

9 Molekulare Grundlagen des Diabetes insipidus centralis und renalis

ALEXANDER OKSCHE und WALTER ROSENTHAL

Inhaltsverzeichnis

9.1	Einführung	279	9.4.4	Molekulare Mechanismen bei erworbenen Erkrankungen	298
9.2	Ätiologie und Genetik	282	9.4.4.1	Lithium	298
9.2.1	Ursachen des Diabetes insipidus centralis	282	9.4.4.2	Hypokaliämie und Hyperkalzämie	299
9.2.1.1	Angeborene Formen	282	9.4.4.3	Postobstruktiver Diabetes insipidus renalis	300
9.2.1.2	Erworbene Formen	282	9.5	Tiermodelle	300
9.2.2	Ursachen des Diabetes insipidus renalis	284	9.5.1	Brattleboro-Ratte als Modell für den Diabetes insipidus centralis	300
9.2.2.1	Angeborene Formen	286	9.5.2	Modelle für den Diabetes insipidus renalis	301
9.2.2.2	Erworbene Formen	286	9.5.2.1	Tiermodelle des X-chromosomal-rezessiven (V2-Rezeptor) und des autosomal-rezessiven (AQP2) Diabetes insipidus renalis	301
9.3	Krankheitsbilder	286	9.5.2.2	Modell der DI+/+-Maus mit einem AVP-resistenten Diabetes insipidus renalis	302
9.3.1	Klinik und Verlauf des Diabetes insipidus centralis	286	9.5.2.3	AQP1-Knockout	302
9.3.1.1	Angeborene Formen	286	9.5.2.4	Weitere Tiermodelle des Diabetes insipidus renalis	303
9.3.1.2	Erworbene Formen	287	9.6	Diagnostik und Therapie	303
9.3.2	Klinik und Verlauf des Diabetes insipidus renalis	287	9.6.1	Diagnostik des Diabetes insipidus centralis und renalis	303
9.3.2.1	Angeborene Formen	287	9.6.2	Therapie des Diabetes insipidus centralis	305
9.3.2.2	Erworbene Formen	288	9.6.3	Therapie des angeborenen Diabetes insipidus renalis	305
9.4	Molekularbiologische Grundlagen	288	9.6.4	Therapie des erworbenen Diabetes insipidus renalis	305
9.4.1	Vasopressin	288	9.6.4.1	Lithium-induzierter Diabetes insipidus renalis	305
9.4.1.1	Synthese und enzymatische Prozessierung des AVP-NPII-Präprohormons	288	9.6.4.2	Diabetes insipidus durch Hypokaliämie und Hyperkalzämie	306
9.4.1.2	Krankheitsauslösende Mutationen im AVP-NPII-Gen	289	9.7	Ausblick	306
9.4.2	Vasopressin-V2-Rezeptor	291	9.8	Literatur	307
9.4.2.1	Vasopressin-V2-Rezeptor-Gen kodiert für einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor	291			
9.4.2.2	Krankheitsauslösende Mutationen des Vasopressin-V2-Rezeptor-Gens	292			
9.4.3	Aquaporin-2	295			
9.4.3.1	Aquaporin-2-Gen	295			
9.4.3.2	Krankheitsauslösende Mutationen des Aquaporin-2-Gens	296			

9.1 Einführung

Der Wasserhaushalt aller Primaten und Säugetiere unterliegt einer strengen Kontrolle: Eine Erhöhung der Plasmaosmolarität um >2% oder eine Verminderung des Plasmavolumens um >10% führen zu einer vermehrten Freisetzung des antidiuretischen Hormons (ADH). Da es bei Säugetieren zudem eine Gefäßverengung hervorruft, wird es auch als Vasopressin (AVP) bezeichnet. Diese Bezeichnung

hat sich international durchgesetzt. AVP ist ein zyklisches Nonapeptid (Abb. 9.1), dessen Aminosäuresequenz bei fast allen Säugetieren identisch ist. Lediglich beim Schwein findet sich an Position 8 anstelle eines Arginin- ein Lysinrest (Tabelle 9.1). Bei den Reptilien, Amphibien und Wirbellosen wird der Wasserhaushalt ebenfalls über vasopressinähnliche Peptide reguliert.

AVP wird als Vorläufermolekül (Präprohormon) von magnozellulären Neuronen der paraventriculären und supraoptischen Kerne des Hypothalamus

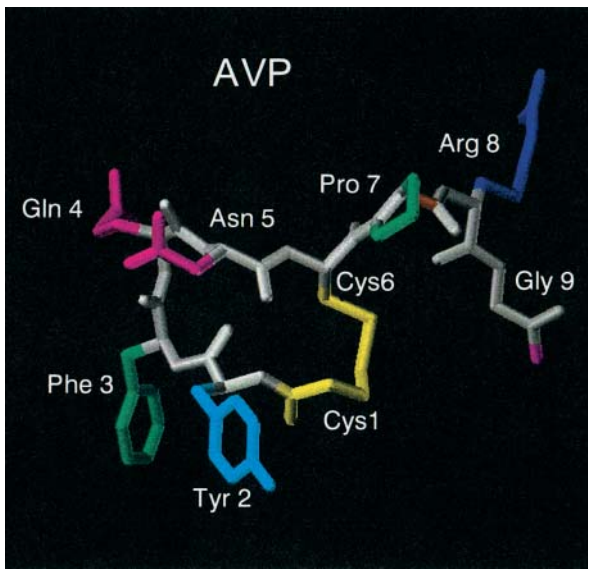


Abb. 9.1. Homologiemodell des 8-Arginin-Vasopressin basierend auf der Kristallstruktur von Oxytocin (Brookhaven 3D Protein Datenbank Eintrag: 1XY1; Wood et al. 1986). Die Aminosäuren sind im 3-Buchstaben-Code angegeben, die Zahlen geben die Position im AVP-Molekül an. Das Modell wurde von Gerd Krause, FMP Berlin, erstellt

gebildet. Die Vorläufermoleküle, die in neurosekretorischen Vesikeln verpackt werden, gelangen über den axonalen Transport an die Nervenendigungen in der Neurohypophyse. Während dieses Transports erfolgt auch ihre enzymatische Prozessierung zum AVP, dem Trägerprotein Neurophysin II (NPII) sowie einem Glykoprotein mit unbekannter Funktion (Abb. 9.2; Acher 1979, Richter 1988).

Nach der Prozessierung ist das AVP-Molekül in den Vesikeln über reversible, nichtkovalente Interaktionen an das NPII-Molekül gebunden (AVP-NPII-Komplex). Die AVP-NPII-Komplexe assoziieren auch untereinander zu Dimeren und möglicherweise auch Oligomeren (Abb. 9.3). Der Inhalt

der Vesikel wird auf osmotische Stimuli hin durch Exozytose in den neurohypophysären Portalkreislauf abgegeben, wobei das AVP rasch vom NPII dissoziiert und mit dem Blutstrom in die Niere gelangt.

Hauptwirkort des Hormons sind Epithelzellen der renalen Sammelrohre (Hauptzellen) und des aufsteigenden Teils der Henle-Schleife (Rosenthal et al. 1992, Kim et al. 1999; Abb. 9.4). AVP bindet hier an den Vasopressin-V2-Rezeptor (V2-Rezeptor; Birnbaumer 1992), der v.a. an der blutzugewandten Seite (basolaterale Membran) der Epithelzellen lokalisiert ist (Nonoguchi et al. 1995, Schülein et al. 1998 b, Andersen-Beckh et al. 1999). Die Bindung von AVP an den V2-Rezeptor führt zur Aktivierung einer intrazellulären Signalkaskade (Abb. 9.5), an deren Ende der Einbau von selektiven Wasserkanälen – Aquaporin 2 (AQP2) – in die dem Urin zugewandten Seite (apikale Membran) der Hauptzelle steht (Shuttle-Hypothese, Kurzzeitregulation; Wade et al. 1986, Breyer u. Ando 1994). Darüber hinaus wird auch die Transkription des AQP2-Gens durch die V2-Rezeptorvermittelte Signalkaskade stimuliert (Langzeitregulation). In nicht stimulierten Zellen liegt AQP2 hauptsächlich in intrazellulären Vesikeln vor. Durch den Einbau des AQP2 in die apikale Membran nimmt die Wasserpermeabilität drastisch zu. Freies Wasser strömt nun aus dem Lumen des Sammelrohrs in die Hauptzellen; über die selektiven Wasserkanäle Aquaporin 3 und 4 (AQP3, AQP4), die in der basolateralen Membran der Hauptzellen vorliegen, strömt das Wasser in das Interstitium (Inase et al. 1995, Jung et al. 1994, Terris et al. 1995). Die Folge ist eine Konzentrierung des Harns.

Bei Patienten mit angeborenem Diabetes insipidus sind inaktivierende Mutationen der Gene identifiziert worden, die für das Präprohormon des AVP, den V2-Rezeptor oder das AQP2 kodieren.

Tabelle 9.1. Vasopressin und vasopressinähnliche Peptide. Die Primärsequenz von 8-Arginin-Vasopressin (AVP) ist vollständig dargestellt; Ziffern in der 1. Zeile: Positionen der Aminosäuren im Nonapeptid, kursiv: Unterschiede in der Aminosäuresequenz der vasopressinähnlichen Peptide bzw. in dem strukturell verwandten Oxytocin. 1-Deamino-8-D-Arg-Vasopressin (DDAVP) ist ein synthetisches Analogon des AVP mit hoher Selektivität für den V2-Rezeptor. Zwischen den Cysteinresten an Position 1 und 6 der Nonapeptide ist eine Disulfidbrücke ausgebildet, an Position 9 liegt ein Glyzinamid vor

Substanz	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Arginin-VP	Cys	Tyr	Phe	Gln	Asn	Cys	Pro	Arg	Gly (NH ₂)
Lysin-VP	Cys	Tyr	Phe	Gln	Asn	Cys	Pro	Lys	Gly (NH ₂)
Vasotocin	Cys	Tyr	Ile	Gln	Asn	Cys	Pro	Arg	Gly (NH ₂)
DDAVP	<i>Deamino-Cys</i>	Tyr	Phe	Gln	Asn	Cys	Pro	<i>D-Arg</i>	Gly (NH ₂)
Oxytozin	Cys	Tyr	Ile	Gln	Asn	Cys	Pro	<i>Leu</i>	Gly (NH ₂)

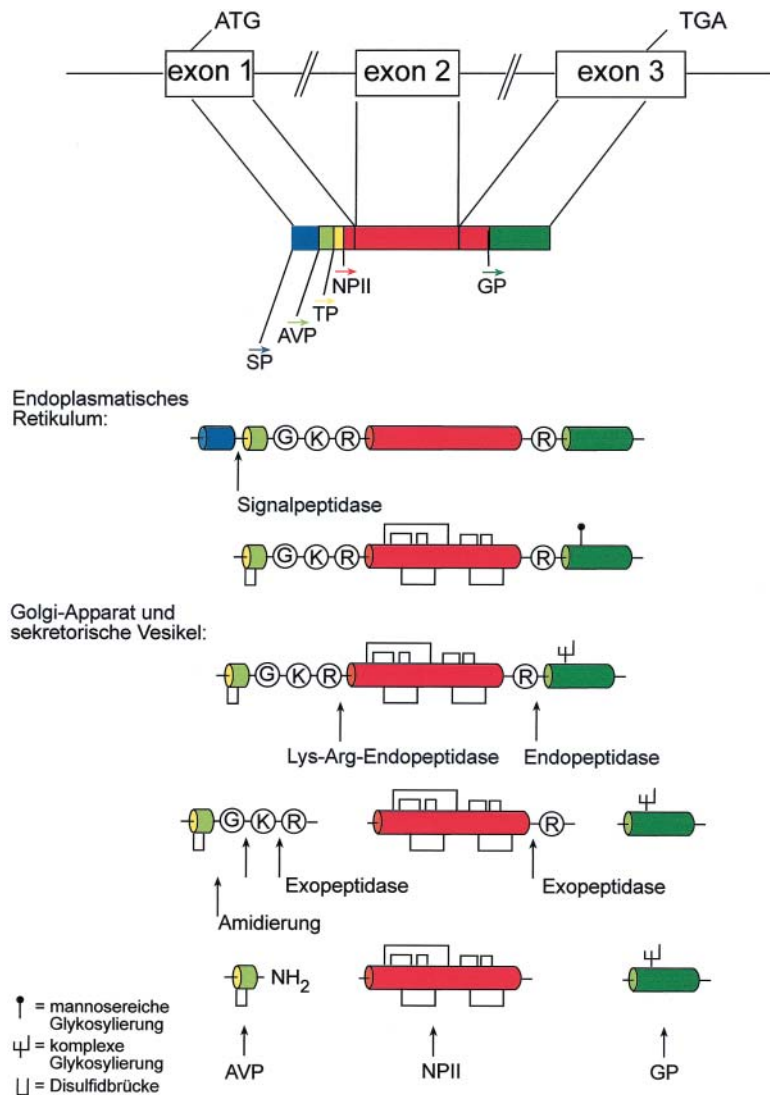


Abb. 9.2. Im oberen Bildteil ist die Struktur des AVP-NP-II-Gens gezeigt, Rechtecke Exons, durch Linien markiert Bereiche im AVP-NP-II-Präprohormon, die durch die 3 Exons kodiert werden. Darunter ist die Prozessierung des AVP-NP-II-Präprohormons gezeigt. Im Endoplasmatischen Retikulum wird das Signalpeptid des Präprohormons durch die Signalpeptidase entfernt. Hier erfolgen auch eine mannosereiche Glykosylierung des Glykoproteins sowie die Ausbildung der

Disulfidbrücken in den AVP- und Neurophysin-II-Domänen des Prohormons. Im Golgi-Apparat und den neurosekretorischen Vesikeln wird das Prohormon durch Endo- und Exopeptidasen enzymatisch prozessiert, das AVP am N-Terminus amidiert und das Glykoprotein komplex glykosyliert. SP – Signalpeptid, TP – Tripeptid, NP-II – Neurophysin II, GP – Glykoprotein

Unbehandelt weisen diese Patienten, die große Mengen verdünnten Harn ausscheiden, schwere Störungen des Wasserhaushalts auf.

Auch für zahlreiche erworbene Veränderungen sind Störungen der Regulation, Expression oder Funktion der 3 Gene bzw. ihrer Genprodukte bekannt, die einen Diabetes insipidus zu Folge haben. Die Analysen zu den Ursachen der krank-

heitsauslösenden Mutationen und der erworbenen Störungen haben zum molekularen Verständnis der AVP-Freisetzung und -Wirkung beigetragen. In Zukunft geht es darum, auf der Basis der neu gewonnenen Kenntnisse therapeutische Konzepte zur verbesserten Behandlung von Patienten mit erworbenen und angeborenen Störungen des Wasserhaushalts zu entwickeln.

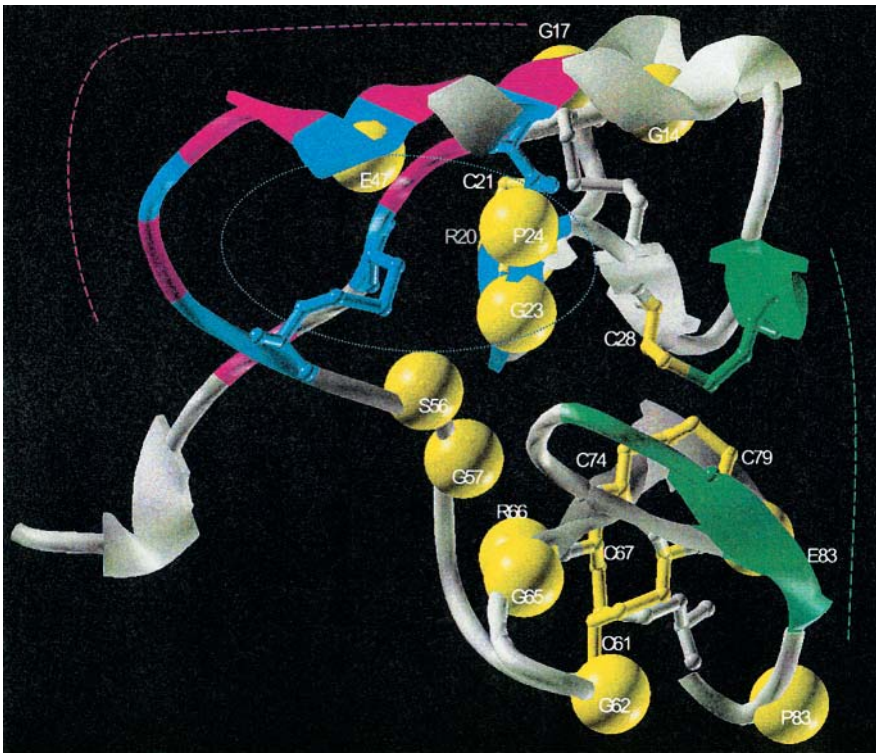


Abb. 9.3. Darstellung der Kristallstruktur von Neurophysin II (Brookhaven 3D Protein Datenbank Eintrag: 2BN2; Chen 1991). *Blau* Aminosäuren, die die Bindung mit dem AVP vermitteln, *blauer Kreis* Bindungstasche des AVP, *gelbe Kugeln* Aminosäuren, die bei dominant-negativen Mutanten ausgetauscht sind. Bei den mutierten Cysteinen sind die entsprechenden Anteile der Disulfidbrücke in *gelb* dargestellt. Angegeben sind die natürlicherweise vorkommende Aminosäure (1-Buchstaben-Code) sowie die Position im NP II,

grün Aminosäuren, über die eine Dimerisierung der NP II-Moleküle erfolgt, *grün gestrichelte Linien* Kontaktfläche im Dimer. In der Kristallstruktur fand sich auch eine Assoziation der NP II-Moleküle zu einem Tetramer, wobei nicht geklärt ist, ob das Tetramer auch *in vivo* vorliegt. *Rot* Aminosäuren, die an der Tetramerisierung beteiligt sind, *rot gestrichelte Linie* Kontaktflächen im Tetramer. Das Modell wurde von Gerd Krause, FMP Berlin, erstellt

9.2 Ätiologie und Genetik

9.2.1 Ursachen des Diabetes insipidus centralis

Störungen der Synthese des AVP-NP II-Präprohormons oder Störungen des Transports und der Sekretion des AVP-NP II-Komplexes führen zum Diabetes insipidus centralis. Die Ursachen des Diabetes insipidus centralis sind vielfältig und können sowohl angeboren als auch erworben sein.

9.2.1.1 Angeborene Formen

Beim angeborenen Diabetes insipidus centralis sind ein *autosomal-dominanter* und ein *autosomal-rezessiver* Erbgang bekannt. Für beide Erbgänge wurden inaktivierende Mutationen im AVP-NP II-Gen identifiziert. Das AVP-NP II-Gen liegt beim

Menschen auf dem kurzen Arm des Chromosom 20 (Ridell et al. 1985). Das Gen weist 3 Exons und 2 Introns auf und umfasst 2,5 kb (Sausville et al. 1985). Das 1. Exon kodiert für ein Signalpeptid, AVP, ein Zwischenstück von 3 Aminosäuren und die 9 N-terminalen Aminosäuren des NP II. Das 2. Exon kodiert für den zentralen Teil des NP II und das 3. Exon für den C-terminalen Abschnitt des NP II sowie ein Glykoprotein (Land et al. 1982, Schmale et al. 1983, Schmale et al. 1993; Abb. 9.4). Bislang sind 40 verschiedene Mutationen identifiziert worden, die in dem Bereich lokalisiert sind, die für das Signalpeptid des Präprohormons, AVP oder NP II, kodieren (Tabelle 9.2, 9.3).

9.2.1.2 Erworbene Formen

Die erworbenen Formen des Diabetes insipidus centralis sind häufiger als die angeborenen For-

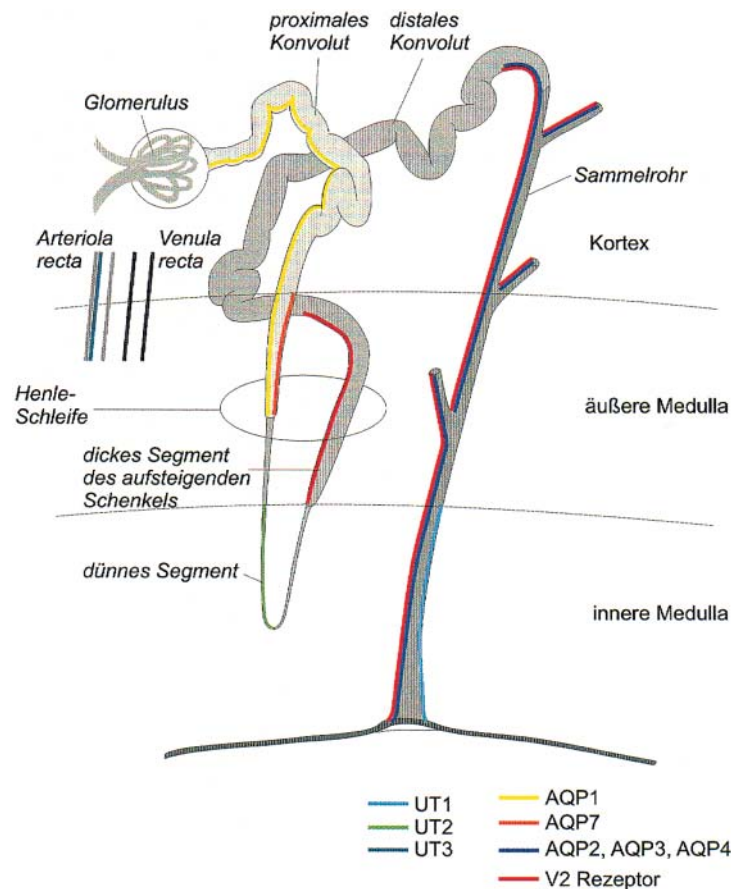


Abb. 9.4. Darstellung der unterschiedlichen Abschnitte von Nephron und Sammelrohr in Nierenrinde (Kortex) und Nierenmark (äußere und innere Medulla). Die unterschiedliche Expression von Aquaporinen (AQP1–4, AQP7), Harnstofftransportern (UT1–3) und des V2-Rezeptors im Nephron und Sammelrohr ist mit Farben kodiert

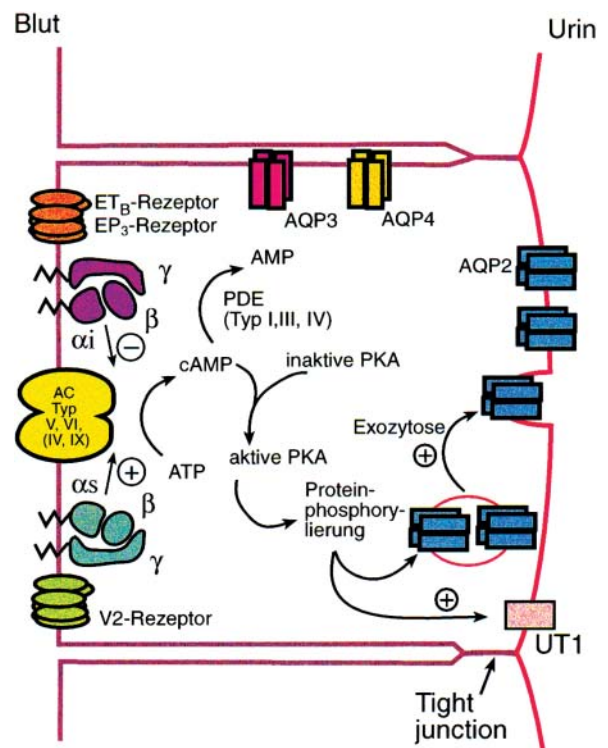


Abb. 9.5. Modell einer Hauptzelle im renalen Sammelrohr. Dargestellt ist die vasopressinvermittelte Signalkaskade, die letztlich zur Umverteilung von AQP2 in die apikale Membran führt. Nach der Stimulation des V2-Rezeptors wird das G-Protein G_s aktiviert. Die Untereinheit $G_{\alpha s}$ stimuliert die membranständige Adenylzyklase (AC), die große Mengen des Botenstoffs $cAMP$ bildet. Die Erhöhung intrazellulärer $cAMP$ -Spiegel führt zur Aktivierung der $cAMP$ -abhängigen Proteinkinase (PKA). Die aktivierte PKA phosphoryliert nun unterschiedliche Proteine, u.a. auch AQP2. In Folge der Phosphorylierungen und weiterer nicht genau bekannter Schritte werden AQP2-haltige Vesikel in die apikale Membran transloziert. Intrazelluläre Phosphodiesterasen (PDE), die $cAMP$ zu AMP hydrolysieren, vermindern oder beenden die V2-Rezeptor-vermittelte Signaltransduktion. Der hemmende Einfluss des Endothelin-B-Rezeptors (ET_B) und des Prostaglandinrezeptors (EP_3) auf die Signaltransduktion ist noch nicht sicher belegt. Weitere Einzelheiten s. Abschn. 9.6.3

