

II. Medizinische Klinik und Poliklinik der
Technischen Universität München
Klinikum rechts der Isar

(Kommissarischer Direktor: Univ.-Prof. Dr. Drs. h.c. (Univ. Istanbul/Türkei,
UMF Iassy, Univ. Athen) M. Classen, i.R.)

**Einfluss von Cannabinoiden und Opioiden auf die Aktivität der
glatten Muskelzelle im Magenfundus und Ileum der Ratte**

Evelyn Gaffal

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades
eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender : Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation :

1. apl. Prof. Dr. H.-D. Allescher
2. Univ.-Prof. Dr. F. Hofmann

Die Dissertation wurde am 18.12.2002 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 09.07.2003 angenommen.

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Material und Methoden	5
2.1	Versuchstiere	5
2.2	Versuchsanordnung	7
2.3	Versuchsdurchführung	7
2.3.1	Einfluss auf den Basaltonus und die Ruheaktivität der Muskelstreifen	7
2.3.2	Einfluss auf die pharmakologisch stimulierten Muskelstreifen	7
2.3.3	Einfluss auf den elektrisch stimulierten Muskelstreifen	8
2.3.4	Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen	9
2.4	Datenauswertung	10
2.5	Verwendete Substanzen	10
2.6	Statistik	11
3	Ergebnisse	12
3.1	Cannabinoide	12
3.1.1	Wirkung auf den Basaltonus und die vorstimulierte Muskulatur	12
3.1.2	Wirkung auf die elektrisch induzierte Kontraktion	13
3.1.3	Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation unter NANC-Bedingungen	16
3.2	Opioide	24
3.2.1	Wirkung auf den Basaltonus und die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur	24
3.2.2	Wirkung auf die elektrisch induzierte Kontraktion	25
3.2.3	Die Wirkung von Endomorphin-1 und -2 unter NANC-Bedingungen	27
4	Allgemeine Diskussion	29
4.1	Die Motilität des Magen-Darm-Trakts	29
4.1.1	Das enterische Nervensystem	29
4.1.2	Aufbau des enterischen Nervensystems	30
4.2	Die Cannabinoide	33
4.2.1	G-Protein gekoppelte Rezeptoren	35
4.2.2	Der CB ₁ -Rezeptor	37
4.2.3	Der CB ₂ -Rezeptor	39

4.2.4 Agonisten und Antagonisten des CB ₁ -Rezeptors	40
4.3 Klinische Relevanz	43
4.4 Wirkung der Cannabinoide am Gastrointestinaltrakt	44
4.5 Die Opioide	45
4.5.1 Die Opioidrezeptoren	47
4.5.2 Lokalisation und Wirkung der Opioidrezeptoren	48
4.5.3 Die endogenen Opioide	51
5 Spezielle Diskussion	54
5.1 Die Cannabinoide	54
5.1.1 Direkter Einfluss auf die glatte Muskelzelle	54
5.1.2 Wirkung auf die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur	54
5.1.3 Einfluss auf die elektrisch induzierte Kontraktion	55
5.1.4 Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation	59
5.2 Die Opioide	61
5.2.1 Direkter Einfluss der Opioide auf die glatte Muskelzelle	61
5.2.2 Einfluss auf die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur	62
5.2.3 Einfluss auf die elektrisch induzierte Kontraktion	62
5.2.4 Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation	64
6 Zusammenfassung	66
7 Literaturverzeichnis	69
8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	87
9 Abkürzungs- und Synonymverzeichnis	91
Danksagung	93
Lebenslauf	94

1 Einleitung

Der Einsatz von Marihuana und Opiaten spielt seit vielen Jahrhunderten eine große Rolle in Religion und Medizin. Neben ihrer euphorisierenden und sedierenden Wirkung wurden die beiden Substanzen v.a. aufgrund ihres analgetischen Effekts, aber auch zur Behandlung von Obstipation oder der Malaria eingesetzt. Heute wird die therapeutische Wirkung der Cannabinoide bei Erkrankungen wie z.B. dem Glaukom, der Epilepsie oder bei Bluthochdruck diskutiert.

Die Opioid-Rezeptoren gehören zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Sie werden bisher in drei Subtypen – δ , μ , κ – unterteilt. Für den δ - und den κ -Rezeptor sind die Enkephaline und die Dynorphine die endogenen Liganden mit der höchsten Bindungsstärke. Die erst vor kurzem entdeckten endogenen Peptide Endomorphin-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) und Endomorphin-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂) binden mit 4000–15000 mal höherer Selektivität an den μ - als an den κ -Rezeptor (138). Daher werden sie als die endogenen Liganden des μ -Rezeptors angesehen.

Die Wirkung von μ -Rezeptoren auf die Motilität im Gastrointestinaltrakt ist weitestgehend bekannt. So beeinflussen Agonisten über diesen Subtyp die Freisetzung von verschiedenen Neurotransmittern im myenterischen Plexus (26, 115) und damit auch den peristaltischen Reflex (4). Die Folge ist eine Verzögerung der Passagezeit in Magen und Darm (136).

Bei den Cannabinoid-Rezeptoren werden bisher zwei Subtypen – CB₁ und CB₂ – unterschieden. Auch diese beiden zählen zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Der CB₁-Rezeptor ist vor allem im zentralen Nervensystem, aber auch peripher u.a. auf Spermazellen (140), im menschlichen Ileum (29) oder präsynaptisch auf sympathischen Nervenendigungen (72) vertreten. Die zweite Gruppe wurde z.B. in Tonsillen, Knochenmark und auf Zellen der Immunabwehr nachgewiesen (46).

Anandamide und 2-Arachidonylglycerol sind die bisher bekannten endogenen Liganden des CB₁-Rezeptors. Wie die Opioide sind sie in der Lage, elektrisch induzierte Kontraktionen im Vas deferens oder im Ileum (76) zu vermindern.

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss der Opioide und Cannabinoide auf die glatte Muskelzelle am Magenfundus und im Ileum von Ratten im klassischen

Organbadsystem untersucht. Bei den Opioiden wird die Wirkung der endogenen μ -Rezeptoragonisten Endomorphin-1, Endomorphin-2 und ihres synthetischen Antagonisten CTOP beobachtet. Zu den untersuchten Cannabinoiden zählen der endogene CB₁-Ligand Anandamid, die synthetischen CB₁-Rezeptoragonisten WIN 55,212-2 und Methanandamid und ihr entsprechender Antagonist AM 630 (synthetisch).

Die durchgeführten Versuche sollen dabei die folgenden Fragestellungen beantworten:

- Haben Endomorphin-1, Endomorphin-2, CTOP, Anandamid, WIN 55,212-2, Methanandamid und AM 630 Einfluss auf die Basaltonus oder die Ruheaktivität der glatten Muskelzelle? Können die untersuchten Stoffe die Muskelzellen direkt beeinflussen?
- Verändern die untersuchten Opioiden und Cannabinoide die Aktivität der durch Serotonin bzw. Carbachol vorstimulierten Muskulatur?
- Verstärken oder hemmen Endomorphin-1, Endomorphin-2, Anandamid, WIN 55,212-2 und Methanandamid die elektrisch induzierten Kontraktionen und kann ihre Wirkung durch die entsprechenden Antagonisten wieder aufgehoben werden? Sind die untersuchten Substanzen in der Stärke ihrer Wirkung vergleichbar und wo liegen die Unterschiede?
- Welchen Einfluss haben die Opioiden und Cannabinoide unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen auf die elektrisch induzierte Relaxation der glatten Muskelzellen und welchen Effekt erzielen ihre Antagonisten? Ist die Ausprägung der Wirkung der einzelnen Stoffe vergleichbar oder gibt es Unterschiede zwischen den eingesetzten Gruppen?

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden männliche Wistar Ratten (Charles River) mit einem Gewicht zwischen 200 g und 300 g verwendet. Ihre Kopf-Schwanz-Länge lag zwischen 38 cm und 41 cm. Alle Versuchstiere wurden vor den Experimenten unter standardisierten Bedingungen in einem vollklimatisierten Raum bei künstlichem Tag-Nacht-Rhythmus gehalten. Ihre Ernährung bestand aus Trockenfutter und Wasser. 24 Stunden vor Versuchsbeginn wurde das Futter abgesetzt, die Tiere hatten aber weiterhin freien Zugang zu Trinkwasser.

Nach kurzer Begasung mit CO₂ wurden die Ratten durch intraperitoneale Injektion von Na-Phenobarbital (Narcoren^R) in einer Dosierung von 100 mg/kg eingeschläfert.

Der Magen wurde sofort entnommen und für den entsprechenden Versuch präpariert. Bei Untersuchungen am Dünndarm wurden sofort 20 cm des terminalen Ileums entnommen, welches bis zur weiteren Präparation in oxygenierter Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt wurde. Für die Organentnahme lag eine entsprechende Genehmigung der Regierung von Oberbayern vor.

2.2 Versuchsanordnung

Pro Versuchstier wurden aus dem Magenfundus bzw. aus dem terminalen Ileum fünf bis sechs ca. 1 cm lange Streifen in longitudinaler Richtung präpariert. An den beiden Enden jedes Streifens wurde jeweils eine zirkuläre Ligatur angebracht, von denen man die aborale an einem Haken eines Elektrodenhalters befestigt. Der Elektrodenhalter besteht aus einem Fixationshaken und zwei Platinringelektroden (Abstand voneinander ca. 5 mm), durch die der Muskelstreifen geführt wurde.

Der Elektrodenhalter mit den Organstreifen wurde in ein doppelwandiges Bad platziert, das 4 ml Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung (Krebs-Ringer-Solution, KRS) enthielt (NaCl 115,5 mM, MgSO₄ 1,16 mM, NaH₂PO₄ 1,16 mM, Glucose 11,1 mM, NaHCO₃ 21,9 mM, CaCl 2,5 mM, KCl 4,16 mM). Das Organbad wurde durch einen umgebenden Heizkreislauf auf 37°C gehalten und der Puffer mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) begast.

Das orale Ende der Organsegmente ist mit einem isometrischen Kraftaufnehmer verbunden (Swegma Force Displacement Transducer SG 4-500, Swegma, Schweden). Die Segmente sind derart fixiert, dass entstehende Kräfte in Richtung der longitudinalen Muskulatur registriert wurden. Bei einer Vorspannung von ca. 40 mN wurde das System 30 min. lang equilibriert. Danach spült man das Organbad mehrmals mit KRS und das jeweilige Experiment wurde mit frischem Puffer gestartet. Nach den einzelnen Versuchsabschnitten wurde das System erneut gespült. Über den Kraftaufnehmer wurden die isometrischen Kontraktionen in elektrische Spannungsänderungen umgewandelt und über einen Hellige Verstärker mit einem Rikadenki Schreiber aufgezeichnet. Jedes Segment wurde nur für ein einziges Experiment verwendet.

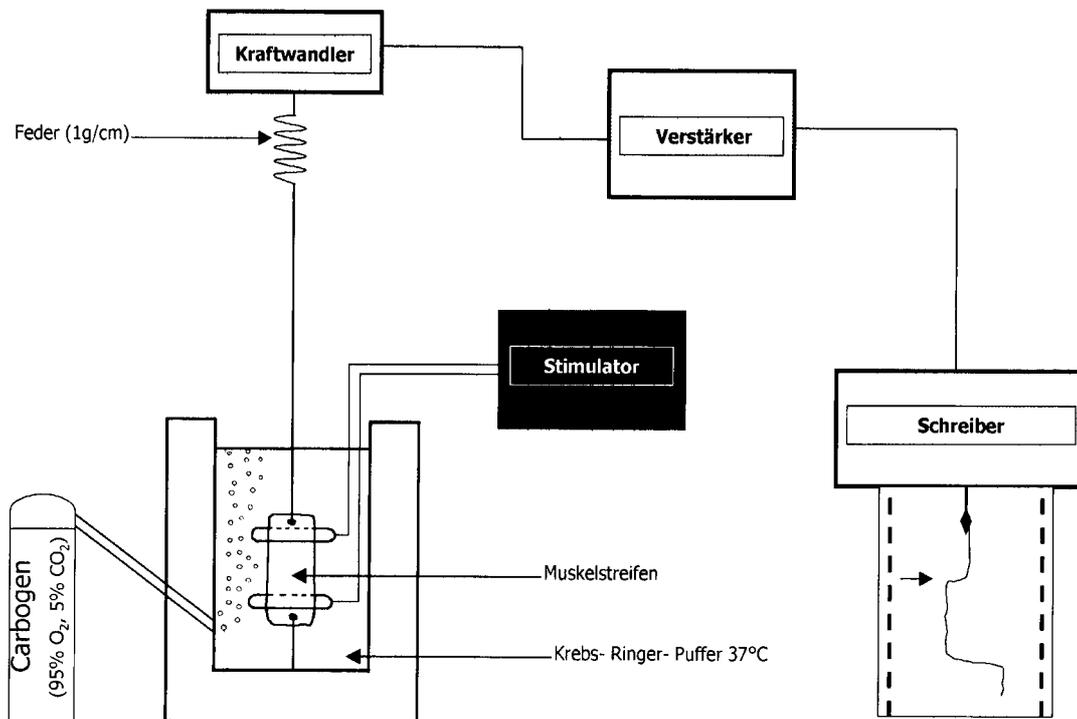


Abb. 1: Schematisierte Darstellung des Versuchmodells

2.3 Versuchsdurchführung

2.3.1 Einfluss auf den Basaltonus und die Ruheaktivität der Muskelstreifen

Die Organstreifen wurden wie in Abschnitt 2.2 beschrieben präpariert und in das Organbad eingespannt. Bei einer Vorspannung von 40 mN wurde das System zunächst 30 Minuten equilibriert. Zehn Minuten vor Versuchsbeginn wurde das Organbad mit frischer Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung gespült. Die einzelnen Muskelstreifen wurden in diesem Versuchsabschnitt weder mit Hilfe von Serotonin, Carbachol oder durch elektrische Impulse stimuliert.

Die zu untersuchenden Cannabinoide, Opioide oder deren Antagonisten wurden kumulativ in aufsteigender Konzentration (10^{-10}M – 10^{-5}M) in das Organbad appliziert. Zwischen den einzelnen Zugaben lagen immer zwei Minuten Abstand. Das Organbad wurde während des Versuchs nicht gespült. Die maximale Versuchsdauer betrug 40 Minuten.

2.3.2 Einfluss auf die pharmakologisch stimulierten Muskelstreifen

Die Organstreifen wurden wie in Abschnitt 2.2 beschrieben präpariert und in das Organbad eingespannt. Bei einer Vorspannung von 40 mN wurde das System zunächst 30 Minuten equilibriert. Zehn Minuten vor Versuchsbeginn wurde das Behältnis mit frischer Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung gespült. Dann wurden die Organstreifen durch die Zugabe von Serotonin 10^{-7}M bzw. Carbachol 10^{-6}M in das Organbad vorstimuliert. Wie aus Voruntersuchungen bekannt, werden die glatten Muskelzellen dadurch direkt stimuliert.

Bei Serotonin zeigte sich durchschnittlich nach 1–1,5 Minuten ein Kontraktionsplateau, bei Carbachol stellte es sich nach 30–60 Sekunden ein. Insgesamt blieb dieses Plateau bis zu 20 min. stabil. Nach 2–3 minütiger Stimulation wurde das Organbad gründlich mit KRS ausgewaschen und 10 min. inkubiert. Dann wurden die Muskelstreifen erneut mit Hilfe von Serotonin 10^{-7}M oder Carbachol 10^{-6}M stimuliert, das Plateau stabilisierte sich und nach 2–3 Minuten wurde das Behältnis wieder gespült. Im Anschluss an diesen Arbeitsschritt folgte eine 10-minütige Inkubation. Insgesamt wiederholte sich der Vorgang dreimal. Bei der letzten Stimulation wurden nach Stabilisieren des Plateaus die einzelnen zu untersuchenden

Pharmaka kumulativ (10^{-10}M – 10^{-5}M) im Abstand von zwei Minuten in den Puffer gegeben. Das Organbad wurde während des Versuchs nicht gespült. Die maximale Versuchsdauer in diesem Arbeitsschema betrug 50 Minuten.

2.3.3 Einfluss auf den elektrisch stimulierten Muskelstreifen

Die Organstreifen wurden wie in Abschnitt 2.2 beschrieben präpariert und in das Organbad eingespannt. Bei einer Vorspannung von 40 mN wurde das System zunächst 30 Minuten equilibriert. Zehn Minuten vor Versuchsbeginn wurde das Behältnis mit frischer Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung gespült.

Den Experimenten zum Einfluss der Opioide auf die elektrische Kontraktion lag folgendes Stimulationsschema zugrunde:

Die Versuche gliedern sich in mehrere Stimulationsblocks von je 10 Minuten. Dabei wurde jeder Streifen 1x/min 10 sek. lang elektrisch stimuliert (40 V, 5 Hz, 1ms Pulsdauer). Zwischen den Stimulationsblocks lagen 10-minütige Pausen in denen der KRS gewechselt wurde.

Die elektrische Stimulation mit den oben genannten Stimulationsparametern resultiert in einer Kontraktion, die durch cholinerge Neurone vermittelt wird. Vorversuche haben gezeigt, dass diese Form der Kontraktion in Gegenwart von Tetrodotoxin (10^{-6}M) oder Atropin (10^{-6}M) vollständig blockiert wird.

Nach der Equilibration des Systems wurden zunächst 2–3 Stimulationsblocks ohne Zusatz einer Substanz durchgeführt, dann erfolgte die Zugabe des zu untersuchenden Opiats. Die Pharmaka wurden kumulativ in aufsteigenden Konzentrationen (10^{-10}M – 10^{-5}M) in das Organbad gegeben und jeweils fünf Minuten inkubiert. Bei Versuchen mit dem entsprechenden Antagonisten wurde dieser nach dem letzten Stimulationsblock 10 Minuten vor dem Opiat in einer Konzentration von 10^{-5}M in das Organbad gegeben. Dann folgte wieder die 10-minütige Stimulation.

Die maximale Versuchsdauer betrug 3 Std. 10 min. Für die Cannabinoide gilt das gleiche Schema. Die Substanzen wurden aber jeweils 15 Minuten inkubiert.

2.3.4 Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen

Die Organstreifen wurden wie in Abschnitt 2.2 beschrieben präpariert und in das Organbad eingespannt. Das orale Ende der Organsegmente wurde bei diesen Versuchen über eine Feder mit dem isometrischen Kraftaufnehmer verbunden. Bei einer Vorspannung von 40 mN wurde das System zunächst 30 Minuten equilibriert. Zehn Minuten vor Versuchsbeginn wurde das Organbad mit frischer Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung gespült.

Bei den Experimenten zum Einfluss der Opiate und Cannabinoide auf die Inhibition wurde folgendes Schema angewandt:

Nach der Equilibration und dem Pufferwechsel wurde Serotonin 10^{-7} M in das Organbad gegeben. Die dadurch ausgelöste Kontraktion ging nach ca. 1–1,5 Minuten in ein Plateau über. Nach Stabilisierung der einzelnen Plateaus wurde das Serotonin wieder ausgewaschen und 10 min. inkubiert. Auf diese Art und Weise wurden die Magenstreifen dreimal stimuliert. Vor der vierten Serotoninzugabe wurden Atropin 10^{-6} M und Guanethidin 10^{-6} M 5 min. inkubiert. Im derart präparierten Organbad herrschen nun nicht-adrenerge, nicht-cholinerge (NANC) Bedingungen. Zusätzlich wurde die gewünschte Opiat- bzw. Cannabinoidkonzentration zwei Minuten vor dem Serotonin zugegeben.

Nachdem sich das Plateau eingestellt hatte, wurden die einzelnen Magenstreifen jeweils 10 sek./min (40 V, 5 Hz, 1ms Pulsdauer) stimuliert, dann folgt eine Pause von 90 Sekunden. Dieser Vorgang wiederholt sich noch fünfmal.

Die Parameter ändern sich bei den einminütigen Stimulationen wie folgt:

Bei der ersten beträgt die Frequenz 0,5 Hz, dann 1 Hz, 2 Hz, 4Hz, 8Hz und 16Hz.

Danach wurde der KRS gewechselt und 25 min. inkubiert, bevor erneut Atropin, Guanethidin und das Opiat in der nächst höheren Konzentration zugegeben wurden und sich die elektrische Stimulation wiederholte. Untersucht wurden Konzentrationen zwischen 10^{-10} M– 10^{-5} . Die einzelnen Antagonisten wurden drei Minuten vor dem Serotonin in das Organbad gegeben. Die maximale Versuchsdauer lag bei 5 Std. 40 min.

2.4 Datenauswertung

Bei der elektrischen Feldstimulation wurde der Mittelwert aus der Höhe (= Kraft) aus zehn Kontraktionen als 100% gewertet. Die Zugabe der einzelnen Substanzen hatte eine Änderung dieser Kontraktionshöhe zur Folge, die in % im Vergleich zu den basalen Konditionen beschrieben wurde.

Bei der Relaxation unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen wurde das Kontraktionsplateau nach Zugabe des Serotonins und die residuale Kontraktion nach den jeweiligen elektrischen Stimulationen in Bezug auf den Basaltonus in % gemessen.

2.5 Verwendete Substanzen

Opioid	Antagonist
Endomorphin-1 (μ-Rezeptor)	CTOP (μ-Rezeptor-Antagonist)
Endomorphin-2 (μ-Rezeptor)	CTOP

Cannabinoid	Antagonist
WIN 55,212-2 (CB ₁ -selektiv)	AM 630 (CB ₁ -Antagonist)
Anandamid (CB ₁ >> CB ₂)	AM 630
Methanandamid (CB ₁ > CB ₂)	AM 630

Tabelle 1: In den Experimenten untersuchte Opioide und Cannabinoide mit Antagonisten (alle Biotrend, Köln, Deutschland)

Weiterhin wurden Tetrodotoxin (TTX), Atropin, Guanethidin, Serotonin und Carbachol (alle Sigma-Aldrich, München, Deutschland) verwendet.

WIN 55,212-2, AM 630 und Methanandamid wurden tröpfchenweise in Ethanol zur Lösung gebracht und dann mit entmineralisiertem Wasser bis zur gewünschten Konzentration aufgefüllt. Die restlichen Substanzen wurden alle in entmineralisiertem Wasser gelöst. Die Endverdünnung aller Substanzen wurde so gewählt, dass durch die Zugabe von 40 μl mit einer Eppendorf-Pipette die erwünschte Endkonzentration im Organbad erreicht wurde.

2.6 Statistik

Die Daten wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben. n steht für die Anzahl unabhängiger Experimente an unterschiedlichen Organsegmenten. Zum Vergleich der Mittelwerte wurde der Student-t-Test für ungepaarte Stichproben angewendet. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Eine post-hoc Analyse wurde mit der Varianzanalyse für multiple Messungen (Dunnett) durchgeführt (Sigmastat 2.0; Jandel Scientific, Erkrath, Germany).

3 Ergebnisse

3.1 Cannabinoide

3.1.1 Wirkung auf den Basaltonus und die vorstimulierte Muskulatur

Anandamid, WIN 55,212-2 und Methanandamid sind Agonisten unterschiedlicher Potenz am CB₁-Rezeptor. Anandamid gehört zu den endogenen Cannabinoiden, WIN 55,212-2 und Methanandamid sind synthetische Cannabinoide.

Keine der drei Substanzen hatte Einfluss auf den Basaltonus oder die Spontanaktivität der Präparation (alle 10⁻⁵M). Auch der CB₁-Antagonist AM 630 (10⁻⁵M) konnte keine Veränderung hervorrufen (Daten nicht angegeben).

Serotonin (10⁻⁷M) und Carbachol (10⁻⁶M) bewirken eine Kontraktion der Muskelzellen, die nach durchschnittlich einer Minute in ein Plateau übergeht. Bei Serotonin bleibt es etwa 30 Minuten, bei Carbachol ca. 15 Minuten stabil. Keiner der eingesetzten Agonisten oder Antagonisten hatte einen signifikanten Einfluss auf die derart stimulierte Muskulatur.

