treatment. *Mol Pharmacol* 1995; 47: 99-103

Smart D, Jerman JC, Brough SJ, Neville WA, Jewitt F, Porter RA. The hypocretins are weak agonists at recombinant human orexin-1 and orexin-2 receptors. *Br J Pharmacol* 2000; 129: 1289-1291

Song W, Abdel-Razik AE, Lu W, Ao Z, Johns DG, Douglas SA, Balment RJ, Ashton N. Urotensin II and renal function in the rat. *Kidney Int* 2006; 69: 1360-1368

Speidel CC. Gland-cells of internal secretion of the spinal cord of skates. *Papers Dept Marine Biol Carnegie Inst Wash* 1919; 13: 1-31

Speidel CC. Further comparative studies of cells that are homologous to the large glandular cells in the spinal cord of the skates. *J Comp Neurol* 1922; 34: 303-317

Spiegel AM. Signal transduction by guanine nucleotide binding proteins. *Mol Cell Endocrinol* 1987; 49: 1-16

Spleiss O, van Calker D, Schärer L, Adamovic K, Berger M, Gebicke-Haerter PJ. Abnormal G protein $\alpha(s)$ - and $\alpha(i2)$ -subunit mRNA expression in bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 512-520

Starke K. Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1977; 77: 1-124

Starke K, Göthert M, Kilbinger H. Modulation of neurotransmitter release by presynaptic autoreceptors. *Physiol Rev* 1989; 69: 864-989

Starke K. Presynaptic autoreceptors in the third decade: focus on α_2 -adrenoceptors. *J Neurochem* 2001; 78: 685-693

Stegbauer J, Vonend O, Oberhauser V, Sellin L, Rump LC. Angiotensin II receptor modulation of renal vascular resistance and neurotransmission in young and adult spontaneously hypertensive rats. *Kidney Bood Press Res* 2005; 28: 20-26

Sternweis PC, Robishaw JD. Isolation of two proteins with high affinity for guanine nucleotides from membranes of bovine brain. *J Biol Chem* 1984; 259: 13806-13813

Strader C, Fong T, Tota M, Underwood D, Dixon R. Structure and function of G protein coupled receptors. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 101-132

Stryer L. Transducin and the cyclic GMP phosphodiesterase: amplifier proteins in vision. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1983; 48: 841-852

Stryer L. Cyclic GMP cascade of vision. *Annu Rev Neurosci* 1986; 9: 87-119

Sugo T, Murakami Y, Shimomura Y, Harada M, Abe M, Ishibashi Y, Kitada C, Miyajima N, Suzuki N, Mori M, Fujino M. Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 860-868

Takahashi K, Koyama Y, Kayama Y, Yamamoto M. Effects of orexin on the laterodorsal tegmental neurones. *Psychiatry Clin Neurosci* 2002; 56: 335-336

Takakusaki K, Takahashi K, Saitoh K, Harada H, Okumura T, Kayama Y, Koyama Y. Orexinergic projections to the cat midbrain mediate alternation of emotional behavioural states from locomotion to cataplexy. *J Physiol* 2005; 568: 1003-1020

Tal M, Ammar DA, Karpuj M, Krizhanovsky V, Naim M, Thompson DA. A novel putative neuropeptide receptor expressed in neural tissue, including sensory epithelia. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 209: 752-759

Tan CP, Sano H, Iwaasa H, Pan J, Sailer AW, Hreniuk DL, Feighner SD, Palyha OC, Pong SS, Figueroa DJ, Austin CP, Jiang MM, Yu H, Ito J, Ito M, Ito M, Guan XM, MacNeil DJ, Kanatani A, Van der Ploeg LH, Howard AD. Melanin-concentrating hormone receptor subtypes 1 and 2: species-specific gene expression. *Genomics* 2002; 79: 785-792

Tang J, Chen J, Ramanjaneya M, Punn A, Conner AC, Randeve HS. The signalling profile of recombinant human orexin-2 receptor. *Cell Signal* 2008; 20: 1651-1661

Thannickal TC, Moore RY, Nienhuis R, Ramanathan L, Gulyani S, Aldrich M, Cornford M, Siegel JM. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* 2000; 27: 469-474

Thomas DR, Melotto S, Massagrande M, Gribble AD, Jeffrey P, Stevens AJ, Deeks NJ, Eddershaw PJ, Fenwick SH, Riley G, Stean T, Scott CM, Hill MJ, Middlemiss DN, Hagan JJ, Price GW, Forbes IT. SB-656104-A, a novel selective 5-HT₇ receptor antagonist, modulates REM sleep in rats. *Br J Pharmacol* 2003; 139: 705-714

Thorpe AJ, Kotz CM. Orexin A in the nucleus accumbens stimulates feeding and locomotor activity. *Brain Res* 2005; 1050: 156-162