Tabelle 9.2. Mutationen im AVP-NP_{II}-Gen (beim autosomal-dominanten Erbgang). Die Mutationen sind nach den Veränderungen auf der Aminosäureebene bezeichnet (1-Buchstaben-Kode für die wildtypische Aminosäure, Position der Aminosäure im Signalpeptid, AVP oder NP_{II}, 1-Buchstaben-Kode für die eingeführte Aminosäure)

Mutation	Lokalisation im AVP-NP _{II} -Gen	Auswirkung der Mutation auf	Referenz
ΔG227 ^a (Veränderung in der cDNA)	SP	Abspaltung des Signalpeptids	Rutishauser et al. 1996
ΔM ₋₁₉ P ₋₁₈ D ₋₁₇ T ₋₁₆	SP	Abspaltung des Signalpeptids	Rutishauser et al. 1994
A-1V	SP	Abspaltung des Signalpeptids	Rittig et al. 1996, Repaske et al. 1997
A-1T	SP	Abspaltung des Signalpeptids	Ito et al. 1993, McLeod et al. 93, Rittig et al. 93
S-3F	SP	Abspaltung des Signalpeptids	Rittig et al. 1996
Y2H	AVP	Bindung an NP _{II}	Rittig et al. 1996 b
G14R	NP _{II}	Flexibilität	Rittig et al. 1996
G17V	NP _{II}	Flexibilität	Bahnsen et al. 1992
R20C	NP _{II}	Disulfidbrücken	Heppner et al. 1998
C21R	NP _{II}	Disulfidbrücken	Rutishauser et al. 1999
G23R	NP _{II}	Flexibilität	Rittig et al. 1996
G23V	NP _{II}	Flexibilität	Gagliardi et al. 1997
P24L	NP _{II}	Verminderte Rigidität, AVP-Bindung	Ito et al. 1991, Repaske et al. 1994
C28Y	NP _{II}	Disulfidbrücken	Skordis et al. 2000
C28R	NP _{II}	Disulfidbrücken	Hansen et al. 1997
ΔE47	NP _{II}	AVP-Bindung	Rittig et al. 1996
E47G	NP _{II}	AVP-Bindung	Yuasa et al. 1993, Rittig et al. 1996
L50P	NP _{II}	Erhöhte Rigidität, AVP-Bindung	Rittig et al. 1996
S56F	NP _{II}	–	Grant et al. 1998
G57S	NP _{II}	Flexibilität	Rittig et al. 1996, Repaske et al. 1996
G57R	NP _{II}	Flexibilität	Rittig et al. 1996
C61X	NP _{II}	Disulfidbrücken	Rittig et al. 1996
C61S	NP _{II}	Disulfidbrücken	Rittig et al. 1996
C61Y	NP _{II}	Disulfidbrücken	Grant et al. 1998
G62W	NP _{II}	Flexibilität	Nagasaki et al. 1995
G65C	NP _{II}	Disulfidbrücken	Rittig et al. 1996
G65V	NP _{II}	Flexibilität	Ueta et al. 1996, Rauch et al. 1996
R66C	NP _{II}	Disulfidbrücken	Rutishauser et al. 1999
C67G	NP _{II}	Disulfidbrücken	DiMeglio et al. 2001
C67X	NP _{II}	Disulfidbrücken	Nagasaki et al. 1995
C74Y	NP _{II}	Disulfidbrücken	Fujii et al. 2000
C74X	NP _{II}	Disulfidbrücken	Rutishauser et al. 1999
C79X	NP _{II}	Disulfidbrücken	Rittig et al. 1996
E82X	NP _{II}	Disulfidbrücken	Calvo et al. 1998
P83X	NP _{II}	Verminderte Rigidität, AVP-Bindung	Rittig et al. 1996
C85G	NP _{II}	Disulfidbrücken	van den Akker et al. 2000
E87X	NP _{II}	–	Rittig et al. 1996

^a Veränderung auf der Ebene der cDNA angegeben, da hier eine komplexe Veränderung der Aminosäuresequenz folgt (die Deletion des einzelnen Nukleotids führt zum Verlust des ursprünglichen Startkodons; s. Abschn. 9.4.1.2). SP – Signalpeptid, NP_{II} – Neurophysin II.

men. So führen neurochirurgische Eingriffe im Bereich der Hypophyse, Hirntraumen, Tumoren der Adenohypophyse oder Metastasen (u. a. Bronchialkarzinom, Mammakarzinom) zum Diabetes insipidus centralis. Seltener Ursachen sind chronische Infektionen wie die Sarkoidose und die Histiozytose. Diese und weitere Ursachen des Diabetes insipidus centralis sind in Tabelle 9.4 zusammengestellt.

9.2.2 Ursachen des Diabetes insipidus renalis

Störungen der Synthese und Funktion des V2-Rezeptors oder des AQP2 führen zum Diabetes insipidus renalis. Als Ursache sind sowohl angeborene als auch erworbene Defekte bekannt (Tabelle 9.5).

Tabelle 9.3. Mutationen im AVP-NP_{II}-Gen (beim autosomal-rezessiven Erbgang). Bei den Mutationen, die an den Spleißstellen der Introns lokalisiert sind, ist der entsprechende Intron-Exon-Übergang angegeben. Die anderen Mutationen sind nach den Veränderungen auf der Aminosäureebene bezeichnet. In der P7L-Mutation ist der Prolinrest an Position 7 im AVP durch Leucin ersetzt, in der X163G-Mutation kodiert das ursprüngliche Stoppkodon für einen Glyzinrest im AVP-NP_{II}-Vorläufermolekül

Mutationen im AVP-NP _{II} -Gen	Auswirkung	Referenz
Homozygote Mutation Intron 1/Exon 2	Fehlerhaftes Spleißen	Bichet et al. 1998
Kombinierte Mutationen Intron 1/Exon 2	Fehlerhaftes Spleißen	Bichet et al. 1998
X163G	Fehlendes Stoppkodon	
Kombinierte Mutationen P7L P7L	AVP mit 30fach reduzierter biologischer Aktivität	Willcutts et al. 1999

Tabelle 9.4. Ursachen des Diabetes insipidus centralis

Ursache	Spezifische Ursache
<i>Erworben</i>	
Lokale Neoplasien	Chromophobes Adenom Kraniopharyngeom Pinealom
Infiltrative Neoplasien	Germinom Metastasen Leukämie Lymphom
Idiopathisch	–
Operativ	Hypophysektomie Transspheoidale Operationen
Hirutrauma	In Kombination mit Schädel- frakturen
Nichttraumatische Enzephalopathie	Zustand nach Reanimation Hypertensive Enzephalopathie Intoxikation
Hirnblutung	Aneurysma
Chronisch-entzündliche Erkrankungen	Sarkoidose Histiozytose Eosinophiles Granulom Morbus Hand-Schüller-Christian Tuberkulose
Akut-entzündliche Erkrankungen	Meningitis Enzephalitis Guillain-Barré-Syndrom
<i>Angeboren</i>	
Autosomal-dominanter Erbgang	Mutationen im AVP-NP _{II} -Gen
Autosomal-rezessiver Erbgang	Mutationen im AVP-NP _{II} -Gen
Klinische Syndrome	Wolfram-Syndrom (entspricht dem DIDMOAD- Syndrom)

DIDMOAD Diabetes insipidus renalis, Diabetes mellitus, Optikusatrophie und Taubheit (engl. deafness).

Tabelle 9.5. Ursachen des Diabetes insipidus renalis

Ursache	Spezifische Ursache
<i>Erworben</i>	
Metabolische Störungen	Hypokaliämie Hyperkalzämie
Chronische Nierenerkrankung	Tubulointerstitielle Nierenerkrankungen Polyzystische Nierenerkrankung
Anatomische Veränderungen	Postobstruktive Diurese
Systemerkrankungen	Sichelzellanämie Amyloidose Sarkoidose
Unerwünschte Arzneimittelwirkung (häufig)	Lithium Demeclocyclin
Unerwünschte Arzneimittelwirkung (selten)	Amphotericin B Aminoglykoside Methoxyfluran
<i>Angeboren</i>	
X-chromosomal-rezessiver Erbgang	Mutationen im V2-Rezeptor- Gen
Autosomal-rezessiver Erb- gang	Mutationen im AQP2-Gen
Autosomal-dominanter Erb- gang	Mutationen im AQP2-Gen
Klinische Syndrome	ARC-NDI
<i>Sonderformen</i>	
Schwangerschaft	Erhöhte Vasopressinaseakti- vität

ARC-NDI-Syndrom Arthrogryposis, renales Fanconi-Syndrom, Cholestase und *nephrogener Diabetes insipidus* (Diabetes insipidus renalis).

9.2.2.1 Angeborene Formen

Für den angeborenen Diabetes insipidus renalis sind 3 verschiedene Erbgänge bekannt. Es werden

1. ein *X-chromosomal-rezessiver* (Mutationen im V2-Rezeptor-Gen; Rosenthal et al. 1992),
2. ein *autosomal-rezessiver* (Mutationen im AQP2-Gen; Deen et al. 1994) und
3. ein *autosomal-dominanter* (Mutationen im AQP2-Gen; Mulders et al. 1998) Erbgang unterschieden. Das V2-Rezeptor-Gen befindet sich auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms (Xq28, Seibold 1992 et al.), das AQP2-Gen auf dem langen Arm des Chromosom 12 (12q13, Deen et al. 1994).

Die Häufigkeit für den X-chromosomalen Diabetes insipidus renalis beträgt etwa 8,8 auf 1 000 000 männliche Personen (Arthus et al. 1993). Genaue Angaben zur Prävalenz und Trägerfrequenz des autosomal-rezessiven Diabetes insipidus renalis sind nicht bekannt. In den bisher durchgeführten Mutationsanalysen bei Patienten mit angeborenem Diabetes insipidus renalis wurden im V2-Rezeptor-Gen etwa 10-mal häufiger krankheitsauslösende Mutationen gefunden als im AQP2-Gen. Für den autosomal-dominanten Diabetes insipidus renalis gibt es bislang überhaupt nur 3 publizierte Fälle (Mulders et al. 1997, Bichet et al. 1997).

9.2.2.2 Erworbene Formen

Bei den erworbenen Formen des Diabetes insipidus renalis finden sich zahlreiche Ursachen. Hierzu zählen metabolische Störungen wie die Hyperkalzämie und die Hypokaliämie, chronische Nierenerkrankungen, unerwünschte Arzneimittelwirkungen sowie bestimmte Systemerkrankungen (Tabelle 9.5). Besonders häufig wird der Diabetes insipidus renalis unter der Therapie mit Lithium beobachtet, das v.a. bei der uni- und bipolaren Psychose eingesetzt wird. Bei etwa 20–50% der mit Lithium behandelten Patienten sind deutliche Störungen der Harnkonzentrierung nachweisbar. Diese können auch nach Absetzen der Lithiummedikation persistieren (Markowitz et al. 2000).

9.3 Krankheitsbilder

Der Diabetes insipidus fasst alle Erkrankungen zusammen, bei denen große Mengen eines verdünnten Urins ausgeschieden werden. Die Patienten weisen als typische Symptome eine Trias aus

- Polyurie,
- Polydipsie und
- Asthenurie

auf. Die Urinmengen übersteigen 50 ml/kg Körpergewicht in 24 h, das spezifische Gewicht des Urins ist <1010 g/l und die Osmolalität <300 mosmol/kg.

9.3.1 Klinik und Verlauf des Diabetes insipidus centralis

9.3.1.1 Angeborene Formen

Klinik und Verlauf der beiden Formen des angeborenen Diabetes insipidus centralis können sich erheblich unterscheiden. Patienten mit der *autosomal-dominanten* Form sind als Neugeborene und Säuglinge häufig unauffällig. Die Erkrankung manifestiert sich erst im Kleinkindes- oder Kindesalter zwischen dem 1. und 6. Lebensjahr. Der Konzentrationsdefekt entwickelt sich progredient, sodass akut bedrohliche Situationen selten sind. Bei voller Ausprägung des Diabetes insipidus können Urinmengen von bis zu 25 l am Tag ausgeschieden werden (sofern keine Hormonsubstitution erfolgt), und häufige nächtliche Miktionen sind typisch.

Bei Patienten mit einem *autosomal-rezessiven* Erbgang kann die Erkrankung einen unterschiedlichen Verlauf nehmen. Liegt durch die Mutation in beiden Allelen ein kompletter Defekt der AVP-NP-II-Produktion und/oder -Sekretion vor (keine nachweisbaren AVP-Spiegel), wird der Diabetes insipidus bereits kurz nach der Geburt manifest. Ähnlich wie beim Diabetes insipidus renalis (s. Abschn. 9.3.2.1) können sich eine schwere Hypernatriämie und Hypovolämie entwickeln, die unbehandelt zum Tod führen. Bei bestehender Restfunktion des mutierten AVP-NP-II und erhaltener Prozessierung und Sekretion liegt ein weniger stark ausgeprägter Diabetes insipidus vor (s. Abschn. 9.4.1.2). Für beide Formen gilt, dass die körperliche und geistige Entwicklung der Patienten normal ist, sofern diese ausreichend Flüssigkeit zu sich nehmen bzw. rechtzeitig eine Substitutionstherapie mit einem AVP-Analogen erhalten (s. Abschn. 9.6.2).

Autopsien an Patienten mit autosomal-dominantem Diabetes insipidus centralis zeigen eine Verminderung von magnozellulären Neuronen und eine assoziierte Gliose (Braverman et al. 1965, Green et al. 1967). Immunhistochemische Untersuchungen belegen den spezifischen Verlust der AVP-produzierenden magnozellulären Neuronen. So zeigen

die AVP-produzierenden parvozellulären Neuronen (sind nicht an der Kontrolle des Wasserhaushalts beteiligt) der paraventriculären und suprachiasmatischen Kerne keine Veränderungen (s. Abschn. 9.4.1.2; Bergeron et al. 1991).

In der bildgebenden Diagnostik des zentralen Nervensystems mittels Kernspinresonanztomografie lassen sich bei Patienten mit einem angeborenen Diabetes insipidus centralis Veränderungen nachweisen: In T1-gewichteten Aufnahmen zeigen Gesunde einen hellen weißen Fleck im Bereich der hinteren Hypophyse, nicht aber Patienten mit autosomal-dominantem Diabetes insipidus centralis (Maghnie et al. 1992). Der Verlust des weißen Flecks könnte Folge des selektiven Untergangs AVP-produzierender, magnozellularer Neuronen sein. Hierfür spricht auch die Beobachtung, dass bei Kaninchen die Signalstärke des weißen Flecks im Bereich der Neurohypophyse mit dem AVP-Gehalt der Neurohypophyse korreliert (Kurokawa et al. 1998). Ob auch Patienten mit einem autosomal-rezessiven Diabetes insipidus centralis diese Veränderungen im Bereich der Neurohypophyse zeigen, wurde bisher nicht untersucht.

9.3.1.2 Erworbene Formen

Bei der erworbenen Form des Diabetes insipidus centralis liegt häufig ein plötzlicher Beginn der Symptomatik vor. Der Harn ist hypoton; das Harnvolumen kann in Extremfällen bis zu 25 l am Tag betragen. Die Miktionsfrequenz ist hoch und erfordert stündliche Harnentleerungen, auch während der Nacht. Es sind aber auch milde Verlaufsformen mit Urinmengen von 3–6 l/Tag möglich. Die Ausprägung des Diabetes insipidus wird durch das Ausmaß (z.B. Trauma oder Durchtrennung des Hypophysenstiels) und den Ort der Schädigung (Höhe der Verletzung im Hypophysenstiel) bestimmt. So führen hoch gelegene Verletzungen des Hypophysenstiels zu einer retrograden Degeneration der magnozellularen Neuronen mit einer persistierenden Klinik. Eine Regeneration der Neuronen ist dann, im Gegensatz zu tiefergelegenen Verletzungen des Hypophysenstiels, nicht mehr möglich. Die Folge ist ein persistierender Diabetes insipidus centralis.

Der *operativ bedingte* Diabetes insipidus centralis entwickelt sich typischerweise zwischen dem 1. und 6. postoperativen Tag und ist häufig mit einem anterioren Hypopituitarismus assoziiert. Die Symptomatik kann hierbei

1. passager für nur etwa 5 Tage bestehen,

2. triphasisch verlaufen (initialer Diabetes, passagere Besserung, nachfolgende persistierende Klinik) oder

3. von Beginn an persistieren.

Der *traumatische* Diabetes insipidus centralis (z.B. Unfall) kommt bei schweren Schädelverletzungen, v.a. in Verbindung mit Schädelfrakturen, vor. Ein anteriorer Hypopituitarismus wird selten beobachtet. Remissionen sind beim traumatischen Diabetes insipidus centralis möglich und können noch nach bis zu 6 Monaten eintreten.

Der *idiopathische* Diabetes insipidus centralis, dessen Ätiologie unbekannt ist, kann erst nach Ausschluss anderer Ursachen (entzündliche oder maligne Infiltrationen, s. Tabelle 9.4) diagnostiziert werden und erfordert Verlaufsbeobachtungen über mehrere Jahre (Charmandari u. Brook 1999). Eine Kombination des idiopathischen Diabetes insipidus centralis mit dem anterioren Hypopituitarismus ist selten.

9.3.2 Klinik und Verlauf des Diabetes insipidus renalis

9.3.2.1 Angeborene Formen

Patienten mit angeborenem Diabetes insipidus renalis können bereits 1–2 Wochen nach der Geburt ausgeprägte klinische Symptome zeigen. Typisch sind wiederkehrendes Fieber unbekannter Ursache, Erbrechen, Trinkschwäche und Störungen der körperlichen und geistigen Entwicklung. Hingegen ist die typische Trias des Diabetes insipidus, bestehend aus Polyurie, Polydipsie und Asthenurie, bei Säuglingen nur bedingt zu beobachten. Es bestehen laborchemisch eine Hypernatriämie ($\text{Na} > 150 \text{ mM}$) und eine erhöhte Plasmaosmolarität. Die Osmolalität des Urins liegt unter der des Plasmas ($\text{Urin}_{\text{osm}} < 300 \text{ mosmol/kg}$), das spezifische Gewicht ist $< 1003 \text{ g/l}$ (Asthenurie). Wird die Diagnose rechtzeitig gestellt und erhält das Kind eine ausreichende Flüssigkeitszufuhr, können ernste Komplikationen, wie körperliche und geistige Entwicklungsstörungen, vermieden werden. Im weiteren Verlauf ist die Kontrolle der Urinmengen wichtig, da anhaltend hohe Urinvolumina zur Balkenblase, Hydronephrose und schließlich zur terminalen Niereninsuffizienz führen können. Obwohl der Diabetes insipidus renalis in den meisten Fällen durch eine ausgeprägte Klinik gekennzeichnet ist, wurden mittlerweile für drei Patienten mit V2-Rezeptor-Mutation (D85N, G201D, P322S) und ein Patient mit zwei unterschiedlichen AQP2-Mu-

tationen in beiden Allelen (L22V/R187C) auch milde Verlaufsformen beschrieben (s. Abschn. 9.4.2.2 und 9.4.3.2; Sadeghi et al. 1997b, Ala et al. 1998, Canfield et al. 1997).

9.3.2.2 Erworbene Formen

Der erworbene Diabetes insipidus renalis ist sehr viel häufiger als der angeborene. Unter den zahlreichen Ursachen sind metabolische Störungen (Hypokaliämie, Hyperkalzämie), anatomische Veränderungen (Uretherobstruktion) und unerwünschte Arzneimittelwirkungen (Lithium, Demeclacyclin) zu nennen. In der Schwangerschaft kann ebenfalls ein Diabetes insipidus auftreten, der durch die Bildung großer Mengen plazentarer Vasopressinase bedingt ist, die zu einem raschen Abbau des AVP führt (Iwasaki et al. 1991). Das Spektrum der klinischen Symptomatik ist entsprechend der Ätiologie sehr unterschiedlich. So sind akute Verläufe mit einer massiven Polyurie von 10–20 l/Tag sowie sich langsam entwickelnde Verläufe mit geringeren Urinvolumina von 3–5 l/Tag beschrieben. In den meisten Fällen lässt sich nach Korrektur der zugrunde liegenden Störung eine Normalisierung der Nierenfunktion erreichen. Beim lithiuminduzierten Diabetes insipidus sind jedoch auch irreversible Verlaufsformen bekannt (Hwang u. Tuason 1980, Boton et al. 1987, Bendz et al. 1994, 1996, Markowitz et al. 2000).

9.4 Molekularbiologische Grundlagen

9.4.1 Vasopressin

9.4.1.1 Synthese und enzymatische Prozessierung des AVP-NPII-Pröhormons

AVP wird als AVP-NPII-Pröhormon in magnozellulären Neuronen der Nuclei supraopticus et paraventricularis im Hypothalamus gebildet. Die mRNA kodiert zunächst für ein Signalpeptid von 19 Aminosäuren. Das Signalpeptid ist für die Bindung des aus dem Ribosom und der wachsenden Polypeptidkette bestehenden Komplexes an die Membran des rauen Endoplasmatischen Retikulums (rER) und den Übertritt der Polypeptidkette in das Lumen des rER verantwortlich. Die unmittelbar auf das Signalpeptid folgende Sequenz kodiert für AVP (9 Aminosäuren). Es schließen sich ein Verbindungsstück von 3 Aminosäuren (Gly-

Lys-Arg) und das Trägerprotein NPII mit 93 Aminosäuren an. Schließlich folgt ein Glykoprotein von 39 Aminosäuren (Abb. 9.2; Land et al. 1982, Schmale et al. 1983). Im Lumen des ER wird das Signalpeptid vom Prärohormon durch eine Signalpeptidase entfernt. In den neurosekretorischen Vesikeln erfolgt dann die enzymatische Prozessierung des Prohormons zu AVP, NPII und Glykoprotein (Archer 1979).

Während die Bedeutung des Glykoproteins unbekannt ist, ist die Funktion des NPII durch die Aufklärung seiner Raumstruktur (Abb. 9.3, Chen et al. 1991) und durch Mutationsanalysen gut verstanden. NPII ist nicht nur Trägerprotein für AVP, sondern fungiert auch als Schutzprotein vor dessen proteolytischem Abbau und ist für die enzymatische Prozessierung des Prohormons von großer Bedeutung. Die NPII-Domäne bildet bereits im Prohormon die richtige Konformation aus. So kann die AVP-Domäne schon intramolekular im Prohormon an die NPII-Domäne binden (Kanmera u. Chaiken 1985). Auch eine Assoziation der NPII-Domänen untereinander (Dimerisierung) erfolgt bereits im Prohormon (Abb. 9.3, Rholam 1985, Breslow u. Burman 1990). Diese Dimerisierung wird durch die intramolekulare Bindung der AVP-Domäne an die NPII-Domäne begünstigt (Fassina u. Chaiken 1988, Kanmera u. Chaiken 1985). Ob auch Tetramere bzw. größere Oligomere gebildet werden, wie sie bei der Aufklärung der Kristallstruktur gefunden wurden, ist bislang nicht geklärt (Chen et al. 1991). Die Ausbildung der richtigen Raumstruktur ist auch für die enzymatische Prozessierung des Prohormons von Bedeutung, die schließlich zum reifen AVP und NPII führt (Kanmera u. Chaiken 1985, Brakch et al. 1993). So sind insbesondere die Erkennung und Spaltung der Lys-Arg-Sequenz (Übergang AVP-Domäne und NPII-Domäne) durch die Lys-Arg-Endopeptidase an bestimmte Raumstrukturen gebunden (Brakch et al. 1989, 1993). Dies erklärt auch, warum synthetische Peptide, die aus dem AVP-Nonapeptid, dem Gly-Lys-Arg-Verbindungsstück und den ersten 5 Aminosäuren des NPII bestehen, nur ein schlechtes Substrat der Lys-Arg-Endopeptidase darstellen (Abb. 9.2; Michel 1994). In den neurosekretorischen Granula liegt AVP über nichtkovalente Interaktionen mit NPII in einem Komplex vor. Nach der Freisetzung aus den Granula dissoziiert es jedoch rasch.