Cannabinoid	% Spannungsänderung	Signifikanz
Anandamid 10 ⁻⁶ M	-4.6 ± 2.5 %	n.s. (n=5)
Anandamid 10 ⁻⁵ M	-2.0 ± 3.3 %	n.s. (n=5)
WIN 55,212-2 10 ⁻⁶ M	-7.1 ± 4.1 %	n.s. (n=5)
WIN 55,212-2 10 ⁻⁵ M	-4.4 ± 2.4 %	n.s. (n=5)
Methanandamid 10 ⁻⁶ M	1.6 ± 2.8 %	n.s. (n=5)
Methanandamid 10 ⁻⁵ M	-5.1 ± 4.0 %	n.s. (n=5)

AM 630 10^{-6} M	$-2.3 \pm 2.9 \%$	n.s. (n=5)
AM 630 10^{-5} M	$-0.2 \pm 2.5 \%$	n.s. (n=5)

Tabelle 2: Einfluss der Cannabinoid-Agonisten Anandamid, WIN 55,212-2, Methanandamid und des Antagonisten AM 630 auf das durch Carbachol (10^{-7} M) induzierte Kontraktionsplateau der glatten Muskelzelle (n.s. bedeutet nicht signifikant)

3.1.2 Wirkung auf die elektrisch induzierte Kontraktion

Durch die elektrische Feldstimulation (40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer; 10sek.) der einzelnen Organstreifen kommt es zur cholinerg vermittelten Kontraktion. Sie ist durch den muskarinergen Blocker Atropin (10^{-6} M) und den neuronalen Blocker TTX (10^{-6} M) antagonisierbar.

Auch der endogene CB_1 -Agonist Anandamid hemmte konzentrationsabhängig die Kontraktionsfähigkeit (10^{-9} M– 10^{-5} M) der Muskelstreifen. Dieser Effekt wurde signifikant durch AM 630 (10^{-5} M) reduziert.

CB_1-Agonist Anandamid	Einfluss auf die Kontraktion
10^{-9} M	$3.5 \pm 10.8 \%$
10^{-8} M	$-1.3 \pm 12.9 \%$
10^{-7} M	$-5.3 \pm 13.1 \%$
10^{-6} M	$-18.1 \pm 10.4 \%^*$
10^{-5} M	$-42.2 \pm 11.4 \%^*$
10^{-5} M + AM 630 10^{-5} M	$-24.8 \pm 10.5 \%^{*+}$

Tabelle 3: Einfluss des CB_1 -Agonisten Anandamid (10^{-9} M– 10^{-5} M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzellen. n=6; * = $p < 0.05$ Anandamid vs. Kontrolle; + = $p < 0.05$ Anandamid vs. Anandamid + AM 630

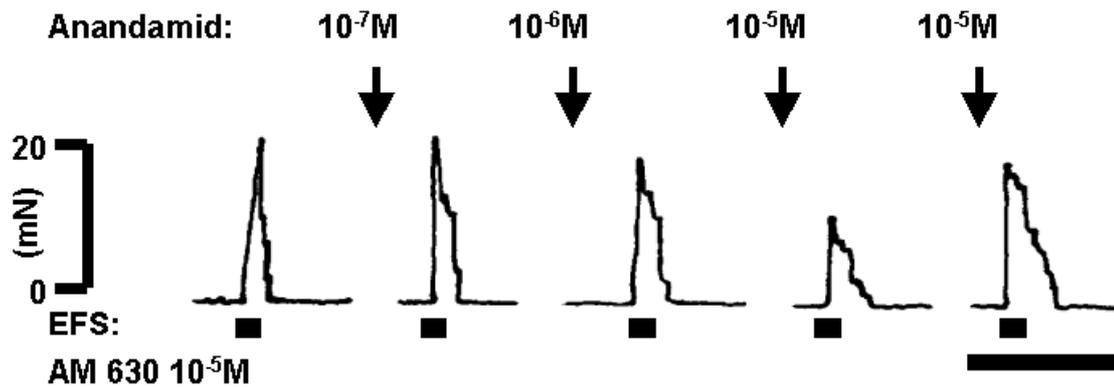


Abb. 2: Darstellung der hemmenden Wirkung des CB₁-Agonisten Anandamid auf die elektrisch induzierte Kontraktion der Muskulatur (10^{-7}M – 10^{-5}M) und der reduzierenden Wirkung von AM 630 (10^{-5}M) auf den beobachteten Effekt

Auch WIN 55,212-2 (10^{-9}M – 10^{-5}M) verursachte eine konzentrationsabhängige Reduktion der Kontraktionsfähigkeit, die im Vergleich zu Anandamid potenter war. AM 630 (10^{-5}M) konnte die Wirkung von WIN 55,212-2 nicht antagonisieren.

CB ₁ -Agonist WIN 55,212-2	Einfluss auf die Kontraktion
10^{-9}M	$-29.5 \pm 8.9 \%^*$
10^{-8}M	$-40.6 \pm 11.5 \%^*$
10^{-7}M	$-67.9 \pm 11.6 \%^*$
10^{-6}M	$-70.3 \pm 12.1 \%^*$
10^{-5}M	$-72.9 \pm 8.3 \%^*$
$10^{-5}\text{M} + \text{AM 630 } 10^{-5}\text{M}$	$-73.2 \pm 6.8 \%^*$

Tabelle 4: Einfluss des CB₁-Agonisten WIN 55,212-2 (10^{-9}M – 10^{-5}M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzellen. n=6; * = $p < 0.05$ WIN 55,212-2 vs. Kontrolle

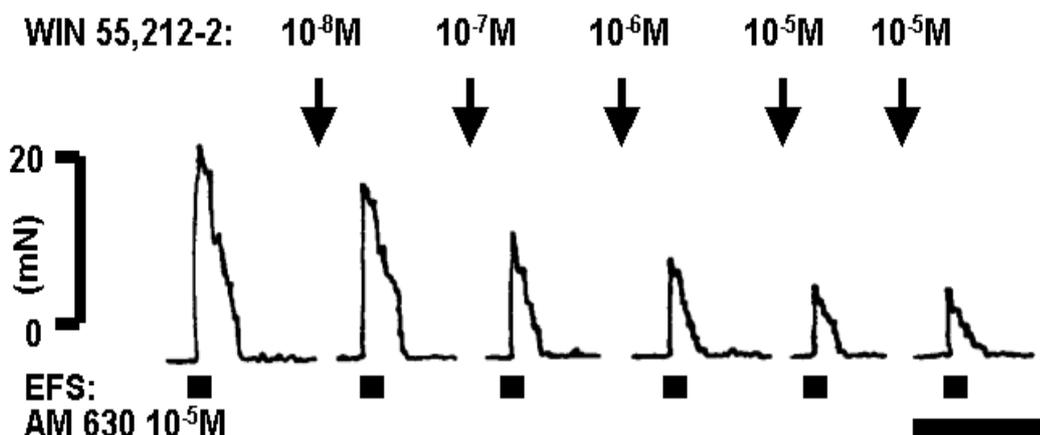


Abb. 3: Darstellung der hemmenden Wirkung des CB₁-Agonisten WIN 55,212-2 auf die elektrisch induzierte Kontraktion der Muskulatur (10⁻⁸M–10⁻⁵M). AM 630 (10⁻⁵M) hatte keinen reduzierenden Effekt auf die beobachtete Wirkung.

Der Agonist Methanandamid (10⁻⁹M–10⁻⁵M) führte zu einer nicht signifikanten Verstärkung der elektrischer induzierten Kontraktionen. Dieser Effekt wurde durch AM 630 10⁻⁵M nicht signifikant antagonisiert.

CB ₁ -Agonist Methanandamid	Einfluss auf die Kontraktion
10 ⁻⁹ M	10.2 ± 9.0 %
10 ⁻⁸ M	26.5 ± 19.9 %
10 ⁻⁷ M	25.5 ± 20.3 %
10 ⁻⁶ M	34.9 ± 22.4 %*
10 ⁻⁵ M	14.5 ± 16.0 %
10 ⁻⁵ M + AM 630 10 ⁻⁵ M	21.5 ± 16.4 %

Tabelle 5: Einfluss des CB₁-Agonisten Methanandamid (10⁻⁹M–10⁻⁵M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzellen. n=6; * = p < 0.05 Methanandamid vs. Kontrolle

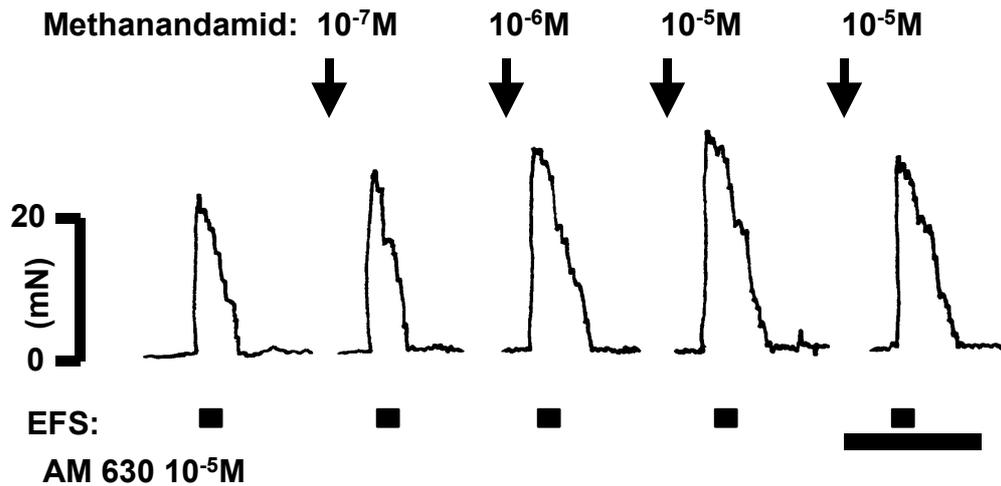


Abb. 4: Darstellung der induzierenden Wirkung des CB_1 -Agonisten Methanandamid auf die elektrisch induzierte Kontraktion der Muskulatur (10^{-7}M – 10^{-5}M). AM 630 (10^{-5}M) hatte keinen signifikanten Einfluss auf den beobachteten Effekt.

3.1.3 Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation unter NANC-Bedingungen

Eine elektrische Stimulation (10sek./ 40V / 0.5ms / 0.5–16Hz) unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen führt zur frequenzabhängigen Relaxation des durch Serotonin (10^{-7}M) vorstimulierten Magenfundus. Diese Relaxation wird durch den neuronalen Blocker TTX (10^{-6}M) vollständig aufgehoben (EFS 16Hz: $67.5 \pm 8.3\%$; EFS 16Hz + TTX: $4.5 \pm 2.2\%$; $n = 6$; $p < 0.001$).

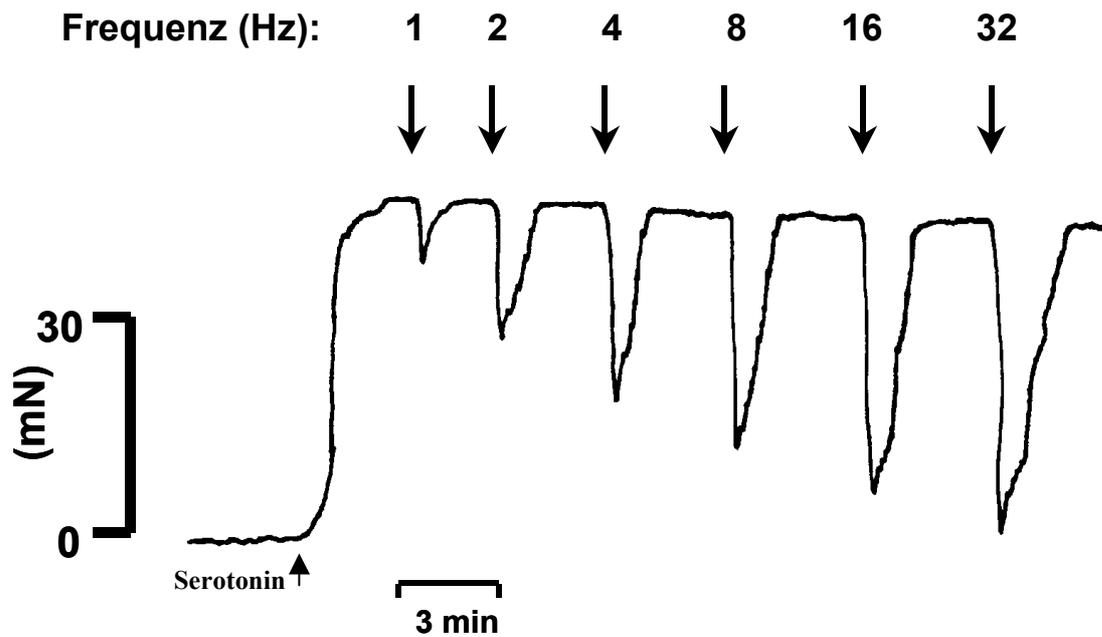


Abb. 5: Beispiel für die elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin (10^{-7}M) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen

Anandamid (10^{-8}M – 10^{-5}M) und WIN 55,212-2 (10^{-8}M – 10^{-5}M) hatten eine konzentrationsabhängige Reduktion der Relaxation zur Folge. Der CB_1 -Antagonist AM 630 (10^{-5}M) konnte diesen Effekt für Anandamid signifikant senken, auf die Wirkung von WIN 55,212-2 hatte er aber keinen Einfluss. Bei Methanandamid (10^{-8}M – 10^{-5}M) wurde keine signifikante Veränderung der Relaxation nach elektrischer Stimulation beobachtet.

Im Gegensatz dazu verursachte der CB_1 -Antagonist AM 630 (10^{-8}M – 10^{-5}M) einen signifikanten Anstieg der elektrisch induzierten Relaxation der glatten Muskelzellen des Magenfundus.

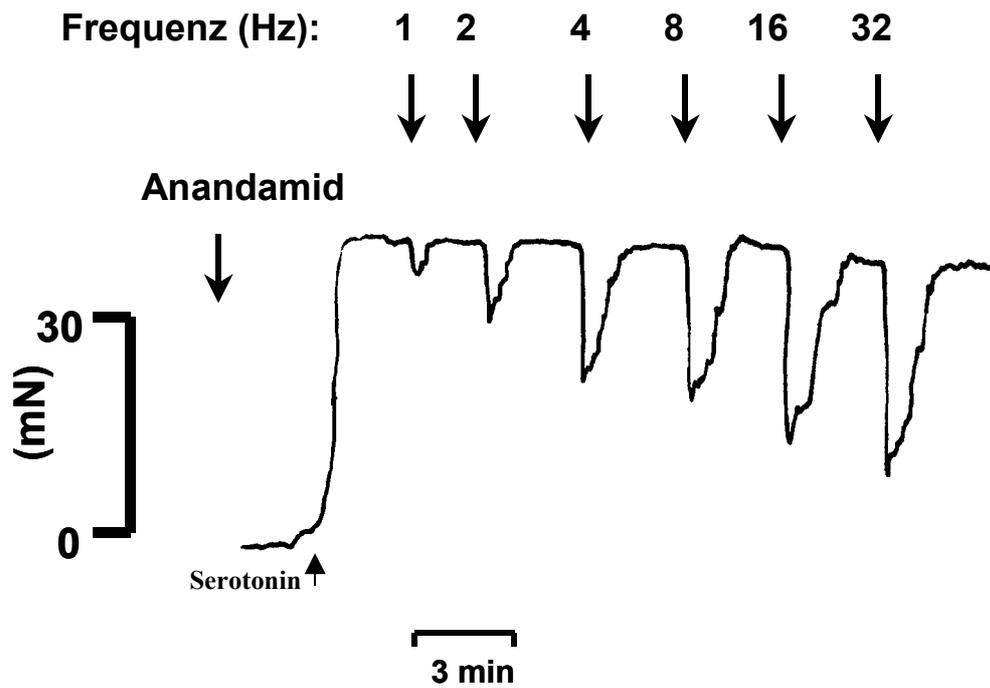


Abb. 6: Darstellung der Wirkung des CB_1 -Agonisten Anandamid ($10^{-5}M$) auf die elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin ($10^{-7}M$) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen

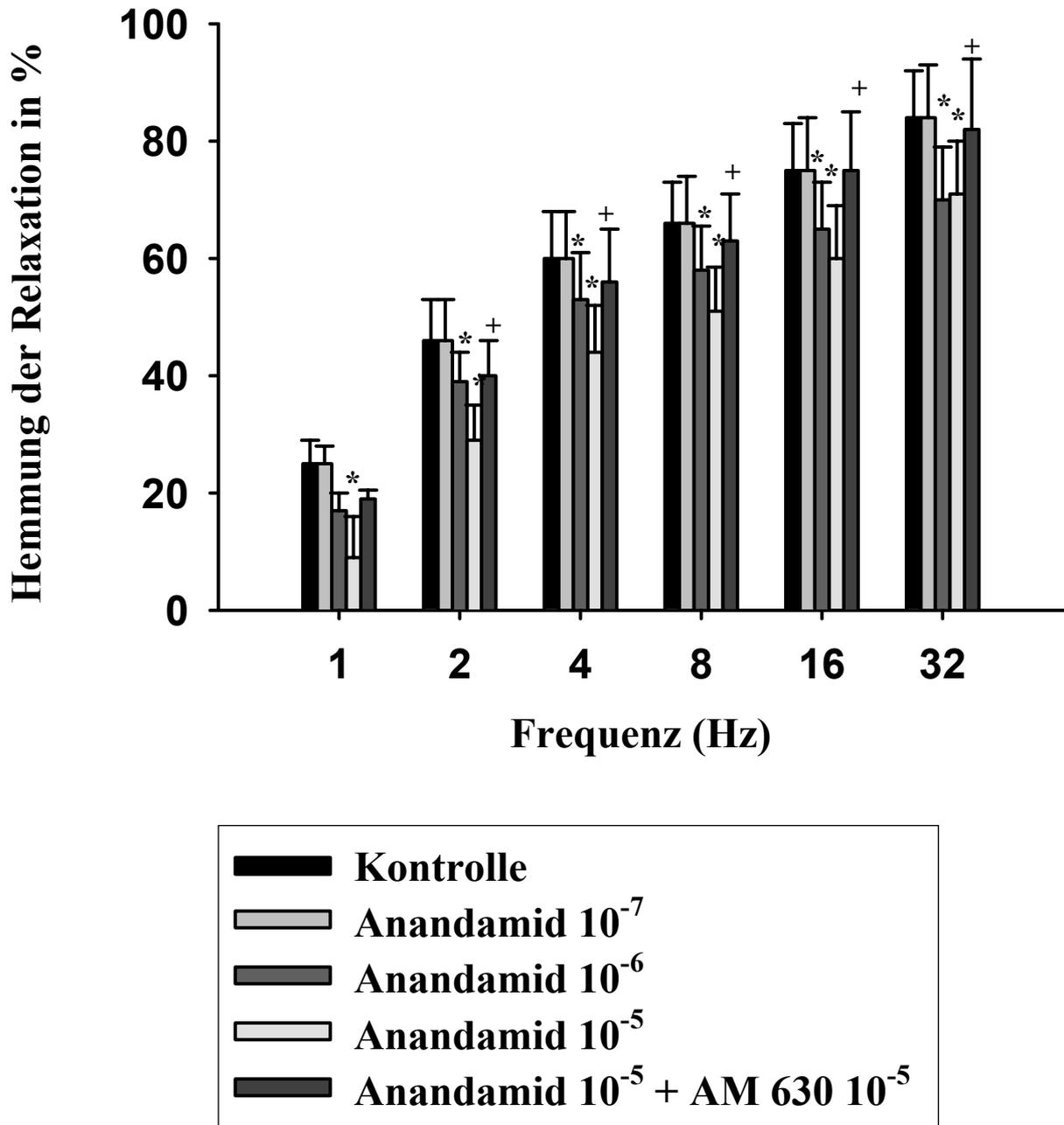


Abb. 7: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen nicht-cholinergen Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7} M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit Anandamid (10^{-7} – 10^{-5} M) und dem CB₁-Antagonisten AM 630 (10^{-5} M) (n=8). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant.
 *: $p < 0.05$ vs. Kontrolle; +: $p < 0.05$ Anandamid 10^{-5} M vs. Anandamid 10^{-5} M + AM 630 10^{-5} M

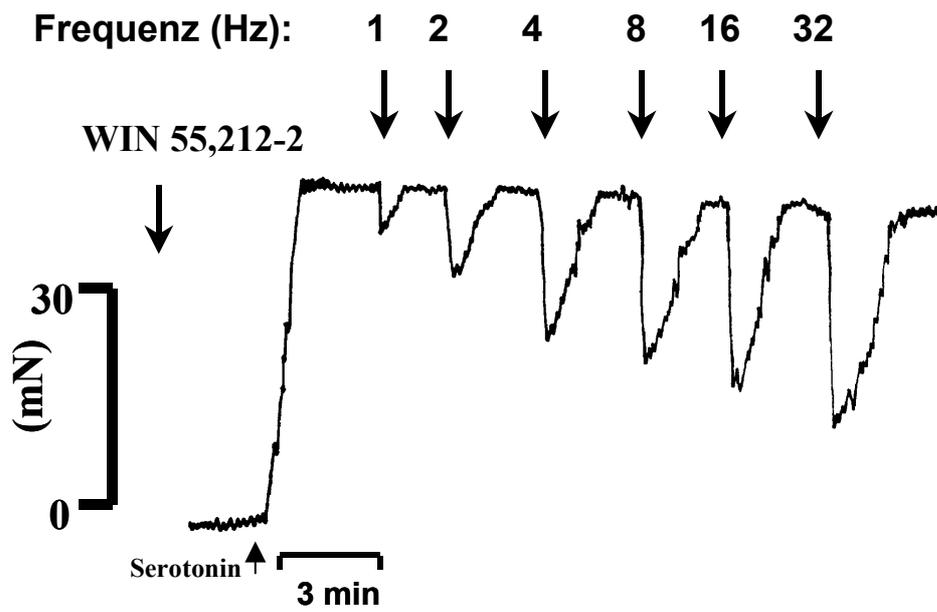


Abb. 8: Darstellung der Wirkung des CB_1 -Agonisten WIN 55,212-2 ($10^{-5}M$) auf die elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin ($10^{-7}M$) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen

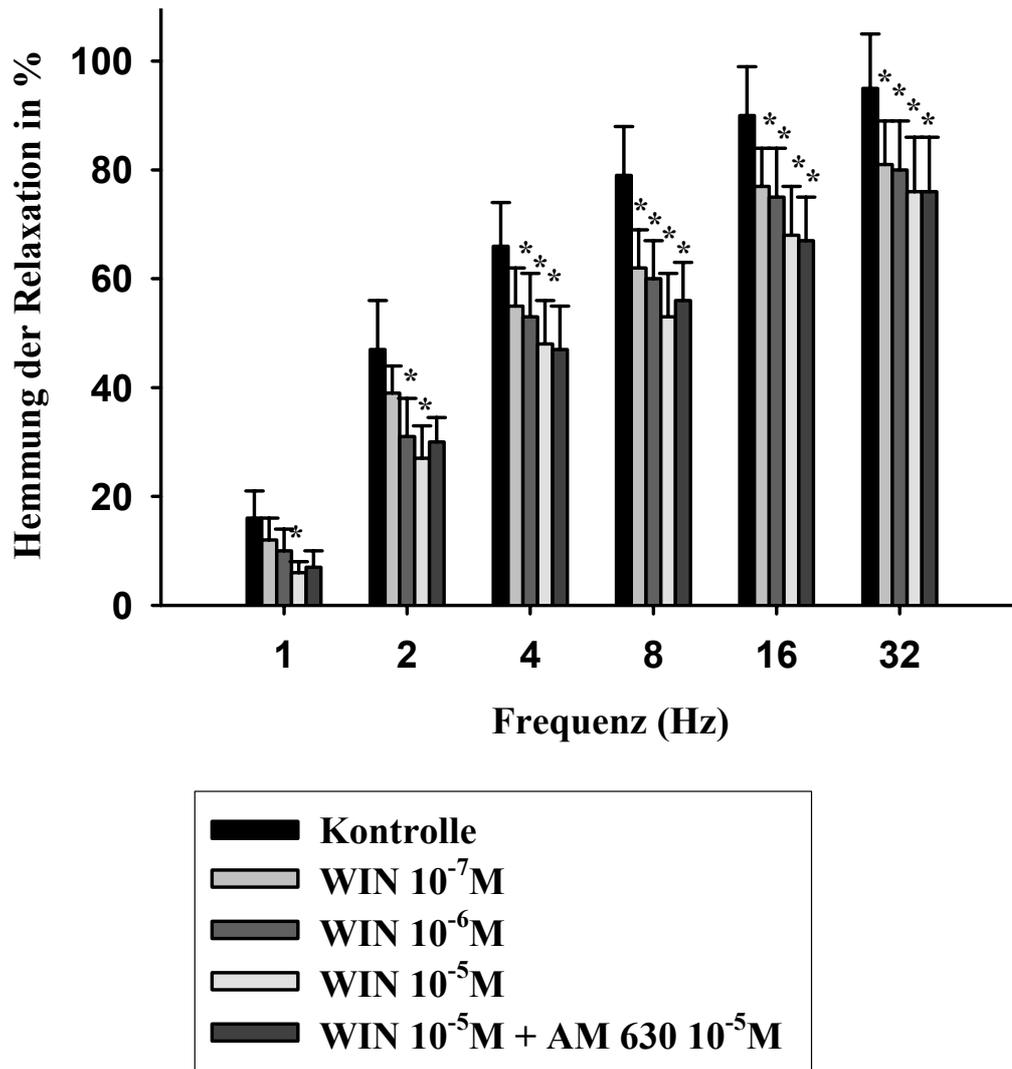


Abb. 9: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen nicht-cholinergen Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7} M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit WIN 55,212-2 (10^{-7} – 10^{-5} M) und dem CB₁-Antagonisten AM 630 (10^{-5} M) (n=8). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant.
 *: $p < 0.05$ vs. Kontrolle; +: $p < 0.05$ WIN 55,212-2 10^{-5} M vs. WIN 55,212-2 10^{-5} M + AM 630 10^{-5} M.

