
5. ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung:

Das Verständnis der Regulation der Nahrungsaufnahme hat in den letzten Jahrzehnten zugenommen. Nervale Mechanismen, periphere und zentrale Mediatoren sind zu einem Netzwerk verknüpft und wirken über die Brain-Gut-Achse. Das Zusammenspiel von drei dieser die Nahrungsaufnahme beeinflussenden Substanzen wurde in der vorliegenden Studie untersucht. Während Ghrelin das einzige bekannte Orexigen ist, hemmen Amylin, Bombesin und CRF die Nahrungsaufnahme. Amylin kann die Nahrungsaufnahme bei Ratten sowohl über zentrale als auch periphere Mechanismen reduzieren, wobei Neurone der Area Postrema und des Nucleus Tractus Solitarii wahrscheinlich eine Rolle spielen. Sowohl die zentrale als auch die periphere Applikation von Bombesin hemmen die Nahrungsaufnahme bei Nagetieren. Der inhibitorische Effekt wird vermutlich über den NTS des Hirnstamms vermittelt. Hypothalamisches Bombesin kann den Corticotropin Releasing Factor (CRF) freisetzen. CRF spielt eine Rolle in der Hypothalamus-Hypophysen-Achse und integriert bei Nagetieren die Antwort auf Stress. Des Weiteren ist CRF ein potenter Inhibitor der NPY induzierten Nahrungsaufnahme bei Ratten. Ghrelin ist die einzige bekannte Substanz, welche nach peripherer Applikation die Kurzzeitnahrungsaufnahme bei Nagetieren stimuliert. Nach peripherer und zentraler Gabe induziert Ghrelin den neuronalen Aktivitätsmarker Fos im NARC und PVN des Hypothalamus. NPY/AgRP positive Zellen des NARC vermitteln die orexigenen Effekte von Ghrelin.

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von intraperitoneal appliziertem Amylin oder Bombesin auf die Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme und Neuronenaktivierung bei gesättigten Ratten untersucht.

Methoden:

Ungefastete, männliche Sprague Dawley-Ratten erhielten intraperitoneale Injektionen von entweder Amylin und Ghrelin oder Bombesin und Ghrelin. Die Studie gliederte sich in einen verhaltensbiologischen und in einen immunhistologischen Teil.

Verhaltensbiologisch wurde die kumulative Nahrungsaufnahme über zwei Stunden gemessen. Im zweiten Teil der Studie erfolgte nach einer Gehirnperfusion mit Fixierungslösung die immunhistologische Aufarbeitung der Gehirne. Mit Hilfe des neuronalen Markers Fos wurde die Aktivierung der Neurone in PVN, NARC und NTS untersucht. Zusätzlich wurden die aktivierten Neurone im PVN mittels einer Doppelfärbung phänotypisiert.

Ergebnisse:

Ghrelin (13 µg/kg, ip.) steigerte die Nahrungsaufnahme signifikant verglichen mit der Vehikelgruppe. Bei der simultanen ip. Injektion von Ghrelin und Bombesin (13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe) hemmte Bombesin die orexigenen Effekte von Ghrelin. Bombesin (4 und 8 µg/kg, ip.) reduzierte die Nahrungsaufnahme Dosis abhängig. Diese Reduktion der Nahrungsaufnahme erreichte jedoch keine statistische Signifikanz verglichen mit der Vehikelgruppe.

Im Gegensatz zu Bombesin war Amylin (1 und 5 µg/kg, ip.) bei der simultanen Gabe mit Ghrelin (13 µg/kg, ip.) nicht in der Lage, die Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme zu beeinflussen. Ein Kontrollversuch zeigte, dass Amylin (5 µg/kg, ip.), appliziert zu Beginn der Dunkelphase, die Nahrungsaufnahme bei Ratten hemmt.

Ghrelin steigerte die Anzahl der Fos positiven Neurone/Schnitt im NARC, im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bombesin in den verschiedenen Dosierungen (4 und 8 µg/kg, ip.) hatte keinen Einfluss auf die Fos-Expression im NARC. Bombesin (4 und 8 µg/kg, ip.), simultan injiziert mit Ghrelin (13 µg/kg, ip.) hatte keinen Effekt auf die Ghrelin induzierte Fos-IR in Neuronen des NARC.

Im NTS steigerte sowohl die alleinige Applikation von Bombesin (8 µg/kg, ip.) als auch die simultane ip. Gabe von Ghrelin und Bombesin (13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe) die Neuronenaktivierung verglichen mit allen anderen Gruppen.

Die ip. Gabe von Ghrelin in einer Dosis von 13 µg führte zu einem signifikanten Anstieg der Fos-Signale in Neuronen des PVN. Die ip. Applikation von Bombesin allein in den verschiedenen Dosierungen (4 und 8 µg/kg) hatte keinen Effekt auf die Fos-Expression in Neuronen des PVN. Bei der simultanen ip. Gabe von 13 µg Ghrelin und 4 µg Bombesin hatte Bombesin keinen Effekt auf die durch Ghrelin induzierte Neuronenaktivierung. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei der simultanen ip. Gabe von 8 µg Bombesin und 13 µg Ghrelin ein dreifacher Anstieg der Fos-Expression in Neuronen des PVN, verglichen mit der Vehikelgruppe. Von den Fos aktiven Neuronen dieser Gruppe waren ~60% auch CRF positiv. Weiterhin waren ~23% der CRF positiven Neurone auch positiv für Fos. In der Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe zeigten sich ~45% der Fos exprimierenden Neurone CRF positiv. In dieser Gruppe waren ~11% der CRF positiven Neurone auch positiv für Fos.

Diskussion:

Der orexigene Effekt von peripherem Ghrelin wird durch die simultane ip. Gabe von Bombesin gehemmt. Amylin war nicht in der Lage, die Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme zu beeinflussen. Diese Beobachtungen legen die Vermutung nahe, dass die Hemmung der Ghrelin induzierten Nahrungsaufnahme ein spezifischer Effekt von Bombesin ist.

Die simultane Applikation von 13 µg Ghrelin und 8µg Bombesin führte zu einer signifikanten Steigerung der Fos-Expression in Neuronen des PVN. Fast 60% dieser Fos aktiven Neurone waren CRF positiv. Auch die alleinige Gabe von Ghrelin erhöhte die Fos-Expression in CRF positiven Neuronen des PVN. Möglicherweise führt Ghrelin über eine Erhöhung von NPY im NARC über intrahypothalamische Projektionen zu einer Hemmung von GABA-Neuronen im PVN. Die Hemmung von GABA-Interneuronen führt zu einer Enthemmung von CRF-Neuronen. Diese CRF-Neurone werden hierdurch empfänglicher für einen Stimulus durch Bombesin und setzen CRF frei. Die Aktivierung von CRF positiven Neuronen könnte somit die Ursache für die Hemmung der Ghrelin induzierten Nahrungsaufnahme durch Bombesin sein.