9.4.1.2 Krankheitsauslösende Mutationen im AVP-NP_{II}-Gen

Mittlerweile wurden 40 krankheitsauslösende Mutationen des AVP-NP_{II}-Gens identifiziert (Tabelle 9.2, 9.3). Bei dem größten Teil (37 von 40) der Mutationen ruft bereits das Vorliegen eines defekten Allels die Erkrankung hervor (autosomal-dominanter Erbgang). Lediglich bei drei der identifizierten Mutationen im AVP-NP_{II}-Gen manifestiert sich die Erkrankung nur dann, wenn die Mutation in beiden Allelen vorliegt (autosomal-rezessiver Erbgang).

Im Folgenden werden die Ergebnisse der funktionellen Analysen, die an den unterschiedlichen Mutanten durchgeführt wurden, dargestellt.

Signalpeptidmutationen. In dem für das Signalpeptid kodierenden Bereich sind 5 verschiedene Mutationen beschrieben worden (Tabelle 9.2). Bei 2 Mutationen (A-1T und Δ G227) konnte gezeigt werden, dass durch die Mutationen die Abspaltung des Signalpeptids durch die Signalpeptidase gestört ist (Ito et al. 1993, Beuret et al. 1999).

Der Aminosäureaustausch der A-1T-Mutante liegt unmittelbar am Übergang des Signalpeptids zum AVP. An einem künstlichen Translationssystem wurde bei der A-1T-Mutante das Signalpeptid in weniger als 25% der neu gebildeten Proteine abgespalten, beim wildtypischen Protein hingegen zu fast 100% (Ito et al. 1993). Die Expression der A-1T-Mutante in Neuro2A-Neuroblastomazellen, die neuronalen Ursprungs sind, führte ebenfalls zu einer gestörten Abspaltung des Signalpeptids (Ito 1997). Diese Befunde werden auch durch statistische Analysen gestützt, die an den Aminosäuresequenzen unterschiedlicher Signalpeptide durchgeführt wurden (von Heijne 1983, 1984, 1986). Signalpeptide weisen hydrophobe Abschnitte von 15–30 Aminosäuren auf, in denen selten geladene Reste vorkommen. An den Positionen –1 und –3 der Signalpeptide finden sich häufig kleine, nicht geladene Aminosäuren. Die Einführung des Threoninrests an Position –1 des Signalpeptids (anstelle des kleineren Alanins) stört offenbar die Erkennung und/oder die Abspaltung des Signalpeptids durch die Signalpeptidase. Auch in der A-1V-Mutante wird mit Valin ein größerer Aminosäurerest eingeführt. Es ist denkbar, dass die A-1V-Mutante analog der A-1T-Mutante zu einer gestörten Abspaltung des Signalpeptids führt. Auch bei der S-3F-Mutante dürfte eine ähnliche Störung der Abspaltung des Signalpeptids vorliegen, da der kleine

Serin- durch einen größeren Phenylalaninrest ersetzt wird.

Zum Verlust des Startkodons des AVP-NP_{II}-Präprohormons führen 2 Mutationen (Δ G227, Δ MPDT; Tabelle 9.2). Für die Δ G227-Mutation wurde gezeigt, dass durch die Verwendung eines alternativen Startkodons (12 Nukleotide vom ursprünglichen Start entfernt), ein um 4 Aminosäuren verkürztes AVP-NP_{II}-Vorläufermolekül gebildet wird (Beuret et al. 1999). Die Verkürzung des Signalpeptids um 4 Aminosäuren beeinträchtigt weder die Synthese des AVP-NP_{II}-Vorläufermoleküls am rER noch die Translokation in das ER-Lumen. Vielmehr ist auch bei dieser Mutante die Abspaltung des Signalpeptids gestört. Das im AVP-NP_{II}-Vorläufermolekül verbleibende Signalpeptid verhindert die Zyklisierung des AVP (zwischen den Cysteinen an Position 1 und 6). In der Folge kommt es durch die freien SH-Gruppen der Cysteinreste zu intermolekularen kovalenten Bindungen zwischen den Präprohormonen und zur Aggregatbildung (Beuret et al. 1999).

NP_{II}-Mutationen. Die meisten Mutationen liegen in dem Abschnitt, der für NP_{II} kodiert (Abb. 9.6, Tabelle 9.2). Von den 37 Mutationen beim autosomal-dominanten Diabetes insipidus centralis führen 23 zum Austausch einer einzelnen Aminosäure (Missense-Mutanten). Eine weitere Mutation führt zum Verlust einer Aminosäure im zentralen Teil des NP_{II} (Deletion). In 7 Mutationen wird ein zusätzliches Stoppkodon eingeführt, sodass ein vorzeitiger Kettenabbruch erfolgt (Nonsense-Mutante, Abb. 9.6, Tabelle 9.2).

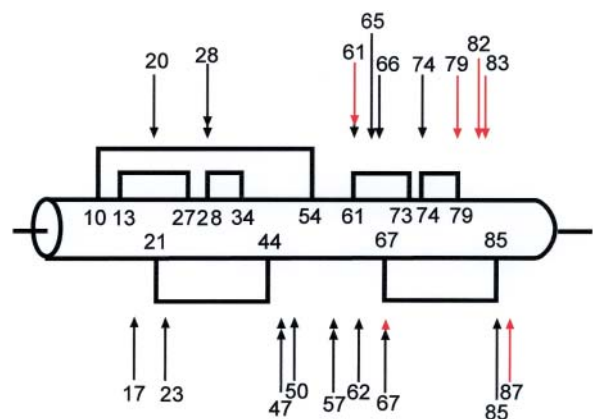


Abb. 9.6. Schema von Neurophysin II (NP_{II}) mit Darstellung der Disulfidbrücken. Pfeile Mutationen (schwarz Missense-Mutationen, rot Nonsense-Mutationen) im NP_{II}, Doppelpfeile 2 unterschiedliche Mutationen an einer Position, Zahlen Position der mutierten Aminosäuren im NP_{II}-Molekül

NPII weist mit 7 intramolekularen Disulfidbrücken eine äußerst komplexe Struktur auf (Abb. 9.3). Somit wird verständlich, dass Veränderungen der Aminosäuresequenz die Ausbildung der korrekten Raumstruktur behindern. Dies gilt insbesondere für die Mutationen, in denen brückenbildende Cysteine durch andere Aminosäuren ersetzt werden (C21R, C28Y, C28R, C61S, C61Y, C67G, C74Y, C85G; Rutishauser et al. 1999, Hansen et al. 1997, Rittig et al. 1996, Grant et al. 1998, Skordis et al. 2000, DiMeglio et al. 2001, Fujii et al. 2000, van den Akker et al. 2000) oder die zusätzliche Cysteine einführen (R20C, G65C, R66C; Heppner et al. 1998, Rittig et al. 1996, Rutishauser et al. 1999). Bei Mutationen, die für einen vorzeitigen Kettenabbruch des Proteins kodieren, fehlen wichtige Abschnitte des NPII, so auch brückenbildende Cysteinreste (C61X, C67X, C74X, C79X, Q82X, P83X; Rittig et al. 1996, Nagasaki et al. 1995, Rutishauser et al. 1999; s. Abb. 9.6). Aber auch die Substitutionen von Glyzinresten, die im Bereich von β -Faltblatt-Strukturen liegen und für eine Rückfaltung der Polypeptidkette wichtig sind, stören die Ausbildung der korrekten Struktur (G14V, G17V, G23R, G57S, G57R, G65C, G65V; Rittig et al. 1996, Bahnsen et al. 1992, Ito et al. 1997, Nijenhuis et al. 1999, Ueta et al. 1996, Rauch et al. 1996).

Die Mutationen können auch zu Störungen der Bindung von AVP an NPII führen, die über Salzbrücken erfolgt. Hieran ist u. a. das Glutamat 47 im NPII beteiligt, das in den NPII-Mutanten Δ E47 und E47G fehlt bzw. durch einen Glyzinrest ausgetauscht ist (Yuasa et al. 1993, Nagasaki et al. 1995). Es ist aber anzunehmen, dass diese Mutationen auch Auswirkungen auf die Tertiärstruktur des Neurophysins haben. Glutamat 47 befindet sich in einem α -helikalen Abschnitt des NPII, und der Verlust des Aminosäurerests bzw. die Substitution durch das flexible Glyzin könnten die Stabilität dieser Struktur erheblich beeinflussen.

Bisher ist noch nicht geklärt, wie beim autosomal-dominanten Diabetes insipidus centralis die Synthese eines mutierten AVP-NPII-Präprohormons die Prozessierung und die Sekretion des wildtypischen Präprohormons stört. Es ist aber wahrscheinlich, dass von den AVP-NPII-Mutanten zytotoxische Effekte ausgehen, die zu einer Degeneration der AVP-produzierenden magnozellulären Neuronen führen. Diese These wird durch folgende Beobachtungen gestützt: Das klinische Bild des familiären Diabetes insipidus entwickelt sich progredient. Nach einer zunächst unauffälligen Phase über Monate bis Jahre weisen die Betroffenen langsam abnehmende AVP-Plasmaspiegel auf. Demzufolge könnte in der frühen Kindheit zunächst durch das gesunde Allel

eine normale AVP-Synthese erfolgt sein. Mit zunehmendem Krankheitsverlauf könnten sich die AVP-NPII-Mutanten in intrazellulären Kompartimenten anreichern und schließlich zur Degeneration der magnozellulären Neuronen führen, wie sie in histologischen Untersuchungen des Hypothalamus auch beschrieben worden sind (s. Abschn. 9.3.1.1). Da degenerierte Neuronen des zentralen Nervensystems nicht ersetzt werden können und die Synthese des AVP-NPII-Präprohormons nicht durch andere magnozelluläre Neuronen (z. B. oxytocinproduzierende Neuronen) übernommen werden kann, käme die AVP-Synthese schließlich zum Erliegen.

Tatsächlich gelang es *in vitro*, an Neuro2A-Neuroblastomazellen, die neuronaler Herkunft sind, zytotoxische Eigenschaften der mutierten AVP-NPII-Präprohormone nachzuweisen. Neuro2A-Zellen wurden für diese Untersuchungen gewählt, da sie durch die Gabe des Antiepileptikums Valproinsäure zu Neuronen differenziert werden können, die nicht mehr teilungsfähig sind – eine Eigenschaft, die auch die Neuronen des zentralen Nervensystems aufweisen. Die Expression wildtypischer oder mutierter AVP-NPII-Moleküle (A-1T, Δ 47E, G57S, C67X) in teilungsfähigen Neuro2A-Zellen (ohne Valproinsäure) erbrachte zunächst keinen Hinweis auf eine Zellschädigung. An differenzierten, nicht mehr teilungsfähigen Neuro2A-Zellen (mit Valproinsäure) führte die Expression der AVP-NPII-Mutanten zu einem fortschreitenden Absterben der Zellen, nicht aber die Expression des wildtypischen AVP-NPII. Immunzytologische Analysen zeigten, dass die AVP-NPII-Mutanten im ER zu großen Aggregaten zusammengelagert waren. Hingegen wiesen Zellen, die das wildtypische AVP-NPII exprimierten, keine Aggregate im ER auf (Ito et al. 1997). Die Ausbildung solcher Aggregate wird durch die Synthese großer Mengen der AVP-NPII-Mutanten begünstigt, die über Veränderungen der Struktur und Funktion des ER und anderer Zellorganellen schließlich zum Zelltod führen (Nijenhuis et al. 1999). In den AVP-produzierenden magnozellulären Neuronen dürfte der Zelluntergang nach einem ähnlichen Mechanismus ablaufen, da gerade in diesen Zellen große Mengen des AVP-NPII bzw. der AVP-NPII-Mutanten gebildet werden. Dies könnte auch erklären, weshalb zwar eine Degeneration der AVP-produzierenden magnozellulären Neuronen zu beobachten ist, nicht aber der AVP-produzierenden parvozellulären Neuronen (Nijenhuis et al. 1999; s. Abschn. 9.3.1.1).

Ein ähnlicher Mechanismus liegt auch einer Form der autosomal-dominanten Retinitis pigmentosa zugrunde, die durch Mutationen im Licht-

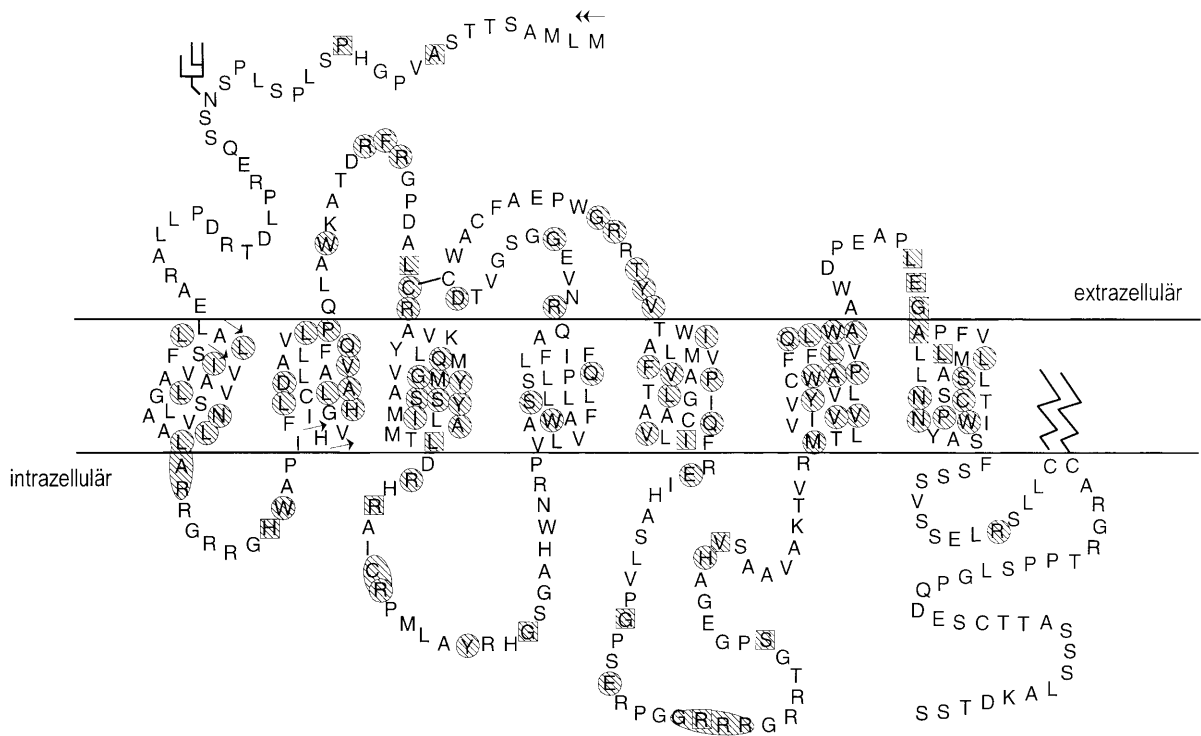


Abb. 9.7. Modell des Vasopressin-V2-Rezeptors. Die Darstellung der Aminosäuren ist im 1-Buchstaben-Code. *Doppelpfeil* Beginn der Aminosäuresequenz, *Pfeile* Abfolge der Aminosäuren in den potenziellen Transmembrandomänen.

Ferner sind gezeigt: Glykosylierung am Asparagin 12, Disulfidbrücke zwischen den Cysteinresten 112 und 192 und die Palmitoylierung an den Cysteinresten 341 und 342. *Symbole* krankheitsauslösende Mutationen im V2-Rezeptor

rezeptor Rhodopsin, einem G-Protein-gekoppelten Rezeptor, hervorgerufen wird. Auch hier wird vermutet, dass die Rhodopsinmutanten zunächst in intrazellulären Kompartimenten der nichtteilungs-fähigen Stäbchen akkumulieren und dadurch im Verlauf von Jahrzehnten zu einer Degeneration der Stäbchen führen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr.

AVP-NPII-Mutationen beim autosomal-rezessiven Diabetes insipidus centralis. Erst kürzlich wurde in 3 Familien ein autosomal-rezessiver Diabetes insipidus centralis beschrieben (Tabelle 9.3; Bichet et al. 1998, Willcutts et al. 1999). In einer Familie konnte eine Mutation identifiziert werden, die zu einem Austausch des Prolinrests an Position 7 im AVP durch einen Leucinrest führt (Willcutts et al. 1999); beide Allele wiesen die Mutation auf. 7-Leu-AVP, das sich im Plasma der betroffenen Patienten nachweisen lässt, zeigt eine 30-mal niedrigere Affinität zum V2-Rezeptor als das wildtypische AVP. Die 7-Leu-AVP-Spiegel waren bei allen 3 Patienten aus dieser Familie erhöht, und unter Dursten stiegen die Plasmakonzentrationen auf das bis zu 30fache des Normalwerts an (Willcutts et al. 1999).

Bei dem Patienten der zweiten Familie lag eine Mutation der Akzeptorspleißstelle am Intron-1-Exon-2-Übergang vor; auch hier waren beide Allele betroffen. Bei dem Patienten der dritten Familie wurden 2 unterschiedliche Mutationen gefunden: ein Allel wies die oben beschriebene Mutation der Akzeptorspleißstelle am Intron-1-Exon-2-Übergang auf, das zweite Allel eine Mutation des Stoppkodons (X163G). Es handelt sich also um einen sogenannten Compound heterozygous. Die zellbiologischen Auswirkungen der beiden letztgenannten Mutationen auf die Synthese und das Prozessieren des AVP-NPII-Prärohormons sind noch nicht untersucht worden (Bichet et al. 1998).

9.4.2 Vasopressin-V2-Rezeptor

9.4.2.1 Vasopressin-V2-Rezeptor-Gen kodiert für einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor

Das Gen, das für den V2-Rezeptor kodiert, liegt auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms (Xq28; Seibold et al. 1992). Es umfasst etwa 2 kb und weist 3 Exons und 2 Introns auf. Es kodiert für ein

Protein von 371 Aminosäuren, das zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gehört (Birnbauer et al. 1992, Lolait et al. 1992; Abb. 9.7). Diese umfasst beim Menschen über 1000 verschiedene Mitglieder (Genprodukte). Gemeinsame strukturelle Merkmale dieser Proteine sind ein extrazellulärer N-Terminus, ein intrazellulärer C-Terminus sowie 7 Transmembrandomänen (Abb. 9.7). Der V2-Rezeptor wird im ER und im Golgi-Apparat posttranslational modifiziert. Im ER wird vermutlich eine Disulfidbrücke zwischen Cysteinresten der 1. (Cysteinrest 112) und 2. (Cysteinrest 192) extrazellulären Schleife ausgebildet. Fettsäurereste werden kovalent an die Cysteinreste 341 und 342 (Palmitoylierung; Schülein et al. 1996, Sadeghi et al. 1997a) sowie Zuckerreste (Mannose) kovalent an Asparagin 12 (N-Glykosylierung) gebunden. Im Golgi-Apparat werden dann an Serin- und Threoninresten des N-Terminus weitere Zuckerreste gebunden (O-Glykosylierung, Sadeghi et al. 1999). Außerdem wird im Golgi-Apparat das mannosereiche Glykan am Asparagin 12 durch ein komplexes Glykan ersetzt.

Die Bindung des natürlichen Liganden AVP an den V2-Rezeptor führt zur Aktivierung des G-Proteins G_{ss} , welches zur Stimulation einer membranständigen Adenylzyklase führt (in der Niere werden v.a. die Adenylzyklasesubtypen V und VI exprimiert, in geringen Mengen auch die Subtypen IV und IX, Shen et al. 1997; Abb. 9.5). In der Folge wird aus ATP der Botenstoff zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) gebildet. Durch den Anstieg von cAMP kommt es zur Aktivierung der cAMP-abhängigen Proteinkinase (PKA). Nach der Phosphorylierung von AQP2 durch die PKA wird der Wasserkanal AQP2 aus intrazellulären Vesikeln in die apikale Membran der Prinzipalzellen transloziert (s. auch Abschn. 9.4.4.1). Dieser Prozess ist bisher auf molekularer Ebene kaum verstanden.

9.4.2.2 Krankheitsauslösende Mutationen des Vasopressin-V2-Rezeptor-Gens

Im V2-Rezeptor-Gen sind mittlerweile mehr als 150 verschiedene Mutationen bei Patienten mit einem X-chromosomal vererbten Diabetes insipidus renalis identifiziert worden (Übersichten in Rosenthal et al. 1996, Bichet 1997, Oksche u. Rosenthal 1998). Etwa die Hälfte aller Mutationen führt zu einem Austausch einzelner Aminosäuren. In etwa 25% der Fälle führen Deletionen von 1–35 Nukleotiden zu einer Verschiebung des Leserasters, und 10% aller Mutationen führen vorzeitige Stoppkodons ein, die einen frühzeitigen Abbruch der

Synthese der Polypeptidkette zur Folge haben (Bichet et al. 1999). In 5% fehlen große Abschnitte des V2-Rezeptor-Gens, in 4% liegen kleine Deletionen von 3–12 Nukleotiden vor, bei denen das Leseraster erhalten bleibt, und in 2% liegen Mutationen an den Spleißstellen vor. Die Mutationen sind über das ganze Gen verteilt, wobei eine Häufung im Bereich der Transmembrandomänen vorliegt. In einer Untersuchung, die 243 Familien mit X-chromosomal vererbtem Diabetes insipidus renalis umfasst, wurde für keinen Genotypen eine Häufigkeit >4% beobachtet (Tabelle 9.6; Bichet et al. 1999).

Die identifizierten Mutationen des V2-Rezeptors lassen sich entsprechend ihres Phänotyps in Gruppen untergliedern. Diese Klassifikation wurde zuerst für Mutanten des LDL-Rezeptors aufgestellt und später für Mutanten des V2-Rezeptors modifiziert (Tsukaguchi et al. 1995). Entsprechend dieser Klassifikation können die beschriebenen Mutanten des V2-Rezeptors in 3 Gruppen untergliedert werden.

1. Der *Gruppe I* werden Mutanten zugeordnet, die an die Plasmamembran transportiert werden, aber einen Defekt in der Ligandenbindung und/oder in der G-Protein-Aktivierung zeigen.
2. Zur *Gruppe II* gehören die Mutanten, die einen Transportdefekt aufweisen.
3. Zur *Gruppe III* werden Mutationen gezählt, die zu einer verminderten Synthese oder Stabilität der mRNA führen.

Tabelle 9.6. Wiederholt auftretende Mutationen im V2-Rezeptor-Gen, untersucht wurden die V2-Rezeptor-Genotypen von 243 Familien, die einen X-chromosomal-rezessiv vererbten Diabetes insipidus renalis aufweisen. Die Mutationen sind nach den Veränderungen auf Aminosäureebene bezeichnet (1-Buchstaben-Code für die wildtypische Aminosäure, Position im V2-Rezeptor, 1-Buchstaben-Code für die eingeführte Aminosäure)

Mutation	Vorkommen in 243 Familien
R137H	8-mal
R337X	8-mal
R113W	7-mal
R202C	6-mal
S167L	6-mal
V88M	6-mal
ΔV278	6-mal
Y128C	5-mal
D85N	4-mal
Y205C	4-mal
803insG ^a	3-mal
R181C	3-mal

^a Angegeben: Veränderung auf der Ebene der cDNA, da hier eine komplexe Veränderung der Aminosäuresequenz vorliegt (Insertion eines einzelnen Nukleotids führt zur Verschiebung des Leserasters).