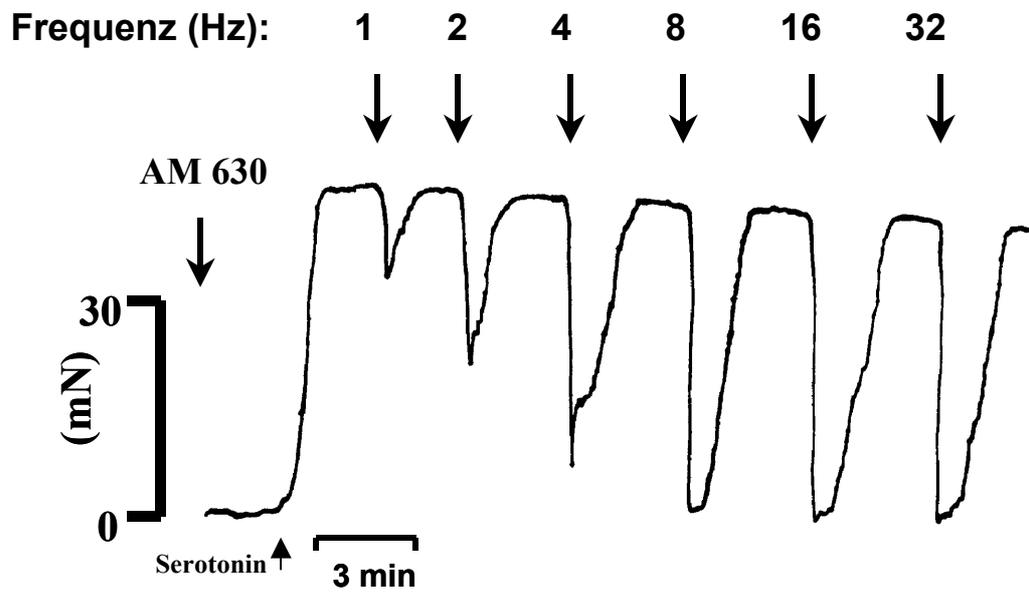


Abb. 10: Darstellung der Wirkung des CB₁-Antagonisten AM 630 (10^{-5} M) auf die elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin (10^{-7} M) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen

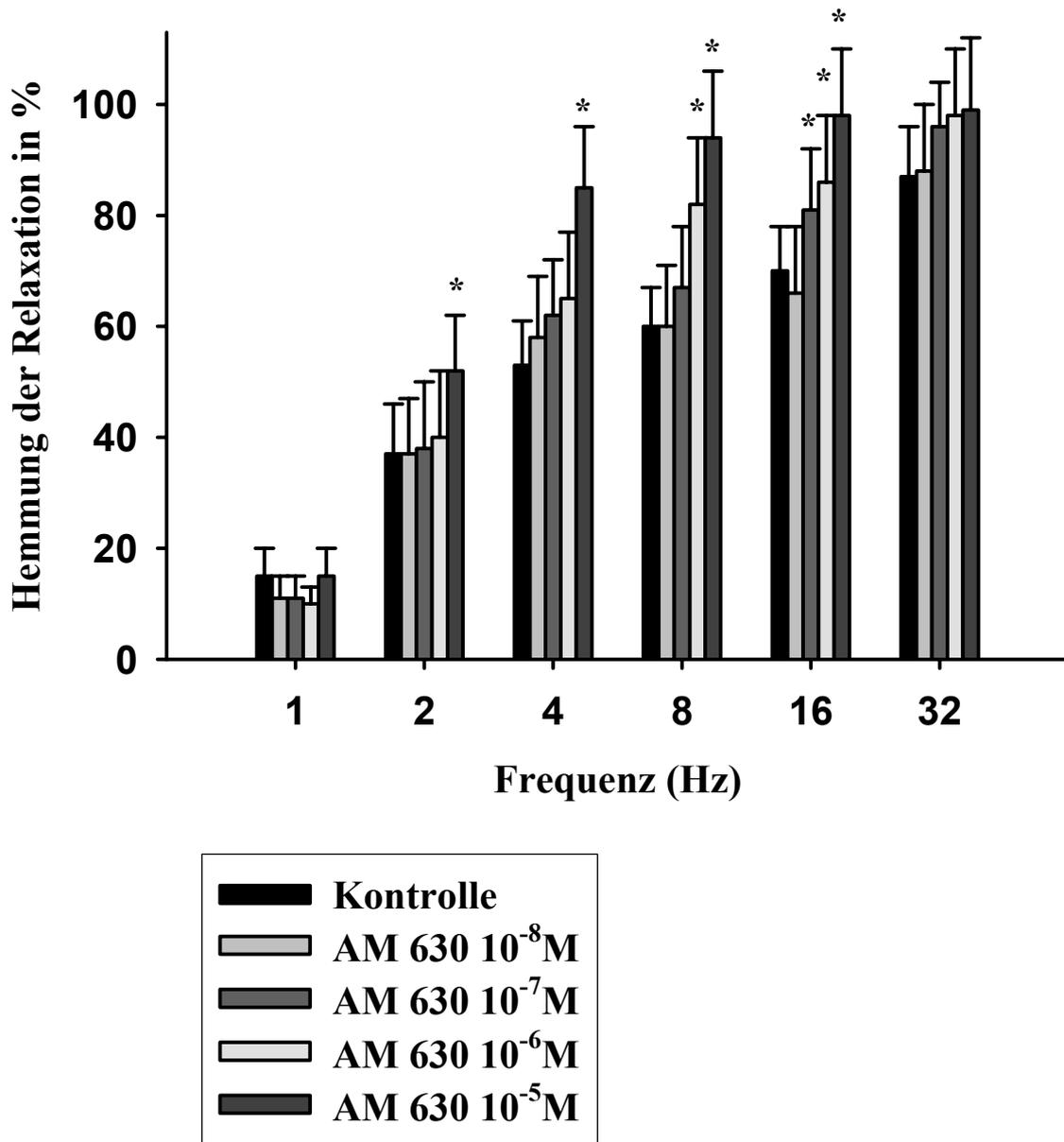


Abb. 11: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen nicht-cholinergen Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7} M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit dem CB₁-Antagonisten AM 630 (10^{-7} – 10^{-5} M) (n=8). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant.

*: $p < 0.05$ vs. Kontrolle.

3.2 Opioide

3.2.1 Wirkung auf den Basaltonus und die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur

Der Effekt der einzelnen Opioide auf den Basaltonus und die durch Serotonin (10^{-7}M) und Carbachol (10^{-6}M) vorstimulierte Muskulatur wurde mit Hilfe der unter 2.3.1 und 2.3.2 beschriebenen Versuchsschemata untersucht. Endomorphin-1 (10^{-6}M) und Endomorphin-2 (10^{-6}M), beide endogene Agonisten am μ -Rezeptor, veränderten weder den Basaltonus noch die Spontanaktivität der glatten Muskelzelle des Magenfundus. Auch der μ -Rezeptor Antagonist CTOP (10^{-6}M) hatte keinen Einfluss auf den Basaltonus oder die Spontanaktivität.

Serotonin (10^{-7}M) und Carbachol (10^{-6}M) bewirken durch die direkte Stimulation der Muskelzellen eine Kontraktion, die nach durchschnittlich einer Minute in ein Plateau übergeht. Bei Serotonin bleibt es etwa 30 Minuten, bei Carbachol ca. 15 Minuten stabil. Die durch Serotonin (10^{-7}M) und Carbachol (10^{-6}M) hervorgerufene Kontraktion der glatten Muskulatur wurde durch Endomorphin-1 (10^{-5}M), Endomorphin-2 (10^{-5}M) und CTOP (10^{-5}M) nicht beeinflusst.

Im Folgenden sind die nicht signifikanten Veränderungen des Kontraktionsplateaus der durch Carbachol (10^{-6}M) induzierten Kontraktion für die zwei höchsten Konzentrationen von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 wiedergegeben.

Endomorphin-1 10^{-6}M	1.3 ± 12.3 %	n.s. n=5
Endomorphin-1 10^{-5}M	-7.7 ± 5.7 %	n.s. n=5
Endomorphin-2 10^{-6}M	1.1 ± 8.2 %	n.s. n=5
Endomorphin-2 10^{-5}M	9.1 ± 15.7 %	n.s. n=5

Tabelle 6: Effekt der Opioid-Rezeptoragonisten Endomorphin-1 und Endomorphin-2 auf die durch Carbachol vorstimulierte Muskulatur (Carbachol 10^{-6} ; n.s. steht für nicht signifikant; $p < 0,05$; $n = 5$)

3.2.2 Wirkung auf die elektrisch induzierte Kontraktion

Um den Einfluss der beiden Opiate auf die Kontraktionsfähigkeit der glatten Muskelzelle am Magen zu untersuchen, wurde nach dem im Methodikteil unter 2.3.3 beschriebenen Stimulationsschema vorgegangen. Als Antagonist kam CTOP in einer Konzentration von 10^{-5}M zum Einsatz (Inkubationszeit 10 min.).

Durch die elektrische Stimulation (10 sek./min.; 40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer) der einzelnen Organstreifen kommt es zur cholinerg vermittelten Kontraktion, die durch Atropin (10^{-6}M) (Antagonist am M-cholinrezeptor) und den neuronalen Blocker TTX (10^{-6}M) vollständig aufgehoben werden kann. Die Kontraktionsantwort wurde durch Endomorphin-1 konzentrationsabhängig (10^{-10}M – 10^{-5}M) gehemmt. Diese Inhibition war durch Zugabe des μ -Antagonisten CTOP 10^{-5}M blockierbar.

Auch Endomorphin-2 (10^{-10}M – 10^{-5}M) konnte die Kontraktionsantwort konzentrationsabhängig reduzieren. Im Vergleich zu Endomorphin-1 war dieser Effekt nur geringfügig niedriger potent. Durch die Zugabe von CTOP 10^{-5}M konnte auch der Effekt von Endomorphin-2 blockiert werden.

Endomorphin-1	% Spannungsänderung
10^{-10}M	$-4.3 \pm 4.4 \%$
10^{-9}M	$-9.7 \pm 5.5 \%$
10^{-8}M	$-20.0 \pm 7.3 \%^*$
10^{-7}M	$-50.7 \pm 8.8 \%^*$
10^{-6}M	$-57.1 \pm 8.9 \%^*$
10^{-5}M	$-62.3 \pm 6.8 \%^*$
CTOP 10^{-5}M + 10^{-5}M	$-3.1 \pm 9.9 \%^+$

Endomorphin-2	% Spannungsänderung
10^{-10}M	$3.2 \pm 7.4 \%$
10^{-9}M	$7.0 \pm 6.7 \%$
10^{-8}M	$-2.3 \pm 5.4 \%$
10^{-7}M	$-36.4 \pm 5.5 \%^*$

10^{-6}M	$-52.0 \pm 5.3 \%^*$
10^{-5}M	$-50.4 \pm 6.5 \%^*$
CTOP $10^{-5}\text{M} + 10^{-5}\text{M}$	$2.5 \pm 10.8 \%^+$

Tabelle 7: Effekt von Endomorphin-1, Endomorphin-2 und dem μ -Rezeptor Antagonisten CTOP auf die durch elektrische Feldstimulation (10 sek./min.; 40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer) hervorgerufenen cholinergen Kontraktionen des Ileums. (Endomorphin-1: n = 11; * = p < 0.05 EM1 vs. Kontrolle; + = p < 0.05 EM1 vs. EM1 + CTOP; Endomorphin-2: n = 11; * = p < 0.05 EM2 vs. Kontrolle; + = p < 0.05 EM2 vs. EM2 und CTOP)

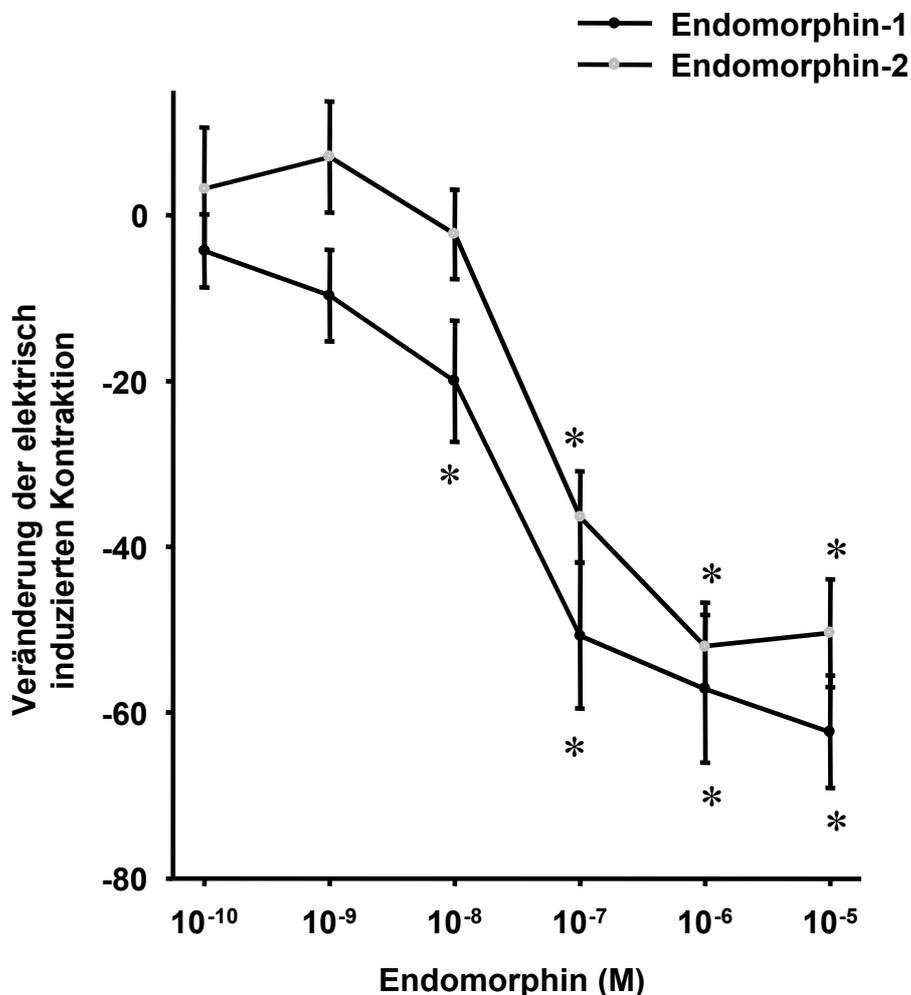
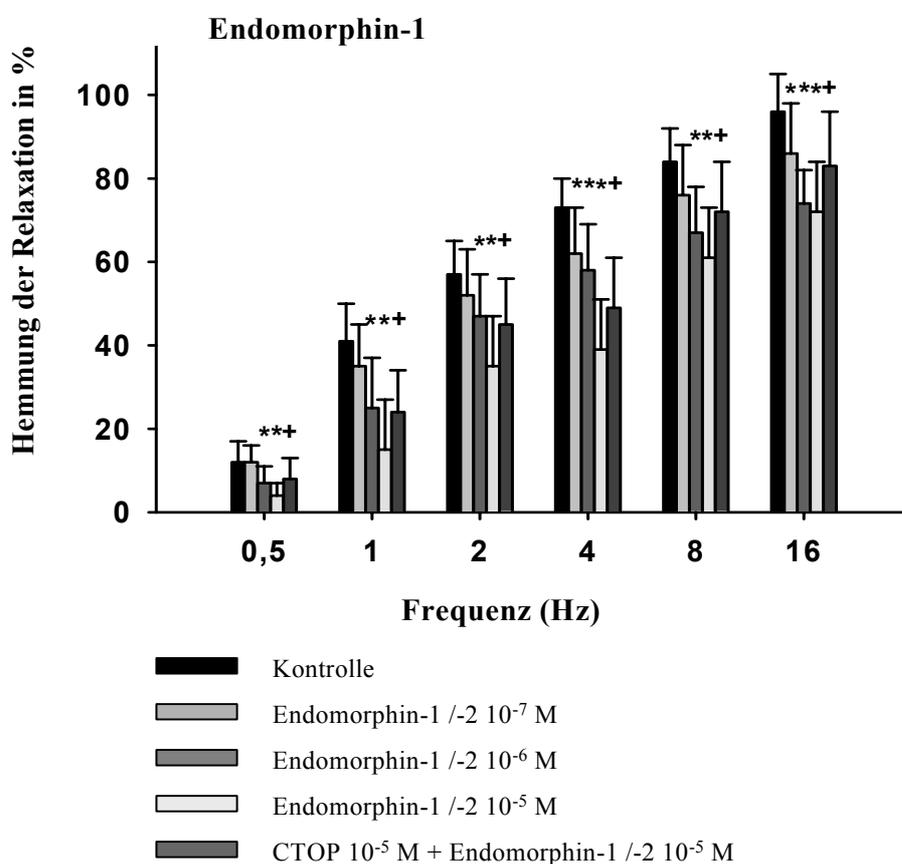


Abb. 12: Darstellung des hemmenden Effekts von Endomorphin-1 (10^{-10}M – 10^{-5}M) und Endomorphin-2 (10^{-10}M – 10^{-5}M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzelle (10 sek./min.; 40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer)

3.2.3 Die Wirkung von Endomorphin-1 und -2 unter NANC-Bedingungen

Um den Einfluss der beiden endogenen Opioide auf die Relaxation zu untersuchen, wurde das im Methodikteil unter 2.3.4 beschriebene Schema angewandt. Die isolierten Muskelstreifen werden jeweils mit Serotonin 10^{-7} M vorstimuliert. Bei der auf dieser Art und Weise vorbereiteten Muskulatur führt eine elektrische Feldstimulation (10 sek./ 40 V / 0.5 ms / 0.5–16Hz) unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen (Anwesenheit von Atropin 10^{-6} M und Guanethidin 10^{-6} M) zu einer frequenzabhängigen Relaxation. Diese Relaxation auf die elektrische Stimulation konnte durch den neuronalen Blocker TTX (10^{-6} M) vollständig geblockt werden (EFS 16 Hz: $67.5 \pm 8.3\%$; EFS 16 Hz + TTX: $4.5 \pm 2.2\%$; n = 6; p < 0.001).

Endomorphin-1 und Endomorphin-2 verursachten beide eine konzentrationsabhängige (10^{-10} M– 10^{-5} M) Reduktion der Relaxation, wobei die Wirkung von Endomorphin-1 deutlich stärker war. Dieser Effekt konnte durch CTOP 10^{-5} M erfolgreich antagonisiert werden. CTOP (10^{-8} M– 10^{-5} M) selbst bewirkte keine Veränderung der Relaxation der Muskulatur am isolierten Magenfundus.



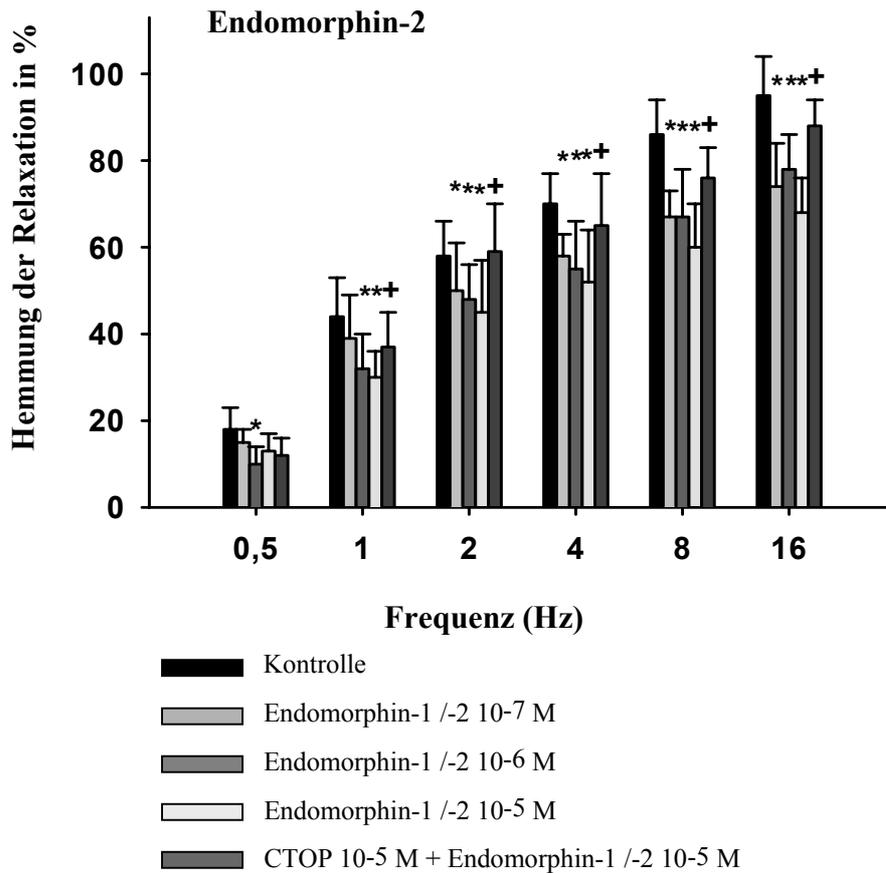


Abb. 13: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7} M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit Endomorphin-1 (10^{-7} – 10^{-5} M), Endomorphin-2 (10^{-7} – 10^{-5} M) und CTOP (10^{-5} M) ($n = 6$). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant. *: $p < 0.05$ vs. Kontrolle; +: $p < 0.05$ Endomorphin 10^{-5} M vs. Endomorphin 10^{-5} M + CTOP 10^{-5} M.

