

DIE WIRKUNG VON ANGIOTENSIN II AUF DIE ZUSAMMENSETZUNG DER FREIEN FETTSÄUREN IM BLUTPLASMA AM KANINCHEN

M. L. MICHAILOV

Aus dem Zentralinstitut für Herz- und Kreislauf-Regulationsforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR, Berlin

(Received 5 November 1973; accepted 13 February 1974)

Abstract—GLC analysis shows a characteristic change in the plasmatic free fatty acid spectrum immediately and 30–60 min after injection of Angiotensin II. First a decrease in unsaturated FFA, particularly for oleic and linoleic acid, and an increase in saturated FFA, mostly for palmitic acid, were observed. A second phase was observed 30–60 min after injection, characterized by an increase in unsaturated FFA and a decrease in saturated FFA. The double change in the FFA spectrum after Angiotensin II administration is comparable to the metabolic accommodations instigated by an hypertonic blood circulation.

DIE BETEILIGUNG VON Angiotensin II an der Blutdruckregulation aktualisiert die Frage nach der Bedeutung dieses Stoffes in der energetischen Versorgung der Hypertonie. Es ist bekannt, daß die freien Fettsäuren (FFS) eine wichtige Energiequelle unter erhöhter und/oder andauernder Belastung der Organismus darstellen. Der Energiebedarf bei Hypertonie steht in Beziehung zum Tonus der adrenergischen Strukturen, zur Intensivierung der Lipolyse, Beschleunigung der Utilisation von Metaboliten etc. Die Verstärkung des Effektes der Katecholamine durch Angiotensin II zeigt einen Zusammenhang zwischen Angiotensin II und dem Lipidmetabolismus. Bei einer Langzeitinfusion von Angiotensin II wird eine Verminderung der FFS-Konzentration im Plasma gefunden.^{1–3} 60 min nach der Angiotensin II-Applikation steigen die FFS markant an.⁴ Weitergehend können differenzierte Analysen der einzelnen Fraktionen der FFS im Plasma unter Applikation von Angiotensin II durchgeführt werden.

METHODIK

Wir führten eine gaschromatische Analyse der FFS bei 20 männlichen Kaninchen durch (Durchschnittsgewicht 3,3 kg, Alter 1 Jahr, aus der institutseigenen Mischrasse, bei gleichen Nahrungsbedingungen in Einzelkäfigen gehalten). Die Narkose wurde mit Pentobarbital von 30 mg/kg Körpergewicht i.v. eingeleitet und danach eine pressorische Dosis von synthetischem Angiotensin II (Hypertensin CIBA; val-5-hypertensin II-asp-betaamid) von 5 µg/kg in einer Menge von 2 ml isotoner Kochsalzlösung i.v. appliziert (1. Versuchsreihe). Als Kontrolle nahmen wir Untersuchungen der Tiere einmal in Narkose ohne Angiotensin II (2. Versuchsreihe) und zum anderen in Narkose unter Applikation physiologischer Kochsalzlösung (3. Versuchsreihe) vor. Die Blutentnahmen erfolgten jeweils aus der A. carotis in konstanten

Zeitintervallen: Ausgangswert vor der Injektion, 1, 30, 60 und 90 min nach der Injektion. Das entnommene Blut wurde bei den Tieren nach Abschluß des Experimentes mit physiologischer Kochsalzlösung kompensiert. Der Blutdruck wurde mittels eines Manometers kymographisch an der *A. femoralis* oder blutig in der *A. carotis communis* mit Hilfe eines Statham-Elementes über ein EKG-Gerät registriert.

Die Lipidextraktion aus dem Plasma (2,5–3 ml pro Blutentnahme) erfolgte mit dem Chloroform–Methanol-Verfahren (2:1, v/v),⁵ wobei auf 1 ml Plasma 20 ml Chloroform–Methanol-Gemisch verwendet wurden. Die Lipide fraktionierten wir durch Dünnschichtgromatographie mit Kieselgel G/Merck.⁶ Für die gaschromatographische Untersuchung wurden die FFS durch Methanol–5% HCl⁷ verestert. Die Trennung der Methylester wurde gaschromatographisch (Gasofract TP 500, Fa. Dr. Virus KG, Bonn) vorgenommen. Die gaschromatographischen Bedingungen waren folgende: Säule: 3000 × 0,4 cm Kupferrohr; Säulenfüllung: 7,5% Diäthylenglucol-succinat auf Gaschrom Q, 100–120 mesh; Temperaturen: Injektionspunkt 260°, Säule 185°, Detektor 265°; Trägergas: Stickstoff, 2,8 l/h Durchfluß; Empfindlichkeit: $0,5 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-9}$ A; Papiervorschub: 600 mm/h.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem *t*-Test und der Korrelationsprüfung.