Tabelle 9.7. Funktionelle Eigenschaften von V2-Rezeptor-Mutanten. Dargestellt sind V2-Rezeptor-Mutanten mit Missense-Mutationen, die funktionell analysiert wurden. Die Mutanten sind entsprechend ihrer Veränderungen auf der Aminosäureebene bezeichnet (1-Buchstaben-Kode für die wildtypische Aminosäure, Position im V2-Rezeptor, 1-Buchstaben-Kode für die eingeführte Aminosäure). Die Angaben zur Einteilung der Mutanten in Gruppen I, II oder I/II richten sich nach Störungen der Funktion (Gruppe I), des Transports (Gruppe II) oder einer kombinierten Störung von Transport und Funktion (Gruppe I/II, s. Abschn. 9.4.2.1)

Aminosäureveränderung	Gruppe	Funktioneller Defekt	Referenz
L44P	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Oksche et al. 1996
L44F	I	Keine [^3H]AVP-Bindung	Oksche et al. 1996
I46K	II	Keine [^3H]AVP-Bindung, geringe Stimulation der AC	Pasel et al. 2000
L53R	n. b.	Keine Restfunktion	Wildin et al. 1998
N55H	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
N55D	n. b.	Keine Restfunktion	Wildin et al. 1998
L59P	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
L62P	II	Keine [^3H]AVP-Bindung, keine Stimulation der AC	Krause et al. 2000
$\Delta 62-64$	II	Keine [^3H]AVP-Bindung, keine Stimulation der AC	Krause et al. 2000
L81F	n. b.	Restfunktion bei sehr hoher AVP-Konzentration	Wildin et al. 1998
L83Q	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
A84D	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Albertazzi et al. 2000
D85N	I	6fach verminderte Affinität für [^3H]AVP, EC_{50} für die AVP-vermittelte Stimulation der AC 50fach reduziert	Sadeghi et al. 1997b
V88M	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
P95L	n. b.	Keine Restfunktion	Wildin et al. 1998
W99F	I	Keine [^3H]AVP-Bindung	Albertazzi et al. 2000
R104C	II	$B_{\max}$ 10fach vermindert, EC_{50} für die AVP-vermittelte Stimulation der AC 1,5fach vermindert	Inabe et al. 2000
F105V	I	Keine [^3H]AVP-Bindung, EC_{50} für die AVP-vermittelte Stimulation der AC etwa 700fach reduziert	Pasel et al. 2000
R106C	I	Keine [^3H]AVP-Bindung, geringe Stimulation der AC	Pasel et al. 2000
R113W	I>II	20fach verminderte Affinität für [^3H]AVP, $B_{\max}$ 10fach vermindert	Birnbaumer et al. 1994
G122R	n. b.	Keine Restfunktion	Wildin et al. 1998
Y128S	I	Keine [^3H]AVP-Bindung	Pan et al. 1994
I130F	II	Keine [^3H]AVP-Bindung, geringe Stimulation der AC	Pasel et al. 2000
R137H	I>II	Keine Aktivierung der AC, $B_{\max}$ 10fach vermindert, ligandunabhängige Internalisierung durch konstitutive β -Arrestin-2-Bindung	Rosenthal et al. 1993, Barak 2001
R143P	II>I	$B_{\max}$ 10fach vermindert, EC_{50} für die AVP-vermittelte Stimulation der AC 2fach vermindert	Tsukaguchi et al. 1995
C142W/R143G	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
W164S	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Oksche et al. 1996
S167L	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Oksche et al. 1996
S167T	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Oksche et al. 1996
R181C	I	26fach verminderte Affinität für [^3H]AVP	Pan et al. 1994
G185C	I	Keine [^3H]AVP-Bindung, keine AC-Aktivierung	Schülelein et al. 2000
G201D	II>I	$B_{\max}$ 5fach vermindert, EC_{50} für die AVP-vermittelte Stimulation der AC 50fach vermindert	Sadeghi et al. 1997b
R202C	I	Keine [^3H]AVP-Bindung, EC_{50} für die AVP-vermittelte Stimulation der AC 35fach vermindert	Schülelein et al. 2000
Δ R202	I	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
T204N	II>I	K_D für [^3H]AVP 10fach vermindert, $B_{\max}$ 24fach vermindert	Postina et al. 2000
Y205C	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Postina et al. 2000
V206D	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Postina et al. 2000
I209F	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
L219P	n. b.	Keine Restfunktion	Wildin et al. 1998
M272K	n. b.	Keine Restfunktion	Wildin et al. 1998
V277A	I	Verminderte Stimulation der AC, normale K_D für AVP	Wenkert et al. 1996
Δ V278/279	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Tsukaguchi et al. 1995
Y280C	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Wenkert et al. 1996
P286R	I	Keine [^3H]AVP-Bindung	Pan et al. 1994
L292P	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Wenkert et al. 1996
A294P	II	Keine [^3H]AVP-Bindung	Ala et al. 1998
S315R	n. b.	Keine Restfunktion	Wildin et al. 1998
N317K	n. b.	Restfunktion bei sehr hoher AVP-Konzentration	Wildin et al. 1998
N321Y	n. b.	Restfunktion bei sehr hoher AVP-Konzentration	Wildin et al. 1998
P322S	I	200fach verminderte Affinität für [^3H]AVP, verminderte AC-Aktivierung	Ala et al. 1998
P322H	I	600fach verminderte Affinität für [^3H]AVP, keine Stimulation der AC	Ala et al. 1998
R337X	II	Keine [^3H]AVP-Bindung, keine Stimulation der AC	Sadeghi et al. 1997c, Wenkert et al. 1997, Oksche et al. 1998

Gruppe I. Zur Gruppe I gehören die Mutanten D85N, W99R, F105V, R106C, R181C, R202C, Δ R202, G185C, P322S, P322H (Sadeghi 1997b, Albertazzi et al. 2000, Pasel et al. 2000, Pan 1994, Ala 1998, Schüle et al. 2000; Tabelle 9.7).

In 4 der 7 Mutanten treten die Veränderungen der Aminosäuresequenz in der 2. extrazellulären Schleife auf. Dies ist von Bedeutung, da die 1. und die 2. extrazelluläre Schleife wesentlich an der Ausbildung der AVP-Bindungsstelle beteiligt sind. So konnte durch Photoaffinitätsmarkierung für 2 Aminosäuren der 1. extrazellulären Schleife (Threoninrest 102, Argininrest 106) eine Beteiligung an der Ligandenbindung nachgewiesen werden (Kjoro et al. 1993). Darüber hinaus wurde auch für den Aspartatrest 103 der 1. extrazellulären Schleife sowie den Argininrest 202 der 2. extrazellulären Schleife eine Beteiligung an der Bindung des V2-selektiven Agonisten dDAVP gezeigt (Ufer et al. 1995, Cotte et al. 1998). Es ist daher wahrscheinlich, dass die Aminosäureaustausche in den 4 oben genannten Mutanten die Ausbildung der AVP-Bindungsdomäne oder den Zugang des AVP zu den Resten stören, die an der direkten Bindung beteiligt sind.

In der D85N-Mutante, in der ein Aspartatrest der 2. Transmembrandomäne durch einen Asparaginrest ausgetauscht wird, ist v.a. die Aktivierung des G-Proteins vermindert; es findet sich jedoch auch eine leicht verminderte Affinität der Mutante für AVP (Sadeghi et al. 1997b).

Die Mutanten P322S und P322H führen zum Austausch eines bei vielen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren konservierten Prolinrests der 7. Transmembrandomäne. Wie durch diesen Austausch eine Änderung der Affinität für AVP resultiert, ist unklar (Ala et al. 1998).

Gruppe II. Der größte Teil der bisher analysierten V2-Rezeptor-Mutanten ist der Gruppe II (Transportdefekt) zuzuordnen. Beim Transport neu synthetisierter V2-Rezeptoren zur Membranoberfläche werden mehrere, voneinander abgrenzbare Stationen durchlaufen. Somit sind Störungen des Transports an unterschiedlicher Stelle möglich.

Zu Beginn wird die entstehende Polypeptidkette in die Membran des rER eingefädelt. Hierbei bildet sich die richtige Orientierung und Faltung des Proteins aus. Im ER erfolgen auch die meisten posttranslationalen Modifikationen (s. Abschn. 9.4.2.1), die z.T. auch für die richtige Rezeptorfaltung von Bedeutung sind (z.B. Ausbildung der Disulfidbrücken, Schüle et al. 2000). Vom ER aus werden dann nur solche Rezeptoren in den Golgi-

Apparat transportiert, die die richtige Faltung aufweisen.

Die meisten Gruppe-II-Mutanten werden bereits im ER zurückgehalten (Tabelle 9.7). An diesem Prozess sind vermutlich Chaperone beteiligt, die an die fehlgefalteten Proteine binden und dadurch den Export aus dem ER verhindern. Zu der Gruppe der Chaperone gehören u.a. die kalziumbindenden Proteine Calnexin (ER-Membran), Calreticulin (ER-Lumen) und BiP (ER-Lumen). Welche Chaperone bei der Retention der fehlgefalteten V2-Rezeptor-Mutanten eine Rolle spielen, ist unbekannt. So ist auch nicht untersucht, wo die fehlgefalteten V2-Rezeptor-Mutanten schließlich abgebaut werden (z.B. Lysosom, Proteasom).

Die strukturellen Voraussetzungen für die Bildung eines transportkompetenten und funktionell aktiven Rezeptors werden gegenwärtig charakterisiert. Hierbei kommt dem membran nahen Abschnitt des intrazellulären C-Terminus, der sich zwischen der 7. Transmembrandomäne und der Palmitoylierung (Cysteinreste 341, 342) befindet (Abb. 9.7), eine besondere Rolle zu:

Bei der krankheitsauslösenden R337X-Mutante liegt eine Verkürzung des C-Terminus (umfasst im wildtypischen Rezeptor 44 Aminosäuren) um 35 Aminosäuren vor, sodass der V2-Rezeptor bereits 9 Aminosäuren nach der 7. Transmembrandomäne endet. Biochemische und mikroskopische Analysen haben gezeigt, dass die R337X-Mutante im ER akkumuliert und keine funktionelle Restaktivität hat (Sadeghi et al. 1997c, Oksche et al. 1998). Auch ein chimärer V2-Rezeptor, der anstelle des eigenen C-Terminus den C-Terminus des β 2-adrenergen Rezeptors aufwies, wurde wie die R337X-Mutante im ER zurückgehalten und zeigte keine funktionelle Aktivität (Oksche et al. 1998). Hingegen wird ein um 30 Aminosäuren verkürzter V2-Rezeptor (C342X) an die Plasmamembran transportiert und weist funktionelle Aktivität auf (Sadeghi et al. 1997c). Weitere Analysen zeigten, dass im membran nahen Abschnitt des C-Terminus ein Motiv vorliegt, das aus einem sauren (Glutamat 335) und 2 hydrophoben Aminosäureresten (Leucin 339, Leucin 340; EXXXLL) besteht (Schüle et al. 1998a). Dieses Motiv konnte auch in einer großen Zahl anderer G-Protein-gekoppelter Rezeptoren gefunden werden (Schüle et al. 1998a). Der Austausch des Glutamatrests durch einen Glutaminrest führte, wie auch der Austausch des Leucinrests 339 durch einen Threoninrest, zur Retention des V2-Rezeptors im ER. Der Austausch von Leucin 340 durch einen Threoninrest hatte zwar eine Verminderung des Transports zur Oberfläche des

V2-Rezeptors zu Folge, jedoch keinen Verlust der Funktion (Schüle et al. 1998 a). Computergestützte Modellierungen des V2-Rezeptors deuten an, dass das Motiv Teil einer U-förmigen Schleife ist, die durch hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert wird. Diese Schleife bindet wahrscheinlich an die 1. intrazelluläre Schleife und ermöglicht so eine transportkompetente Faltung des Rezeptormoleküls (Krause et al. 2000).

Gruppe I/II. Zahlreiche Mutationen weisen kombinierte Defekte auf, d.h. neben Störungen des Oberflächentransports liegen auch funktionelle Defekte vor (Gruppe I/II). Hierzu zählen die Mutanten R137H, R113W, R143P, G201D (Rosenthal 1993, Birnbaumer 1994, Tsukaguchi 1995, Sadeghi 1997b, Tabelle 9.7). Von besonderer Bedeutung ist der Austausch von Arginin 137 durch einen Histidinrest (R137H). Der Austausch liegt in einem Motiv vor (D/E-R-Y/H; befindet sich am Übergang der 3. Transmembrandomäne zur 2. intrazelluläre Schleife), das in G-Protein-gekoppelten Rezeptoren konserviert ist (Abb. 9.7). Es wird vermutet, dass dieser Argininrest an der direkten Aktivierung der G-Proteine beteiligt sein könnte. In Übereinstimmung mit dieser Hypothese zeigen *in vitro*-Untersuchungen, dass bei der R137H-Mutante keine AVP-vermittelte Aktivierung der Adenylzyklase erfolgt (Rosenthal et al. 1993). Jedoch führte die Substitution des konservierten Argininrests im D/E-R-Y/H-Motiv des β_2 -adrenergen Rezeptor durch Histidin zu keiner Störung der G-Protein-Aktivierung (Seibold et al. 1998). Bislang ist nicht geklärt, wieso die Mutationen im D/E-R-Y/H-Motiv des V2- und des β_2 -adrenergen Rezeptors unterschiedliche Auswirkungen haben. Es wird damit aber deutlich, dass experimentelle Befunde, die an den einzelnen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gefunden wurden, nicht generell auf andere Rezeptoren übertragen werden können. Neben dem kompletten Defekt der G-Protein-Aktivierung liegt bei der R137H-Mutante auch eine gegenüber dem wildtypischen Rezeptor auf 10% verminderte Oberflächenexpression vor. Die Ursache für den Transportdefekt ist nicht bekannt (Rosenthal et al. 1993).

Für drei Mutanten (D85N, G201D und P322S), die der Gruppe I und/oder II zugeordnet werden, konnte eine Restaktivität gezeigt werden. Diese *in vitro*-Befunde stehen mit dem nur gering ausgeprägten Diabetes insipidus der Patienten in Einklang (Tabelle 9.7). Ob auch andere Mutanten, die eine Restfunktion aufweisen (z.B. R202C, Schüle et al. 2000), durch hohe Dosen von dDAVP behan-

delt werden können, muss in klinischen Studien überprüft werden.

Gruppe III. Mutationen, die mit einer verminderten Bildung von mRNA einhergehen oder eine verminderte Stabilität der mRNA aufweisen und damit der Gruppe III zuzuordnen sind, sind schwer nachzuweisen. Dies ist v.a. darauf zurückzuführen, dass Untersuchungen zur Stabilität der mRNA, die für den V2-Rezeptor kodiert, in den betroffenen Patienten nur selten möglich sind. Der V2-Rezeptor wird fast ausschließlich in den Hauptzellen der renalen Sammelrohre exprimiert. Somit sind die Zellen, in denen die mRNA und das Protein natürlicherweise gebildet werden, nur schwer zu isolieren. Hingegen sind solche Untersuchungen bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie und defektem LDL-Rezeptor relativ einfach durchzuführen (der LDL-Rezeptor wird u.a. in leicht zugänglichen Bindegewebezellen gebildet).

Eine Möglichkeit, *in vitro* den Einfluss von V2-Rezeptor-Gen-Mutationen auf die Synthese und Stabilität von mRNA zu untersuchen, wurde kürzlich vorgestellt (Oksche et al. 1997). So kann genomische DNA, die für wildtypische oder mutierte V2-Rezeptoren kodiert, durch Transfektion in Zelllinien eingebracht werden. Wird anschließend die RNA der transfizierten Zellen isoliert, kann die Menge der spezifischen V2-Rezeptor-mRNA in Northern-Blot-Analysen bestimmt werden. So fanden sich für die meisten Mutationen, die ein vorzeitiges Stoppkodon in der mRNA einführen (Y124X, W193X, W284X, L312X), deutlich verminderte V2-Rezeptor-mRNA-Mengen (Oksche et al. 1997).

9.4.3 Aquaporin-2

9.4.3.1 Aquaporin-2-Gen

Das Gen, das für den AVP-regulierten Wasserkanal AQP2 kodiert, liegt auf dem kurzen Arm des Chromosoms 12 (12q13; Deen et al. 1994). Es umfasst etwa 5,5 kb und weist 4 Exons und 3 Introns auf. Das Gen kodiert für ein Protein von 271 Aminosäuren (Abb. 9.8).

Ein Vergleich aller Wasserkanäle, die bisher aus Säugetieren, Pflanzen und Bakterien kloniert wurden, zeigt, dass der Aufbau mit 6 Transmembrandomänen und den intrazellulären C- und N-Termini konserviert ist. Von großer struktureller Bedeutung ist ein Motiv von 3 Aminosäuren (Asparagin, Prolin und Alanin: NPA), das in der 1. intrazellulären und der 3. extrazellulären Schleife aller Was-

serkanalproteine vorliegt. Durch die Zusammenlagerung der beiden NPA-Motive bildet sich die selektive Wasserpore aus (Uhrglasmodell). Strukturuntersuchungen am AQP1 zeigen, dass die Wasserpore innerhalb der dicht gepackten 6 Transmembrandomänen liegt (Ren et al. 2000). Jeweils 4 AQP1-Moleküle lagern sich so zu einem Homotetramer zusammen (Ren et al. 2000). Die Bildung der AQP-Tetramere erfolgt im Golgi-Apparat (Kamsteeg et al. 1999) und ist Voraussetzung für den vesikulären Transport vom Golgi-Apparat in subapikale Zytoplasmaregionen bzw. an die Plasmamembran.

Die intrazellulären Vesikel dienen als Reservoir für AQP2-Proteine in den unstimulierten Zellen. Erst unter AVP-Stimulation wird AQP2 in die apikale Membran transloziert (Wade et al. 1986, Breyer u. Ando 1994, Nielsen et al. 1993). Für diesen regulierten Transport ist die Phosphorylierung des Serins 256 im intrazellulären C-Terminus des AQP2 durch die PKA von entscheidender Bedeutung (Abb. 9.8). Wird die Aktivität der PKA durch einen Inhibitor gehemmt oder Serin 256 im AQP2 durch Alanin substituiert, findet der Transport nicht mehr statt (Fushimi 1997).

Neue Befunde deuten darauf hin, dass die PKA über PKA-Ankerproteine (AKAP) an den Vesikeln oder anderen Kompartimenten lokalisiert ist (Klußmann et al. 1999). Wird die Verankerung der PKA an die AKAP durch Peptide verhindert, die die Bindungsstelle der AKAP für die PKA blockieren, ist der Transport von AQP2 an die Plasmamembran vollständig unterdrückt (Klußmann et al. 1999).

Den letzten Schritt der Translokation der AQP2-haltigen Vesikel bilden das Docking und die Fusion der Vesikel mit der apikalen Membran. Dieser Prozess ist vermutlich mit der neuronalen Exozytose vergleichbar. Tatsächlich konnten mit Synaptobrevin-2 (Liebenthoff u. Rosenthal 1995, Nielsen et al. 1995), Syntaxin-4 (Mandon et al. 1996) und SNAP-23 (Inoue et al. 1998) Proteine identifiziert werden, die identisch oder homolog zu Proteinen der neuronalen Exozytose sind. In Analogie zur neuronalen Exozytose könnten sich Synaptobrevin-2 (in der Vesikelmembran) sowie Syntaxin-4 und SNAP-23 (beide in der Plasmamembran) zu einem Komplex zusammenlagern.

9.4.3.2 Krankheitsauslösende Mutationen des Aquaporin-2-Gens

Für das AQP2-Gen sind 20 verschiedene Mutationen beschrieben (Abb. 9.8, Tabelle 9.8). 19 Mutationen wurden beim autosomal-rezessiven Diabetes

insipidus gefunden. Für eine Mutation ist ein autosomal-dominanter Erbgang nachgewiesen. Für zwei weitere Mutationen (nicht in Tabelle 9.8 bzw. Abb. 9.8 aufgeführt) ist ein autosomal-dominanter Erbgang wahrscheinlich, da bei den Patienten lediglich eine Mutation in einem Allel identifiziert werden konnte (Bichet et al. 1998).

Funktionsanalysen zu den Mutanten sind nur schwierig zu erheben, da das AQP2-Protein, wie der V2-Rezeptor, fast ausschließlich in den Sammelrohren der Niere exprimiert wird. Somit steht Gewebe z.B. für biochemische und mikroskopische Analysen nicht zur Verfügung. Oozyten von *Xenopus laevis* stellen ein geeignetes Expressionssystem zur Analyse der AQP2-Mutanten dar. Hierzu wird *in vitro* synthetisierte mRNA, die für wildtypisches oder mutiertes AQP2 kodiert, in Oozyten injiziert. Nach 1–3 Tagen, d.h. nach erfolgter Synthese der Proteine, können Messungen zur Wasserpermeabilität der Oozytenmembran durchgeführt werden. Oozyten, die das wildtypische AQP2 produzieren, schwellen in einer hypotonen Nährlösung rasch an und platzen schließlich, Oozyten, die nur mit Puffer injiziert wurden, dagegen nicht (Sasaki 1992, Deen 1994). Aus der Geschwindigkeit, mit der die Oozyten anschwellen, kann die Wasserpermeabilität berechnet werden. In gleicher Weise werden die AQP2-Mutanten untersucht und dann mit dem wildtypischen AQP2 verglichen. Mit diesem Versuchsansatz wurden bisher die meisten AQP2-Mutanten auf ihre funktionellen Eigenschaften hin untersucht. Die Ergebnisse aus diesen Untersuchungen werden im Folgenden beschrieben.