4 Allgemeine Diskussion

4.1 Die Motilität des Magen-Darm-Trakts

Die Muskelarbeit im Magen-Darm-Trakt ist eine der meist untersuchten Funktionen dieser Organe. Schon 1899 beschrieben Bayliss und Starling den durch Muskeldehnung und chemische bzw. mechanische Stimuli provozierbaren peristaltischen Reflex (7).

Die gastroduodenale Passage der Nahrung ist u.a. von der motorischen Aktivität im proximalen Magen abhängig. Beim Schlucken entspannen sich Fundus und Corpus, damit die Nahrung aufgenommen und im Magen gespeichert werden kann. Der proximale Magen passt sich dem entsprechenden Füllungsstatus flexibel an – es kommt zur tonischen Umschließung des Mageninhalts. Die dann folgenden Kontraktionen bewegen die einzelnen Nahrungsbestandteile schließlich in Richtung der folgenden Abschnitte des Verdauungstrakts (77).

Eine Vielzahl an Impulsen beeinflusst die Motilität des Magens. Visuelle, olfaktorische, auditorische und emotionale Reize werden über das zentrale Nervensystem aufgenommen und dann neuronal oder durch Hormone an den Magen weitergeleitet. Diese neurohumoralen Übertragungswege werden auch über Chemo- oder Mechanorezeptoren in der Wand des Verdauungstrakts aktiviert (37).

Zu den Hormonen mit hemmendem Einfluss auf die Magenentleerung gehören u.a. Sekretin, Cholecystkinin und Gastrin. Motilin wirkt stimulierend auf die Peristaltik des Magens.

4.1.1 Das enterische Nervensystem

Anfangs war man der Überzeugung, dass das enterische Nervensystem ein Teil der autonomen Komponente des peripheren Nervensystems ist, dessen postganglionäre parasymphatische Neurone im Verdauungstrakt liegen. Die Vorstellung, dass der Darm sein eigenes „Gehirn“ besitzt, entstand Anfang des 20. Jahrhunderts. Man fand heraus, dass die peristaltischen Kontraktionen des Magen-Darm-Trakts durch Impulse intramuraler Nerven

entstehen und dass der Großteil der enterischen Neuronen keinen direkten Kontakt zu den parasympathischen und sympathischen Axonen des autonomen Nervensystems hat. Das enterische Nervensystem kann also als eine Art ausgelagerter Teil des Nervensystems gesehen werden, der über sympathische und parasympathische, afferente und efferente Neurone mit diesem kommuniziert. Mit Hilfe dieser Verbindungen kann das enterische Nervensystem alle Funktionen des Gastrointestinaltrakts selbstständig kontrollieren (53).

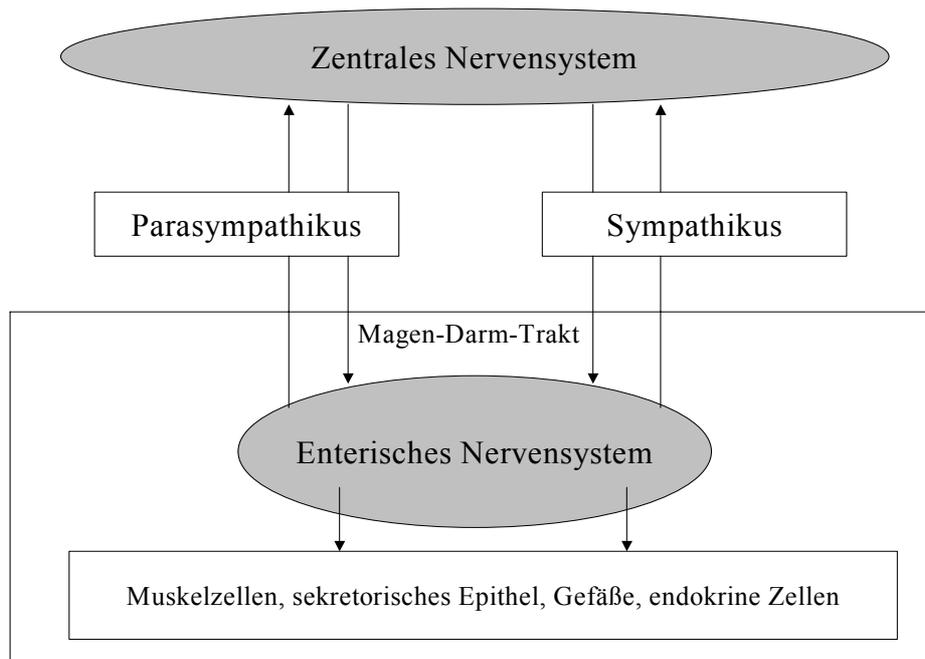


Abb. 14: Schematische Darstellung des Funktionskreises zwischen zentralem und enterischem Nervensystem

4.1.2 Aufbau des enterischen Nervensystems

Das enterische Nervensystem enthält an die 10^8 Neurone, in etwa die Anzahl, die man auch im Rückenmark findet. Zum Vergleich: Der Nervus Vagus führt ca. 2000 präganglionäre parasympathische Axone, die zum Darmnervensystem projizieren. Reflexbögen zwischen dem Verdauungstrakt und den parasympathischen bzw. sympathischen Zweigen des autonomen Nervensystems regulieren die Aktivität von Magen und Darm (44).

Das ZNS greift in das lokale neuronale Geschehen über die extrinsische vegetative efferente Innervation jedoch nur modulatorisch ein. Mit Hilfe dieser äußeren Innervation können auch weit auseinander liegende Teile des Verdauungstraktes miteinander kommunizieren, die

Funktion des Magen-Darm-Trakts kann übergeordneten Interessen des Organismus angepasst werden und Informationen aus dem Gastrointestinalbereich werden auf Gehirnebene integriert und gespeichert.

Das enterische Nervensystem kontrolliert trotz allem nahezu eigenständig die Motilität (45), endokrine und exokrine Sekretion (27) sowie die Mikrozirkulation im Magen-Darm-Trakt (152). Außerdem ist es an der Regulation von Immun- und Entzündungsprozessen beteiligt (94). Die Innervation des Gastrointestinaltrakts ist damit einzigartig unter den Viszeralorganen.

Das Darmnervensystem gliedert sich in den Plexus myentericus (Auerbach) und den Plexus submucosus (Meissner):

- Der Plexus myentericus liegt zwischen der longitudinalen und zirkulären Muskulatur des Verdauungstrakts. Er durchzieht den gesamten Magen-Darm-Trakt. Die Neurone des Plexus myentericus enden z.T. direkt an den glatten Muskelzellen und beeinflussen so den Muskeltonus und den Rhythmus der Kontraktionen. Außerdem hat der Auerbach'sche Plexus zahlreiche Verbindungen zu den submukösen und enterischen Ganglien der Gallenblase und des Pankreas (84).
- Der Plexus submucosus liegt zwischen der zirkulären Muskulatur und der Lamina muscularis mucosae. Am besten ist er im Dünndarm entwickelt. Die Neurone des Plexus submucosus regulieren die Sekretion und Absorption von Elektrolyten, die Schleimabgabe, die Aufnahme von Nährstoffen und sie beeinflussen endokrine Zellen sowie Blutgefäße. Ein Nervensystem, das dem Meissner'schen Plexus sehr ähnlich ist, konnte in der Gallenblase, den Ductus cysticus sowie im Pankreas nachgewiesen werden (84).

Der Plexus submucosus und der Plexus myentericus weisen nicht nur zahlreiche Verbindungen zu Ganglien der unterschiedlichsten Organe auf, sie sind auch untereinander stark vernetzt.

Die Innervation des Magen-Darm-Trakts erfolgt über efferente sowie afferente Mechanismen. Orientierend lassen sich ohne Berücksichtigung der speziellen Funktion folgende Neuronengruppen unterscheiden.

Die präganglionären Nervenbahnen von Parasympathikus und Sympathikus, die postganglionär cholinergen bzw. adrenergen Fasern und die nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Nerven:

- Die präganglionären parasympathischen Fasern für den Großteil des Verdauungstrakts kommen mit dem Nervus Vagus aus der Medulla oblongata. Sie regulieren die motorischen und sekretomotorischen Funktionen des oberen Verdauungssystems. Das distale Kolon und das Rektum werden durch die Nn. pelvici aus dem Sakralmark gesteuert. Je nachdem mit welchen postganglionären intramuralen Nerven die parasympathischen Fasern verbunden sind, vermitteln sie erregende (cholinerge) oder hemmende (peptiderge) Effekte. Somit erhöhen oder senken sie z.B. die Beweglichkeit des Magens, sie führen zur Kontraktion oder Relaxation des Pylorus und beschleunigen oder verlangsamen den Abtransport flüssiger oder fester Magenbestandteile (109).
- Die präganglionären cholinergen Neurone des Sympathikus kommen aus dem Brust- und Lendenmark. Sie ziehen in den Nn. splanchnici zum oberen Halsganglion und zu den prävertebralen zöliakalen und mesenterialen Ganglien. Hier werden sie auf postganglionäre noradrenerge Fasern umgeschaltet.
- Die postganglionären noradrenergen Nerven kommen von zöliakalen und mesenterialen Ganglien. Zusätzlich erreichen einige dieser Nervenbahnen den Verdauungstrakt über den Nervus Vagus. Einige von ihnen bilden Synapsen mit den Neuronen des Plexus myentericus und Plexus submucosus, manche enden aber auch direkt an den Muskelzellen oder in der Nähe der Mukosa. Die Stimulation von noradrenergen Nervenbahnen hat z.B. die Relaxation des Magens, Inhibition der Motilität und z. T. eine Kontraktion der Sphinkter zur Folge (37).
- Die letzte Gruppe umfasst die nicht-adrenergen, nicht-cholinergen (NANC) Nerven des enterischen Nervensystems. Diese Gruppe besteht aus extrinsischen und intrinsischen Neuronen. Sie vermitteln den größten Anteil an inhibitorischen Signalen im Gastrointestinaltrakt, wie z.B. die Relaxation des unteren Ösophagussphinkters nach

dem Schlucken (53), die für die Nahrungsaufnahme wichtige adaptive Magenrelaxation (1) und die absteigende Inhibition des peristaltischen Reflexes (55).

Die Tachykinine (Substanz P, Neurokinin A) und Acetylcholin sind Transmitterstoffe, die stimulierend auf den peristaltischen Reflex wirken. *Acetylcholin* beeinflusst die Peristaltik über *präganglionäre nikotinerge* Rezeptoren. Es ist aber auch Überträgersubstanz an *postganglionären* Nervenendigungen, wo es mit den muskarinergen Rezeptoren der Effektorzellen (155, 66) interagiert. Präsynaptische Rezeptoren wie z.B. die für Opioide haben maßgeblichen Einfluss auf die Peristaltik (85).

Eine Aktivierung der nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Fasern hat meistens eine hemmende Wirkung auf den peristaltischen Reflex. Sie nutzen das Neuropeptid VIP, ATP, Somatostatin und Stickoxid (NO) als Überträgerstoffe. Mit Hilfe von Substanz P können diese Neurone aber auch erregende Impulse übertragen (56).

4.2 Die Cannabinoide

Die Hanfpflanze ist ein einjähriges Gewächs mit einer Wachstums- und einer Blütenphase. Es gibt drei Hanfarten: Die *Cannabis indica*, die 1–2 Meter hoch wird und dunkelgrüne, breite Blättfinger hat, die *Cannabis ruderalis* und die *Cannabis sativa*, die 2–5 Meter hoch wird und schmale hellgrüne Blättfinger besitzt. Beheimatet ist der Hanf vor allem in Indien, Iran, Afghanistan, Nordafrika und in Südamerika. In Europa ist er zu einer beliebten Balkonpflanze geworden. Die Cannabinoide findet man insbesondere in wachsenden Blättern. In geringen Mengen sind sie aber auch in zahlreichen anderen Nahrungsprodukten wie z.B. Schokolade nachweisbar (153).

Der Einsatz von Marihuana spielt seit vielen Jahrhunderten eine große Rolle in Religion und Medizin. Schon im 4. Jahrhundert a.D. kannte man den therapeutischen Nutzen der Pflanze *Cannabis sativa*, in der die Cannabinoide enthalten sind. Die Chinesen verwendeten damals Marihuana u.a. zur Behandlung von Malaria, Obstipation und rheumatischen Beschwerden (163). Heute ist es offiziell als Appetitanreger bei kachektischen Patienten oder AIDS-Patienten zugelassen oder es wird als Antiemetikum bei durch Chemotherapie induziertem Erbrechen eingesetzt. Außerdem wird die therapeutische Rolle von Cannabinoiden

(Marihuana) bei der Behandlung von Migräne, Schmerzen, Epilepsie, Glaukom und Bluthochdruck diskutiert (57).

Die genaue Wirkungsweise von Marihuana im Organismus blieb unklar, bis es 1964 gelang, den psychopharmakologisch aktiven Bestandteil des Cannabis zu isolieren und seine Struktur zu beschreiben (47). Die Beschreibung des Δ^9 -Tetrahydrocannabinols (Δ^9 -THC) brachte neuen Schwung in die wissenschaftliche Untersuchung des Marihuanas. In den folgenden Jahren konnten weitere cannabinoide Bestandteile isoliert werden – insgesamt sind bis heute 66 cannabinoide Bestandteile des Marihuanas bekannt. Diese werden in zehn Hauptgruppen zusammengefasst, die sich untereinander oft nur durch einen einzelnen chemischen Bestandteil unterscheiden.

Beispiel für eine Gruppe	Abkürzung	Anzahl der Variationen
Δ^9 -Tetrahydrocannabinol	Δ^9 -THC	9
Δ^8 -Tetrahydrocannabinol	Δ^8 -THC	2
Cannabichromene	CBC	5
Cannabidiol	CBD	7
Cannabinol	CBN	7
Cannabitriol <small>Ross SA 1995 Review</small>	CBT	9

Tabelle 8: Beispiele für die bisher bekannten cannabinoide Bestandteile des Marihuanas

Auch im Bezug auf die Zusammenhänge zwischen Struktur und cannabomimetischen Effekt, den Metabolismus und den klinischen Effekt der einzelnen Anteile gibt es nun genauere Kenntnisse (103).

1988 erbrachten Devane et al. (31) den ersten Beweis für die Existenz eines spezifischen Cannabinoidrezeptors. Mit Hilfe des synthetischen Cannabinoids [3 H]CP-55,940 konnten sie in Rezeptorbindungsstudien einen entsprechenden Rezeptor im Gehirn von Ratten nachweisen. Bis heute wurden zwei Rezeptortypen (CB₁ und CB₂) sowie eine Variante von CB₁ (CB_{1a}) identifiziert und geklont. Sie zählen zur Gruppe der G-Protein gekoppelten Rezeptoren.

Meilensteine in der Cannabinoidforschung

1986 Johnson M.R., Melvin L.S. (81)	Erstmalige Entwicklung potenter Cannabinoid-Agonisten
1988 Devane et al. (31)	Beweis der Existenz eines spezifischen Cannabinoidrezeptors
1990 Matsuda et al. (101)	Erstmaliges Klonen des CB ₁ -Rezeptors
1992 Devane et al. (32)	Entdeckung von Anandamid
1993 Munro S. (111)	Entdeckung des CB ₂ -Rezeptors außerhalb des Gehirns auf Immunzellen
1994 Rinaldi-Carmona et al. (129)	Entwicklung des ersten spezifischen CB ₁ -Cannabinoid-Antagonisten: SR 141716A

Tabelle 9: Meilensteine der Cannabinoidforschung

4.2.1 G-Protein gekoppelte Rezeptoren

Die G-Protein gekoppelten Rezeptoren gehören zu den membrangebundenen Rezeptoren. Sie sind aus sieben helikalen hydrophoben Bereichen aufgebaut, welche die Zellmembran durchdringen und durch hydrophile Extra- und Intrazellulärschleifen verbunden sind. Die Signalübertragung bei diesen Rezeptoren erfolgt über ein Kopplungsprotein, das G- Protein (Guanin-Nukleotide-bindendes Protein).

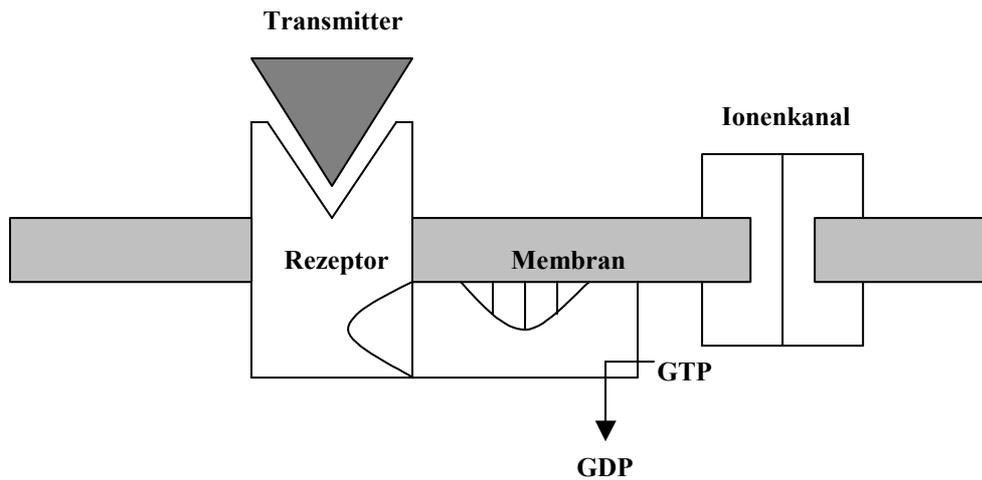


Abb. 15: Schematische Darstellung eines G-Protein gekoppelten Rezeptors vor Stimulation durch einen Signalstoff

Wird der betreffende membranständige Rezeptor durch seinen Signalstoff stimuliert, so verändert sich seine Konformation in der Art, dass ein in der Membran befindliches G-Protein an ihn binden kann. Die Wechselwirkung mit dem Rezeptor veranlasst das G-Protein dazu, das an es gebundene Guanosindiphosphat (GDP) gegen ein Guanosintriphosphat auszutauschen. In der Folge kommt es zur Trennung des G-Proteins vom Rezeptor und zum Zerfall in eine aktive α - und eine β/γ -Einheit. Die aktive GTP-tragende α -Einheit bindet anschließend an ein Effektorprotein, wodurch dessen Aktivität verändert wird: Ionenkanäle öffnen oder schließen sich, Enzyme werden aktiviert oder inhibiert.

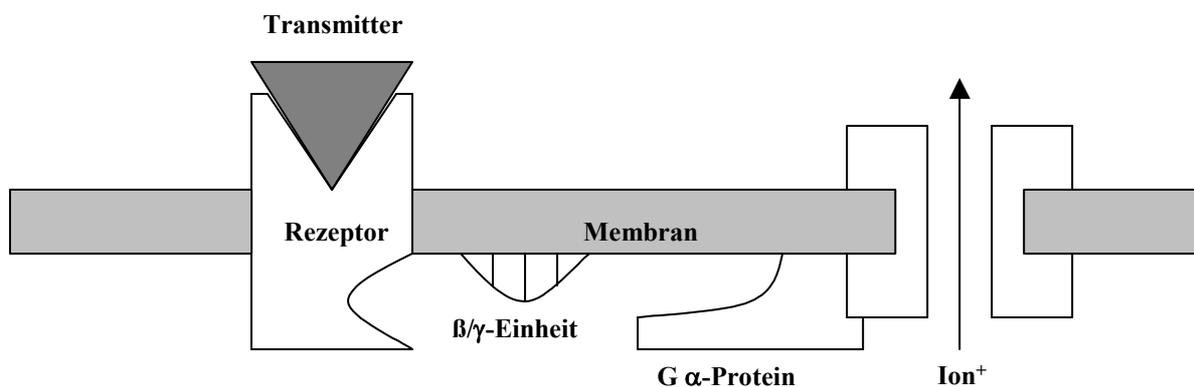


Abb. 16: Schematische Darstellung eines G-Protein gekoppelten Rezeptors nach der Stimulation durch einen Signalstoff. Die α -Einheit ist an ein Effektorprotein gebunden, der Ionenkanal hat sich geöffnet

Durch langsame enzymatische Hydrolyse des GTP zu GDP kehrt die α -Einheit in den inaktiven Zustand zurück und verbindet sich wieder mit der β/γ -Einheit, wodurch der Ausgangszustand wiederhergestellt ist (63).

4.2.2 Der CB₁-Rezeptor

Der CB₁-Rezeptor ist im ZNS vor allem in folgenden Strukturen zu finden:

- Basalganglien

Die einzelnen Abschnitte der Basalganglien sind u.a. für die Kontrolle von Bewegungen verantwortlich. Mit Hilfe autoradiographischer Studien konnte gezeigt werden, dass diese Hirnregion eine hohe Dichte an CB₁-Rezeptoren aufweist (60, 61, 62). Besonders gut sind sie im Globus pallidus, Substantia nigra pars reticulata und Putamen (95, 102) nachweisbar.

- Hippocampus

Dieser Bereich des Gehirns ist v.a. für das Kurzzeitgedächtnis und die Verarbeitung sensorischer Empfindungen verantwortlich. Hier ist die Dichte des CB₁-Rezeptors im Ammonshorn am höchsten (62).

- Hypothalamus

Der Hypothalamus spielt u.a. bei der Regulation der Körpertemperatur und beim Erhalt der Salz-Wasser-Balance im Körper eine Rolle. Mit Hilfe unterschiedlicher Techniken wurden auch hier CB₁-Rezeptoren nachgewiesen, allerdings ist die Rezeptordichte in dieser Region im Vergleich zu anderen relativ gering (62, 95).

- Kortex, Kleinhirn, Hirnstamm und Rückenmark

Die hohen Dichten im Klein- und im Vorderhirn deuten auf die Rolle der Cannabinoide bei der Beeinflussung von Motorik und Bewusstsein hin. Die Rezeptoren in der Hirnrinde sind sehr wahrscheinlich für die psychoaktiven Wirkungen (Hochgefühl, Zeitempfinden, Träume) verantwortlich. Nur sehr geringe Dichten des CB₁-Rezeptors konnten in tieferen Hirnstammregionen (Kontrolle kardiovaskulärer und respiratorischer Funktionen) lokalisiert werden.

In Übereinstimmung mit den analgetischen Eigenschaften bekannter CB₁-Agonisten wurden die Rezeptoren auch in den Schmerzbahnen des Rückenmarks und des Kortex nachgewiesen (125).

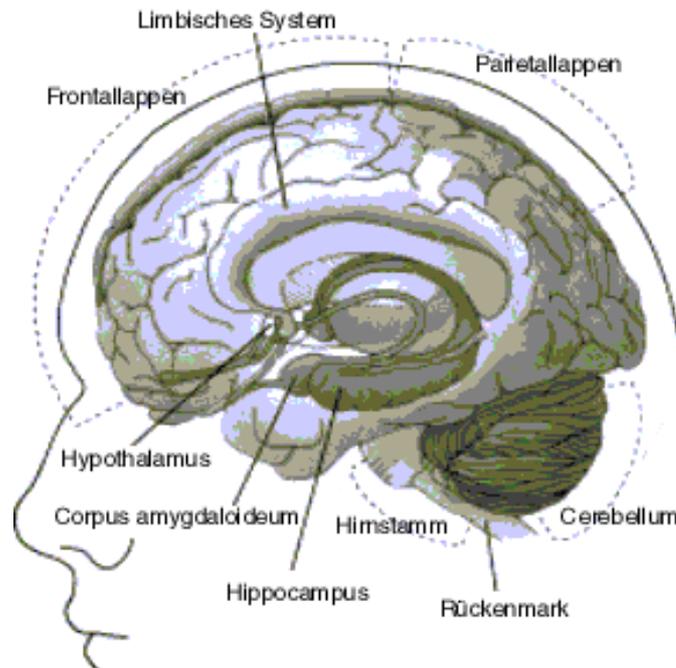


Abb. 17: Vorkommen der CB₁-Rezeptoren im ZNS (78)

Peripher fand man den CB₁-Rezeptor *beim Menschen* im Hoden (48), auf Spermazellen (140), auf Endothelzellen (149), im menschlichen Ileum (29), präsynaptisch auf sympathischen Nervenendigungen (72) sowie in der Harnblase und im Vas deferens.