ERGEBNISSE

Die Mittelwerte des systolischen arteriellen Blutdruckes vor der Angiotensin II-Applikation betrugen 88 mm Hg, unmittelbar nach der Injektion erfuhren sie einen Anstieg auf 145 mm Hg und erreichten während des weiteren Untersuchungszeitraumes 95 mm Hg.

Die Ergebnisse der 2. und 3. Versuchsreihe zeigten gleichartige unbedeutende Schwankungen der einzelnen Lipidfraktionen und wurden mit diesem unter Applikation von Angiotensin II verglichen. Die Veränderungen im FFS-Spektrum sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Unmittelbar nach der Angiotensininjektion (vgl. 1. min) steigen die gesättigten FFS an, die ungesättigten FFS fallen ab, besonders ersichtlich

TABELLE 1.

(A) Inj. 0,9% NaCl	(B) Inj. Angiotensin II 5 µg/kg				
	1 Min	30 Min	60 Min	90 Min	
1. Gesättigte Fettsäuren (%)					
C ₁₂	0,8 ± 0,2	1,5 ± 0,3			0,5
C ₁₄	3,6 ± 0,8	4,7 ± 0,9	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,6 ± 0,3
C ₁₆	40,9 ± 4,6	46,8 ± 4,9	28,9 ± 3,0	28,4 ± 2,8	40,1 ± 3,8
C ₁₈	5,8 ± 1,2	7,8 ± 0,9	4,7 ± 0,6	4,8 ± 0,7	6,9 ± 0,7
C ₂₀	3,4 ± 0,3	4,3 ± 0,5	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,2	2,5 ± 0,3
	54,5 ± 4,1	65,1 ± 5,6	38,0 ± 3,7	37,8 ± 3,5	51,6 ± 4,5
2. Ungesättigte Fettsäuren (%)					
C _{16:1}	4,9 ± 0,6	3,8 ± 0,4	6,3 ± 0,5	6,4 ± 0,6	5,1 ± 0,4
C _{18:1}	20,8 ± 1,9	16,4 ± 1,4	26,8 ± 2,2	27,2 ± 2,4	21,5 ± 1,6
C _{18:2}	7,3 ± 0,8	5,3 ± 0,4	10,5 ± 0,9	10,4 ± 0,9	8,1 ± 0,7
C _{18:3}	7,1 ± 0,7	5,7 ± 0,8	10,2 ± 1,0	10,0 ± 0,9	7,6 ± 0,6
C _{20:4}	5,4 ± 0,4	3,8 ± 0,4	8,4 ± 0,7	8,2 ± 0,8	6,1 ± 0,5
	45,5 ± 4,2	34,9 ± 2,9	62,0 ± 5,2	62,2 ± 5,4	48,4 ± 3,1

an der Erhöhung der gesättigten Palmitinsäure sowie der Verminderung der ungesättigten Öl- und Linolsäure. Diese Veränderungen besitzen statistische Signifikanz mit $P < 0,01$.

In der darauffolgenden Zeit von 30 und 60 min nach der Applikation erhielten wir Veränderungen in diametraler Richtung, d.h. wir fanden eine Abnahme der gesättigten und Zunahme der ungesättigten FFS. Diese kontrastierenden Verschiebungen führen über die Angleichung an die Kontrollwerte zu einem ausgeprägten Reboundphänomen, das wir zwischen der 30. und 60. min konstatierten. In der 90. min nach der Angiotensinapplikation erfolgte wiederum eine Angleichung an die Kontrollwerte. Die statistische Verifizierung ergab bei C_{16} , $C_{16:1}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{20:4}$ $P < 0,01$.

DISKUSSION

Die durch appliziertes Angiotensin II verursachte Hypertonie verläuft im ersten Teil des Experiments (1. min) mit deutlichen Veränderungen im Spektrum der FFS in Form einer Erhöhung der gesättigten und Verminderung der ungesättigten Reihe im Plasma, die fast alle Fraktionen betreffen. Dieser Untersuchungsabschnitt entspricht einem schweren hypertonen Zustand. Ähnliche Verschiebungen fanden wir auch in vorausgehenden Untersuchungen einer experimentellen Hypertonie am Tier.^{8,9} Die größere Oxydationsbereitschaft der ungesättigten FFS und erhöhter energetischer Bedarf scheinen für das schnelle Absinken der ungesättigten Reihe der FFS im Blutplasma bei hypertonen Zuständen verantwortlich zu sein.