Tian L, Li C, Qi J, Fu P, Yu X, Li X, Cai L. Diabetes-induced upregulation of urotensin II and its receptor plays an important role in TGF-beta1-mediated renal fibrosis and dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: E1234-E1242

Top M, van den et al., 2004 s. van den Top

Trebicka J, Leifeld L, Hennenberg M, Biecker E, Eckhardt A, Fischer N, Pröbsting AS, Clemens C, Lammert F, Sauerbruch T, Heller J. Hemodynamic effects of urotensin II and its specific receptor antagonist palosuran in cirrhotic rats. *Hepatology* 2008; 47: 1264-1276

Trendelenburg AU, Limberger N, Starke K. Subclassification of presynaptic alpha 2-adrenoceptors: Alpha 2D-autoreceptors in guinea-pig atria and brain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995; 352: 49-57

Tsoukas P, Kane E, Giaid A. Potential clinical implications of the urotensin II receptor antagonists. *Front Pharmacol* 2011; 2: 38

Uchida S, Wheeler GL, Yamazaki A, Bitensky MW. A GTP-protein activator of phosphodiesterase which forms in response to bleached rhodopsin. *J Cyclic Nucleotide Res* 1981; 7: 95-104

van den Pol AN, Ghosh PK, Liu RJ, Li Y, Aghajanian GK, Gao XB. Hypocretin (orexin) enhances neuron activity and cell synchrony in developing mouse GFP-expressing locus coeruleus. *J Physiol* 2002; 541: 169-185

van den Top M, Lee K, Whyment AD, Blanks AM, Spanswick D. Orexigen-sensitive NPY/AgRP pacemaker neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. *Nat Neurosci* 2004; 7: 493-494

Vaughan JM, Fischer WH, Hoeger C, Rivier J, Vale W. Characterization of melanin-concentrating hormone from rat hypothalamus. *Endocrinology* 1989; 125: 1660-1665

Wang S, Behan J, O'Neill K, Weig B, Fried S, Laz T, Bayne M, Gustafson E, Hawes BE. Identification and pharmacological characterization of a novel human melanin-concentrating hormone receptor, mch-r2. *J Biol Chem* 2001; 276: 34664-34670

Westerfield DB, Pang PK, Burns JM. Some characteristics of melanophore-concentrating hormone (MCH) from teleost pituitary glands. *Gen Comp Endocrinol* 1980; 42: 494-499

Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Yanagisawa M. To eat or to sleep? Orexin in the regulation of feeding and wakefulness. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 429-458

Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Tokita S, Williams SC, Kisanuki YY, Marcus JN, Lee C, Elmquist JK, Kohlmeier KA, Leonard CS, Richardson JA, Hammer RE, Yanagisawa M. Distinct narcolepsy syndromes in Orexin receptor-2 and Orexin null mice: molecular genetic dissection of Non-REM and REM sleep regulatory processes. *Neuron* 2003; 38: 715-730

Winrow CJ, Gotter AL, Cox CD, Tannenbaum PL, Garson SL, Doran SM, Breslin MJ, Schreier JD, Fox SV, Harrell CM, Stevens J, Reiss DR, Cui D, Coleman PJ, Renger JJ. Pharmacological characterization of MK-6096 - A dual orexin receptor antagonist for insomnia. *Neuropharmacology* 2012; 62: 978-987

Winsky-Sommerer R, Yamanaka A, Diano S, Borok E, Roberts AJ, Sakurai T, Kilduff TS, Horvath TL, de Lecea L. Interaction between the corticotropin-releasing factor system and hypocretins (orexins): a novel circuit mediating stress response. *J Neurosci* 2004; 24: 11439-11448

Wolfman A, Macara IG. A cytosolic protein catalyzes the release of GDP from p21ras. *Science* 1990; 248: 67-69

Xi MC, Morales FR, Chase MH. Induction of wakefulness and inhibition of active (REM) sleep by GABAergic processes in the nucleus pontis oralis. *Arch Ital Biol* 2001; 139: 125-145

Xie X, Crowder TL, Yamanaka A, Morairty SR, Lewinter RD, Sakurai T, Kilduff TS. GABA(B) receptor-mediated modulation of hypocretin/orexin neurones in mouse hypothalamus. *J Physiol* 2006; 574: 399-414

Yamada H, Okumura T, Motomura W, Kobayashi Y, Kohgo Y. Inhibition of food intake by central injection of anti-orexin antibody in fasted rats. *Biochem. Biophys Res Commun* 2000; 267: 527-531

Yamamura H, Lad PM, Rodbell M. GTP stimulates and inhibits adenylate cyclase in fat cell membranes through distinct regulatory processes. *J Biol Chem* 1977; 252: 7964-7966

Yamanaka A, Tsujino N, Funahashi H, Honda K, Guan JL, Wang QP, Tominaga M, Goto K, Shioda S, Sakurai T. Orexins activate histaminergic neurons via the orexin 2 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 1237-1245