Die Aktivierung des Rezeptors hat eine Hemmung der Adenylatzyklase über das Pertussistoxin-sensitive G-Protein zur Folge (101). Im Gegensatz dazu wurde aber auch die Bildung von cAMP beschrieben (51). Außerdem ist bekannt, dass eine CB₁-Aktivierung den Ca²⁺-Einstrom in die Zelle hemmen oder K⁺-Kanäle aktivieren kann. Durch die Blockade der Kalziumkanäle können die Cannabinoide die Freisetzung von Neurotransmittern wie z.B. Acetylcholin im Hippocampus (49, 50), Norepinephrin an sympathischen Nervenendigungen (72), und zentral im Hippocampus, Kortex und im Kleinhirn (139) vermindern. Auch die Glutamatfreisetzung in Neuronen des Hippocampus wird vermindert (142).

Die bekannten Folgen einer Rezeptoraktivierung im Gehirn sind Euphorie, Sedation und Veränderung des Kurzzeitgedächtnisses (68). Cannabinoide wirken analgetisch, ohne eine Atemdepression zu verursachen (128). Weiterhin kommt es zu einer Reduktion der Spontanaktivität, Hypothermie, Ataxie und Akinesie (24, 33). Wie die Opiode hemmen die Cannabinoide elektrisch stimulierte Kontraktionen im Ileum des Meerschweinchens und im Vas deferens der Maus (121, 123). Durch die Bindung von Cannabinoiden an CB₁-Rezeptoren der Spermien oder Eizellen werden die akrosomale Reaktion, die Befruchtung und die Implantation beeinflusst. So verringert sich z.B. die Spermatogenese und die Beweglichkeit der Spermien wird deutlich herabgesetzt (140, 141).

4.2.3 Der CB₂-Rezeptor

Der CB₂-Rezeptor ist vor allem in der Körperperipherie zu finden.

Erstmals konnte der CB₂-Rezeptor in der Milz von Ratten nachgewiesen werden (24). Abgesehen von einer neueren Beschreibung an Neuronen des Gastrointestinaltrakts, wurde er nur auf Zellen des Immunsystems entdeckt. Galiegue et al. (1995) fanden CB₂-mRNA in den Tonsillen, im Knochenmark, Thymus und Pankreas des Menschen. Die höchste Konzentration an mRNA wurde in B-Zellen und natürlichen Killerzellen gemessen (46). In vivo und in vitro Studien konnten zeigen, dass Δ^9 -THC immunsuppressiv wirkt und die zellvermittelte sowie die humorale Immunität verschlechtert (112, 113).

Viele der intrazellulären Effekte der Cannabinoide können auf ihre Fähigkeit G-Proteingekoppelte Rezeptoren zu aktivieren und dadurch die Bildung von cAMP zu vermindern zurückgeführt werden. Durch diese Inhibition wird z.B. die Bildung von NO vermindert. Dieser CB₂-vermittelte Effekt könnte für den suppressiven Einfluss der Cannabinoide auf das Immunsystem verantwortlich sein (23, 79).

Die beiden Typen der Cannabinoidrezeptoren ähneln sich zu 68% im Aufbau der Anteile, die sich in der Zellmembran befinden. Im Bezug auf den Gesamtaufbau beträgt die Ähnlichkeit allerdings nur 44%. Der CB₂-Rezeptor hemmt ebenfalls die Adenylatzyklase über ein Pertussistoxin-sensitives G-Protein. Im Gegensatz zum CB₁-Rezeptor hat er aber keinen Einfluss auf Kalzium- oder Kalium-Kanäle. Möglicherweise ist diese Tatsache auf den unterschiedlichen Aufbau der intrazellulären Schlingen der beiden Rezeptoren zurückzuführen, denn wahrscheinlich sind diese strukturellen Anteile für die Weiterleitung

des entsprechenden Signals vom G-Protein in die Zelle verantwortlich (78).

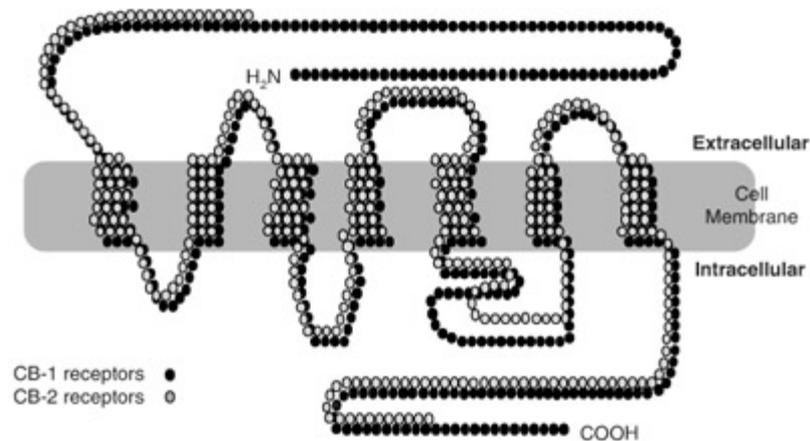


Abb. 18: Aufbau des CB₁- bzw. CB₂-Rezeptors im Vergleich (78).

4.2.4 Agonisten und Antagonisten des CB₁-Rezeptors

Der CB₁-Rezeptor vermittelt die agonistischen Signale von

- ZNS-aktiven Bestandteilen des Cannabis: z.B. Δ^9 -THC,
- synthetischen Cannabinoiden: z.B. CP-55,940, WIN 55,212-2
- und endogenen Cannabinoiden: Anandamid, 2-Arachidonylglycerol und Noladin (2-Arachidonylglycerol Ether) (59, 150, 151).

Einer der ersten Hinweise auf die Interaktion der Cannabinoide mit spezifischen Rezeptoren war die veränderte Aktivität der Adenylatzyklase.

Mit Hilfe eines synthetisch hergestellten Rezeptorliganden war man schließlich in der Lage noch vor der Entdeckung der endogenen Cannabinoide spezifische Bindungsstellen im Gehirn nachzuweisen. Der erste künstlich entwickelte Ligand war CP-55,940. Er ist weniger lipophil und hat eine stärkere Wirkung als Δ^9 -THC. Mit Hilfe von radioaktiv markiertem CP-55,940 wurde der Beweis für die Existenz eines Cannabinoidrezeptors erbracht (31).

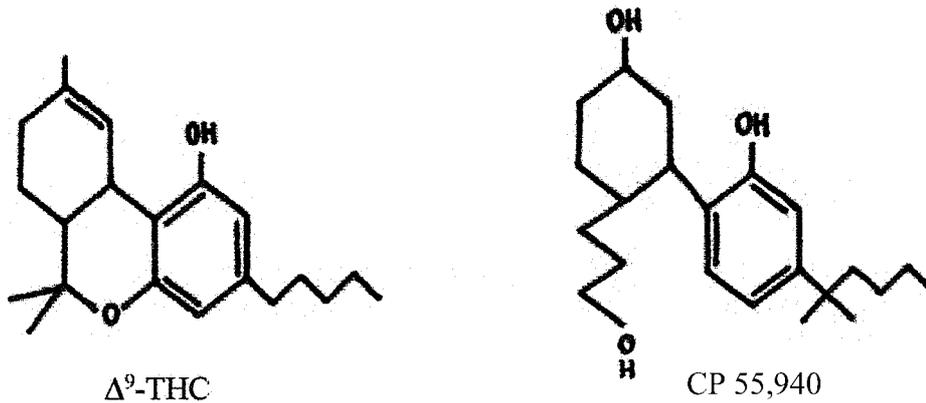
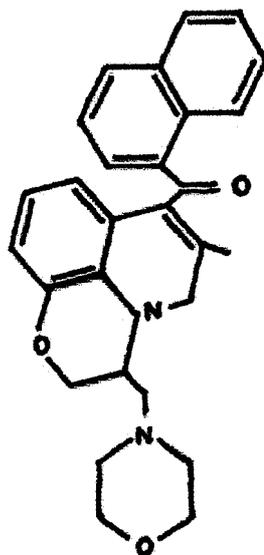


Abb. 19: Strukturformeln des natürlich vorkommenden Cannabinoids Δ^9 -THC und des synthetischen Liganden CP 55,940

Aminoalkylindole wie z.B. WIN 55,212-2 sind ebenfalls potente Agonisten. In Versuchen am Vas deferens und am Hirngewebe der Maus konnte gezeigt werden, dass WIN 55,212-2 die Kontraktion glatter Muskelzellen hemmen und suppressiv auf die Aktivität der Adenylatzyklase im Kleinhirn wirken. Ihr Effekt ist in Konzentrationen zwischen 0.1-1000 nM zu beobachten (119). Strukturell unterscheiden sie sich am stärksten von den klassischen Cannabinoiden, sie besitzen aber das gleiche pharmakologische Spektrum.

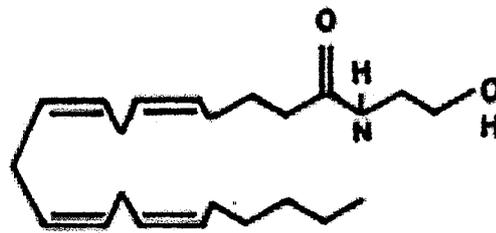


WIN 55,212

Abb. 20: Strukturformel des CB₁-Agonisten WIN 55,212-2

Die Entdeckung des CB₁-Rezeptors verstärkte die Suche nach endogenen Cannabinoidrezeptor-Liganden. Devane et al. (1992) nahmen an, dass diese die gleichen hydrophoben Eigenschaften wie die natürlichen bzw. synthetischen Rezeptor-Agonisten haben müssen. Deswegen konzentrierte man sich bei dieser Suche auf organisch-lösliche Auszüge aus dem Gehirn von Schweinen. 1992 konnten sie schließlich erfolgreich das erste endogene Cannabinoid aus dem Hirngewebe isolieren.

Es handelt sich um Arachidonoyl ethanolamid oder, wie es seine Entdecker genannt haben: Anandamid. „Ananda“ ist Sanskrit und bedeutet „Ursache innerer Seeligkeit und Ruhe“, „Amid“ steht für die ein Amid enthaltende chemische Struktur.



Anandamid

Abb. 21: Strukturformel des endogenen Cannabinoids Anandamid

Anandamid ist nicht nur in Gehirnregionen mit hoher CB₁-Rezeptordichte zu finden (siehe 4.2.1). Auch im Thalamus (62), in der Milz (41) und im Hoden (148) von Ratten wurde das endogene Cannabinoid nachgewiesen. Wie die anderen Agonisten verursacht es u.a. Hypothermie, Hypomotilität, Antinociception und hemmt die elektrisch induzierten Kontraktionen im Vas deferens (32).

Der erste CB₁-Antagonist, SR 141716A, wurde 1994 synthetisiert (129). Er bindet vielfach stärker an CB₁- als an CB₂-Rezeptoren. SR 141716A antagonisiert die Wirkung der Agonisten in bezug auf Hemmung der Adenylatzyklase und Inhibition von elektrisch induzierten Kontraktionen. Außerdem vermindert er die beim Einsatz von Cannabinoiden beobachteten Verhaltens- bzw. Wesensänderungen (96). AM-630 ist ebenfalls ein synthetischer CB₁-Antagonist. Die beiden Substanzen können aber auch als inverse Agonisten wirken (10, 89).

Für den Antagonisten SR144528 konnte erstmals an der Milz von Ratten eine höhere Affinität zu CB₂-Rezeptoren nachgewiesen werden (130). Am CB₁-Rezeptor wirkt auch diese Substanz als inverser Agonist (11).

4.3 Klinische Relevanz

Die therapeutische Wirkung des Marihuanas im Bezug auf zahlreiche Erkrankungen wurde in den letzten Jahren verstärkt untersucht:

Körperliche Schmerzen (Migräne, rheumatoide Arthritis, Epilepsie, etc.) sind für Patienten ein häufiger Grund einen Arzt aufzusuchen. Im Moment erhältliche Analgetika haben eine eingeschränkte Wirkung bei verschiedenen Ursachen von Schmerzen. Einerseits hängt dies mit dosisabhängigen Nebenwirkungen zusammen, andererseits mit Toleranzentwicklung oder Abhängigkeit. Bisher gibt es zwar noch keine Ergebnisse aus größeren klinischen Studien über die analgetische Wirkung der Cannabinoide, allerdings konnte in Tierversuchen und an kleineren Patientenkollektiven gezeigt werden, dass diese Wirkstoffgruppe als schmerzlindernde Pharmaka eingesetzt werden könnte. Im Gegensatz zu den Opioiden wirken Cannabinoide antinociceptiv, ohne eine Atemdepression zu verursachen (97). Aktuelle Analysen zur Wirkung der Cannabinoide bei Schmerzen ergaben allerdings, dass der analgetische Effekt einer verträglichen Dosis Cannabis bestenfalls dem von 60 mg Codein entspricht. Zusätzlich schränkt die dämpfende Wirkung auf das Bewusstsein die Gabe von Cannabinoiden bisher noch stark ein (15).

Die Anzahl der neurologischen Erkrankungen, bei denen in Zukunft die Cannabinoide eine therapeutische Rolle spielen könnten ist groß. So erhofft man sich z.B. von der durch diese Wirkstoffgruppe verursachten Hypomotilität Therapieansätze in Bezug auf hyperkinetische Erkrankungen wie die Chorea Huntington oder den Morbus Parkinson (104). Das Gilles de la Tourette-Syndrom ist eine komplexe neuropsychiatrische Erkrankung. Sie ist u.a. durch plötzliche Zuckungen des Gesichts-, Hals- und Schulterbereiches (Tics) charakterisiert. Mit Hilfe von Δ^9 -THC konnte hier eine deutliche Reduktion der Beschwerdesymptomatik erreicht werden (110). Das Krankheitsbild der Multiplen Sklerose betrifft das Gehirn und das Rückenmark. Durch den Abbau der Myelinscheiden der Nervenfasern kommt es zu typischen Symptomen wie z.B. spastischen Lähmungen und Tremor. Klinische Studien ergaben eine –

elektromyographisch und klinisch messbare – Verbesserung dieser Krankheitssymptomatik (105).

Schon in geringen Dosen wirkt oral verabreichtes Δ^9 -THC antiemetisch und appetitanregend (17, 114, 137). Dank der Ergebnisse bei der Behandlung von Krebs- und AIDS-Patienten erkannte die U.S. Food and Drug Administration Δ^9 -THC 1984 als Therapeutikum bei Chemotherapie-induziertem Erbrechen und 1992 als Appetitanreger für AIDS-Patienten an. Neuere Analysen ergaben allerdings, dass Cannabinoide bei Chemotherapie-induziertem Erbrechen nur dann ausreichend wirken, wenn die Übelkeit höchstens mittelgradig ausgeprägt ist (15).

Da Cannabinoide nachweislich ein Hungergefühl erzeugen, kann man sich die appetithemmende Wirkung von entsprechenden Antagonisten zu Nutzen machen. In Tierversuchen mit Mäusen wurde gezeigt, dass CB_1 -Cannabinoidrezeptor-knockout Mäuse bzw. Wildtyp Mäuse die den CB_1 -Antagonisten SR 141716A erhielten weniger aßen als normale Mäuse (35). Diese Ergebnisse könnten für die Behandlung übergewichtiger Patienten von Bedeutung sein.

Auch bei der Prävention und Behandlung des Glaukoms spielen die Cannabinoide eine Rolle, da sie erwiesenermaßen den Augeninnendruck senken (157).

4.4 Wirkung der Cannabinoide am Gastrointestinaltrakt

Die präsynaptisch lokalisierten CB_1 -Rezeptoren regulieren die Acetylcholinabgabe in den myenterischen Neuronen. Eine Aktivierung der Rezeptoren führt zur Hemmung der langsamen NANC und schnellen cholinergen exzitatorischen Transmissionen im Ileum. Diese Hemmung von cholinergen und nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Übertragungswegen im enterischen Nervensystem hat eine verminderte Kontraktionsfähigkeit des Gastrointestinaltrakts zur Folge und es kommt zur verminderten Ausscheidung und Verlängerung der Passagezeit (14, 29, 76, 124). Bei der Untersuchung des Cannabinoidsystems sind bestimmte Unterschiede in Bezug auf Wirksamkeit, Rezeptorverteilung und die endogene Aktivität in den einzelnen Spezies zu beachten (Details siehe Spezielle Diskussion).

4.5 Die Opioide

Die natürliche Herkunftspflanze der Opiate ist der Schlafmohn (*Papaver somniferum*), aus dessen unreifen Kapseln das sog. Rohopium gewonnen wird. Ursprünglich im östlichen Mittelmeergebiet beheimatet, gelangte der Schlafmohn über die Türkei und Persien vermutlich im 8. Jahrhundert nach Indien und China. Dementsprechend erstrecken sich die bedeutendsten Anbaugeländer heute vor allem von der Türkei über Iran, Indien, Afghanistan, Pakistan (Goldener Halbmond) bis hin zum Südosten Asiens (Goldenes Dreieck).

Die Geschichte des Schlafmohns als Heilmittel und Rauschdroge reicht vermutlich Jahrtausende zurück. So sollen sich bereits 4.000 v.Chr. die Sumerer und die Ägypter seine heilsame und berauschende Wirkung zunutze gemacht haben.

1806 gelang es dem deutschen Apotheker Friedrich Wilhelm Sertürner erstmals, den Hauptwirkstoff des Opiums zu isolieren. Er nannte das neue Alkaloid Morphin – nach dem griechischen Gott der Träume „Morpheus“. Nur wenige Jahre später kam Morphin "oder Morphinum" als stark wirkendes Schmerzmittel auf den Markt und wurde beispielsweise im deutsch-französischen Krieg 1870/71 bei der Behandlung von Verwundeten eingesetzt. Die Folge war, dass zahlreiche Patienten morphinabhängig wurden. Aber auch innerhalb des medizinischen Berufsstandes nahm in jener Zeit die Zahl der Morphinabhängigen rapide zu (91).

Klassische Entzugserscheinungen: Marihuana und Opioide im Vergleich

Marihuana:	Ruhelosigkeit, Reizbarkeit, Schlaflosigkeit, Übelkeit, Gemütsunruhe, Krämpfe, Veränderungen im Schlaf-EEG.
Opioide:	Ruhelosigkeit, Reizbarkeit, bedrückte Stimmungslage, Ängstlichkeit, Schlaflosigkeit, Übelkeit, Krämpfe, Muskelschmerzen, erhöhte Schmerzempfindlichkeit. Starkes Verlangen nach Opioiden (78).

Tabelle 10: Klassische Entzugserscheinungen: Marihuana und Opioide im Vergleich

Mit dem Ziel, ein ähnlich schmerzstillendes, nicht aber abhängigkeiterzeugendes Mittel zu schaffen, wurde 1874 erstmals das so genannte Diamorphin (3,5-Diacetylmorphin) synthetisiert. Knapp 25 Jahre später brachte es die Firma Bayer als Hustenmittel und Ersatzstoff für Morphin unter dem Namen Heroin auf den Markt. Allerdings stellte sich bald heraus, dass dieses Mittel nicht nur um ein Vielfaches stärker ist als Morphin, sondern auch ein noch wesentlich höheres Abhängigkeitspotenzial als dieses besitzt. Im Unterschied zu Großbritannien, wo Heroin gelegentlich noch zur Schmerzbehandlung krebserkrankter Patienten eingesetzt wird, darf es in Deutschland nicht mehr als Arzneimittel verwendet werden.

Morphium ist hauptsächlich für den analgetischen Effekt des Schlafmohns verantwortlich. Im Opium sind aber auch Codein und Methadon zu finden, die beide eine morphinartige Wirkung besitzen. Das Spasmolytikum Papaverin ist ebenfalls enthalten. Ein weiteres vielfach angewendetes Alkaloid des Opiums ist Codein, das v.a. wegen seiner hustenstillenden Wirkung bekannt ist.

Unter den Schmerzmitteln besitzt die Gruppe der Opiate und Opioide die stärkste schmerzstillende Wirkung. Im engeren Sinne werden als Opiate jene Mittel bezeichnet, deren Wirkstoffe aus den Alkaloiden des Opiums gewonnen werden. Bei den Opoiden handelt es sich um synthetische oder teilsynthetische Substanzen mit morphinähnlicher Wirkung, die jedoch in ihrer chemischen Struktur gänzlich verschieden sind.

Hierzu gehören das durch eine Acetylierung des Morphins entstehende Heroin, welches das erste teilsynthetische Opium war, sowie zahlreiche andere Substanzen, die als Arzneimittel für verschiedene therapeutische Zwecke eingesetzt werden. Dabei wird zwischen

- schwach bzw. mittelstarken wirksamen Opoiden:

z.B. Codein, Tramadol, Tilidin oder Dextropropoxyphen,

- stark wirksamen Opoiden:

Morphin, Fentanyl, Methadon

- und anderen morphinverwandten Substanzen:

wie z.B. Oxycodon oder Hydromorphon unterschieden.

Mit Ausnahme von Tramadol und der Kombination von Tilidin und Naloxon unterliegt die Verschreibung der Opiate und Opioide der Betäubungsmittelverordnung. Sie müssen auf besonderen Rezepten verordnet werden. Seit Anfang 1998 gilt dies auch für Codein, wenn es Drogenabhängigen verordnet wird (vgl. Lehrbücher der Pharmakologie).

4.5.1 Die Opioidrezeptoren

Um den analgetischen Effekt der Opiate zu erzielen, müssen strenge stereochemische und strukturelle Bedingungen erfüllt sein. Aufgrund dieser Tatsache ging man, wie auch bei den Cannabinoiden, von der Existenz spezifischer Opiatrezeptoren im menschlichen Körper aus (8).

Martin et al. (1967) zeigten, dass Nalorphin – ein synthetisches Opioid – den schmerzhemmenden Effekt von Morphin aufhob, aber gleichzeitig auch eine analgetische Wirkung besaß. Aus seinen Beobachtungen schloss er, dass es nicht nur einen, sondern mehrere Opioidrezeptoren geben muss, an denen die bekannten Analgetika eine unterschiedliche Wirkung entwickeln können.

Morphin erfüllt im Bezug auf Stereoselektivität, Sättigbarkeit und der Wirkung gegen Opioidantagonisten wie z.B. Naloxon alle Kriterien, die eine Substanz, welche an einen spezifischen Rezeptor binden soll, haben muss. 1973 gelang gleich drei Forschungsgruppen – u.a. mit Hilfe von radioaktiv-markiertem Morphin – der Nachweis spezifischer Bindungsstellen im Gehirngewebe und im Rückenmark von Ratten (120, 144, 154). Da Morphin die oben genannten Eigenschaften besitzt, ging man davon aus, dass es sich hierbei um Opiatrezeptoren handelte. Doch erst spätere neurophysiologische Beobachtungen bei Versuchen mit Hunden führten schließlich zu dem Ergebnis, dass es mehr als nur einen Rezeptor gibt (100).

Die heute übliche Unterteilung in drei Gruppen – μ -, κ - und δ -Rezeptoren – wurde 1979 ins Leben gerufen (18, 19, 20). Diese Nomenklatur basiert auf dem typischen Agonisten des jeweiligen Rezeptors bzw. dem Gewebe, an dem die Wirkung der Opioide getestet wurde: μ steht für den Agonisten Morphin, κ für Ketocyclazocin und δ für den Vas deferens der Maus.

1992 erfolgte erstmals die künstliche Synthese des δ -Opioid Rezeptors (39, 83). Anhand seiner Struktur konnten durch Analyse von cDNA 1993 der κ - und μ -Opioidrezeptor identifiziert werden (21, 160).