Die meisten AQP2-Mutanten, die bei dem autosomal-rezessiven Diabetes insipidus gefunden wurden, werden bereits im ER zurückgehalten und gelangen nicht zur Plasmamembran (van Lieburg et al. 1994, Deen et al. 1995, Mulders et al. 1997, Yamachi et al. 1999, Goji et al. 1998, Canfield et al. 1997, Kuwahara et al. 1998). Für viele Mutanten liegt neben einem umschriebenen Transportdefekt auch ein Verlust der wasserleitenden Eigenschaften vor (Tabelle 9.8). Für die Mutanten T126M und A147T (die ebenfalls im ER zurückgehalten werden), wurde eine erhaltene Wasserpermeabilität – wenn auch geringer als beim wildtypischen AQP2 – gefunden (Deen et al. 1995, Mulders et al. 1997, Tamarappoo et al. 1998). Bei diesen Mutanten sind weitergehende Untersuchungen sinnvoll, inwieweit der Transportdefekt durch pharmakologische Intervention überwunden werden kann. Tatsächlich ließen sich an den AQP2-Mutanten T126M und A147T, die in Gegenwart chemischer Chaperone wie Glycerol und Trimethylaminoxid exprimiert wurden (in Oozyten

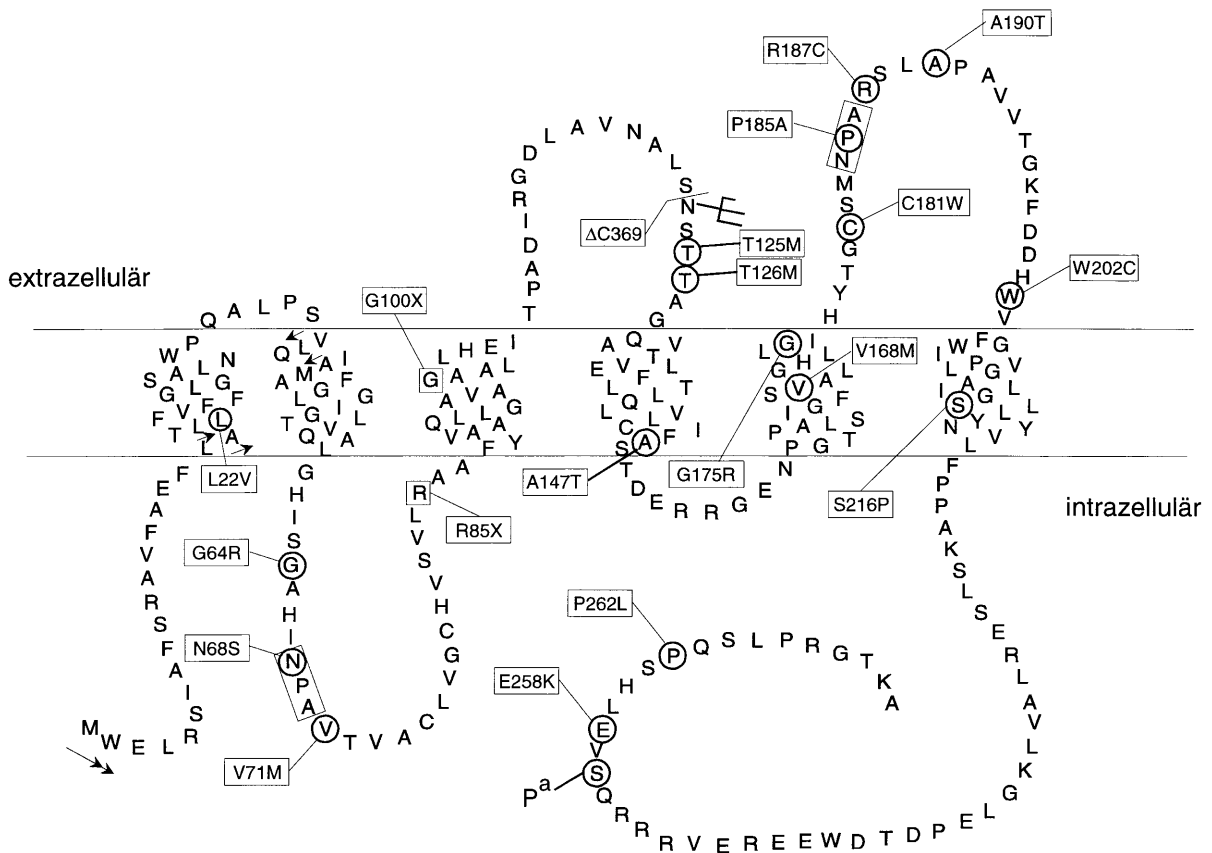


Abb. 9.8. Modell von Aquaporin-2. Die Darstellung der Aminosäuren ist im 1-Buchstaben-Kode gehalten. *Doppelpfeil* Beginn der Aminosäuresequenz, *Pfeile* Abfolge der Aminosäuren in den potenziellen Transmembrandomänen. Die Glykosylierung am Asparagin 123 ist dargestellt. *Rechtecke* hochkonservierte NPA-Motive der 1. intrazellulären und der

3. extrazellulären Schleife. Die Phosphorylierungsstelle durch die Proteinkinase A ist dargestellt (P^a). *Kreise* krankheitsauslösende Mutationen, in den *Rechtecken* beschrieben. Im Fall der einen Basendeletion ist die Veränderung auf der Ebene der cDNA angegeben

und tierischen Zelllinien), eine Rekonstitution sowohl des Transports als auch der Wasserpermeabilität erzielen (Tamarappoo et al. 1998).

Auch der Einfluss der dominant-negativen E258K-Mutante auf wildtypisches AQP2 wurde an Oozyten aufgeklärt (Kamsteeg et al. 1999). Wurde die AQP2-Mutante E258K in Oozyten exprimiert, so war eine Akkumulation der Mutante im Golgi-Apparat zu erkennen. In der Plasmamembran waren hingegen nur sehr geringe Mengen des mutierten Proteins nachzuweisen. Im Gegensatz dazu war wildtypisches AQP2 v.a. in der Plasmamembran nachweisbar. Bei gleichzeitiger Expression der E258K-Mutante und des wildtypischen AQP2 wurde auch wildtypisches AQP2 im Golgi-Apparat zurückgehalten. Entsprechend mathematischer Modelle genügt bereits ein E258K-Molekül in einem Tetramer, um die Translokation in die Plasmamembran zu verhindern (Kamsteeg et al. 1999,

Deen 1999). Im Gegensatz dazu führt die Koexpression des wildtypischen AQP2 und der AQP2-Mutante R187C, die bereits im ER zurückgehalten wird und dort als Monomer vorliegt, nicht zu einer Beeinträchtigung des Oberflächentransports von wildtypischem AQP2 (Mulders et al. 1998, Kamsteeg et al. 1999).

Ähnlich wie beim X-chromosomal-rezessiven Diabetes insipidus wurde auch für die autosomal-rezessive Form ein milder Phänotyp beschrieben. Bei einem Patienten mit 2 unterschiedlichen Mutationen auf beiden Allelen (L22V und R187C; „compound heterozygous“) konnte durch hohe Dosen des V2-selektiven Agonisten dDAVP die Urinausscheidung von 10 auf 4 l drastisch reduziert werden (Canfield et al. 1997). Die L22V-Mutante weist normale Transporteigenschaften auf und hat gegenüber dem wildtypischen AQP2 eine um 40% verminderte Wasserpermeabilität. Vermutlich wird

Tabelle 9.8. Liste der krankheitsauslösenden Mutationen im AQP2-Gen (autosomal-rezessiv und autosomal-dominanter Erbgang). Die Mutationen sind nach den Veränderungen auf Aminosäureebene bezeichnet. (Die Bezeichnung der Mutation beinhaltet den 1-Buchstaben-Code für die wildtypische Aminosäure, die Position im AQP2 und den 1-Buchstaben-Code für die eingeführte Aminosäure)

Mutation	Erbgang	Lokalisation	Wasserkanalpermeabilität	Referenz
L22V	Autosomal-rezessiv	PM	Vermindert	Canfield et al. 1997
G64R	Autosomal-rezessiv	ER	Keine	Deen et al. 1995
N68S	Autosomal-rezessiv	ER	Keine	Mulders et al. 1997
V71M	Autosomal-rezessiv	n. b.	n. b.	Bichet et al. 1998
R85X	Autosomal-rezessiv	n. b.	n. b.	Vargas-Poussou et al. 1998
G100X	Autosomal-rezessiv	n. b.	n. b.	Hochberg et al. 1999
ΔC369 ^a	Autosomal-rezessiv	n. b.	n. b.	Lieburg et al. 1994
T125M	Autosomal-rezessiv	PM	Keine	Goji et al. 1998
T126M	Autosomal-rezessiv	ER	Vermindert	Deen et al. 1995, Mulders et al. 1997, Yamachi et al. 1999
A147T	Autosomal-rezessiv	ER	Vermindert	Mulders et al. 1997
V168M	Autosomal-rezessiv	n. b.	n. b.	Vargas-Poussou et al. 1998
G175R	Autosomal-rezessiv	PM	Keine	Goji et al. 1998
C181W	Autosomal-rezessiv	ER	Keine	Canfield et al. 1997
P185A	Autosomal-rezessiv	n. b.	n. b.	Bichet et al. 1998
R187C	Autosomal-rezessiv	ER	Keine	Deen et al. 1995, Yamachi et al. 1999
A190T	Autosomal-rezessiv	ER	Vermindert	Kuwahara et al. 1998
W202C	Autosomal-rezessiv	n. b.	n. b.	Oksche et al. 1997
S216P	Autosomal-rezessiv	ER	Keine	Deen et al. 1995, Yamachi et al. 1999
E258K	Autosomal-dominant	Golgi	n. b.	Mulders et al. 1998
P262L	Autosomal-rezessiv	ER	Vermindert	Bichet et al. 1998, Kuwahara et al. 1998

^a Angegeben: Veränderung auf der Ebene der cDNA, da hier eine komplexe Veränderung der Aminosäuresequenz vorliegt (Deletion eines einzelnen Nukleotids führt zur Verschiebung des Leserasters), *ER* Endoplasmatisches Retikulum, *Golgi* Golgi-Apparat, *PM* Plasmamembran, *n. b.* nicht bekannt.

durch die hochdosierte dDAVP-Gabe und damit erhöhte cAMP-Spiegel die L22V-Mutante vermehrt synthetisiert und in die Membran transportiert, sodass der funktionelle Defekt kompensiert werden kann.

9.4.4 Molekulare Mechanismen bei erworbenen Erkrankungen

Die Aufklärung der V2-Rezeptor-vermittelten Signaltransduktion in den Hauptzellen der renalen Sammelrohre hat zum besseren Verständnis der molekularen Mechanismen bei den erworbenen Formen des Diabetes insipidus renalis beigetragen. Viele der durchgeführten Studien haben sich mit der Expression des AVP-regulierten Wasserkanals AQP2 befasst. So konnte sowohl für metabolische Störungen (Hyperkalzämie, Hypokaliämie) und anatomische Veränderungen (Uretherstriktur) sowie für den lithiuminduzierten Diabetes insipidus eine Verminderung der AQP2-Expression gezeigt werden. Die Mechanismen, die zu einer verminderten Proteinexpression führen, sind hingegen nicht gut charakterisiert.

9.4.4.1 Lithium

Von großer klinischer Bedeutung ist der Lithium-induzierte Diabetes insipidus renalis. Lithium wurde vor etwa 45 Jahren in die Behandlung der uni- und bipolaren Psychosen eingeführt. Es vermindert die Häufigkeit manisch-depressiver Episoden. Der therapeutische Spiegel im Plasma reicht von 0,8–1,2 mM, wobei einige Autoren auch niedrigere Lithiumspiegel von 0,4–0,8 mM für wirksam halten (Übersicht in Botton 1987). Im Harn liegen Konzentrationen von 5–10 mM Lithium vor. Glomerulär filtrierte Lithium wird zu 70–90% über Natriumtransporter v.a. im proximalen Nephron resorbiert und verhält sich kompetitiv zu Natrium (Übersicht in Botton 1987). Bei einem Natriumverlust (z.B. durch natriumarme Diät, Erbrechen, Diarrhö, Schleifen- und Thiaziddiuretika, verstärkte Transpiration) wird neben Natrium auch vermehrt Lithium reabsorbiert, was zu einer akuten Vergiftung führen kann. Die Reabsorption von Lithium erfolgt insbesondere über den amiloridsensitiven Natriumkanal, der v.a. im luminalen Abschnitt des distalen Tubulus und des Sammelrohrs exprimiert wird. Dieser Kanal ist für Lithium rela-

tiv gut permeabel. Die Na^+ - K^+ -ATPase in der basolateralen Membran aber eine geringe Transportkapazität für Lithium aufweist, kommt es zur intrazellulären Akkumulation (Goldberg et al. 1988).

In einer Studie mit 1000 Patienten wurde gezeigt, dass bei 54% der mit Lithium behandelten Patienten eine milde bis moderate Störung der Urinkonzentrierung (nach 24-stündigem Dursten $\text{Urin}_{\text{osm}} < 800 \text{ mosmol/kg}$) vorliegt. In 19% der Fälle wurde eine Polyurie ($> 3 \text{ l/Tag}$) beobachtet. Die glomeruläre Filtrationsrate ist nicht verändert (Übersicht in Botton 1987). Die Auswirkungen von Lithium auf die Niere sind bereits wenige Wochen nach Therapiebeginn nachweisbar. Das Ausmaß der renalen Funktionsstörung korreliert mit der Dauer der Lithiumtherapie. Histopathologische Untersuchungen an den Nieren zeigen tubuläre Atrophie, eine kortikale und medulläre Sklerose, tubuläre Dilatation und die Ausbildung von Mikrozysten. Auffallend sind auch Zellschwellungen mit Glykogeneinlagerungen und Ablösungen von Zellen von der Basalmembran, v.a. in den kortikalen und medullären Sammelrohren (Walker et al. 1982 a,b, Walker 1993, Hetmar et al. 1987). Solange keine fibrotischen Veränderungen vorliegen, sind die Lithium-induzierten Störungen reversibel. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten tubulointerstitieller fibrotischer Veränderungen nimmt mit der Dauer der Lithiumgabe zu und ist bei kurzen Dosierungsintervallen erhöht (Plenge et al. 1982, Botton et al. 1987, Hetmar et al. 1989).

Lithium beeinflusst die G-Protein-vermittelte Signaltransduktion in vielfältiger Weise. Auch beim lithiuminduzierten Diabetes insipidus renalis müssen mehrere Mechanismen in Betracht gezogen werden. Wird die Aktivität der Adenylylzyklase direkt an Membranpräparationen von Nierenzellen des Schweins untersucht, die endogen den V2-Rezeptor exprimieren (LLC-PK1-Zellen), so führt Lithium zu einer Hemmung der AVP-vermittelten Aktivierung der Adenylylzyklase (Goldberg et al. 1988). Da auch die Wirkungen von Cholera-toxin und Natriumfluorid (aktivieren das G-Protein G_s) sowie des Diterpens Forskolin (stimuliert direkt die Adenylylzyklase) durch Lithium vermindert werden, ist ein direkter Einfluss von Lithium auf die Aktivierung der Adenylylzyklase wahrscheinlich. Vermutlich verhält sich Lithium kompetitiv zu Magnesium, welches für die Aktivität der Adenylylzyklase von großer Bedeutung ist. Dafür spricht, dass Magnesium, in hohen Konzentrationen eingesetzt, den inhibitorischen Lithiumeffekt vermindert (Goldberg et al. 1988). An isolierten Sammelrohren von Lithium-behandelten

Ratten wurde ebenfalls eine Verminderung der Aktivierung der Adenylylzyklase durch AVP, Forskolin und Natriumfluorid beschrieben, was die an der Zellkultur erhobenen Befunde bestätigt (Christensen 1985).

Lithium beeinflusst auch die AQP2-Expression. Eine 3-wöchige Gabe von Lithium an Ratten führt zu einer drastischen Verminderung (um 95%) der AQP2-Expression (Langzeitregulation) in den medullären Sammelrohren. Darüber hinaus ist auch der AVP-vermittelte Transport des AQP2 in die lumenale Membran gestört (Kurzzeitregulation; Marples et al. 1995). Die AQP2-Expression ist auch 7 Tage nach Beenden der Lithiumgabe erheblich vermindert. Hierbei sind transkriptionale Mechanismen von Bedeutung, die u.a. auch durch cAMP beeinflusst werden. So liegen in den regulatorischen Abschnitten (Promotor) des AQP2-Gens ein cAMP-responsives Element (CRE; Uchida et al. 1994) sowie eine AP-1 Bindungsstelle vor (Yasui et al. 1997). Die Stimulation des V2-Rezeptors führt über den cAMP-PKA-Signalweg zur Phosphorylierung des CRE-Bindeproteins CREB (cAMP responsive element binding protein) sowie zur vermehrten Expression des Transkriptionsfaktors Fos. Die Bindung des phosphorylierten CREB an CRE und von Fos (als Heterodimer mit dem Transkriptionsfaktor Jun) an das AP-1-Element im AQP2-Promotor stimuliert die Transkription des AQP2-Gens. Dieser Mechanismus bildet eine wesentliche Grundlage für die vermehrte AQP2-Expression (Langzeitregulation) nach Stimulation des V2-Rezeptors (Matsumura et al. 1997, Hozawa et al. 1996, Yasui et al. 1997).

9.4.4.2 Hypokaliämie und Hyperkalzämie

Der Diabetes insipidus renalis kann auch durch Veränderungen der Plasmakonzentrationen von Kalium (Hypokaliämie) und Kalzium (Hyperkalzämie) hervorgerufen werden.

Ähnlich der Gabe von Lithium ist bei hypokaliämischen Ratten die Expression von AQP2 gegenüber der von Kontrolltieren auf 27% vermindert (Marples 1996). Die verminderte Expression ist vermutlich Folge einer gestörten AVP-vermittelten Signaltransduktion. An isolierten medullären Sammelrohren hypokaliämischer Ratten fand sich im Vergleich zu Sammelrohren normokaliämischer Ratten eine deutliche Verminderung der AVP-vermittelten Aktivierung der Adenylylzyklase (Kim et al. 1984). Keine Unterschiede fanden sich in der Aktivierung der Adenylylzyklase durch Natriumfluorid (aktiviert das G-Protein G_s). Die Aktivität

von cAMP-abbauenden Phosphodiesterasen war unter Hypokaliämie nicht erhöht (Kim et al. 1984). Bei hypokaliämischen Kaninchen wurde eine vermehrte Prostaglandinbildung als Ursache der verminderten AVP-vermittelten Aktivierung der Adenylzyklase nachgewiesen, die sich auch durch Hemmstoffe der Prostaglandinsynthese normalisieren ließ (Raymond et al. 1987). Hingegen wurde bei Ratten kein Effekt der Hypokaliämie auf die Prostaglandinbildung gefunden (Berl et al. 1980). Untersuchungen zu hypokaliämischen Patienten mit Polyurie, die klären, ob die Hypokaliämie zu einer vermehrten Prostaglandinbildung führt, sind bisher nicht durchgeführt worden. In keiner der genannten Untersuchungen wurde der Einfluss der Hypokaliämie auf die V2-Rezeptor-Expression untersucht.

Die Untersuchungen zum Hyperkalzämie-induzierten Diabetes insipidus renalis weisen auf zahlreiche Störungen der zellulären Funktion hin. Bei der Hyperkalzämie ist die AQP2-Expression auf 46% der Expression von Kontrolltieren vermindert. Zusätzlich liegt auch eine erhebliche Störung des Transports von AQP2 an die Plasmamembran vor (Earm et al. 1998). Ursachen der verminderten AQP2-Expression könnten die bei der Hyperkalzämie verminderte Aktivierung der Adenylzyklase durch AVP (s. Abschn. 9.4.3.1; Marumo 1971, Beck 1974) sowie eine reduzierte Aktivität der PKA sein (Kuo et al. 1970). Darüber hinaus ist auch die Struktur der Mikrotubuli verändert (Barnes 1975). Die Mikrotubuli sind vermutlich für den Transport der AQP2-haltigen Vesikel zur apikalen Membran von großer Bedeutung, da hierüber die Bereitstellung von AQP2-haltigen Vesikeln für die AVP-induzierte Translokation erfolgt (Übersicht in Klußmann et al. 2000). Darüber hinaus könnten erhöhte Kalziumspiegel auch direkt über den Kalzium-Polykation-Rezeptor auf die renalen Prinzipalzellen wirken (Sands et al. 1997). Welche zellulären Effekte in den Hauptzellen durch den Kalzium-Polykation-Rezeptor vermittelt werden, ist bislang nicht bekannt.

9.4.4.3 Postobstruktiver nephrogener Diabetes insipidus (NDI)

Nach der Korrektur anatomischer Veränderungen, die zur Verlegung der harnableitenden Wege führen (z. B. Prostatahyperplasie oder Urethrestrikturen), wird ebenfalls ein transients Diabetes insipidus renalis beobachtet. An Versuchstieren mit einer 24-stündigen Ligatur beider Urethren wurde 48 h nach Entfernen der Uretherligatur eine auf 25% verminderte Expression des AQP2 beobachtet

(Frokiaer et al. 1996). Die verminderte Expression des AQP2 ließ sich auch einen Monat später nachweisen. Die Mechanismen, die dieser langfristig verminderten AQP2-Expression zugrunde liegen, sind noch nicht aufgeklärt. Auch die Ligatur eines Urethers hatte die Abnahme der AQP2-Expression in der betroffenen Niere auf 25%, in der kontralateralen Niere auf 75% zu Folge (Frokiaer et al. 1997). Jedoch war die Abnahme der AQP2-Expression bei der einseitigen Uretherligatur nur für 24 h nachweisbar.

9.5 Tiermodelle

9.5.1 Brattleboro-Ratte als Modell für den Diabetes insipidus centralis

Die Entdeckung der Brattleboro-Ratte geht auf Valtin et al. (1965) zurück. Der genetische Defekt, der der Brattleboro-Ratte zugrunde liegt, ist durch die grundlegenden Arbeiten von Richter (1988), Bahnson et al. (1992) und Schmale et al. (1993) aufgeklärt worden. Sie konnten zeigen, dass im 2. Exon des AVP-NPII-Gens eine Nukleotiddelation vorliegt, die zu einem autosomal-rezessiven Diabetes insipidus centralis führt.

Durch die Deletion des einzelnen Nukleotids wird das Leseraster verschoben. Jenseits der Mutation weist das Genprodukt eine andere Aminosäuresequenz auf als das wildtypische Protein. Das natürliche Stoppkodon wird überlesen. Als Folge davon kodiert der polyA(+)-Schwanz, der an allen eukaryotischen mRNA-Formen gefunden wird und u. a. für die Stabilität der mRNA von Bedeutung ist, nun für eine Polylysinsequenz im mutierten Protein. Der Nachweis der AVP-NPII-Mutante mittels Antikörpern, die gegen den veränderten Anteil des Proteins gerichtet waren, erlaubte die Lokalisation im ER und z. T. auch im Trans-Golgi-Netzwerk der AVP-produzierenden magnozellulären Neuronen. Hingegen wurde das Protein nicht in den neurosekretorischen Granula gefunden (Krisch et al. 1986). Die Mutante hat offenbar keinen Effekt auf die Expression und den intrazellulären Transport des wildtypischen Proteins. Das Modell eignet sich daher nicht zum Verständnis der Transportdefekte, wie sie durch die Mutationen beim autosomal-dominanten Diabetes insipidus centralis hervorgerufen werden.

Die Versuche an der Brattleboro-Ratte haben in entscheidender Weise dazu beigetragen, die zellu-

lären Effekte von AVP zu verstehen. Sie ist auch heute noch ein vielseitig genutztes Modell für die Kurz- und Langzeitregulation renaler Proteine (Aquaporine, V2-Rezeptor, Adenylzyklasen, Phosphodiesterasen, Harnstofftransporter) sowie zur Charakterisierung von V2-Rezeptor-Liganden.

9.5.2 Modelle für den Diabetes insipidus renalis

9.5.2.1 Tiermodelle des X-chromosomal-rezessiven (V2-Rezeptor) und des autosomal-rezessiven (AQP2) Diabetes insipidus renalis

E242X-V2-Rezeptor-Knockin-Modell. Die E242X-Mutation wurde bei Patienten mit einem X-chromosomal-rezessiven Diabetes insipidus renalis identifiziert. Durch die Mutation erfolgt ein vorzeitiger Stopp der Rezeptorneusynthese nach 241 Aminosäuren (der wildtypische V2-Rezeptor weist 371 Aminosäuren auf), so dass ein nicht-funktionelles Protein resultiert.

Um ein Krankheitsmodell des X-chromosomal-rezessiven Diabetes insipidus renalis zu etablieren, wurde bei der Maus mittels homologer Rekombination die E242X-Mutation in das V2-Rezeptor-Gen eingeführt (E242X-V2-Rezeptor-Knockin-Maus, Yun et al. 2000). Da sich das V2-Rezeptor-Gen der Maus, wie das des Menschen, auf dem X-Chromosom befindet, wird die E242X-Mutation nach einem X-chromosomal-rezessiven Modus vererbt.

Männliche Mäuse, die die E242X-Mutation tragen, sterben innerhalb der ersten Woche nach der Geburt. Auch bei Behandlungen der Mäuse mit dem Diuretikum Hydrochlorothiazid oder mit dem PGE-Inhibitor Indomethacin, wie sie beim Menschen in der Therapie des Diabetes insipidus renalis üblich sind (s. Abschn. 9.6.3), sterben die Mäuse innerhalb von drei Wochen. Weibliche Mäuse, die heterozygot für die E242X-Mutation sind, zeigen eine Polyurie und eine verminderte Urinosmolalität (Yun et al. 2000).

T126M-AQP2-Knockin-Modell. Auch für den autosomal-rezessiven Diabetes insipidus wurde ein Tiermodell etabliert (Yang et al. 2000). Hierzu wurde bei der Maus mittels homologer Rekombination eine Mutation in das AQP2-Gen eingeführt (T126M). Die Mutation T126M wurde beim Menschen als ursächlich für den autosomal-rezessiven Diabetes insipidus renalis identifiziert. Diese Mutation führt zu einem Austausch einer

Aminosäure in der zweiten extrazellulären Schleife (s. Abb. 9.8). In Expressionsstudien an Oozyten konnte gezeigt werden, dass das mutierte AQP2-Protein im ER zurückgehalten wird, trotz einer erhaltenen Restfunktion der wasserleitenden Eigenschaften (Mulders et al. 1997). Jedoch trägt das in die Maus eingeführte AQP2-Gen noch zusätzliche Mutationen, die zu weiteren Austauschen von Aminosäuren führen (H122S, N124S, A125T). Durch diese zusätzlichen Mutationen wird, analog zum humanen Protein, in die zweite extrazelluläre Schleife eine Konsensus-Sequenz für eine N-Glykosylierung eingeführt (vgl. Abb. 9.8). Ob diese zusätzlichen Veränderungen der Aminosäure-Sequenz des AQP2 der Maus bereits die Proteinfaltung stören, wurde nicht untersucht.