Eine andere notwendige Seite der Untersuchung des Effektes von Angiotensin II auf die Zusammensetzung der FFS besteht in einer kurzfristigen Verabreichung und einer längere Zeit verfolgenden Analyse der FFS (30, 60, 90 min). Dieser Zeitabschnitt entspricht adaptiven Vorgängen des pressorischen, renal induzierten humoralen Systems. In diesem Zeitraum stellten wir entgegengesetzte Verschiebungen im FFS-Spektrum fest, und zwar einen Anstieg der ungesättigten Fettsäuren, vorwiegend solcher mit langgliedrigen Ketten, und einen relativen Abfall der gesättigten Vertreter. Diese biphasischen Veränderungen könnten in Beziehung zur Aktivität unterschiedlich vorhandener Mengen von Angiotensin II stehen respektive mit Schwankungen im Angiotensin-Spiegel bei hypertonen Zuständen einhergehen. Es bestehen Unterschiede zwischen den von Noradrenalin und Angiotensin II induzierten Verschiebungen im FFS-Muster, wobei die Palmitin- und Ölsäure nach einer Noradrenalininfusion zunehmen.¹⁰ Die Kinetik der freien Fettsäuren mit verschiedener Kettenlänge und unterschiedlichem Grad der Ungesättigtheit bei ihrer Mobilisation und Utilisation besitzt ihre Gesetzmäßigkeiten bei Hypertonie. Es kann angenommen werden, daß Angiotensin II unter bestimmten Bedingungen einige biologische Prozesse, die sowohl den Gebrauch als auch die Regeneration der FFS betreffen, beeinflußt. Bei hypertoner Belastung des Organismus wird eine Intensivierung des Metabolismus als Kompensation seiner erhöhten funktionellen Anforderungen benötigt, bei welchen die ungesättigten FFS eine besondere Rolle spielen; sie beteiligen sich auch an den Strukturen biologischer Membranen, der Zellorganellen und Enzyme.

Zum Schluß sei darauf hingewiesen, daß das Niveau von Angiotensin II im arteriellen Blut eine variable Größe darstellt und analoge Wirkungen auf das FFS-Niveau im Plasma ausübt. Diese Veränderungen und Wechselwirkungen entstehen infolge

der Angiotensinintensität und der Adaptation der metabolischen Prozesse zu funktionellen Forderungen der Gefäßwand.

LITERATUR

1. W. P. JOHNSON und R. A. BRUCE, *Am. Heart J.* **63**, 212 (1962).
2. O. HEIDENREICH, Y. KOOK und E. REUS, *Archs Int. Pharmacodyn.* **148**, 309 (1964).
3. J. NAKANO und T. KUSAKARI, *Nature, Lond.* **209**, 922 (1966).
4. L. TRINER, M. C. HEULLY und G. G. NAHAS, *Am. J. Physiol.* **213**, 1545 (1967).
5. J. M. FOLCH, M. LEES und G. H. SLOANE-STANLEY, *J. biol. Chem.* **226**, 497 (1957).
6. R. T. LUIS-FERDINAND, D. G. THERRIault, W. F. BLATT und M. MAGER, *Clin. Chem.* **13**, 773 (1967).
7. W. STOFFEL, F. CHU und E. H. AHRENS, *Anal. Chem.* **31**, 307 (1959).
8. M. L. MICHAILOV, ST. NITSCHKOFF, R. BAUMANN und E. HOLLSTEIN, *Dtsch. Gesundh. Wes.* **25**, 2253 (1970).
9. M. L. MICHAILOV, ST. NITSCHKOFF und J. POHL, *Dtsch. Gesundh. Wes.* **26**, 1630 (1971).
10. E. BÖHLE, R. BIEGLER und R. TEICKE, *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **68**, 140 (1962).

Zusammenfassung—Gaschromatographische Analysen des Spektrums der freien Fettsäuren (FFS) im Blutplasma unter Applikation von Angiotensin II zeigten charakteristische Veränderungen unmittelbar nach und im Zeitraum von 30–60 min nach der Injektion. Zuerst wurde eine Verminderung der ungesättigten FFS, besonders ausgeprägt bei der Öl- und Linolsäure, und eine Erhöhung der gesättigten, am deutlichsten bei der Palmitinsäure festgestellt. Eine zweite Phase der Verschiebungen in der Zusammensetzung der FFS wurden in der 30.–60. min nach Angiotensinverabreichung beobachtet, wobei ein ausgeprägtes Reboundphänomen entsteht. Es handelt sich hierbei um einen Anstieg der ungesättigten und einen Abfall der gesättigten Reihe. Die biphasischen Veränderungen im Spektrum der FFS nach einer Angiotensin II-Applikation sind eng mit dem Energiebedarf eines hyper-tonen Kreislaufes und mit seinen verschiedensten adaptiven metabolischen Vorgängen verbunden.