Meilensteine in der Opioidforschung

1973	Pert (120), Simon (145), Terenius (154)	Nachweis der Existenz eines spezifischen Opioidrezeptors
1975	Hughes et al. (71)	Entdeckung der ersten endogenen Liganden Met- und Leu-Enkephalin
1976	Li u. Chung (90)	Isolation von β -Endorphin
1992	Evans et al. (39), Kieffer et al. (83)	Erstmaliges Klonen des δ -Rezeptors
1993	Chen et al. (21), Yasuda et al. (160)	Erstmaliges Klonen des μ - und κ -Rezeptors
1997	Zadina et al. (162)	Entdeckung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2

Tabelle 11: Meilensteine der Opioidforschung

4.5.2 Lokalisation und Wirkung der Opioidrezeptoren

μ -, δ - und κ -Rezeptoren sind v.a. im limbischen System, in reizverarbeitenden und reizweiterleitenden Regionen, im extrapyramidal motorischen System und im kranialen Parasympathikus gefunden worden.

Das limbische System (u.a. Corpus amygdaloideum) ist die dem Hypothalamus direkt übergeordnete Zentrale des endokrinen und vegetativ-nervösen Regulationssystems. Es ist

wesentlich für emotionale Reaktionen, die affektive Tönung des Gesamtverhaltens und emotionale Reaktionen verantwortlich. Wahrscheinlich spielt es auch eine entscheidende Rolle bei der Gedächtnis- und Lernfunktion des Gehirns.

Die Basalganglien gehören zum extrapyramidal motorischen System. Mit Hilfe dieser Strukturen werden der Muskeltonus, unwillkürliche und koordinierte Bewegungen und die Körperhaltung reguliert. Neokortex und Kortex sind für die Koordination von Bewegungen mitverantwortlich.

Das periaquäduktale Grau zählt zu den zentralen Schaltstellen für absteigende inhibitorische Reize, die in das Rückenmark gelangen. Somit spielt es eine wichtige Rolle bei der analgetischen Wirkung der Opiode.

Das Diencephalon (Zwischenhirn) ist ein kleines Gebiet, das zwischen den beiden Großhirnhemisphären liegt. Es besteht aus Thalamus und Hypothalamus. Der Thalamus ist die zentrale Schaltstation sensibler Nervenbahnen, der Hypothalamus stellt ein lebenswichtiges Areal dar, welches die Körpertemperatur kontrolliert, für das Gefühlsleben verantwortlich ist und die Kontrolle über das vegetative Nervensystem besitzt.

Lokalisation der Opioidrezeptoren im zentralen Nervensystem:

- μ-Rezeptoren:

Diese Rezeptorengruppe ist im zentralen Nervensystem weit verbreitet. In den untersuchten Hirngeweben von Maus und Ratte sind die μ-Rezeptoren meist präsynaptisch nachweisbar, sie kommen manchmal aber auch postsynaptisch vor. μ-Rezeptoren findet man v.a. im frontalen Kortex, in den Schichten I, IV und VI des Neokortex, in den Laminae I und II des Rückenmarks sowie im Kleinhirn. Auch in den Basalganglien (v.a. in Striatum und Pallidum), im medialen Thalamus, im Hypothalamus, im Bereich der periaquäduktalen grauen Substanz und im Corpus amygdaloideum ist die μ-Rezeptoren-Dichte sehr hoch. (36, 106, 107, 108).

- δ-Rezeptoren:

Diese Rezeptoren konnten in allen Schichten des Neokortex, im Striatum, in den basalen,

lateralen und kortikalen Kernen des Corpus amygdaloideum (Limbisches System) sowie im Rückenmark nachgewiesen werden (107).

- κ -Rezeptoren:

Die höchste Dichte an κ -Rezeptoren im zentralen Nervensystem wurde im Thalamus, im frontalen Kortex und im Nucleus caudatus (Basalganglien) nachgewiesen (106).

Lokalisation der Opioidrezeptoren in der Körperperipherie:

Peripher konnten alle drei Rezeptorgruppen im enterischen Nervensystem nachgewiesen werden. Die μ - und κ -Rezeptoren sind im myenterischen Plexus, der δ -Rezeptor im myenterischen und im submukösen Plexus lokalisiert (20, 117).

Die μ -, κ - und δ -Rezeptoren zählen zur Gruppe der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (siehe 4.2.1). Die Aktivierung dieser Rezeptoren durch Opioide hat unter anderem eine Inhibition der Adenylatzyklase, der spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanäle und die Hyperpolarisation der Nervenzellen zur Folge. Je nach Nervenlokalisierung kann sich dies als dämpfende oder erregende Wirkung bemerkbar machen.

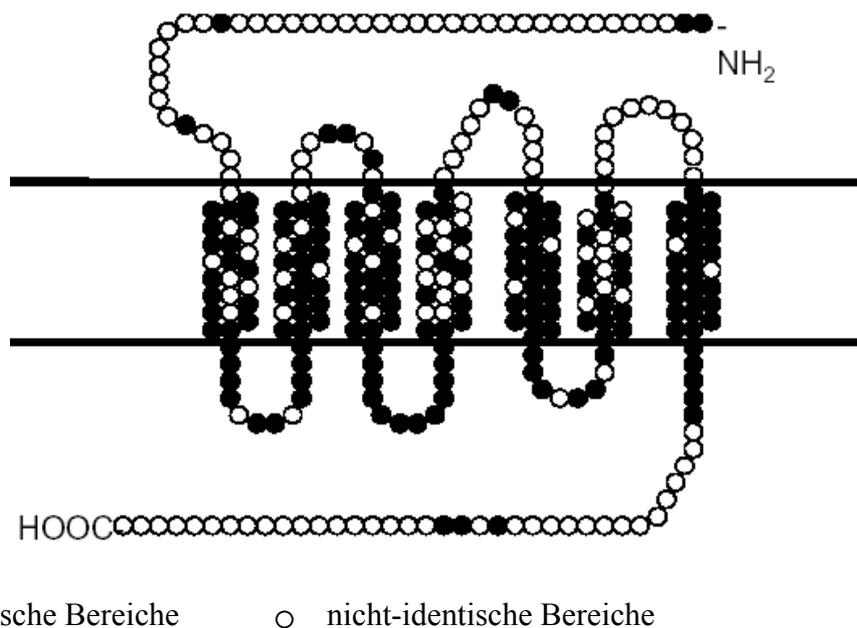


Abb. 22: Darstellung der identischen und nicht-identischen Bereiche der unterschiedlichen Opioidrezeptoren (μ , κ , δ)

In erster Linie wirken die Opioide in unterschiedlichem Ausmaß analgetisch. Beschränkende Faktoren bei der Gabe dieser Wirkstoffe sind die Gefahr der körperlichen Abhängigkeit sowie – im Falle einer Überdosis – Atemdepression und Koma. Weitere bekannte Folgen einer Rezeptoraktivierung sind Euphorie, Sedation und eine veränderte Wahrnehmung.

Morphin stimuliert den Nucleus Edinger-Westphal des Nervus oculomotorius und provoziert so eine parasympathische Stimulation des Auges. Die Folge ist eine deutliche Miosis der Pupille. Diagnostisch spielt dies v.a. bei komatösen Patienten eine Rolle, da die meisten Ursachen für eine Atemdepression bzw. für ein Koma eine Dilatation der Pupille bewirken.

Im kardiovaskulären System bewirken die Opioide eine Senkung des arteriellen Blutdrucks (30). Morphin hat auch Einfluss auf die Histaminausschüttung. So kann es eine Urtikaria, starkes Schwitzen, Vasodilatation und eine Bronchokonstriktion verursachen. Aufgrund der bronchokonstriktorisches Wirkung sollte es nie Patienten mit Asthma verschrieben werden. Über die zentralen und peripheren Rezeptoren hemmen die Opioide die Motilität im Gastrointestinaltrakt. Diesen Effekt kann man sich z.B. bei der Behandlung von Diarrhö zunutze machen.

4.5.3 Die endogenen Opioide

Nach dem erfolgten Nachweis von Opioidrezeptoren in unterschiedlichen Spezies wurde nach passenden endogenen Liganden gesucht. Die endogenen Opioide wurden schließlich 1975 entdeckt (71). Zu ihnen gehören die Enkephaline, die Endorphine und die Dynorphine. Es handelt sich um Peptide, die aus den Vorstufen Proenkephalin, Proopiomelanocortin und Prodynorphin abgespalten werden und alle die Aminosäuresequenz der Pentapeptide Met- und Leu-Enkephalin enthalten. Auch Endomorphin-1 und Endomorphin-2 zählen zur Gruppe der endogenen Opioide. Sie besitzen jedoch keinerlei strukturelle Ähnlichkeit mit den Enkephalinen, Endorphinen oder Dynorphinen.

Endogene Opioide spielen u.a. eine Rolle bei der Regulation der Körpertemperatur, Kontrolle der hypophysären Inkretion, der Steuerung von Antrieb und Verhalten, Hemmung der Darmmotilität (156) und sie beeinflussen die kardiovaskulären Funktionen (41, 65, 82).

- Die Enkephaline

Hughes et al. beschrieben erstmals ein aus den Gehirnen von Hasen, Ratten, Meerschweinchen und Schweinen gewonnenes Peptid. Ihrer Neuentdeckung gaben die Forscher den Namen „Enkephalin“. Mit Hilfe dieser neuen Substanz war man in der Lage neuronal vermittelte Kontraktionen am Vas deferens der Maus und im myenterischen Plexus von Meerschweinchen zu unterdrücken. Dieser Effekt konnte durch den Opioidagonisten Naloxon wieder aufgehoben werden. Die höchsten Konzentrationen dieses neuen Peptids wurden im Striatum, im Thalamus, der Pons und in der Medulla gefunden. Dieses Verbreitungsmuster korreliert weitestgehend mit dem der Opioidrezeptoren im Gehirn (64, 87).

Neben ihrer zentralen Lokalisation wurden Enkephaline im myenterischen Plexus von Duodenum und Kolon sowie den endokrinen Zellen des Gastrointestinaltrakts und des Pankreas nachgewiesen (67, 126).

Je nach Zusammensetzung unterscheidet man zwei Pentapeptide: Met-Enkephalin und Leu-Enkephalin. Sie entstehen beide aus dem Precursor Proenkephalin. Met- und Leu-Enkephalin binden mit einer zehnmal höheren Affinität an den δ -Rezeptor als an den μ -Rezeptor. Ihre Bindungsfähigkeit am κ -Rezeptor ist vernachlässigbar (25).

- β -Endorphin

Bei der Isolation von Melanotropinen aus der Hypophyse von Kamelen wurde ein neues, 31 Aminosäuren langes Peptid entdeckt, welches nachweislich die Wirkung von Opioiden besaß (90). Die genaue Strukturanalyse dieses Peptids zeigte, dass es das endogene Opioid Met-Enkephalin sowie Anteile von β -Lipotropin (Vorstufe von β -Melanotropin) enthält. Die neue Aminosäuresequenz wurde erfolgreich synthetisiert und als β -Endorphin bezeichnet (93).

β -Endorphin wurde nicht nur in der Hypophyse unterschiedlicher Spezies gefunden, es konnte auch peripher in den gastrinbildenden Zellen von Antrum und Pylorus, sowie im Dünndarm der Ratte nachgewiesen werden (118).

Diese Gruppe der endogenen Opioiden bindet mit etwa gleicher Affinität an μ - und δ -

Rezeptoren, die Bindungsstärke am κ -Rezeptor ist eher gering (2, 52). Abhängig von der Art der Administration (intracerebral bzw. intraventrikulär) konnten bei unterschiedlichen Spezies (Ratten bzw. Katzen) für β -Endorphin ein 18–200 Mal stärkerer analgetischer Effekt als für Morphin nachgewiesen werden (40).

- Dynorphin

Dynorphin ist ein endogenes Opioid aus 17 Aminosäuren, das aus dem Vorläufermolekül Prodynorphin gebildet wird. Sein Name leitet sich von dem griechischen Wort „dynamis“ ab, was übersetzt „Protein“ bedeutet.

Es kommt v.a. im Gehirn (u.a. Hypothalamus, Hypophyse, Medulla oblongata) vor, man findet Dynorphin aber auch im Rückenmark, im sympathischen Nervensystem, im Gastrointestinaltrakt und im Nebennierenmark.

Dynorphin gleicht in seinem strukturellen Aufbau dem Leu-Enkephalin. Es besitzt eine sehr hohe Affinität zu den κ -Rezeptoren, über welche es seine stark nociceptiven Eigenschaften entfaltet (20).

- Die Endomorphine

Erst 1997 wurden zwei neue endogene Opiode, Endomorphin-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) und Endomorphin-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂), zeitgleich aus dem Gehirn von Rindern (162) und Menschen (58) isoliert. Es handelt sich dabei um Tetrapeptide, die mit 4000–15 000 mal höherer Selektivität an den μ -Rezeptor als an den κ -Rezeptor binden. Aus diesem Grund werden Endomorphin-1 und Endomorphin-2 als die endogenen Liganden der μ -Rezeptoren bezeichnet (162). Strukturell besitzen sie keinerlei Ähnlichkeit mit den anderen endogenen Opioiden und der entsprechende Precursor, aus dem die beiden Endomorphine entstehen, ist bisher nicht bekannt.

Endomorphin-1 und Endomorphin-2 besitzen eine analgetische Wirkung in der Ratte (162), nach i.v.-Injektion senken sie den systemischen arteriellen Blutdruck (Ratte) (30), sie hemmen die Acetylcholinfreisetzung im myenterischen Plexus des Ileums von Meerschweinchen und haben so eine inhibitorische Wirkung auf die Darmmotilität (Meerschweinchen) (156). Am Ösophagus der Ratte verringern die Endomorphine die Aktivität der glatten und der quergestreiften Muskulatur (146, 147).

5 Spezielle Diskussion

5.1 Die Cannabinoide

5.1.1 Direkter Einfluss auf die glatte Muskelzelle

Die Basalaktivität der Muskulatur unter Versuchsbedingungen zeigt ein typisches wellenförmiges Muster, bei dem sich Kontraktionen und Relaxationen abwechseln. In den hier beschriebenen Versuchen wurde der Einfluss der Cannabinoid-Agonisten WIN 55,212-2, Anandamid, Methanandamid und des CB₁-Antagonisten AM 630 auf den basalen Muskeltonus untersucht.

Die Existenz von CB₁-Rezeptoren konnte mit Hilfe radioaktiv markierter Liganden und immunhistochemischen Untersuchungen im enterischen Nervensystem des Verdauungstrakts von z.B. Meerschweinchen (132) und Schweinen (88) nachgewiesen werden. Ein Nachweis für die Existenz von CB₁-Rezeptoren direkt auf den glatten Muskelzellen des Magen-Darm-Trakts wurde bisher noch nicht erbracht.

Dies passt sehr gut zu den Ergebnissen unserer Versuche, bei denen die eingesetzten Cannabinoide WIN 55,212-2 (10^{-10} – 10^{-5}), Anandamid (10^{-10} – 10^{-5}), Methanandamid (10^{-10} – 10^{-5}) und der CB₁-Rezeptor-Antagonisten AM 630 (10^{-10} – 10^{-5}) keine Wirkung auf Basaltonus, Basalaktivität oder die pharmakologisch stimulierte glatte Muskelzelle hatte. Aus diesen Daten lässt sich folgern, dass es – wie bei den Opioiden auch – funktionell keinen Hinweis für Cannabinoidrezeptoren an postsynaptischen muskulären Strukturen gibt.

5.1.2 Wirkung auf die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur

Serotonin bzw. 5-Hydroxytryptamin ist ein biogenes Amin, das in den enterochromaffinen Zellen des Darmepithels synthetisiert wird. Auch in den Nervenzellen des Plexus myentericus und im zentralen Nervensystem wird Serotonin gebildet. Hier übernimmt es die Aufgaben eines Botenstoffes (Transmitter). Über spezifische präsynaptische 5-HT-Rezeptoren erhöht es u.a. auch die Ausschüttung von Acetylcholin. Die Folge einer Rezeptoraktivierung im Magen-Darm-Trakt ist z.B. eine Verstärkung der Motilität und der Flüssigkeitssekretion.

Carbachol kann alle Zellen, die muskarinerge Rezeptoren besitzen beeinflussen.

Die Substanz zählt zu den direkten Parasympathikomimetika, d.h. Carbachol wirkt direkt am Muskarinrezeptor und wird nicht von der Acetylcholinesterase gespalten und abgebaut. Seine Wirkung im Gastrointestinaltrakt entfaltet es direkt an den glatten Muskelzellen. Wie Serotonin steigert dieses direkte Parasympathomimetikum den Tonus, die Peristaltik und die Sekretion im Magen-Darm-Trakt.

Gibt man Serotonin bzw. Carbachol in das Organbad, bewirken beide eine deutliche Kontraktion der glatten Muskelzellen, die nach 1–1,5 Minuten (Serotonin 10^{-7}M) bzw. 30–60 Sekunden (Carbachol 10^{-6}M) in ein Plateau übergeht. Bei Serotonin bleibt das Plateau etwa 30 Minuten, bei Carbachol ca. 15 Minuten stabil. In der vorliegenden Arbeit wurde der Effekt der bereits unter 5.1. genannten Cannabinoide sowie des jeweiligen Antagonisten untersucht.

In unseren Versuchen hatten WIN 55,212-2 (10^{-10} – 10^{-5}), Anandamid (10^{-10} – 10^{-5}), Methanandamid (10^{-10} – 10^{-5}) und AM 630 (10^{-10} – 10^{-5}) keinerlei Effekt auf die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Cannabinoide nicht in der Lage sind, über Mechanismen direkt an der Muskelzelle Einfluss auf die Kontraktionsfähigkeit der pharmakologisch vorstimulierten Muskulatur nehmen können. Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Arbeiten überein. Bei diesen Untersuchungen wurde das Ileum von Meerschweinchen mit Acetylcholin, Carbachol, Substanz P oder Histamin vorbehandelt. Alle genannten Substanzen wirken direkt an der glatten Muskelzelle und führen zur Kontraktion der Muskulatur. Cannabinoide wie Δ^9 -THC, WIN 55,212-2 oder Anandamid hatten keinen hemmenden oder stimulierenden Einfluss auf die Kontraktionsfähigkeit des derart vorbehandelten Meerschweinchenileums (28, 29, 73, 133, 134, 135).

5.1.3 Einfluss auf die elektrisch induzierte Kontraktion

Die elektrische Feldstimulation (10 Sek./min.; 40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer) der glatten Muskelzellen des Magenfundus im Nativzustand – ohne Vorstimulation und pharmakologische Blocker – bewirkt eine Kontraktion. Da die Kontraktion durch die Inkubation von Atropin (10^{-6}) oder TTX (10^{-6}) im Organbad blockiert werden kann, ist sie cholinerg und neuronal vermittelt.

Atropin stammt aus Nachtschattengewächsen wie der Tollkirsche oder dem Stechapfel. Es antagonisiert die muskarinerge Wirkung von Acetylcholin und zählt deshalb zu den Parasympathikolytika. Es bewirkt u.a. eine Spasmyse im Mastdarm und hemmt die Peristaltik in Magen und Darm.

Bei Tetrodotoxin (TTX) handelt es sich um das Nervengift des japanischen Kugelfisches. Auch in der Haut und in den Eiern kalifornischer Molche wurde Tetrodotoxin gefunden. Es blockiert selektiv spannungsabhängige Natriumkanäle und auch den spannungsabhängigen Natriumtransport durch die Zellmembran. Die Folgen einer Vergiftung sind motorische und sensible Lähmungen. Die Letaldosis liegt bei 10 µg/kg Körpergewicht.

Durch die Zugabe des endogenen CB₁-Agonisten Anandamid (10^{-10} – 10^{-5}) konnte die Kontraktionsantwort konzentrationsabhängig vermindert werden. Dieser Effekt ließ sich mit Hilfe des Antagonisten AM 630 (10^{-5}) signifikant antagonisieren, er war aber nicht in der Lage die Wirkung von Anandamid vollständig zu blockieren. Dies ist wahrscheinlich dadurch zu begründen, dass Agonist und Antagonist in äquimolarer Konzentration verwendet wurden. Für eine komplette Blockade wäre eine über 10x höhere Konzentration des Antagonisten bei gleicher Affinität notwendig.

Auch bei den Versuchen mit dem synthetischen CB₁-Agonisten WIN 55,212-2 (10^{-10} – 10^{-5}) konnte die konzentrationsabhängige Abschwächung der Kontraktionsfähigkeit gezeigt werden. WIN 55,212-2 war im Vergleich zu Anandamid sogar ein noch stärkerer Inhibitor. Im Gegensatz zu Anandamid konnte die hemmende Wirkung von WIN 55,212-2 nicht durch AM 630 (10^{-5}) antagonisiert werden.

Der synthetische CB₁-Agonist Methanandamid (10^{-10} – 10^{-5}) war in der Lage, die elektrisch induzierten Kontraktionen sogar noch zu verstärken, allerdings erreichte seine Wirkung nicht das Signifikanzniveau. Wie schon bei WIN 55,212-2 hatte der Antagonist AM 630 (10^{-5}) weder einen verstärkenden noch einen hemmenden Einfluss auf die beobachtete Wirkung von Methanandamid. Bisher ist ungeklärt, warum Methanandamid den beschriebenen Effekt besitzt. Im Einklang mit anderen Untersuchungen ist davon auszugehen, dass WIN 55,212-2 wegen seiner hohen Potenz durch den zu schwachen AM 630 nicht antagonisiert werden kann. Die Beteiligung eines weiteren Rezeptors kann aber derzeit nicht ausgeschlossen werden.

Das enterische Nervensystem der unterschiedlichsten Spezies enthält Cannabinoidrezeptoren. So konnten z.B. durch spezifische Marker CB₁-Rezeptoren auf den cholinergen Neuronen

im Gastrointestinaltrakt von Schweinen nachgewiesen werden (88). Mit Hilfe der PCR wurde CB₁ mRNA im Magen und Kolon des Menschen gefunden (29, 143) und auch im menschlichen Ileum befinden sich CB₁-Rezeptoren (29).

Durch das Verfahren der Polymerase-Kettenreaktion wurde der Nachweis von CB₁ mRNA im myenterischen Plexus von Meerschweinchen und im Gastrointestinaltrakt von Rattenembryos erbracht. Über diese CB₁-Rezeptoren beeinflussen die entsprechenden Cannabinoidagonisten die gastrointestinale Tätigkeit *in vivo* und *in vitro*.

Unsere Beobachtung, dass WIN 55,212-2 und Anandamid hemmend auf die Kontraktionsfähigkeit bei elektrischer Induktion wirken, stimmt mit den Ergebnissen anderer Gruppen überein. So ergaben elektrophysiologische Untersuchungen an myenterischen Neuronen (92), dass WIN 55,212-2 und der synthetische CB₁-Agonist CP 55,940 die schnellen exzitatorischen Potenziale (Transmitter Acetylcholin) an den Synapsen verringern und WIN 55,212-2 zusätzlich auch negativ auf die langsamen erregenden Potenziale (Transmitter NO) wirkt. Der in jedem der oben beschriebenen Experimente eingesetzte CB₁-Antagonist SR 141716A war in der Lage die Effekte der Cannabinoide zu blocken. Bei alleiniger Gabe von SR 141716A wurde außerdem ein Anstieg der cholinergen vermittelten Kontraktionen beschrieben (73). SR 141716A erhöhte auch die Acetylcholinausschüttung in den enterischen Neuronen (28). Dieser Effekt von SR 141716A wurde in unseren Experimenten nicht beobachtet.

Pertwee et al. (124) beschrieben u.a. die Wirksamkeit von WIN 55,212-2, CP 55,940 und SR 141716A auf das Ileum beim Meerschweinchen. Bis auf den CB₁-Antagonisten SR 141716A konnten die Cannabinoide die elektrisch induzierten Kontraktionen reduzieren. In einer zusätzlichen Versuchsreihe mit CP 55,940 wurde nachgewiesen, dass es die Acetylcholinausschüttung während der durch die EFS hervorgerufenen Kontraktionen herabsetzt.