Mäuse, die homozygot für die T126M-Mutation sind, sterben innerhalb einer Woche nach Geburt, solche die heterozygot für die Mutation sind, weisen keine Auffälligkeiten auf (Yang et al. 2000).

Die Symptome bzw. Auswirkungen, die durch inaktivierende Mutationen des V2-Rezeptor-Gens bzw. des AQP2-Gens verursacht werden, sind beim Menschen bzw. der Maus unterschiedlich: Beim Menschen ist, im Gegensatz zu der Maus, der X-chromosomal-rezessive und der autosomal-rezessive Diabetes insipidus renalis nicht lebensbedrohlich, sofern ausreichend Flüssigkeit verabreicht wird. Desweiteren weisen Frauen, die Trägerinnen des X-chromosomal-rezessiven Diabetes insipidus renalis sind, nur in seltenen Fällen Symptome auf. Wie die Unterschiede zwischen Maus und Mensch zustande kommen ist nicht bekannt. U.a. könnten Unterschiede in der Nierenanatomie oder beim Abbau der mutierten Proteine ursächlich sein:

1. Anatomische Unterschiede im Aufbau der Niere von Mensch und Maus könnten dazu beitragen, dass die menschliche Niere die Ausscheidung größerer Urinmengen besser toleriert. Die Nieren der T126M-AQP2- und der E242X-V2-Rezeptor-Knockin-Mäuse weisen eine massive Aussackung der Sammelrohre sowie eine hochgradige Atrophie der übrigen medullären Abschnitte auf (Yun et al. 2000, Yang et al. 2000). Diese massiven Veränderungen wurden bei Patienten mit angeborenem Diabetes insipidus renalis bisher nicht beobachtet.
2. Proteine, die eine fehlerhafte Struktur aufweisen, werden im ER zurückgehalten (Qualitätskontrolle des ER). Möglicherweise ist der Abbau der fehlgefalteten Proteine in der Mausniere weniger effektiv als in der humanen Niere. Durch eine Akkumulation der mutierten Proteine kann eine Schädigung der sie exprimierenden Zellen folgen.

9.5.2.2 Modell der DI+/+-Maus mit einem AVP-resistenten Diabetes insipidus renalis

Die so genannte DI+/+-Maus scheidet erhöhte Mengen eines hypotonen Urins aus, die auch unter Behandlung mit DDAVP nicht vermindert werden können (Naik u. Valtin 1969). Bei diesem Mausstamm sind die Aktivitäten der Phosphodiesteraseisoformen Typ III und IV gegenüber Kontrollmäusen 4fach erhöht (Valtin et al. 1990).

An isolierten Abschnitten des inneren medullären Sammelrohrs ließ sich – im Gegensatz zu Kontrolltieren – unter AVP kein cAMP-Anstieg nachweisen. Erst bei Behandlung der Zellen mit Rolipram, einem Typ-IV-Phosphodiesterase-Inhibitor, kam es zu einem AVP-vermittelten Anstieg von cAMP. Cilostamid, ein Typ-III-Phosphodiesterase-Inhibitor führte allein zu keiner Erhöhung des cAMP-Anstiegs (Homma et al. 1991, Coffey et al. 1991). In Übereinstimmung mit der Beobachtung, dass cAMP die Expression von AQP2 und auch von AQP3 stimuliert (Ecelbarger et al. 1995), war an diesen Mäusen eine deutlich verminderte Expression von AQP2 und AQP3 nachweisbar. Die AQP3-Expression war auf 26% im Vergleich zu wildtypischen Mäusen vermindert.

Die Abnahme der AQP2-Expression in DI+/+-Mäusen wies geschlechtsabhängige Unterschiede auf. So war die AQP2-Expression bei weiblichen DI+/+-Mäusen im Vergleich zu weiblichen Kontrolltieren auf 36%, bei männlichen DI+/+-Mäusen sogar auf 13% im Vergleich zu männlichen Kontrolltieren vermindert (Frokiær et al. 1999). Ein Vergleich männlicher und weiblicher DI+/+-Mäuse zeigte, dass die AQP2-Expression in männlichen DI+/+-Mäusen nur etwa 36% der AQP2-Expression weiblicher DI+/+-Mäuse beträgt. Die Ursachen für den beobachteten Unterschied in der AQP2-Expression zwischen männlichen und weiblichen DI+/+-Mäusen ist bislang unbekannt (Frokiær et al. 1999). Auch der genaue molekulare Defekt der DI+/+-Maus konnte bisher nicht aufgeklärt werden.

9.5.2.3 AQP1-Knockout

Mäuse, bei denen das AQP1-Gen ausgeschaltet wurde (AQP1-Knockout-Mäuse), scheiden vermehrte Mengen eines hypotonen Urins aus (Ma et al. 1998, Chou et al. 1999). AQP1 wird v.a. in den basolateralen und apikalen Membranen der Epithelzellen des proximalen Nephrons (proximaler

Tubulus und dünne absteigende Schleife) exprimiert. An isolierten proximalen Nephronen der Knockout-Tiere können in der Tat auch eine dramatische Abnahme der Wasserpermeabilität um 78% im proximalen Nephron sowie eine um 50% verminderte Flüssigkeitsaufnahme nachgewiesen werden. Jedoch ist die Flüssigkeitsmenge, die das distale Nephron erreicht, nicht erhöht. Dies kann mit einer verminderten glomerulären Filtrationsrate (GFR) erklärt werden, die wiederum Folge eines tubuloglomerulären Rückkopplungsmechanismus (TGR) ist: Für die isosmolare Flüssigkeitsaufnahme im proximalen Tubulus ist die effiziente Kopplung des NaCl- und Wassertransports von großer Bedeutung, die durch die hohe Wasserpermeabilität des proximalen Tubulus gewährleistet wird. Die erheblich verminderte Wasserpermeabilität des proximalen Tubulus in den AQP1-Knockout-Tieren stört jedoch die isosmolare Flüssigkeitsresorption und damit auch die NaCl-Resorption. NaCl flutet nun vermehrt an der Macula densa an und führt zur Freisetzung von Renin. In der Folge kommt es zur vermehrten Bildung von Angiotensin (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System), das zu einer Engstellung der afferenten Arteriolen und damit zu einer Verminderung der GFR führt (Schnermann et al. 1998).

Entscheidend für die beobachteten renalen Konzentrationsdefekte ist die unzureichende Ausbildung des hyperosmolaren medullären Interstitiums (verminderte Resorption von NaCl im proximalen Tubulus, s. oben). Die Urinosmolarität bei den AQP1-Knockout-Mäusen wird auch nicht durch dDAVP gesteigert, was ebenfalls durch die fehlende Tonizität des Nierenmarks erklärt werden kann.

Die Beobachtungen an den AQP1-Knockout-Mäusen sind unerwartet, da beim Menschen in 3 Familien, die eine AQP1-Mutation (A45V) aufweisen, keine Defekte in der Harnkonzentrierung beobachtet wurden (Preston et al. 1994). Da AQP1 das Colton-Antigen bildet, ist eine groß angelegte Suche nach Trägern der AQP1-Mutation relativ leicht möglich (Smith et al. 1994). Bisher wurden jedoch nur fünf Familien mit dieser Mutation identifiziert. Es ist nun erforderlich, bei diesen Patienten mittels einer eingehenden Funktionsanalyse nach möglichen renalen Kompensationsmechanismen zu suchen, die die Diskrepanz zu den Beobachtungen an der AQP1-Knockout-Maus erklären können.

9.5.2.4 Weitere Tiermodelle

AQP3-Knockout. Das Fehlen des AQP3-Proteins (wird in vielen Geweben exprimiert, u.a. in der basolateralen Membran der renalen Hauptzellen) in der Maus führt zu einer mehr als dreifachen Abnahme der Wasserpermeabilität der kortikalen Sammelrohre (Ma et al. 2000). Die Mäuse weisen eine Polyurie und eine zehnmal größere Flüssigkeitsaufnahme als die Kontrolltiere auf. Die Urinosmolarität ist beim AQP3-Knockout-Tieren erheblich reduziert, jedoch ist bei DDAVP-Gabe und Dursten eine partielle Konzentrierung des Harns möglich (Ma et al., 2000).

AQP4-Knockout. Das Fehlen des AQP4-Proteins (wird v.a. im ZNS, aber auch in der basolateralen Membran der renalen Hauptzellen exprimiert) in der Maus führt zu einer vierfachen Abnahme der Wasserpermeabilität der Sammelrohre in der inneren Medulla (Ma et al. 1997). Die Tiere weisen keine Polyurie auf, zeigen aber unter Dursten eine geringere Konzentrierfähigkeit des Harns als die Kontrolltiere. Die geringe Symptomatik der AQP4-Knockout-Mäuse wird damit erklärt, dass eine verstärkte Wasser-Resorption kompensatorisch in den kortikalen Abschnitten des Sammelrohrs erfolgt (hier wird v.a. AQP3 exprimiert), während AQP4 überwiegend in Sammelrohrabschnitten der inneren Medulla exprimiert wird.

Clcnk1(-/-)-Knockout. In der Maus führt das Fehlen des CLC-K1-Proteins, einem Chlorid-Kanal der in der apikalen und basolateralen Membran der Epithelzellen der dünnen aufsteigenden Henleschen Schleife (tAL) exprimiert wird, zu einer Polyurie. Das CLC-K1-Protein ist wesentlich an der Ausbildung der papillären Hypertonizität beteiligt, die für die Harnkonzentrierung benötigt wird (Gegenstrom-Multiplikations-System der Niere). Fehlt es, ist die Harnkonzentrierung der Tiere erheblich gestört. Sie kann durch Dursten bzw. DDAVP-Gabe nicht gesteigert werden (Matsumura et al. 1999).

Durstversuch mit einem anschließenden Vasopressintest genutzt werden (Tabelle 9.9). Bei den Patienten werden v.a. Trinkmenge und Urinvolumen (24 h) bestimmt sowie Plasma und Urin auf Osmolarität, Natrium- und Chloridgehalt hin untersucht. Um andere angeborene oder erworbene Störungen des Wasserhaushaltes (z.B. Tubulopathien) auszuschließen, sollten auch Kalium, Phosphat, Kalzium sowie Harnstoff und Kreatinin (Kreatininclearance) bestimmt sowie das Vorliegen eines Diabetes mellitus ausgeschlossen werden.

Beim Durstversuch wird durch eine Verminderung des Plasmavolumens und die dadurch hervorgerufene Erhöhung der Plasmaosmolarität die hypophysäre Freisetzung von AVP stimuliert. Als Folge wird die ausgeschiedene Urinmenge vermindert und die Urinosmolarität erhöht. Der Durstversuch ist zum Nachweis und zur Erkennung des voll ausgeprägten Diabetes insipidus centralis und renalis geeignet. In beiden Fällen bleibt der Anstieg der Urinosmolarität aus. Bei einem milden Diabetes insipidus und bei der primären Polydipsie muss zusätzlich der Vasopressintest durchgeführt werden. Das Vorgehen beim Durstversuch und beim Vasopressintest sowie die Interpretation der Befunde sind in Tabelle 9.10 beschrieben.

Mittels eines relativ aufwendigen Testverfahrens können auch die angeborenen Formen des Diabetes insipidus renalis unterschieden werden (X-chromosomal-rezessiv, autosomal-rezessiv, autosomal-dominant). Der Test basiert auf der Tatsache, dass bei der Infusion des selektiven V2-Agonisten DDAVP (0,3–0,4 µg/kg KG), erhöhte Plasmaspiegel von Gewebeplasminogenaktivator (tPA), von-Willebrand-Faktor (vWF) und Faktor VIII:c nachweisbar sind (Koagulationsantwort; Bichet et al. 1988). Bei bestimmten Formen der Hämophilie wird durch die Gabe von DDAVP eine ausreichende Normalisierung der Blutungszeit erreicht, sodass auf eine Substitution von Gerinnungsfaktoren verzichtet werden kann. Lange Zeit war die Identität der Rezeptoren nicht geklärt, die an der Ausschüttung der Gerinnungsfaktoren beteiligt sind. Es konnte kürzlich an isolierten mikrovaskulären Endothelzellen der menschlichen Lunge gezeigt werden, dass DDAVP über den V2-Rezeptor zu einer cAMP-vermittelten Freisetzung des vWF führt. Patienten mit V2-Rezeptor-Defekt weisen bei DDAVP-Gabe (X-chromosomale Form) keine Koagulationsantwort auf (Bichet et al. 1988), bei Patienten mit einem AQP2-Defekt (autosomale Formen; van Lieburg et al. 1996) oder mit einem Lithium-induzierten Diabetes insipidus (Hofer et al. 1992) ist sie dagegen erhalten.

9.6 Diagnostik und Therapie

9.6.1 Diagnostik des Diabetes insipidus centralis und renalis

Bei der Unterscheidung der zentralen Form des Diabetes insipidus von der renalen Form sowie der Abgrenzung von Störungen der Durstregulation (primäre Polydipsie) kann diagnostisch der

Tabelle 9.9. Durchführung des Durstversuchs mit anschließendem AVP-Test

Zeitplan	Medikamente	Parameter	Abbruchkriterien
6:00		Entleerung der Blase Körpergewicht Blutdruck <i>Urin:</i> Volumen, Osmolalität <i>Plasma:</i> Osmolalität, Natrium, AVP	<i>Cave bei folgenden Basiswerten</i> Hypernatriämie >145 mM Plasmaosmolarität >300 mosmol/kg Polyurie >4 l/24 h Verlust von 3–4% des Körpergewichts
Alle 2 h		Entleerung der Blase Körpergewicht Blutdruck <i>Urin:</i> Volumen, Osmolalität	Fieber Blutdruckabfall
Ende Durstversuch (bei Normalpersonen nach 12–16 h U_{osm} zwischen 800 und 1200 mosmol/kg, bei Werten <800 mosmol/kg Vasopressintest)		Körpergewicht Blutdruck <i>Urin:</i> Volumen, Osmolalität <i>Plasma:</i> Osmolalität, Natrium, AVP	
Vasopressintest Jede Stunde über 6 h (dDAVP) oder 2 h (AVP, LVP)	dDAVP 20 µg/p.n. (2 mU/kg KG AVP i. v.)	Urin: Volumen, Osmolalität	

Tabelle 9.10. Interpretation des Durstversuchs mit anschließendem AVP-Test nach Rascher (1993)

Parameter	Basal	Nach Dursten	Nach dDAVP oder AVP-Gabe
<i>Normale Hypophysenhinterlappenfunktion</i>			
Urinvolumen [l/24 h]	2	<1	Unverändert
U_{osm} [mosmol/kg]	300–600	800–1200	Unverändert
P_{osm} [mosmol/kg]	285–295	290–300	Unverändert
P ADH [pg/ml]	2–4	6–12	–
<i>Diabetes insipidus centralis</i>			
Urinvolumen [l/24 h]	6–12	6–12	Abnahme
U_{osm} [mosmol/kg]	<200	<200	400–600
P_{osm} [mosmol/kg]	285–290	>300	Unverändert
P ADH [pg/ml]	<1,5	<1,5	–
<i>Diabetes insipidus centralis</i>			
Urinvolumen [l/24 h]	6–12	6–12	Unverändert
U_{osm} [mosmol/kg]	<200	<200	Unverändert
P_{osm} [mosmol/kg]	285–295	>300	Unverändert
P ADH [pg/ml]	2–6	>10	–
<i>Primäre Polydipsie</i>			
Urinvolumen [l/24 h]	Variabel nach Zufuhr	Abnahme	Keine weitere Abnahme
U_{osm} [mosmol/kg]	<300	>600	Unverändert
P_{osm} [mosmol/kg]	285–295	290–300	Unverändert
P ADH [pg/ml]	1–3	>10	–

Ist eine klinische Unterscheidung zwischen Diabetes insipidus centralis und renalis erfolgt, sollte in jedem Fall auch eine exakte molekulare Analyse des zugrunde liegenden Gendefekts durchgeführt werden. Dies ist insbesondere für Eltern mit einem erkrankten Kind oder für Verwandte von Patienten

hilfreich. So kann nach der Identifizierung des Gendefekts bei den Patienten relativ leicht der Trägerstatus bei den Verwandten geprüft werden und damit eine genetische Beratung bei Schwangerschaftswunsch erfolgen.

9.6.2 Therapie des Diabetes insipidus centralis

Die Behandlung des Diabetes insipidus centralis besteht in einer Substitutionstherapie mit dem V₂-selektiven Rezeptoragonisten DDAVP (Minirin). Gegenüber AVP bietet DDAVP wichtige Vorteile: Es verfügt über eine lange Halbwertszeit im Plasma und hat keine gefäßverengende (stimuliert nicht den V_{1a}-Rezeptor) Wirkung. Die Substitution von 10–20 µg erfolgt mittels Nasenspray alle 12–24 h. Allerdings ist die Gabe von wässrigen AVP-Lösungen zur Akutbehandlung eines schweren Volumens mangels beim Diabetes insipidus centralis von Vorteil. Die kürzere Wirkdauer des AVP (5–10 Einheiten alle 4–6 h) erlaubt eine bessere Anpassung der Therapie, um Komplikationen wie eine Wasserintoxikation zu vermeiden.

9.6.3 Therapie des angeborenen Diabetes insipidus renalis

Im Gegensatz zur Therapie des Diabetes insipidus centralis ist die Behandlung des Diabetes insipidus renalis kompliziert und häufig von begrenzter Effektivität. Für den angeborenen Diabetes insipidus renalis hat sich eine Kombinationstherapie aus salzreicher Kost, der Gabe des Thiaziddiuretikums Hydrochlorothiazid (Alon 1985) und eines Hemmstoffs der Prostaglandinsynthese (Indomethacin) durchgesetzt (Rascher 1987, Allen 1989, Delaney 1987, Hohler 1994, Martinez 1993, Weinstock 1990). Die Reduktion des Urinvolumens mit Hydrochlorothiazid (paradoxe Wirkung) kommt vermutlich durch eine Verarmung des Körpers an Natrium zustande. Dadurch wird die Resorption von Natrium und damit auch Wasser im Bereich des proximalen Nephrons gesteigert, sodass im Sammelrohr eine geringere Flüssigkeitsmenge anfällt. Problematisch an den Thiaziden ist jedoch, dass sie zu einer Kaliumverarmung führen. Deshalb ist eine Kombination mit dem kaliumsparenden Diuretikum Amilorid günstig (Batlle 1985, Alon 1985, Koston 1986).

Indomethacin ist ein Inhibitor der Prostaglandin-synthetisierenden Enzyme (Zyklooxygenasen). Da Prostaglandine lokale Mediatoren der Nierendurchblutung sind, führt die Hemmung ihrer Bildung zu einer Verminderung der glomerulären Filtrationsrate und damit zu einer Verminderung der Primärharnmenge. Ob auch die Hemmung der diuresevermittelnden Prostaglandin- (Subtyp: EP₃) oder Endothelinrezeptoren (Subtyp: ET_B) therapeutisch nutzbar ist, ist unklar (Abb. 9.5).

Eine mögliche Therapie wäre auch die direkte Beeinflussung intrazellulärer cAMP-Spiegel in Hauptzellen. Durch die Gabe von Hemmstoffen der Phosphodiesterasen (PDE) ließe sich z.B. der Abbau von cAMP hemmen, was sowohl den Transport von AQP2 in die Plasmamembran (Kurzzeitregulation) als auch die Expression von AQP2 (Langzeitregulation) stimuliert. Untersuchungen an Sammelrohren der Ratte zeigten, dass die PDE-Isoformen I, III und IV exprimiert werden (Yamaki et al. 1992, Takeda et al. 1991). An der Hydrolyse des AVP-vermittelten cAMP-Anstiegs sind v.a. die Subtypen I und IV beteiligt (Yoshida et al. 1997). Ein Behandlungsversuch mit Rolipram (hemmt spezifisch die PDE vom Typ IV, Abb. 9.5) an zwei Patienten mit angeborenem Diabetes insipidus renalis war jedoch erfolglos (Bichet 1990). Weitere Studien müssen zeigen, ob Patienten mit Diabetes insipidus renalis von einer solchen Behandlung profitieren würden, wenn sie entweder für einen längeren Zeitraum behandelt werden (Genexpression) oder aber eine Kombination von Inhibitoren der PDE vom Typ I und IV erhalten.

9.6.4 Therapie des erworbenen Diabetes insipidus renalis

9.6.4.1 Lithium-induzierter Diabetes insipidus renalis

Tritt ein Diabetes insipidus renalis unter einer Lithiumtherapie auf, kann die Behandlung zunächst fortgesetzt werden, sofern nicht der Verdacht auf irreversible Nierenveränderungen besteht (v.a. bei langjähriger, hochdosierter Therapie). Eine Optimierung der Lithiumgabe (Menge und Dosierungsintervalle) sowie die Kontrolle des Elektrolythaushalts sind von großer Bedeutung. Die Natriumspiegel im Serum müssen im Normbereich liegen, da erniedrigte Spiegel zu einer vermehrten Reabsorption von Lithium führen (Kumulationsgefahr, s. Abschn. 9.4.3.1). Der Patient muss auf Zustände hingewiesen werden, die mit einem vermehrten Salzverlust einhergehen (Erbrechen, Durchfall, Fieber, Schwitzen, Sauna) und ggf. diätetisch geschult werden. Sofern dies möglich ist, sollte bei den Patienten keine Monotherapie mit Diuretika erfolgen, die einen Natrium- und Kaliumverlust begünstigen (Schleifendiuretika, Thiazide). Möglich ist eine Kombination von Thiaziden mit Amilorid (Feuerstein et al. 1981, Batlle et al. 1985, Alon et al. 1985, Koston et al. 1986). Amilorid ist ein kaliumsparendes Diuretikum, das seine Wirkung durch die Blo-

ckade amiloridsensitiver Natriumkanäle entfaltet, über den Lithium im distalen Nephron und Sammelrohr aufgenommen wird (s. Abschn. 9.4.4.1). Die Gabe von Hemmstoffen der Prostaglandinsynthese kann bei Lithium-induzierter Polyurie zur Akutbehandlung angewendet werden. Soll die Lithiumtherapie jedoch fortgesetzt werden, ist die Gabe von Hemmstoffen der Prostaglandinsynthese nicht zu empfehlen, da die Verminderung der renalen Blutzirkulation die zytotoxischen Effekte von Lithium verstärken kann. Die Gabe von Lithium sollte nur einmal täglich erfolgen. Gehäufte Tagesgaben sind mit einem erhöhten Risiko tubulointerstitieller Veränderungen verbunden (Plenge et al. 1982, Botton et al. 1987, Hetmar et al. 1989).

9.6.4.2 Diabetes insipidus durch Hypokaliämie und Hyperkalzämie

Bei der Hypokaliämie und der Hyperkalzämie ist die Polyurie nicht sehr stark ausgeprägt, sodass in der Regel keine Akutbehandlung erforderlich ist. Die Ursachen für die Hypokaliämie (z.B. Diuretika) und die Hyperkalzämie (z.B. Diuretika, Knochenmetastasen) müssen geklärt werden. Entscheidend ist, dass eine Normalisierung der Werte für Kalium und Kalzium erreicht wird.