Yamanaka A, Beuckmann CT, Willie JT, Hara J, Tsujino N, Mieda M, Tominaga M, Yagami K, Sugiyama F, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. *Neuron* 2003; 38: 701-713

Yang M, Sang H, Rahman A, Wu D, Malik AB, Ye RD. G alpha 16 couples chemoattractant receptors to NF-kappa B activation. *J Immunol* 2001; 166: 6885-6892

Yoshida K, McCormack S, España RA, Crocker A, Scammell TE. Afferents to the orexin neurons of the rat brain. *J Comp Neurol* 2006; 494: 845-861

Zamir N, Skofitsch G, Bannon MJ, Jacobowitz DM. Melanin-concentrating hormone: unique peptide neuronal system in the rat brain and pituitary gland. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 1528-1531

Zazo C, Thiele S, Martín C, Fernandez-Rebollo E, Martinez-Indart L, Werner R, Garin I, Spanish PHP Group, Hiort O, Perez de Nanclares G. G_{α} activity is reduced in erythrocyte membranes of patients with pseudohypoparathyroidism due to epigenetic alterations at the GNAS locus. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 1864-1870

Zelnik PR, Lederis K. Chromatographic separation of urotensins. *Gen Comp Endocrinol* 1973; 20: 392-400

Zhang W, Sakurai T, Fukuda Y, Kuwaki T. Orexin neuron-mediated skeletal muscle vasodilation and shift of baroreflex during defense response in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R1654-R1663

Zheng H, Corkern MM, Crousillac SM, Patterson LM, Phifer CB, Berthoud HR. Neurochemical phenotype of hypothalamic neurons showing Fos expression 23 h after intracranial AgRP. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 282: R1773-R1781

Zheng H, Patterson LM, Morrison C, Banfield BW, Randall JA, Browning KN, Travagli RA, Berthoud HR. Melanin concentrating hormone innervation of caudal brainstem areas involved in gastrointestinal functions and energy balance. *Neuroscience* 2005; 135: 611-625

Zhu Y, Miwa Y, Yamanaka A, Yada T, Shibahara M, Abe Y, Sakurai T, Goto K. Orexin receptor type-1 couples exclusively to pertussis toxin-insensitive G-proteins, while orexin receptor type-2 couples to both pertussis toxin-sensitive and -insensitive G-proteins. *J Pharmacol Sci* 2003; 92: 259-266

Zhu YC, Zhu YZ, Moore PK. The role of urotensin II in cardiovascular and renal physiology and diseases. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 884-901

Zhu YZ, Wang ZJ, Zhu YC, Zhang L, Oakley RM, Chung CW, Lim KW, Lee HS, Ozoux ML, Linz W, Böhm M, Kostenis E. Urotensin II causes fatal circulatory collapse in anesthetized monkeys in vivo: a "vasoconstrictor" with a unique hemodynamic profile. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H830-H836

Ziltener P, Mueller C, Haenig B, Scherz MW, Nayler O. Urotensin II mediates ERK1/2 phosphorylation and proliferation in GPR14-transfected cell lines. *J Recept Signal Transduct Res* 2002; 22: 155-68

9. Danksagung

Als erstes möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Eberhard Schlicker, für das Überlassen des Themas, die ständige Ansprechbarkeit und die somit vorzügliche Betreuung danken. Erklärende und motivierende Gespräche fanden in regelmäßigen Abständen statt. Herr Professor Schlicker zeigte stets Verständnis und Geduld, insbesondere was die Vereinbarkeit von Studium bzw. Beruf, Familie und dem Fertigstellen der Dissertation betrifft.

Herrn Prof. em. Dr. med. M. Göthert danke ich für die Bereitstellung der Laboreinrichtungen des alten Instituts für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Bonn. Herrn Prof. Dr. med. A. Pfeifer danke ich ebenfalls für das Bereitstellen der Räumlichkeiten sowohl des alten pharmakologischen Instituts als auch des neuen Instituts im Biomedizinischen Zentrum der Universität Bonn.

Frau Doris Petri möchte ich für die Einarbeitung in labortechnische Verfahren sowie für ihre ständige tatkräftige Hilfe danken.

Frau Christina Kurz danke ich ebenfalls für die Einarbeitung in die Labortechnik und die ständige Hilfsbereitschaft.

Für ihre freundliche Unterstützung danke ich auch Frau Sarah Herlofsen.

Herrn Daniel Maynard danke ich für das Interesse und die inspirierenden Gespräche.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich stets unterstützte und motivierte. Besonders mein Bruder Ravi sei hier erwähnt, der in einer schwierigen Phase mit viel Geduld für mich da war. Die Worte meiner Mutter („und was macht Deine Doktorarbeit?“) brachten mich das eine oder andere Mal zur Besinnung und wirkten so wie Wasser auf die „Motivationsmühle“. Meine Frau und meine Kinder waren ein guter Rückhalt und gaben mir die nötige Kraft, um die Dissertation zu Ende zu bringen.