Auch im menschlichen Ileum konnten präsynaptische CB₁-Rezeptoren nachgewiesen werden. Bei deren Aktivierung durch WIN 55,212-2 war ebenfalls eine Hemmung der durch die elektrische Feldstimulation induzierten Kontraktionen zu verzeichnen. Durch SR 141716A wurde diesen Effekt antagonisiert, es hatte aber im Gegensatz zu den Beobachtungen am Ileum von Mäusen und Ratten bei alleiniger Gabe keinen Einfluss auf die Kontraktionsantwort (29).

Um den Einfluss der Cannabinoide auf einzelne Parameter der Peristaltik des Ileums genauer erklären zu können, untersuchten Izzo et al. (76) die Wirkung von WIN 55,212-2 am Meerschweinchendarm.

Durch ein bestimmtes Volumen im Darm wird durch die Dehnung der Darmwand ein definierter Schwellenwert überschritten und der peristaltische Reflex ausgelöst, die longitudinale Muskulatur kontrahiert. WIN 55,212-2 erhöhte das benötigte Volumen und die Druckschwelle, während die Kontraktionsfähigkeit der longitudinalen Muskulatur abnahm (76). Bei der Maus führte die Aktivierung der CB₁-Rezeptoren *in vivo* durch WIN 55,212-2 zur Verminderung der Ausscheidung und zur Verlangsamung der Passage im oberen Gastrointestinaltrakt (29). Auch der endogene Agonist Anandamid senkt *in vivo* die intestinale Transitzeit (14). Bei der Ratte konnte kein Einfluss von WIN 55,212-2 oder CP 55,940 auf die Defaecation nachgewiesen werden, ansonsten war die Wirkung identisch mit der am Ileum der Maus (75). Auch in diesen Versuchen war SR 141716A als Antagonist erfolgreich und konnte bei alleiniger Gabe die gastrointestinale Motilität sogar erhöhen.

Krowicki et al. (86) zeigten, dass die i.v.-Gabe von Δ^9 -THC bei Ratten eine langanhaltende Verminderung des intragastralen Druckes und der Kontraktilität des Pylorus zur Folge hat. Izzo et al. (74) beobachteten die Wirkung von WIN 55,212-2 und Cannabinol auf die Magenentleerung bei Ratten und wiesen nach, dass beide einen inhibitorischen Effekt besitzen. Bei beiden Untersuchungen konnten die beobachteten Auswirkungen durch den CB₁-Antagonisten SR 141716A antagonisiert werden, SR 141716A alleine hatte keinen Einfluss auf die Magenentleerung.

Dass der CB₁-Antagonist AM 630 die hemmende Wirkung von Anandamid aufheben kann, aber bei alleiniger Gabe selbst eine Reduktion der Kontraktionsfähigkeit der einzelnen Muskelstreifen hervorruft, stimmt mit den Untersuchungen von Pertwee et al. überein (124). Abhängig vom untersuchten Gewebe, konnten sie eine unterschiedliche Wirkungen der Substanz beobachten. Im Vas deferens der Maus verminderte AM 630 die hemmende Wirkung von WIN 55,212-2 (122). Später stellten sie fest, dass AM 630 alleine im myenterischen Plexus von Meerschweinchen die elektrisch induzierten Kontraktionen verminderte, gleichzeitig aber auch die hemmende Wirkung von WIN 55,212-2 antagonisierte. Der Beweis, dass es sich bei AM 630 um einen inversen Agonisten handelt, wurde schließlich von Landsman et al. erbracht (89). Ein inverser Agonist beeinflusst durch Interaktion mit dem Rezeptor die Zellfunktion in entgegengesetzter Art und Weise wie ein

„normaler“ Agonist. Seine Wirkung kann ebenfalls durch entsprechende Antagonisten aufgehoben werden.

Auch SR 141716A wirkt bei alleiniger Gabe reduzierend auf die Kontraktionsfähigkeit bzw. hemmt die Wirkung exogener und endogener Agonisten. Es antagonisiert auch den cannabomimetischen Effekt von AM 630 (129). Daher zählt man SR 141716A zu den selektiven Antagonisten/inversen Agonisten.

Der Effekt von AM 630 und SR 141716A hängt womöglich mit einer Untergruppe von CB₁-Rezeptoren zusammen, die mit unterschiedlichen intrazellulären Mechanismen ausgestattet sind. Möglicherweise lässt sich dieser Effekt auch anhand der unterschiedlichen Verteilung von Rezeptoruntergruppen erklären, an denen die einzelnen Substanzen ihre Wirkung unterschiedlich entfalten können. Als ein Beispiel für diese Erklärung ist das Opioid β -Flunaltrexamin zu erwähnen, welches am κ -Opioidrezeptor als Agonist und am μ -Opioidrezeptor als Antagonist wirkt (158, 159).

Methanandamid zeigte in unseren Untersuchungen keinen signifikanten Effekt. Dies mag damit zusammenhängen, dass Methanandamid als ohnehin schwacher Agonist, nicht potent genug ist an unserem Aufbau eine Wirkung zu entfalten. Es kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass Methanandamid nicht in der Lage ist, im notwendigen Maß in das Gewebe zu penetrieren und somit den Wirkort nicht in ausreichender Menge erreicht.

5.1.4 Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation

Die nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Nerven verlaufen v.a. im Plexus myentericus und submucosus und bilden dort einen Bestandteil des enterischen Nervensystems. Sie vermitteln den größten Anteil an inhibitorischen Signalen im Gastrointestinaltrakt, wie z.B. die Relaxation des unteren Ösophagussphinkters nach dem Schlucken (53), die für die Nahrungsaufnahme wichtige Magenentspannung (1) und die absteigende Inhibition des peristaltischen Reflexes (55). Ihre wichtigsten Überträgerstoffe sind das vasoaktive intestinale Polypeptid (VIP), PACAP (Pituitary Adenylatcyclase activating Peptide), ATP und NO.

Bei der Untersuchung der nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Übertragungswege nach dem unter 2.3.2 beschriebenen Schema konnten wir einen signifikanten Einfluss der Cannabinoide auf die elektrisch induzierte Relaxation des präkontrahierten Magenfundus feststellen.

Anandamid (10^{-10} – 10^{-5}) und WIN 55,212-2 (10^{-10} – 10^{-5}) verminderten beide konzentrationsabhängig die inhibitorische Antwort auf die einzelnen elektrischen Stimulationen. Durch den CB₁-Antagonisten AM 630 (10^{-5}) konnte zwar signifikant der Effekt von Anandamid, nicht aber der von WIN 55,212-2 aufgehoben werden. Im Einklang mit den Versuchen auf die elektrisch induzierte Kontraktion und anderen Untersuchungen ist davon auszugehen, dass WIN 55,212-2 wegen seiner hohen Affinität durch den zu schwachen AM 630 nicht antagonisiert werden kann. Die Beteiligung eines weiteren Rezeptors kann aber derzeit nicht ausgeschlossen werden.

Beim Einsatz von Methanandamid (10^{-10} – 10^{-5}) wurde keinerlei signifikante Veränderung der Relaxation am Magenfundus beobachtet. Die mögliche Limitation beim Einsatz von Methanandamid wurde bereits unter 5.3.1 diskutiert.

Die alleinige Gabe von AM 630 (10^{-10} – 10^{-5}) hatte allerdings die Steigerung der nicht-adrenergen, nicht-cholineren Inhibition zur Folge. Diese Tatsache legt nahe, dass das endogene Cannabinoidsystem auf die Regulation der Inhibition am Magenfundus Einfluss hat und endogene Cannabinoide wie das Anandamid einen permanent hemmenden Einfluss auf die NANC-Inhibition ausüben. Dass die Wirkung von WIN 55,212-2 durch den Antagonisten nicht erfolgreich aufgehoben wurde, weist vielleicht auf die Existenz weiterer CB₁-Rezeptor-Subtypen hin.

In anderen Studien über die Wirkung von Cannabinoiden auf die nicht-adrenerge, nicht-cholinerge Transmission am Ileum von Meerschweinchen, wurde der hemmende Effekt von WIN 55,212-2 und Anandamid auf diese Art der Kontraktionsantwort ebenfalls nachgewiesen (73). In diesem Fall konnte der CB₁-Antagonist SR 141716A erfolgreich die Wirkung beider Cannabinoide aufheben. Bei alleiniger Gabe von SR 141716A wurde außerdem ein Anstieg der NANC-vermittelten Kontraktionen beschrieben.

Wirkung der Cannabinoide am Gastrointestinaltrakt

- Magen**
- Hemmung der elektrisch induzierten cholinerg vermittelten Kontraktionen durch die CB₁-Agonisten Anandamid und WIN 55,212-2 (vgl. vorliegende Arbeit)
 - Hemmung der durch EFS ausgelösten Relaxation durch Anandamid und WIN 55,212-2 unter NANC-Bedingungen (vgl. vorliegende Arbeit)

- Ileum**
- Reduktion der elektrisch induzierten Kontraktionen am Ileum von Meerschweinchen durch WIN 55,212-2 und CP 55,940 (124)
 - Reduktion der elektrisch induzierten Kontraktionen am menschlichen Ileum (29)
- Kolon**
- Verminderung der peristaltischen Aktivität im Kolon von Mäusen durch WIN 55,212-2
- Peristaltischer Reflex**
- WIN 55,212-2 erhöht das benötigte Volumen und die Druckschwelle, die benötigt wird, um den peristaltischen Reflex auszulösen (Meerschweinchen). Gleichzeitig nimmt die Kontraktionsfähigkeit der longitudinalen Muskulatur ab. (76)
 - *in vivo* senken WIN 55,212-2 und Anandamid die Ausscheidung durch die Verminderung der intestinalen Transitzeit bei der Maus (29)
 - WIN 55,212-2 wirkt inhibitorisch auf die Magenentleerung bei Ratten (74)
-

Tabelle 12: Wirkung der Cannabinoide am Gastrointestinaltrakt

5.2 Die Opioid

5.2.1 Direkter Einfluss der Opioid

In unseren Versuchen wurde die Wirkung der beiden μ -Rezeptoragonisten Endomorphin-1 und Endomorphin-2 sowie des μ -Antagonisten CTOP auf den basalen Muskeltonus untersucht.

Schon 1985 beschrieben verschiedene Forschungsgruppen ein direkter Einfluss von μ -Agonisten auf die glatte Muskelzelle im Darm von Hunden und Meerschweinchen (9, 43). Bei den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen am Ileum bzw. am

Magenfundus der Ratte konnte allerdings keine direkte Wirkung von Endomorphin-1 (10^{-10} – 10^{-5}) und Endomorphin-2 (10^{-10} – 10^{-5}) auf die glatte Muskelzelle nachgewiesen werden. Der μ -Rezeptor-Antagonist CTOP (10^{-10} – 10^{-5}) hatte ebenfalls keinen direkten Effekt auf die spontane Kontraktion. Dieses Ergebnis ist im Einklang mit anderen Studien, in denen die untersuchten Opioide keinen Einfluss auf das Ruhepotenzial der Membranen glatter Muskelzellen im Darm von Hunden hatten (6). Unterstützt werden diese Resultate durch die Tatsache, dass in Versuchen mit radioaktiv markierten Liganden zwar Opioidrezeptoren im Nervengewebe, nicht aber auf den glatten Muskelzellen im Darm von Hunden nachgewiesen werden konnten (3).

5.2.2 Einfluss auf die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur

Gibt man Serotonin bzw. Carbachol in das Organbad, bewirken beide eine deutliche Kontraktion der glatten Muskelzellen, die nach 1–1,5 Minuten (Serotonin 10^{-7} M) bzw. 30–60 Sekunden (Carbachol 10^{-6} M) in ein Plateau übergeht. Bei Serotonin bleibt das Plateau etwa 30 Minuten, bei Carbachol ca. 15 Minuten stabil (vgl. 5.1.2).

In den Konzentrationen 10^{-10} – 10^{-5} hatten weder die μ -Agonisten Endomorphin-1, Endomorphin-2 noch der Antagonist CTOP Einfluss auf dieses Kontraktionsplateau.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Opioide nicht in der Lage sind, über Mechanismen direkt an der Muskelzelle Einfluss auf die Kontraktionsfähigkeit der pharmakologisch vorstimulierten Muskulatur nehmen können. Sie untermauern die These, dass μ -Opiatrezeptoren nicht postsynaptisch auf der Muskelzelle lokalisiert sind.

5.2.3 Einfluss auf die elektrisch induzierte Kontraktion

Exogene und endogene Opioide spielen eine wichtige Rolle bei der physiologischen Kontrolle der Motilität im Magen-Darm-Bereich. Dabei ist der Effekt der Substanzen abhängig von der Administration (intracerebroventrikulär i.c.v., intrathekal i.t., intravenös i.v., subkutan s.c.), der Affinität der Opioide zu den einzelnen Rezeptoren, den verwendeten Spezies und den untersuchten Magen-Darm-Abschnitten. Die Opioide gelten als Neuromodulatoren, die präsynaptisch auf NANC-Neuronen hemmend auf die Freisetzung inhibitorischer Transmitterstoffe (z.B. NO) oder auf cholinergen Neuronen hemmend auf die Freisetzung exzitatorischer Stoffe (z.B. Acetylcholin, Substanz P) wirken können (5, 69, 70).

Der Beweis für die Existenz von zentralen Opioidrezeptoren wurde schon 1954 von Margolin et al. (98) erbracht. Dabei verlangsamte die subdurale Injektion von Morphindosen, die deutlich kleiner waren als effektive i.v.-Konzentrationen, die intestinale Transitzeit bei Mäusen. Nach der intraarteriellen Administration von Morphin kommt es zu verstärkten Kontraktionen im Pylorus und zur Magenentspannung – die Folge ist eine verlangsamte Magenentleerung (38). Heute weiß man, dass Morphin hauptsächlich an μ -Rezeptoren wirkt. Später durchgeführte pharmakologische Studien konnten den Effekt von μ -Agonisten auf die Motilität in vivo und in vitro (4, 115, 127), auf die Freisetzung von Neurotransmittern (26, 115) und den peristaltischen Reflex nachweisen (4). Schließlich erbrachte die neue Generation an μ -Rezeptor-knockout Mäusen den entgeltigen Beweis für den Einfluss von μ -Rezeptoren auf die Verlangsamung der gastrointestinalen Passage (136).

Bei Ratten und Mäusen hat die i.c.v.-, i.t.- und s.c.-Injektion von μ -Agonisten die Inhibition des motorischen Antriebs im Gastrointestinaltrakt und im Kolon zur Folge. Diese Opioid-vermittelte Hemmung des intestinalen Transits wird also durch μ -Rezeptoren im Gehirn, im Rückenmark und in der Peripherie übertragen (13).

Endomorphin-1 (10^{-10} – 10^{-5}) und Endomorphin-2 (10^{-10} – 10^{-5}) hemmten in unseren Untersuchungen ebenfalls konzentrationsabhängig die durch elektrische Feldstimulation hervorgerufenen cholinerg vermittelten Kontraktionen. Endomorphin-2 war in seiner Wirkung aber niedriger potent als Endomorphin-1. Durch den μ -Antagonisten CTOP (10^{-5}) konnte dieser Effekt wieder aufgehoben werden. Die inhibitorische Wirkung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 wird demnach durch μ -Rezeptoren vermittelt.

Zu diesem Ergebnis kommen auch Tonini et al. (156), die den Einfluss der beiden endogenen Opioide auf das Meerschweinchenileum untersuchten. Dabei wurde die Kontraktionsantwort auf die elektrische Feldstimulation durch Endomorphin-1 und Endomorphin-2 konzentrationsabhängig bis hin zum völligen Verschwinden gehemmt. Bei unseren Versuchen konnte die Kontraktion nur bis zu 2/3 aufgehoben werden. Dies kann an den unterschiedlichen Spezies oder den untersuchten Abschnitten des Magen-Darm-Trakts liegen. Es ist bekannt, dass die Aktivierung des μ -Rezeptors eine Verminderung der Acetylcholinausschüttung zur Folge hat (116, 161). Auf die durch exogen zugeführtes Carbachol ausgelösten Kontraktionen haben Endomorphin-1 und Endomorphin-2 aber keinen Einfluss. Daher ist der involvierte μ -Rezeptor vermutlich präsynaptisch lokalisiert. Im

Einklang damit gibt es Hinweise aus anderen Systemen, dass an der Verminderung der Acetylcholinfreisetzung ein präsynaptischer μ -Rezeptor beteiligt ist (116).

5.2.4 Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation

Endomorphin-1 und Endomorphin-2 verursachten beide eine konzentrationsabhängige (10^{-10}M – 10^{-5}M) Reduktion der elektrisch induzierten Relaxation des präkontrahierten Muskelstreifens, wobei die Wirkung von Endomorphin-1 deutlich stärker war, als die von Endomorphin-2. Dieser Effekt konnte signifikant durch den μ -Rezeptorantagonisten CTOP (10^{-5}M) aufgehoben werden. CTOP (10^{-8}M – 10^{-5}M) selbst bewirkte bei alleiniger Gabe keine Veränderung der Relaxation der Muskulatur am isolierten Magenfundus.

Wie bereits unter 5.2.1 und 5.2.2 erwähnt, hatten die untersuchten Endomorphine keinerlei direkten Effekt auf den Basaltonus der Muskulatur bzw. auf die durch Serotonin oder Carbachol vorbehandelten Organstreifen. Dies legt nahe, dass sie ihre inhibitorische Wirkung über einen präsynaptischen μ -Rezeptor entfalten. Dass ihr hemmender Effekt durch den μ -Rezeptorantagonisten CTOP aufgehoben werden kann, bestätigt diese Vermutung. Es ist bereits bekannt, dass über die Aktivierung des μ -Rezeptors die Abgabe bestimmter Überträgerstoffe beeinflusst werden kann. So wird z.B. im Gastrointestinaltrakt von Meerschweinchen die durch elektrische Feldstimulation hervorgerufene Acetylcholinausschüttung deutlich vermindert (115, 116). Allerdings werden über die μ -Rezeptoren nicht nur cholinerge Übertragungswege beeinflusst. So konnte z.B. eine Veränderung der Noradrenalinausschüttung im Kolon von Meerschweinchen (26), der Serotoninabgabe in kortikalen Neuronen der Ratte (138) und ein Einfluss auf die Ausschüttung von NO im Gefäßsystem von Ratten (16) nachgewiesen werden.

Die in unseren Versuchen hervorgerufene Inhibition der Relaxation ist also wahrscheinlich auf die eine Verminderung der Freisetzung der verantwortlichen Botenstoffe wie VIP oder NO zurückzuführen. Auch bei den Enkephalinen wurde ein hemmender Einfluss auf nicht-adrenerge, nicht-cholinerge inhibitorische Potentiale im menschlichen Ileum beschrieben (69, 70). Allerdings entfalten sie dort ihre Wirkung über präsynaptische δ -Rezeptoren. Unsere Arbeit zeigt unter anderem erstmals, dass Endomorphin-1 und Endomorphin-2 über μ -Rezeptoren die elektrisch induzierte NANC-Relaxation beeinflussen kann.

Wirkung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 am Gastrointestinaltrakt

Ösophagus	- Hemmung der elektrisch induzierten Kontraktion der gestreiften und der glatten Muskulatur (Ratte) (146, 147)
Magen	- Reduktion der durch elektrische Feldstimulation hervorgerufenen cholinerg vermittelten Kontraktionen der glatten Muskelzellen (Ratte) (vgl. vorliegende Arbeit) - Reduktion der elektrisch induzierten Relaxation am Magenfundus der Ratte unter NANC-Bedingungen (vgl. vorliegende Arbeit)
Ileum	- Vollständige Hemmung der durch EFS induzierten Kontraktionen am Ileum von Meerschweinchen (156)

Tabelle 13: Wirkung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 am Gastrointestinaltrakt

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht die Wirkung von Opioiden und Cannabinoiden auf die Aktivität der glatten Muskelzellen im Magenfundus und im Ileum von Ratten. Zu den untersuchten Opioiden zählen die beiden endogenen Opioide und μ -Rezeptoragonisten Endomorphin-1 und Endomorphin-2 sowie der synthetische μ -Opioidrezeptorantagonist CTOP. Bei den Cannabinoiden wurde der Effekt von Anandamid (endogen), WIN 55,212-2 und Methanandamid sowie des Cannabinoid-Antagonisten AM 630 beobachtet (alle synthetisch).

Untersucht wurde der Einfluss der genannten Substanzen auf

- den Basaltonus und die Ruheaktivität,
- die pharmakologisch (Carbachol, Serotonin) vorstimulierte Muskulatur,
- die durch elektrische Feldstimulation induzierten Kontraktionen und
- die elektrisch induzierte Relaxation unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen untersucht.

Im Rahmen der Arbeit wurden die folgenden Ergebnisse erzielt:

Einfluss auf den Basaltonus und die Ruheaktivität

Die beiden Opioide Endomorphin-1 und Endomorphin-2 sowie ihr Antagonist CTOP hatten keine Wirkung auf den Basaltonus und die Ruheaktivität. Auch bei den untersuchten Cannabinoiden und ihrem Antagonisten AM 630 konnte keine Veränderung der beobachteten Parameter festgestellt werden.

Einfluss auf die pharmakologisch vorstimulierte Muskulatur

Serotonin und Carbachol induzieren durch direkte Stimulation eine Kontraktion an den glatten Muskelzellen, die nach 30–90 sek. in ein Plateau übergeht. Dieses Plateau bleibt 15–30 Minuten stabil. Weder die untersuchten Opioide noch die untersuchten Cannabinoide und ihre jeweiligen Antagonisten hatten Einfluss auf die derart vorbehandelte Muskulatur.

Einfluss auf die elektrisch induzierte Kontraktion

Durch die elektrische Stimulation (10 sek./min.; 40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer) der einzelnen Organstreifen kommt es zur cholinerg vermittelten Kontraktion, die durch Atropin (10^{-6} M) und den neuronalen Blocker TTX (10^{-6} M) vollständig aufgehoben werden kann.

Die Kontraktionsantwort wurde durch Endomorphin-1 und Endomorphin-2 konzentrationsabhängig gehemmt. Im Vergleich zu Endomorphin-1 war die Wirkung von Endomorphin-2 niedriger potent. Der μ -Antagonist CTOP konnte den beobachteten Effekt blockieren.

Der Cannabinoidagonist Anandamid konnte die cholinerg vermittelte Kontraktionsantwort konzentrationsabhängig vermindern. Dieser Effekt ließ sich mit Hilfe des Antagonisten AM 630 signifikant antagonisieren. Auch WIN 55,212-2 reduzierte die Kontraktionsfähigkeit konzentrationsabhängig. WIN 55,212-2 war im Vergleich zu Anandamid ein noch stärkerer Inhibitor. Im Gegensatz zu Anandamid konnte die hemmende Wirkung von WIN 55,212-2 nicht durch AM 630 antagonisiert werden. Der Antagonist AM 630 hatte weder einen verstärkenden noch einen hemmenden Einfluss auf die beobachtete Wirkung.

Einfluss auf die elektrisch induzierte Relaxation unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen

Endomorphin-1 und Endomorphin-2 verursachten beide eine konzentrationsabhängige Reduktion der elektrisch induzierten Relaxation. Endomorphin-1 zeigte dabei eine deutlich stärkere Wirkung als Endomorphin-2. Dieser Effekt konnte signifikant durch den μ -Rezeptorantagonisten CTOP aufgehoben werden. CTOP selbst bewirkte bei alleiniger Gabe keine Veränderung der Relaxation der Muskulatur am isolierten Magenfundus.