9.7 Ausblick

Die Identifizierung der Krankheitsgene des *Diabetes insipidus renalis und centralis* sowie die Identifizierung von Proteinen, die an der Konzentrierung des Harns beteiligt sind (V2-Rezeptor, Harnstofftransporter, Wasserkanäle, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{2Cl}^-$ -Transporter), erlauben einen immer detaillierteren Einblick in die Mechanismen der Synthese und des Transports von AVP sowie der vasopressinabhängigen und -unabhängigen Wasserreabsorption. Dieser Erkenntnisfortschritt ermöglicht die gezielte Entwicklung neuer Therapien zur Behandlung von polyurischen sowie auch ödematösen Erkrankungen. Eine selektive Modulation der V2-Rezeptor-vermittelten Signalkaskade würde eine gute Wirksamkeit bei gleichzeitig geringen unerwünschten Wirkungen versprechen, wie dies bereits bei der Behandlung des Diabetes insipidus centralis mit DDAVP der Fall ist. Bei ödematösen Erkrankungen könnte z.B. durch die spezifische Blockade des V2-Rezeptors freies Wasser ohne den gleichzeitigen Verlust von Elektrolyten, wie er von

Diuretika bekannt ist, ausgeschieden werden. Gegenwärtig werden erste Studien zur Verträglichkeit und Sicherheit selektiver V2-Rezeptor-Antagonisten durchgeführt.

Die pharmakologische Blockade oder Aktivierung einzelner Zielmoleküle in der V2-Rezeptor-vermittelten Signalkaskade sind v.a. für die Behandlung des X-chromosomal vererbten Diabetes insipidus renalis (Mutationen des V2-Rezeptorgens) von großer Bedeutung, zumal die gegenwärtig verfügbaren Therapien unbefriedigend sind. Hier bieten sich für die Zukunft folgende Therapieansätze:

1. V2-Rezeptor-unabhängige Modulation der cAMP-Spiegel

Untersuchungen an Tier- und Zellmodellen zeigen, dass die Aktivierung des V2-Rezeptor-cAMP-PKA-Signalwegs kurzfristige und langfristige Effekte induziert. Zu den kurzfristigen Effekten gehören der Anstieg der Wasserpermeabilität und die Zunahme der Harnstoffreabsorption im Sammelrohr sowie die vermehrte Natriumresorption im dicken Teil der aufsteigenden Henle-Schleife. Zu den langfristigen Effekten gehören die vermehrte Expression von AQP2, AQP3 und des AVP-regulierten Harnstofftransporters UT1. Bei der Unterbrechung der Signalkaskade auf Rezeptorebene ist damit nicht nur die akute Regulation der Wasserpermeabilität, sondern vermutlich u.a. die Expression von AQP2 und UT1 gestört. Somit erscheint bei Patienten mit Diabetes insipidus renalis eine über mehrere Wochen angelegte pharmakologische Modulation der intrazellulären cAMP-Spiegel sinnvoll. Solche Therapieansätze müssen daher zunächst in Tierversuchen, später auch in klinischen Studien auf ihre Wirksamkeit untersucht werden. Hierbei kommen sowohl eine rezeptorunabhängige Stimulation der Adenylzyklase, z.B. durch Diterpenderivate (Abkömmlinge des Forskolins) oder Hemmstoffe der Phosphodiesterasen in Frage. Für die angesprochenen Substanzgruppen liegen z.T. bereits klinische Erfahrungen vor, die bei anderen Erkrankungen (v.a. Herzinsuffizienz) gewonnen wurden.

2. Identifizierung weiterer Moleküle, die an der AVP-vermittelten Signaltransduktion beteiligt sind

Die frühen Abschnitte in der Signalkette des aktivierten V2-Rezeptors sind recht gut charakterisiert. Hingegen ist bislang unklar, welche Proteine die Translokation von AQP2 in die apikale Plasmamembran und von dort die Wiederaufnahme in die Zelle vermitteln. Von besonderem

Interesse ist hierbei die Identifizierung der Moleküle, die an der cAMP- und PKA-vermittelten Exozytose beteiligt sind. Hier könnten andere Proteine eine Rolle spielen als bei der Ca^{2+} -vermittelten Exozytose. Die cAMP-PKA-vermittelte Exozytose ist im Gegensatz zur Ca^{2+} -vermittelten Exozytose nicht weit verbreitet (Übersicht in Klußmann et al. 2000). Die Zellspezifität des Signalwegs ist daher für die Entwicklung neuer Therapieansätze beim Diabetes insipidus renalis von großer Bedeutung.

3. Einsatz chemischer Chaperone oder von Hemmstoffen zellulärer Chaperone

Ein großer Teil der AQP2- und V2-Rezeptor-Mutanten wird im ER zurückgehalten (Qualitätskontrollsystem; s. Abschn. 9.4.2.2). Hierbei werden z.T. auch solche Mutanten zurückgehalten, die noch eine Restfunktion haben. Die Chaperone des ER sind vermutlich für die beobachteten Transportstörungen verantwortlich. Durch die feste Bindung der Chaperone an die mutierten Proteine können Letztere nicht aus dem ER in den Golgi-Apparat transportiert werden. Untersuchungen, ob eine Hemmung der zellulären Chaperone zur Überwindung des Transportdefekts führt, stehen noch aus. Hingegen ist es *in vitro* bereits gelungen, durch den Einsatz chemischer Chaperone (Glyzerol, Trimethylaminoxid) den Transport und damit die Funktion von drei AQP2-Mutanten (T126M, A147T, R187C) wiederherzustellen (Tamarappoo 1998). Weitere Untersuchungen müssen nun zeigen, ob chemische Chaperone am Ganztier angewendet werden können.

4. Somatische Gentherapie

Eine kausale Therapie des Diabetes insipidus renalis wäre der Transfer wildtypischer V2-Rezeptor-cDNA (beim X-chromosomal-rezessiven Erbgang) bzw. AQP2-cDNA (beim autosomal-rezessiven Erbgang) in die renalen Hauptzellen. Dass durch eine Katheterisierung des Ureter (retrograd) bzw. der A. renalis (anterograd) eine relativ selektive Applikation der Genvehikel in Nierentubuluszellen oder Sammelrohrzellen möglich ist, wurde bereits an der Ratte gezeigt (Moullier 1994). Bevor jedoch an eine Therapie beim Menschen gedacht werden kann, müssen zunächst die grundsätzlichen Schwierigkeiten der Gentherapie überwunden werden. Hierzu gehört v.a. das Erreichen einer lang anhaltenden Expression des Proteins (V2-Rezeptor, AQP2) in den Zielzellen.

In den kommenden Jahren wird es v.a. darum gehen, die Wirksamkeit und Verträglichkeit neuer

Therapieansätze an bestehenden Tiermodellen zu evaluieren. Es erscheint aber wahrscheinlich, dass eine Verbesserung der Therapie des angeborenen Diabetes insipidus renalis mit konventionellen Pharmaka rascher erreicht werden kann als eine Heilung der Erkrankung durch die somatische Gentherapie.

Danksagung

Die Ergebnisse der eigenen Arbeiten, die hier enthalten sind, wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 249, SFB 366, Ro 597/6), die Thyssen-Stiftung, den Verbund Klinische Pharmakologie Berlin-Brandenburg und den Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

9.8 Literatur

- Acher R (1979) Neurophysine – molekulare und zelluläre Aspekte. *Angew Chemie* 91:905–919
- Ala Y, Morin D, Mouillac B et al. (1998) Functional studies of twelve mutant V2 vasopressin receptors related to nephrogenic diabetes insipidus: molecular basis of a mild clinical phenotype. *J Am Soc Nephrol* 9:1861–1872
- Albertazzi E, Zanchetta D, Barbier P et al. (2000) Nephrogenic diabetes insipidus: functional analysis of new AVPR2 mutations identified in Italian families. *J Am Soc Nephrol* 11:1033–1043
- Allen HM, Jackson RL, Winchester MD, Deck LV, Allon M (1989) Indomethacin in the treatment of lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus. *Arch Intern Med* 149:1123–1126
- Alon U, Chan JC (1985) Hydrochlorothiazide-amiloride in the treatment of congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Nephrol* 5:9–13
- Andersen-Beckh B, Dehe M, Schüle R et al. (1999) Polarized expression of the vasopressin V2 receptor in Madin-Darby canine kidney cells. *Kidney Int* 56:517–527
- Arthus MF, Lonergan M, Crumley MJ et al. (2000) Report of 33 novel AVPR2 mutations and analysis of 117 families with X-linked nephrogenic diabetes insipidus. *J Am Soc Nephrol* 11:1044–1054
- Bahnsen U, Oosting P, Swaab DF, Nahke P, Richter D, Schmale H (1992) A missense mutation in the vasopressin-neurophysin precursor gene cosegregates with human autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *EMBO J* 11:19–23
- Barak LS, Oakley RH, Laporte SA, Caron MG (2001) Constitutive arrestin-mediated desensitization of a human vasopressin receptor mutant associated with nephrogenic diabetes insipidus. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:93–98
- Barnes LD, Engel AG, Dousa TP (1975) Studies on in vitro polymerization of tubulin from renal medullary extracts. *Biochim Biophys Acta* 405:422–433

- Battle DC, Riotte AB von, Gaviria M, Grupp M (1985) Amelioration of polyuria by amiloride in patients receiving long-term lithium therapy. *N Engl J Med* 312:408–414
- Beck N, Singh H, Reed SW, Murdaugh HV, Davis BB (1974) Pathogenic role of cyclic AMP in the impairment of urinary concentrating ability in acute hypercalcemia. *J Clin Invest* 54:1049–1055
- Bendz H, Aurell M, Balldin J, Mathe AA, Sjodin I (1994) Kidney damage in long-term lithium patients: a cross-sectional study of patients with 15 years or more on lithium. *Nephrol Dial Transplant* 9:1250–1254
- Bendz H, Sjodin I, Aurell M (1996) Renal function on and off lithium in patients treated with lithium for 15 years or more. A controlled, prospective lithium-withdrawal study. *Nephrol Dial Transplant* 11:457–460
- Bergeron C, Kovacs K, Ezrin C, Mizzen C (1991) Hereditary diabetes insipidus: an immunohistochemical study of the hypothalamus and pituitary gland. *Acta Neuropathol (Berl)* 81:345–348
- Berl T, Aisenbrey GA, Linas SL (1980) Renal concentrating defect in the hypokalemic rat is prostaglandin independent. *Am J Physiol* 238:F37–41
- Beuret N, Rutishauser J, Bider MD, Spiess M (1999) Mechanism of endoplasmic reticulum retention of mutant vasopressin precursor caused by a signal peptide truncation associated with diabetes insipidus. *J Biol Chem* 274:18965–18972
- Bichet DG (1997) Autosomal dominant and autosomal recessive nephrogenic diabetes insipidus: novel mutations in the AQP2 gene. Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Philadelphia, USA
- Bichet DG (1999) Congenital severe diabetes insipidus. Most patients have nephrogenic diabetes insipidus, but some patients have autosomal-recessive diabetes insipidus. NDI European Conference, Amsterdam
- Bichet DG, Razi M, Lonergan M et al. (1988) Hemodynamic and coagulation responses to 1-desamino[8-D-arginine] vasopressin in patients with congenital nephrogenic diabetes insipidus. *N Engl J Med* 318:881–887
- Bichet DG, Ruel N, Arthus MF, Lonergan M, Hendy GN, Bichet DG (1990) Rolipram, a phosphodiesterase inhibitor, in the treatment of two male patients with congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Nephron* 56:449–450
- Bichet DG, Arthus MF, Lonergan M et al. (1993) X-linked nephrogenic diabetes insipidus mutations in North America and the Hopewell hypothesis. *J Clin Invest* 92:1262–1268
- Bichet DG, Birnbaumer M, Lonergan M et al. (1994) Nature and recurrence of AVPR2 mutations in X-linked nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Hum Genet* 55:278–286
- Bichet DG, Oksche A, Rosenthal W (1997) Congenital nephrogenic diabetes insipidus. *J Am Soc Nephrol* 8:1951–1958
- Bichet DG, Arthus MF, Lonergan M, Morgan K, Fujiwara TM (1998) Hereditary central diabetes insipidus: autosomal dominant and autosomal recessive phenotypes due to mutations in the prepro-AVP-NPII gene. 31th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Pennsylvania, USA
- Birnbaumer M, Seibold A, Gilbert S et al. (1992) Molecular cloning of the receptor for human antidiuretic hormone. *Nature* 357:333–335
- Birnbaumer M, Gilbert S, Rosenthal W (1994) An extracellular congenital nephrogenic diabetes insipidus mutation of the vasopressin receptor reduces cell surface expression, affinity for ligand, and coupling to the Gs/adenylyl cyclase system. *Mol Endocrinol* 8:886–894
- Boton R, Gaviria M, Battle DC (1987) Prevalence, pathogenesis, and treatment of renal dysfunction associated with chronic lithium therapy. *Am J Kidney Dis* 10:329–345
- Brakch N, Boussetta H, Rholam M, Cohen P (1989) Processing endoprotease recognizes a structural feature at the cleavage site of peptide prohormones. The pro-oxytocin/neurophysin model. *J Biol Chem* 264:15912–15916
- Brakch N, Rholam M, Boussetta H, Cohen P (1993) Role of beta-turn in proteolytic processing of peptide hormone precursors at dibasic sites. *Biochemistry* 32:4925–4930
- Braverman LE, Mancini JP, McGoldrick DM (1965) Hereditary idiopathic diabetes insipidus: a case report with autopsy findings. *Ann Intern Med* 63:503–508
- Breslow E, Burman S (1990) Molecular, thermodynamic, and biological aspects of recognition and function in neurophysin-hormone systems: a model system for the analysis of protein-peptide interactions. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 63:1–67
- Breyer MD, Ando Y (1994) Hormonal signaling and regulation of salt and water transport in the collecting duct. *Annu Rev Physiol* 56:711–739
- Calvo B, Bilbao JR, Urrutia I, Eizaguirre J, Gaztambide S, Castano L (1998) Identification of a novel nonsense mutation and a missense substitution in the vasopressin-neurophysin II gene in two Spanish kindreds with familial neurohypophyseal diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 83:995–997
- Canfield MC, Tamarappoo BK, Moses AM, Verkman AS, Holtzman EJ (1997) Identification and characterization of aquaporin-2 water channel mutations causing nephrogenic diabetes insipidus with partial vasopressin response. *Hum Mol Genet* 6:1865–1871
- Charmandari E, Brook CGD (1999) 20 years of experience in idiopathic central diabetes insipidus. *Lancet* 353:2212–2213
- Chen LQ, Rose JP, Breslow E et al. (1991) Crystal structure of a bovine neurophysin II dipeptide complex at 2.8 Å determined from the single-wavelength anomalous scattering signal of an incorporated iodine atom. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:4240–4244
- Cheng A, Hoek AN van, Yeager M, Verkman AS, Mitra AK (1997) Three-dimensional organization of a human water channel. *Nature* 387:627–630
- Chou CL, Ma T, Yang B, Knepper MA, Verkman AS (1998) Fourfold reduction of water permeability in inner medullary collecting duct of aquaporin-4 knockout mice. *Am J Physiol* 274:C549–C554
- Chou CL, Knepper MA, Hoek AN et al. (1999) Reduced water permeability and altered ultrastructure in thin descending limb of Henle in aquaporin-1 null mice. *J Clin Invest* 103:491–496
- Christensen S, Kusano E, Yusufi AN, Murayama N, Dousa TP (1985) Pathogenesis of nephrogenic diabetes insipidus due to chronic administration of lithium in rats. *J Clin Invest* 75:1869–1879
- Coffey AK, O'Sullivan DJ, Homma S, Dousa TP, Valtin H (1991) Induction of intramembranous particle clusters in mice with nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Physiol* 261:F640–666
- Cotte N, Balestre MN, Phalipou S et al. (1998) Identification of residues responsible for the selective binding of peptide antagonists and agonists in the V2 vasopressin receptor. *J Biol Chem* 273:29462–29468

- Deen PMT (1999) Routing and function of mutant AQP2 water channels in nephrogenic diabetes insipidus. NDI European Conference, Amsterdam
- Deen PM, Verdijk MA, Knoers NV et al. (1994) Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine. *Science* 264:92–95
- Deen PM, Weghuis DO, Sinke RJ, Geurts van Kessel A, Wieringa B, Os CH van (1994) Assignment of the human gene for the water channel of renal collecting duct aquaporin 2 (AQP2) to chromosome 12 region q12–q13. *Cytogenet Cell Genet* 66:260–262
- Deen PM, Croes H, Aubel RA van, Ginsel LA, Os CH van (1995) Water channels encoded by mutant aquaporin-2 genes in nephrogenic diabetes insipidus are impaired in their cellular routing. *J Clin Invest* 95:2291–2296
- DiMeglio LA, Gagliardi PC, Browning JE, Quigley CA, Repaske DR (2001) A missense mutation encoding cys67gly in neurophysin II is associated with early onset autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *Mol Genet Metab* 72:39–44
- Earm JH, Christensen BM, Frokiaer J et al. (1998) Decreased aquaporin-2 expression and apical plasma membrane delivery in kidney collecting ducts of polyuric hypercalcemic rats. *J Am Soc Nephrol* 9:2181–2193
- Ecelbarger CA, Terris J, Frindt G et al. (1995) Aquaporin-3 water channel localization and regulation in rat kidney. *Am J Physiol* 269:F663–672
- Fassina G, Chaiken IM (1988) Structural requirements of peptide hormone binding for peptide-potiated self-association of bovine neurophysin II. *J Biol Chem* 263:13539–13543
- Faust CJ, Gonzales JC, Seibold A, Birnbaumer M, Herman GE (1993) Comparative mapping on the mouse and human X chromosomes of a human cDNA clone encoding the vasopressin renal-type receptor (AVP2R). *Genomics* 15:439–441
- Feuerstein G, Zilberman Y, Hemmendinger R, Lichtenberg D (1981) Attenuation of the lithium-induced diabetes-insipidus-like syndrome by amiloride in rats. *Neuropsychobiology* 7:67–73
- Frokiaer J, Marples D, Knepper MA, Nielsen S (1996) Bilateral ureteral obstruction downregulates expression of vasopressin-sensitive AQP-2 water channel in rat kidney. *Am J Physiol* 270:F657–668
- Frokiaer J, Christensen BM, Marples D et al. (1997) Down-regulation of aquaporin-2 parallels changes in renal water excretion in unilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 42:F213–F223
- Frokiaer J, Marples D, Valtin H, Morris JF, Knepper MA, Nielsen S (1999) Low aquaporin-2 levels in polyuric DI/+ severe mice with constitutively high cAMP-phosphodiesterase activity. *Am J Physiol* 276:F179–190
- Fujii H, Iida S, Moriwaki K (2000) Familial neurohypophyseal diabetes insipidus associated with a novel mutation in the vasopressin-neurophysin II gene. *Int J Mol Med* 5:229–234
- Fushimi K, Sasaki S, Marumo F (1997) Phosphorylation of serine 256 is required for cAMP-dependent regulatory exocytosis of the aquaporin-2 water channel. *J Biol Chem* 272:14800–14804
- Gagliardi PC, Bernasconi S, Repaske DR (1997) Autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus associated with a missense mutation encoding Gly23→Val in neurophysin II. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3643–3646
- Goji K, Kuwahara M, Gu Y, Matsuo M, Marumo F, Sasaki S (1998) Novel mutations in aquaporin-2 gene in female siblings with nephrogenic diabetes insipidus: evidence of disrupted water channel function. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3205–3209
- Goldberg H, Clayman P, Skorecki K (1988) Mechanism of Li inhibition of vasopressin-sensitive adenylate cyclase in cultured renal epithelial cells. *Am J Physiol* 255:F995–1002
- Grant FD, Ahmadi A, Hosley CM, Majzoub JA (1998) Two novel mutations of the vasopressin gene associated with familial diabetes insipidus and identification of an asymptomatic carrier infant. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3958–3964
- Green JR, Buchan GC, Alvord EC Jr, Swanson AG (1967) Hereditary and idiopathic types of diabetes insipidus. *Brain* 90:707–714
- Hansen LK, Rittig S, Roberston GL (1997) Genetic basis of familial neurohypophyseal diabetes insipidus. *Trends Endocrinol Metab* 8:363–372
- Heijne G (1983) Patterns of amino acids near signal-sequence cleavage sites. *Eur J Biochem* 133:17–21
- Heijne G (1984) How signal sequences maintain cleavage specificity. *J Mol Biol* 173:243–251
- Heijne G (1986) A new method for predicting signal sequence cleavage sites. *Nucleic Acids Res* 14:4683–4690
- Heppner C, Kotzka J, Bullmann C, Krone W, Muller Wieland D (1998) Identification of mutations of the arginine vasopressin-neurophysin II gene in two kindreds with familial central diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 83:693–696
- Hetmar O, Brun C, Clemmesen L, Ladefoged J, Larsen S, Ra-faelsen OJ (1987) Lithium: long-term effects on the kidney. II. Structural changes. *J Psychiatr Res* 21:279–288
- Hetmar O, Brun C, Ladefoged J, Larsen S, Bolwig TG (1989) Long-term effects of lithium on the kidney: functional-morphological correlations. *J Psychiatr Res* 23:285–297
- Hober C, Vantghem MC, Racadot A, Cappoen JP, Lefebvre J (1992) Normal hemodynamic and coagulation responses to 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in a case of lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus. Results of treatment by a prostaglandin synthesis inhibitor (indomethacin). *Horm Res* 37:190–195
- Hochberg Z, VanLieburg A, Even L et al. (1997) Autosomal recessive nephrogenic diabetes insipidus caused by an aquaporin-2 mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 82:686–689
- Hohler T, Teuber G, Wanitschke R, Meyer zum Buschenfeld KH (1994) Indomethacin treatment in amphotericin B induced nephrogenic diabetes insipidus. *Clin Invest* 72:769–771
- Holtzman EJ, Kolakowski LE, Geifman Holtzman O et al. (1994) Mutations in the vasopressin V2 receptor gene in two families with nephrogenic diabetes insipidus. *J Am Soc Nephrol* 5:169–176
- Homma S, Gapstur SM, Coffey A, Valtin H, Dousa TP (1991) Role of cAMP-phosphodiesterase isozymes in pathogenesis of murine nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Physiol* 261:F345–F353
- Hozawa S, Holtzman EJ, Ausiello DA (1996) cAMP motifs regulating transcription in the aquaporin 2 gene. *Am J Physiol* 270:C1695–C1702
- Hwang S, Tuason VB (1980) Long-term maintenance lithium therapy and possible irreversible renal damage. *J Clin Psychiatry* 41:11–19

- Inaba S, Hatakeyama H, Taniguchi N, Miyamori I (2001) The property of a novel V2 receptor mutant in a patient with nephrogenic diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 86:381–385
- Inase N, Fushimi K, Ishibashi K et al. (1995) Isolation of human aquaporin 3 gene. *J Biol Chem* 270:17913–17916
- Inoue T, Nielsen S, Mandon B, Terris J, Kishore BK, Knepper MA (1998) SNAP-23 in rat kidney: colocalization with aquaporin-2 in collecting duct vesicles. *Am J Physiol* 275:F752–F760
- Ishibashi K, Yamauchi K, Kageyama Y et al. (1998) Molecular characterization of human aquaporin-7 gene and its chromosomal mapping. *Biochim Biophys Acta* 1399:62–66
- Ito M, Mori Y, Oiso Y, Saito H (1991) A single base substitution in the coding region for neurophysin II associated with familial central diabetes insipidus. *J Clin Invest* 87:725–728
- Ito M, Oiso Y, Murase T et al. (1993) Possible involvement of inefficient cleavage of preprovasopressin by signal peptidase as a cause for familial central diabetes insipidus. *J Clin Invest* 91:2565–2571
- Ito M, Jameson JL, Ito M (1997) Molecular basis of autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. Cellular toxicity caused by the accumulation of mutant vasopressin precursors within the endoplasmic reticulum. *J Clin Invest* 99:1897–1905
- Ito M, Yu RN, Jameson JL, Ito M (1999) Mutant vasopressin precursors that cause autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus retain dimerization and impair the secretion of wild-type proteins. *J Biol Chem* 274:9029–9037
- Iwasaki Y, Oiso Y, Kondo K et al. (1991) Aggravation of subclinical diabetes insipidus during pregnancy. *N Engl J Med* 324:522–526
- Jap BK, Li H (1995) Structure of the osmo-regulated H₂O-channel, AQP-CHIP, in projection at 3.5 Å resolution. *J Mol Biol* 251:413–420
- Jung JS, Bhat RV, Preston GM, Guggino WB, Baraban JM, Agre P (1994) Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:13052–13056
- Kamsteeg EJ, Wormhoudt TAM, Rijss JPL, Os CH van, Deen PMT (1999) An impaired routing of wild-type aquaporin-2 after tetramerization with an aquaporin-2 mutant explains dominant nephrogenic diabetes insipidus. *EMBO J* 18:2394–2400
- Kanamera T, Chaiken IM (1985) Molecular properties of the oxytocin/bovine neurophysin biosynthetic precursor. Studies using a semisynthetic precursor. *J Biol Chem* 260:8474–8482
- Kim JK, Summer SN, Berl T (1984) The cyclic AMP system in the inner medullary collecting duct of the potassium-depleted rat. *Kidney Int* 26:384–391
- Kim GH, Ecelbarger CA, Mitchell C, Packer RK, Wade JB, Knepper MA (1999) Vasopressin increases Na-K-2Cl cotransporter expression in thick ascending limb of Henle's loop. *Am J Physiol* 276:F96–F103
- Klußmann E, Maric K, Wiesner B, Beyermann M, Rosenthal W (1999) Protein kinase A anchoring proteins are required for vasopressin-mediated translocation of aquaporin-2 into cell membranes of renal principal cells. *J Biol Chem* 274:4934–4938
- Klußmann E, Maric K, Rosenthal W (2000) The mechanisms of aquaporin control in the renal collecting duct. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 141:33–95
- Kojro E, Eich P, Gimpl G, Fahrenholz F (1993) Direct identification of an extracellular agonist binding site in the renal V2 vasopressin receptor. *Biochemistry* 32:13537–13544
- Kosten TR, Forrest JN (1986) Treatment of severe lithium-induced polyuria with amiloride. *Am J Psychiatry* 143:1563–1568
- Krause G, Hermosilla R, Oksche A, Rutz C, Rosenthal W, Schüle R (2000) Molecular and conformational features of a transport-relevant domain in the C-terminal tail of the vasopressin V2 receptor. *Mol Pharmacol* 57:232–242
- Krisch B, Nahke P, Richter D (1986) Immunocytochemical staining of supraoptic neurons from homozygous Brattleboro rats by use of antibodies against two domains of the mutated vasopressin precursor. *Cell Tissue Res* 244:351–358
- Kuo JF, Krueger BK, Sanes JR, Greengard P (1970) Cyclic nucleotide-dependent protein kinases. V. Preparation and properties of adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase from various bovine tissues. *Biochim Biophys Acta* 212:79–91
- Kurokawa H, Fujisawa I, Nakano Y et al. (1998) Posterior lobe of the pituitary gland: correlation between signal intensity on T1-weighted MR images and vasopressin concentration. *Radiology* 207:79–83
- Kuwahara M (1998) Aquaporin-2, a vasopressin-sensitive water channel, and nephrogenic diabetes insipidus. *Intern Med* 37:215–217
- Land H, Schutz G, Schmale H, Richter D (1982) Nucleotide sequence of cloned cDNA encoding bovine arginine vasopressin-neurophysin II precursor. *Nature* 295:299–303
- Liebenhoff U, Rosenthal W (1995) Identification of Rab3-, Rab5a- and synaptobrevin II-like proteins in a preparation of rat kidney vesicles containing the vasopressin-regulated water channel. *FEBS Lett* 365:209–213
- Lieburg AF van, Verdijk MA, Knoers VV et al. (1994) Patients with autosomal nephrogenic diabetes insipidus homozygous for mutations in the aquaporin 2 water-channel gene. *Am J Hum Genet* 55:648–652
- Lieburg AF van, Knoers VV, Mallmann R, Proesmans W, Heuvel LP van den, Monnens LA (1996) Normal fibrinolytic responses to 1-desamino-8-D-arginine vasopressin in patients with nephrogenic diabetes insipidus caused by mutations in the aquaporin 2 gene. *Nephron* 72:544–546
- Lolait SJ, O'Carroll AM, McBride OW, König M, Morel A, Brownstein MJ (1992) Cloning and characterization of a vasopressin V2 receptor and possible link to nephrogenic diabetes insipidus. *Nature* 357:336–339
- Ma T, Yang B, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS (1997) Generation and phenotype of a transgenic knockout mouse lacking the mercurial-insensitive water channel aquaporin-4. *J Clin Invest* 100:957–962
- Ma T, Yang B, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS (1998) Severely impaired urinary concentrating ability in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels. *J Biol Chem* 273:4296–4299
- Maghnie M, Villa A, Arico M et al. (1992) Correlation between magnetic resonance imaging of posterior pituitary and neurohypophyseal function in children with diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 74:795–800

- Mandon B, Chou CL, Nielsen S, Knepper MA (1996) Syntaxin-4 is localized to the apical plasma membrane of rat renal collecting duct cells: possible role in aquaporin-2 trafficking. *J Clin Invest* 98:906–913
- Maric K, Oksche A, Rosenthal W (1998) Aquaporin-2 expression in primary cultured rat inner medullary collecting duct cells. *Am J Physiol* 275:F796–F801
- Markowitz GS, Radhakrishnan J, Kambham N, Valeri AM, Hines WH, D'Agati VD (2000) Lithium nephrotoxicity: a progressive combined glomerular and tubulointerstitial nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 11:1439–1448
- Marples D, Christensen S, Christensen EI, Ottosen PD, Nielsen S (1995) Lithium-induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla. *J Clin Invest* 95:1838–1845
- Marples D, Frokiaer J, Dorup J, Knepper MA, Nielsen S (1996) Hypocalcemia-induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla and cortex. *J Clin Invest* 97:1960–1968
- Martinez EJ, Sinnott JT, Rodriguez Paz G, Oehler RL (1993) Lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus treated with indomethacin. *South Med J* 86:971–973
- Marumo F, Edelman IS (1971) Effects of Ca^{++} and prostaglandin E1 on vasopressin activation of renal adenylyl cyclase. *J Clin Invest* 50:1613–1620
- Matsumura Y, Uchida S, Rai T, Sasaki S, Marumo F (1997) Transcriptional regulation of aquaporin-2 water channel gene by cAMP. *J Am Soc Nephrol* 8:861–867
- Matsumura Y, Uchida S, Kondo Y, Miyazaki H, Ko SB, Hayama A, Morimoto T, Liu W, Arisawa M, Sasaki S, Marumo F (1999) Overt nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking the CLC-K1 chloride channel. *Nat Genet* 21:95–98
- McLeod JF, Kovacs L, Gaskill MB, Rittig S, Bradley GS, Robertson GL (1993) Familial neurohypophyseal diabetes insipidus associated with a signal peptide mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 77:599a–599g
- Michel G, Rouille Y, Chauvet J, Acher R (1994) Action of neurohypophysial granule Lys-Arg endopeptidase on synthetic polypeptides comprising the processing sequence of provasopressin-neurophysin. *Biosci Rep* 14:171–178
- Moullier P, Friedlander G, Calise D, Ronco P, Perricaudet M, Ferry N (1994) Adenoviral-mediated gene transfer to renal tubular cells in vivo. *Kidney Int* 45:1220–1225
- Mulders SM, Knoers NV, Van Lieburg AF et al. (1997) New mutations in the AQP2 gene in nephrogenic diabetes insipidus resulting in functional but misrouted water channels. *J Am Soc Nephrol* 8:242–248
- Mulders SM, Bichet DG, Rijss JP et al. (1998) An aquaporin-2 water channel mutant which causes autosomal dominant nephrogenic diabetes insipidus is retained in the Golgi complex. *J Clin Invest* 102:57–66
- Nagasaki H, Ito M, Yuasa H et al. (1995) Two novel mutations in the coding region for neurophysin-II associated with familial central diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1352–1356
- Naik DV, Valtin H (1969) Hereditary vasopressin-resistant urinary concentrating defects in mice. *Am J Physiol* 217:1183–1190
- Nielsen S, Muller J, Knepper MA (1993) Vasopressin- and cAMP-induced changes in ultrastructure of isolated perfused inner medullary collecting ducts. *Am J Physiol* 265:F225–F238
- Nielsen S, Marples D, Birn H et al. (1995) Expression of VAMP-2-like protein in kidney collecting duct intracellular vesicles. Colocalization with aquaporin-2 water channels. *J Clin Invest* 96:1834–1844
- Nielsen S, Terris J, Smith CP, Hediger MA, Ecelbarger CA, Knepper MA (1996) Cellular and subcellular localization of the vasopressin-regulated urea transporter in rat kidney. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:5495–5500
- Nijenhuis M, Zalm R, Burbach JP (1999) Mutations in the vasopressin prohormone involved in diabetes insipidus impair endoplasmic reticulum export but not sorting. *J Biol Chem* 274:21200–21208
- Nonoguchi H, Owada A, Kobayashi N et al. (1995) Immunohistochemical localization of V2 vasopressin receptor along the nephron and functional role of luminal V2 receptor in terminal inner medullary collecting ducts. *J Clin Invest* 96:1768–1778
- Oksche A, Rosenthal W (1998) The molecular basis of nephrogenic diabetes insipidus. *J Mol Med* 76:326–37
- Oksche A, Schulein R, Rutz C et al. (1996) Vasopressin V2 receptor mutants that cause X-linked nephrogenic diabetes insipidus: analysis of expression, processing, and function. *Mol Pharmacol* 50:820–828
- Oksche A, Kuhn R, Schulein R, Rosenthal W (1997) Analysis of effects of vasopressin V2 receptor mutations on mRNA turnover. 17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, San Francisco, CA, 24.–29. August 1997. *FASEB J* A959
- Oksche A, Dehe M, Schulein R, Wiesner B, Rosenthal W (1998) Folding and cell surface expression of the vasopressin V2 receptor: requirement of the intracellular C-terminus. *FEBS Lett* 424:57–62
- Pan Y, Wilson P, Gitschier J (1994) The effect of eight V2 vasopressin receptor mutations on stimulation of adenylyl cyclase and binding to vasopressin. *J Biol Chem* 269:31933–31937
- Pasel K, Schulz A, Timmermann K et al. (2000) Functional characterization of the molecular defects causing nephrogenic diabetes insipidus in eight families. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1703–1710
- Plenge P, Møllerup ET, Bolwig TG et al. (1982) Lithium treatment: does the kidney prefer one daily dose instead of two? *Acta Psychiatr Scand* 66:121–128
- Postina R, Ufer E, Pfeiffer R, Knoers NV, Fahrenholz F (2000) Misfolded vasopressin V2 receptors caused by extracellular point mutations entail congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Mol Cell Endocrinol* 164:31–39
- Preston GM, Smith BL, Zeidel ML, Moulds JJ, Agre P (1994) Mutations in aquaporin-1 in phenotypically normal humans without functional CHIP water channels. *Science* 265:1585–1587
- Ramsey TA, Cox M (1982) Lithium and the kidney: a review. *Am J Psychiatry* 139:443–449
- Rascher W (1993) Vasopressin (ADH) und seine Sekretionsstörungen. *Biosci Ber* 55
- Rascher W, Rosendahl W, Henrichs IA, Maier R, Seyberth HW (1987) Congenital nephrogenic diabetes insipidus – vasopressin and prostaglandins in response to treatment with hydrochlorothiazide and indomethacin. *Pediatr Nephrol* 1:485–490
- Rauch F, Lenzner C, Nurnberg P, Frommel C, Vetter U (1996) A novel mutation in the coding region for neurophysin-II is associated with autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *Clin Endocrinol (Oxf)* 44:45–51

- Raymond KH, Lifschitz MD, McKinney TD (1987) Prostaglandins and the urinary concentrating defect in potassium-depleted rabbits. *Am J Physiol* 253:F1113–F1119
- Ren G, Cheng A, Reddy V, Melnyk P, Mitra AK (2000) Three-dimensional fold of the human AQP1 water channel determined at 4 Å resolution by electron crystallography of two-dimensional crystals embedded in ice. *J Mol Biol* 301:369–387
- Repaske DR, Browning JE (1994) A de novo mutation in the coding sequence for neurophysin-II (Pro24→Leu) is associated with onset and transmission of autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 79:421–427
- Repaske DR, Summar ML, Krishnamani MR et al. (1996) Recurrent mutations in the vasopressin-neurophysin II gene cause autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2328–2334
- Repaske DR, Medlej R, Gultekin EK et al. (1997) Heterogeneity in clinical manifestation of autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus caused by a mutation encoding Ala-1→Val in the signal peptide of the arginine vasopressin/neurophysin II/copeptin precursor. *J Clin Endocrinol Metab* 82:51–56
- Rholam M, Nicolas P, Cohen P (1985) Salt-dependent structural changes of neurohormones: lithium ions induce conformational rearrangements of oxytocin to a vasopressin-like structure. *Biochemistry* 24:3345–3349
- Richter D (1988) Molecular events in expression of vasopressin and oxytocin and their cognate receptors. *Am J Physiol* 255:F207–F219
- Riddell DC, Mallonee R, Phillips JA, Parks JS, Sexton LA, Hamerton JL (1985) Chromosomal assignment of human sequences encoding arginine vasopressin-neurophysin II and growth hormone releasing factor. *Somat Cell Mol Genet* 11:189–195
- Rittig S, Robertson GL, Siggaard C et al. (1996) Identification of 13 new mutations in the vasopressin-neurophysin II gene in 17 kindreds with familial autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *Am J Hum Genet* 58:107–117
- Rosenthal W, Seibold A, Antaramian A et al. (1992) Molecular identification of the gene responsible for congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Nature* 359:233–235
- Rosenthal W, Antaramian A, Gilbert S, Birnbaumer M (1993) Nephrogenic diabetes insipidus. A V2 vasopressin receptor unable to stimulate adenylyl cyclase. *J Biol Chem* 268:13 030–13 033
- Rosenthal W, Oksche A, Bichet DG (1998) Two genes – one disease: the molecular basis of congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Advances in Molecular and Cellular Endocrinology*, vol 2. Jai Press, Greenwich London
- Rutishauser J, Boni Schnetzler M, Boni J et al. (1996) A novel point mutation in the translation initiation codon of the pre-pro-vasopressin-neurophysin II gene: cosegregation with morphological abnormalities and clinical symptoms in autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 81:192–198
- Rutishauser J, Kopp P, Gaskill MB, Kotlar TJ, Robertson GL (1999) A novel mutation (R97 C) in the neurophysin moiety of prepro-vasopressin-neurophysin II associated with autosomal-dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *Mol Genet Metab* 67:89–92
- Sadeghi H, Birnbaumer M (1999) O-glycosylation of the V2 vasopressin receptor. *Glycobiology* 9:731–737
- Sadeghi HM, Innamorati G, Dagarag M, Birnbaumer M (1997a) Palmitoylation of the V2 vasopressin receptor. *Mol Pharmacol* 52:21–29
- Sadeghi H, Robertson GL, Bichet DG, Innamorati G, Birnbaumer M (1997b) Biochemical basis of partial nephrogenic diabetes insipidus phenotypes. *Mol Endocrinol* 11:1806–1813
- Sadeghi HM, Innamorati G, Birnbaumer M (1997c) An X-linked NDI mutation reveals a requirement for cell surface V2R expression. *Mol Endocrinol* 11:706–713
- Sands JM, Naruse M, Baum M et al. (1997) Apical extracellular calcium/polyvalent cation-sensing receptor regulates vasopressin-elicited water permeability in rat kidney inner medullary collecting duct. *J Clin Invest* 99:1399–1405
- Sausville E, Carney D, Battey J (1985) The human vasopressin gene is linked to the oxytocin gene and is selectively expressed in a cultured lung cancer cell line. *J Biol Chem* 260:10 236–10 241
- Schmale H, Heinsohn S, Richter D (1983) Structural organization of the rat gene for the arginine vasopressin-neurophysin precursor. *EMBO J* 2:763–767
- Schmale H, Bahnsen U, Richter D (1993) Structure and expression of the vasopressin precursor gene in central diabetes insipidus. *Ann NY Acad Sci* 689:74–82
- Schnermann J, Chou CL, Ma T, Traynor T, Knepper MA, Verkman AS (1998) Defective proximal tubular fluid reabsorption in transgenic aquaporin-1 null mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:9660–9664
- Schüle R, Liebenhoff U, Müller H, Birnbaumer M, Rosenthal W (1996) Properties of the human arginine vasopressin V2 receptor after site-directed mutagenesis of its putative palmitoylation site. *Biochem J* 313:611–616
- Schüle R, Hermosilla R, Oksche A et al. (1998a) A dileucine sequence and an upstream glutamate residue in the intracellular carboxyl terminus of the vasopressin V2 receptor are essential for cell surface transport in COS.M6 cells. *Mol Pharmacol* 54:525–535
- Schüle R, Lorenz D, Oksche A et al. (1998b) Polarized cell surface expression of the green fluorescent protein-tagged vasopressin V2 receptor in Madin Darby canine kidney cells. *FEBS Lett* 441:170–176
- Schüle R, Zuhlke K, Oksche A, Hermosilla R, Furkert J, Rosenthal W (2000) The role of conserved extracellular cysteine residues in vasopressin V2 receptor function and properties of two naturally occurring mutant receptors with additional extracellular cysteine residues. *FEBS Lett* 466:101–106
- Seibold A, Brabet P, Rosenthal W, Birnbaumer M (1992) Structure and chromosomal localization of the human antidiuretic hormone receptor gene. *Am J Hum Genet* 51:1078–1083
- Seibold A, Dagarag M, Birnbaumer M (1998) Mutations of the DRY motif that preserve beta 2-adrenoceptor coupling. *Receptors Channels* 5:375–385
- Shen T, Suzuki Y, Poyard M, Miyamoto N, Defer N, Hanoune J (1997) Expression of adenylyl cyclase mRNAs in the adult, in developing, and in the Brattleboro rat kidney. *Am J Physiol* 273:C323–C330
- Skordis N, Patsalis PC, Hettinger JA et al. (2000) A novel arginine vasopressin-neurophysin II mutation causes autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus and morphologic pituitary changes. *Horm Res* 53:239–245
- Takeda S, Lin CT, Morgano PG, McIntyre SJ, Dousa TP (1991) High activity of low-Michaelis-Menten constant 3',5'-cyclic

- adenosine monophosphate-phosphodiesterase isozymes in renal inner medulla of mice with hereditary nephrogenic diabetes insipidus. *Endocrinology* 129:287–294
- Tamarappoo BK, Verkman AS (1998) Defective aquaporin-2 trafficking in nephrogenic diabetes insipidus and correction by chemical chaperones. *J Clin Invest* 101:2257–2267
- Terris J, Ecelbarger CA, Marples D, Knepper MA, Nielsen S (1995) Distribution of aquaporin-4 water channel expression within rat kidney. *Am J Physiol* 269:F775–F785
- Tsukaguchi H, Matsubara H, Taketani S, Mori Y, Seido T, Inada M (1995) Binding-, intracellular transport-, and biosynthesis-defective mutants of vasopressin type 2 receptor in patients with X-linked nephrogenic diabetes insipidus. *J Clin Invest* 96:2043–2050
- Uchida S, Sasaki S, Fushimi K, Marumo F (1994) Isolation of human aquaporin-CD gene. *J Biol Chem* 269:23451–23455
- Ueta Y, Taniguchi S, Yoshida A et al. (1996) A new type of familial central diabetes insipidus caused by a single base substitution in the neurophysin II coding region of the vasopressin gene. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1787–1790
- Ufer E, Postina R, Gorbulev V, Fahrenholz F (1995) An extracellular residue determines the agonist specificity of V2 vasopressin receptors [published erratum in *FEBS Lett* (1995) 369:353]. *FEBS Lett* 362:19–23
- Valtin H, Sawyer WH, Sokol HW (1965) Neurohypophyseal principles in rats homozygous and heterozygous for hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain). *Endocrinology* 77:701–706
- Valtin H, Coffey AK, O'Sullivan DJ, Homma S, Dousa TP (1990) Causes of the urinary concentrating defect in mice with nephrogenic diabetes insipidus. *Physiol Bohemoslov* 39:103–111
- van den Akker EL, de Groot MR, Abbes AP, Bruggeman EJ, Franken AA, Engel H (2000) Identification of a new mutation (Cys116Gly) in a family with neurogenic diabetes insipidus. *Ned Tijdschr Geneesk* 144:941–945
- VargasPoussou R, Forestier L, Dautzenberg MD, Niaudet P, Dechaux M, Antignac C (1997) Mutations in the vasopressin V2 receptor and aquaporin-2 genes in 12 families with congenital nephrogenic diabetes insipidus. *J Am Soc Nephrol* 8:1855–1862
- Verkman AS, Lencer WI, Brown D, Ausiello DA (1988) Endosomes from kidney collecting tubule cells contain the vasopressin-sensitive water channel. *Nature* 333:268–269
- Wade JB, McCusker C, Coleman RA (1986) Evaluation of granule exocytosis in toad urinary bladder. *Am J Physiol* 251:C380–C386
- Walker RG (1993) Lithium nephrotoxicity. *Kidney Int Suppl* 42:S93–S98
- Walker RG, Bennett WM, Davies BM, Kincaid Smith P (1982a) Structural and functional effects of long-term lithium therapy. *Kidney Int Suppl* 11:S13–S19
- Walker RG, Davies BM, Holwill BJ, Dowling JP, Kincaid Smith P (1982b) A clinico-pathological study of lithium nephrotoxicity. *J Chronic Dis* 35:685–695
- Weinstock RS, Moses AM (1990) Desmopressin and indomethacin therapy for nephrogenic diabetes insipidus in patients receiving lithium carbonate. *South Med J* 83:1475–1477
- Wenkert D, Schoneberg T, Merendino JJ et al. (1996) Functional characterization of five V2 vasopressin receptor gene mutations. *Mol Cell Endocrinol* 124:43–50
- Wess J (1999) A mouse model for X-linked nephrogenic diabetes insipidus. NDI European Conference, Amsterdam
- Willcutts MD, Felner E, White PC (1999) Autosomal recessive familial neurohypophyseal diabetes insipidus with continued secretion of mutant weakly active vasopressin. *Hum Mol Genet* 8:1303–1307
- Wood SP, Tickle IJ, Treharne AM et al. (1986) Crystal structure analysis of deamino-oxytocin: conformational flexibility and receptor binding. *Science* 232:633–636
- Yamaki M, McIntyre S, Rassier ME, Schwartz JH, Dousa TP (1992) Cyclic 3',5'-nucleotide diesterases in dynamics of cAMP and cGMP in rat collecting duct cells. *Am J Physiol* 262:F957–F964
- Yang B, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS (2001) Neonatal mortality in an aquaporin-2 knock-in mouse model of recessive nephrogenic diabetes insipidus. *J Biol Chem* 276:2775–2779
- Yasui M, Zelenin SM, Celsi G, Aperia A (1997) Adenylate cyclase-coupled vasopressin receptor activates AQP2 promoter via a dual effect on CRE and AP1 elements. *Am J Physiol* 272:F443–F450
- Yoshida I, Takeda S, Homma S, Kusano E, Asano Y (1997) Localization of low-KM cAMP phosphodiesterase in rat nephron segments. *Kidney Blood Press Res* 20:307–311
- Yuasa H, Ito M, Nagasaki H et al. (1993) Glu-47, which forms a salt bridge between neurophysin-II and arginine vasopressin, is deleted in patients with familial central diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 77:600–604
- Yun J, Schoneberg T, Liu J, Schulz A, Ecelbarger CA, Premeur D, Nielsen S, Sheng H, Grinberg A, Deng C, Wess J (2000) Generation and phenotype of mice harboring a nonsense mutation in the V2 vasopressin receptor gene. *J Clin Invest* 106:1361–1371

<http://www.springer.com/978-3-540-67788-8>

Molekularmedizinische Grundlagen von
Endokrinopathien

Ganten, D.; Ruckpaul, K.; Janssen, O.E.; Heufelder, A.E.
(Hrsg.)

2001, XXVI, 445 S. 369 Abb., 298 Abb. in Farbe.,
Hardcover

ISBN: 978-3-540-67788-8