Anandamid und WIN 55,212-2 verminderten beide konzentrationsabhängig die elektrisch induzierte Relaxation. Durch den Antagonisten AM 630 konnte zwar signifikant der Effekt von Anandamid, nicht aber der von WIN 55,212-2 aufgehoben werden. Beim Einsatz von Methanandamid wurde keinerlei signifikante Veränderung der Relaxation am Magenfundus beobachtet. Die alleinige Gabe von AM 630 hatte die Steigerung der nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Inhibition zur Folge.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich folgern, dass weder die Opioide noch die Cannabinoide über einen postsynaptischen Rezeptor auf der glatten Muskelzelle verfügen.

Die untersuchten Substanzen entfalten ihren Effekt über präsynaptische Opioid- bzw. Cannabinoidrezeptoren. So wirken Endomorphin-1 und Endomorphin-2 über den μ -Rezeptor und hemmen auf diesem Weg u.a. die Ausschüttung exzitatorischer Transmitter wie z.B. Acetylcholin und inhibitorischer Neurotransmitter (z.B. NO, VIP). Die Cannabinoide

Anandamid und WIN 55,212-2 greifen mit unterschiedlicher Potenz am präsynaptisch gelegenen CB₁-Rezeptor an und vermindern so ebenfalls die Abgabe exzitatorischer Neurotransmitter (Acetylcholin) sowie inhibitorischer Neurotransmitter (NO, VIP). Die Beteiligung eines weiteren Rezeptors bei der Wirkung der Cannabinoide auf die Neurotransmission im enterischen Nervensystem ist derzeit noch nicht ausgeschlossen. Die Wirkung der Endomorphinrezeptoren bzw. des CB₁-Rezeptors auf die inhibitorische Neurotransmission legt für beide Rezeptoren eine komplexere modulatorische Wirkung im enterischen Nervensystem nahe.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Abrahamsson H: Non-adrenergic non-cholinergic nervous control of gastrointestinal motility patterns. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 280 [Suppl] (1986) 50-61
- 2 Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker JM: Endogenous opioids: biology and function. *Ann. Rev. Neurosci.* 7 (1984) 223-225
- 3 Allescher HD, Ahmad S, Kostka P, Kwan CY, Daniel EE: Distribution of opioid receptors in the canine small intestine: implications for function. *Am. J. Physiol* 256 (1989) G966-G974
- 4 Allescher HD, Storr M, Brechmann C, Hahn A and Schusdziarra V: Modulatory effect of endogenous and exogenous opioids on the excitatory reflex of the rat ileum. *Neuropeptides* 34 (2000) 62-68
- 5 Bauer AJ, Sarr MG, Szurszewski JH: Opioids inhibit neuromuscular transmission in circular muscle of human and baboon jejunum. *Gastroenterology* 101(4) (1991) 970-6
- 6 Bauer AJ, Szurszewski JH: Effect of opioid peptides on circular muscle of canine duodenum. *J. Physiol. Lond.* 434 (1991) 409-422
- 7 Bayliss WM, Starlin EH: The movements and innervation of the small intestine. *J Physiol* 24 (1899) 99-143
- 8 Beckett AH, Casy AF: Synthetic Analgesics: Stereochemical considerations. *J Pharm Pharmacol* 6 (1954) 986-1001
- 9 Bitar KN, Makhoul GM: Selective presence of opiate receptors on intestinal circular muscle cells. *Life Sci* 37 (1985) 1545-1550
- 10 Bouaboula M, Perrachon S, Milligan L: A selective inverse agonist for central cannabinoid receptor inhibits mitogen-activated protein kinase activation stimulated by

- insulin or insulin-like growth factor 1. Evidence for a new model of receptor/ligand interactions. *J Biol Chem* 272(35) (1997) 22330-9
- 11 Bouaboula M, Desnoyer N, Carayon P: Gi protein modulation induced by a selective inverse agonist for the peripheral cannabinoid receptor CB2: implication for intracellular signalization cross-regulation. *Mol Pharmacol* 55(3) (1999) 473-80
 - 12 Broccardo M, Improta G: Antidiarrheal and colonic antipropulsive effects of spinal and supraspinal administration of the natural delta opioid receptor agonist (D-Ala-) deltorphin II in the rat. *Eur J Pharmacol* 218 (1992) 69-73
 - 13 Broccardo M, Improta G, Nargi M, Melchiorri P: Effects of dermorphin on gastrointestinal transit in rats. *Reg. Peptides* 4 (1982) 91-96
 - 14 Calignano A, La Rana G, Makriyannis A: Inhibition of intestinal motility by anandamide, an endogenous cannabinoid. *Eur J Pharmacol* 340 (1997) R7-R8
 - 15 Campbell FA, Tramer MR, Carroll D, Reynolds DJ, Moore RA, McQuay HJ: Are cannabinoids an effective and safe treatment option in the management of pain? A qualitative systematic review. *BMJ* 323(7303) (2001) 13-6
 - 16 Champion HC, Bivalacqua TJ, Zadina JE: Vasodilator responses to the endomorphin peptides, but not nociceptin/OFQ, are mediated by nitric oxide release. *Ann N Y Acad Sci* 897 (1999) 165-72
 - 17 Chang AE, Shilling DJ, Stillman RC, Goldberg NH, Seipp CA: Delta-9-tetrahydrocannabinol as an antiemetic in cancer patients receiving high dose methothrexate. A prospective, randomized evaluation. *Ann Intern Med* 91 (1979) 819-24
 - 18 Chang KJ, Cooper BR, Hazum E, Cuatrecasas P: Multiple opiate receptors: different distribution in the brain and differential binding of opiates and opioid peptides. *Mol Pharmacol* 16 (1979) 91-104

- 19 Chang KJ, Cuatrecasas P: Heterogeneity and properties of opiate receptors. *Federation Proceedings* 40 (1981) 2729-2734
- 20 Chavkin C, James IF, Goldstein A: Dynorphin is a specific endogenous ligand of the opioid receptors. *Science* 215 (1982) 413-415
- 21 Chen Y, Mestek A, Liu J, Hurley JA, Yu L: Molecular cloning and functional expression of a μ -opioid receptor from rat brain. *Mol Pharmacol* 44 (1993) 8-12
- 22 Cherubini E, North RA: μ and κ opioids inhibit transmitter release by different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci* 82 (1985) 1860-1863
- 23 Coffey RG, Yamamoto Y, Snella E, Pross S: Tetrahydrocannabinol inhibition of macrophage nitric oxide production. *Biochem Pharmacol* 52(5) (1996) 743-51
- 24 Compton DR, Johnson MR, Melvin LS: Pharmacological profile of a series of bicyclic cannabinoid analogs: classification as cannabimimetic agents. *J Pharmacol Exp Ther* 260(1) (1992) 201-9
- 25 Corbett A, Paterson S, Kosterlitz H: Selectivity of ligands for opioid receptors. In: Herz A, ed. *Handbook of Experimental Pharmacology: Opioids I*. Vol. 104. Berlin: Springer-Verlag, 1993
- 26 Cosentino M, Marino F, Bombelli R, Ferrari M, Rasini E: Modulation of neurotransmitter release by opioid μ - and κ -receptors from adrenergic terminals in the myenteric plexus of the guinea-pig colon: effect of α_2 -autoreceptor blockade. *Neurosci. Lett.* 31 (1997) 75-78
- 27 Cooke HJ: Neuroimmune signaling in regulation of intestinal ion transport. *Am J Physiol* 266 (1994)G167-G178
- 28 Coutts AA, Pertwee RG: Inhibition by cannabinoid receptor agonists of acetylcholine release from the guinea-pig myenteric plexus. *Br J Pharmacol* 121 (1997) 1557-1566

-
- 29 Croci T, Manara L, Aureggi G: In vitro functional evidence of neuronal cannabinoid CB₁ receptors in human ileum. *Br J Pharmacol* 125(7) (1998) 1393-1395
 - 30 Czaplá MA, Champion HC, Zadina JE, Kastin AJ: Endomorphin 1 and 2, endogenous μ -opioid agonists, decrease systemic arterial pressure in the rat. *Life Sci* 62 (1998) PL-175-PL-179
 - 31 Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR: Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol* 34(5) (1988) 605-13
 - 32 Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffing F, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R: Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258 (1992) 1946-1949
 - 33 Dewey WL: Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol Rev* 38(2) (1986) 151-78
 - 34 Dhawan BN, Cesselin F, Raghubir R, Reisine T, Bradley PB, Portoghese PS, Hamon M: International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacol Rev* 48 (1996) 567-592
 - 35 Di Marzo V: Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* 410 (2001) 822-825
 - 36 Ding YQ, Kaneko T, Nomura S, Mizuno N: Immunohistochemical localization of μ -opioid receptors in the central nervous system of the rat. *J Comp Neurol* 367(3) (1996) 375-402
 - 37 Dubois A: Endogenous opioids, gastric motility, and gastric emptying. *Gastroenterol Clin Biol* 11 (1987) 56B-61 B
 - 38 Edin R, Lundberg L, Terenius L: Evidence for vagal enkephalinergic neutral control of the feline pylorus and stomach. *Gastroenterology* 78 (1980) 492-497

-
- 39 Evans CJ, Keith DE, Morrison H, Magendzo K, Edwards RH: Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science* 258 (1992) 1952-55
- 40 Feldberg W, Smith DG: The C-fragment of lipotropin – a potent analgesic. *J Physiol* 260 (1976) 30 P
- 41 Felder CC, Nielsen A, Briley EM, Palkovits M, Priller J: Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett.* 393 (1996) 231-35
- 42 Feuerstein G, Siren AL: The opioid system in cardiac and vascular regulation of normal and hypertensive states. *Circulation* 75 (1 Pt 2) (1987) I125-9
- 43 Fox JET, Collins SM and Daniel EE: Expression of peptide responses depends upon study environment. *Regulatory Peptides in Digestive, Nervous and Endocrine Systems.* ed. by Lewin MJM and Bonfils S. Amsterdam: Elsevier (1985) 265-268
- 44 Furness JB, Costa M: *The enteric nervous system.* New York: Churchill Livingstone (1987)
- 45 Furness JB, Bornstein JC: The enteric nervous system and its extrinsic connections. In: Yamada T ed. *Textbook of gastroenterology.* 2nd ed. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott JB, (1995) 2-24
- 46 Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, Bouaboula M, Shire D, Le Fur G, Casellas P: Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem* 232(1) (1995) 54-61
- 47 Gaoni Y, Mechoulam R: Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 86 (1964) 1646-47
- 48 Gerard CM, Mollereau C, Vassart G: Molecular cloning of a human cannabinoid

- receptor which is also expressed in testis. *Biochem J* 279 (Pt 1) (1991) 129-34
- 49 Gessa GL, Mascia MS, Casu MA: Inhibition of hippocampal acetylcholine release by cannabinoids: reversal by SR 141716A. *Eur J Pharmacol* 327(1) (1997) R1-2
- 50 Gifford AN, Ashby CR: Electrically evoked acetylcholine release from hippocampal slices is inhibited by the cannabinoid receptor agonist, WIN 55212-2, and is potentiated by the cannabinoid antagonist, SR 141716A. *J Pharmacol Exp Ther* 277(3) (1996) 1431-6
- 51 Glass M, Dragunow M: Induction of the Krox 24 transcription factor in striosomes by a cannabinoid agonist. *Neuroreport* 6(2) (1995) 241-4
- 52 Goldstein A, Naidu A: Multiple opioid receptors: ligands selectivity profiles and binding site signature. *Mol Pharmacol* 36 (1989) 265-272
- 53 Goyal RK, Rattan S: Nature of vagal inhibitory innervation of the lower oesophageal sphincter. *J Clin Invest* 55 (1975) 1119-1126
- 54 Goyal RK, Hirano I: The enteric nervous system. *N Engl J Med* 25 (1996) 334(17) 1106-15
- 55 Grider JR, Makhlouf GM: Colonic peristaltic reflex: identification of vasoactive interstitial peptide as mediator of descending relaxation. *Am J Physiol* 251 (1986) G40-G45
- 56 Grider JR: Interplay of VIP and nitric oxide in regulation of the descending relaxation phase of peristalsis. *Am J Physiol* 264 (1993) G334-G340
- 57 Grinspoon L, Bakala JB: *Marihuana. The Forbidden Medicine*. New Haven, CT: Yale Univ. Press (1993)
- 58 Hackler L, Zadina JE, Ge LJ, Kastin AJ: Isolation of relatively large amounts of

- endomorphin-1 and endomorphin-2 from human brain cortex. *Peptides* 18 (1997) 1635-1639
- 59 Hanus L, Abu-Lafi S, Fride E: 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci* 98(7) (2001) 3662-5
- 60 Herkenham M, Lynn AB, Little MD: Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(5) (1990) 1932-6
- 61 Herkenham M, Groen BG, Lynn AB: Neuronal localization of cannabinoid receptors and second messengers in mutant mouse cerebellum. *Brain Res* 552(2) (1991) 301-10
- 62 Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR: Characterization and localisation of the cannabinoid receptors in the rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 11 (1991) 563-83
- 63 Hille B: Ionic channels in excitable membranes. 2nd edition Sinauer, Sunderland (1992)
- 64 Hiller JM, Pearson J, Simon EJ: Distribution of stereospecific binding of the potent narcotic-analgesic etorphine in the human brain: predominance in the limbic system. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 6 (1973) 1052
- 65 Holaday JW: Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 23 (1983) 541-94
- 66 Holzer P, Maggi CA: Synergistic role of muscarinic acetylcholine and tachykinin NK-2 receptors in intestinal peristalsis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 349 (1994) 194-201
- 67 Houck JC, Chang CM, Kimball CD: Pancreatic beta-endorphin like polypeptides. *Pharmacology* 23 (1981) 14-23

-
- 68 Howlett AC: Pharmacology of cannabinoid receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35 (1995) 607-34
- 69 Hoyle CH, Burnstock G, Jass J: Enkephalins inhibit non-adrenergic, non-cholinergic neuromuscular transmission in the human colon. *Eur J Pharmacol* 131(1) (1986) 159-60
- 70 Hoyle CH, Kamm MA, Burnstock G: Enkephalins modulate inhibitory neuromuscular transmission in circular muscle of human colon via δ -opioid receptors. *J Physiol* 431 (1990) 465-78
- 71 Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW: Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 258 (1975) 577-579
- 72 Ishac EJ, Jiang L, Lake KD: Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB₁ receptors on peripheral sympathetic nerves. *Br J Pharmacol* 118(8) (1996) 2023-8
- 73 Izzo AA, Mascolo N, Borrelli F, Capasso F: Excitatory transmission to the circular muscle of the guinea-pig ileum: evidence for the involvement of cannabinoid CB₁ receptors. *Br J Pharmacol* 124 (1998) 1363-1368
- 74 Izzo AA, Mascolo N, Capasso R: Inhibitory effect of cannabinoid agonists on gastric emptying in the rat. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 360(2) (1999) 221-3
- 75 Izzo AA, Mascolo N, Pinto L: The role cannabinoid receptors in intestinal motility, defaecation and diarrhoea in rats. *Eur J Pharmacol* 384 (1999) 37-42
- 76 Izzo AA, Mascolo N, Tonini M, Capasso F: Modulation of peristalsis by cannabinoid CB₁ ligands in the isolated guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol* 129 (2000) 984-990
- 77 Jahnberg T, Abrahamsson H, Jansson G, Martinson J: Gastric relaxatory response to

- feeding before and after vagotomy. *Scand J Gastroenterol* 12 (1977) 225-228
- 78 Janet E. Joy, Stanley J. Watson Jr., John A. Benson Jr.: *Marijuana and Medicine. Assessing the Science Base*. Editors: Institute of Medicine 1999
- 79 Jeon YJ, Yang KH, Pulaski JT, Kaminski NE: Attenuation of inducible nitric oxide synthase gene expression by delta 9-tetrahydrocannabinol is mediated through the inhibition of nuclear factor- kappa B/Rel activation. *Mol Pharmacol* 50(2) (1996) 334-41
- 80 Johnson MR, Melvin LS, Althuis TH: Selective and potent analgetics derived from cannabinoids. *J Clin Pharmacol* 21 (8-9 Suppl) (1981) 271S-282S
- 81 Johnson MR, Melvin LS: The discovery of non-classical cannabinoid analgesics. In: Mechoulam R, Editor, *Cannabinoids as Therapeutic Agents*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. 1986 121-145
- 82 Johnson MW, Mitch WE, Wilcox CS: The cardiovascular actions of morphine and the endogenous opioid peptides. *Prog Cardiovasc Dis* 27(6) (1985) 435-50
- 83 Kieffer BL, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Hirth CG: The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization. *Proc Natl Acad Sci* 89 (1992) 12048-12052
- 84 Kirchgessner AL, Gershon MD: Innervation of the pancreas by neurons in the gut. *J Neurosci* 10 (1990) 1626-42
- 85 Kromer W, Pretzlar RW, Woinoff R: Opioids modulate periodicity rather than efficacy of peristaltic waves in the guinea pig ileum in vitro. *Life Sci* 26 (1980) 1857-1865
- 86 Krowicki ZK, Moerschbaecher JM, Winsauer PJ, Digavalli SV, Hornby PJ: Delta9-tetrahydrocannabinol inhibits gastric motility in the rat through cannabinoid CB₁ receptors. *Eur J Pharmacol* 371 (2-3) (1999) 187-96

-
- 87 Kuhar MJ, Pert CB, Snyder SH: Regional distribution of opiate receptor binding in monkey and human brain. *Nature* 245(1973) 447
- 88 Kulkarni-Narla A, Brown DR: Localization of the CB₁-cannabinoid receptor immunoreactivity in the porcine enteric nervous system. *Cell Tissue Res* 302 (2000) 73-80
- 89 Landsman RS, Makriyannis A, Deng H: AM630 is an inverse agonist at the human cannabinoid CB₁ receptor. *Life Sci* 62(9) (1998) PL109-13
- 90 Li CH, Chung D: Isolation and structure of an Untriakontapeptide with opiate activity from camel pituitary glands. *Proc Nat Acad Sci* 73 (1976) 1145
- 91 Lehmann KA: Opioids: Overview on action, interaction and toxicity. *Supp Care Cancer* 5 (1997) 439-333
- 92 Lopez-Redondo F, Lees GM, Pertwee RG: Effects of cannabinoid receptor ligands on electrophysiological properties of myenteric neurones of the guinea-pig small ileum. *Br J Pharmacol* 122 (1997) 330-334
- 93 Loh HH, Tseng LF, Wei E, Li CH: β -endorphin is a potent analgesic agent. *Proc Nat Acad Sci* 73 (1976) 2895
- 94 Lundgren O, Svanvik J, Jivegard L: Enteric nervous system. I. Physiology and pathophysiology of the intestinal tract. *Dig Dis Sci* 34 (1989) 264-83
- 95 Mailleux P, Vanderhaeghen JJ: Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* 48(3) (1992) 655-68
- 96 Mallet PE, Beninger RJ: The cannabinoid CB₁ receptor antagonist SR141716A attenuates the memory impairment produced by delta9-tetrahydrocannabinol or anandamide. *Psychopharmacology* 140(1) (1998) 11-9

-
- 97 Manzanares J, Corchero J, Romero J: Pharmacological and biochemical interactions between opioids and cannabinoids. *Trends Pharmacol Sci* 20(7) (1999) 287-94
- 98 Margolin S: Decreased gastrointestinal propulsive activity after intracranial morphine. *Federation Proceedings* 13 (1954) 383-384
- 99 Martin WR: Opioid antagonists. *Pharmacol Rev* 19 (4) (1967) 463-521
- 100 Martin WR, Eades CG, Thompson JA, Huppler RE, Gilbert PE: The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther* 197 (3) (1976) 517-32
- 101 Matsuda L, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI: Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346 (1990) 561-564
- 102 Matsuda LA, Bonner TI, Lolait SJ: Localization of cannabinoid receptor mRNA in rat brain. *J Comp Neurol* (1993) 327(4) 535-50
- 103 Mechoulam R (ed): *Chemistry, Pharmacology, Metabolism and Clinical Effect*. New York, Academic Press (1973)
- 104 Mechoulam R, Vogel Z, Barg J: CNS cannabinoid receptors: Role and therapeutic implications for CNS disorders. *CNS Drugs* 2 (1994) 225-260
- 105 Mechoulam R, Hanus L, Fride E: Towards cannabinoid drugs--revisited. *Prog Med Chem* 35 (1998) 199-243
- 106 Meunier JC, Kouakou Y, Puget A, Moisand C: Multiple opiate binding sites in the central nervous system of the rabbit. Large predominance of a mu subtype in the cerebellum and characterization of a kappa subtype in the thalamus. *Mol Pharmacol* 24(1) (1983) 23-9

-
- 107 Moskowitz AS, Goodman RR: Light microscopic autoradiographic localization of mu and delta opioid binding sites in the mouse central nervous system. *J Neurosci* 4(5) (1984) 1331-42
- 108 Moskowitz AS, Goodman RR: Autoradiographic distribution of mu1 and mu2 opioid binding in the mouse central nervous system. *Brain Res* 360(1-2) (1985) 117-29
- 109 Miolan JP, Roman C: Activité des fibres vagues efférentes destinées à la musculature lisse du cardia du chien. *J Physiol* 74 (1978) 709-723
- 110 Mueller-Vahl KR, Schneider U, Kolbe H, Emrich HM: Treatment of Tourette's syndrome with delta9-tetrahydrocannabinol. *Am J Psychiatry* 156 (1999) 3
- 111 Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M: Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365 (1993) 61-65
- 112 Munson et al in: *The Pharmacology of Marihuana*. 187-197, Raven Press, New York (1976)
- 113 Nahas GG, Suci-Foca N, Armand JP: Inhibition of cellular mediated immunity in marihuana smokers. *Science* 183(123) (1974) 419-20
- 114 Nelson K, Walsh D, Deeter P, Sheehan F: A phase II study of delta-9-tetrahydrocannabinol for appetite stimulation in cancer-associated anorexia. *J Palliative Care* 10 (1994) 14-18
- 115 Nishiwaki H, Saitoh N, Nishio H, Takeuchi T, Hata F: Relationship between inhibitory effect of endogenous opioid via mu-receptors and muscarinic autoinhibition in acetylcholine release from myenteric plexus of guinea-pig ileum. *Jpn J Pharmacol* 77 (1998) 279-286
- 116 Nishiwaki H, Saitoh N, Nishio H, Takeuchi T, Hata F: Inhibitory effect of endmorphin 1 and 2 on acetylcholine from myenteric plexus of guinea-pig ileum. *Jpn J Pharmacol*

- 78 (1998) 83-86
- 117 North RA, Williams JT, Surprenant A: μ and δ receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels. *Proc Natl Acad Sci* 84 (1987) 5487-5491
- 118 Orwoll ES, Kendall JW: β -endorphin and adreno-corticotropin in extra-pituitary sites: gastrointestinal tract. *Endocrinology* 107 (1980) 438-442
- 119 Pacheco M, Childers SR, Arnold R, Casiano F, Ward SJ: Aminoalkylindoles: actions on specific G-protein-linked receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 257(1) (1991) 170-83
- 120 Pert CB, Snyder SH: Opiate receptor: Demonstration in nervous tissue. *Science* 179 (1973) 1011-1014
- 121 Pertwee R: The evidence for the existence of cannabinoid receptors. *Gen Pharmacol* Jul 24(4) (1993) 811-24
- 122 Pertwee R, Graeme G, Susanthi F: AM 630, a competitive cannabinoid receptor antagonist. *Life Sci* 56 (1995) 1949-55
- 123 Pertwee RG, Stevenson LA, Elrick DB: Inhibitory effects of certain enantiomeric cannabinoids in the mouse vas deferens and the myenteric plexus preparation of guinea-pig small intestine. *Br J Pharmacol* 105(4) (1992) 980-4
- 124 Pertwee RG, Fernando SR, Nash JE: Further evidence for the presence of cannabinoid CB_1 receptors in guinea-pig small intestine. *Br J Pharmacol* 118(8) (1996) 2199-205
- 125 Pertwee RG: Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 63(5) (2001) 569-611
- 126 Polak JM, Sullivan SN, Bloom SR: Enkephalin-like immunoreactivity in the human gastrointestinal tract. *Lancet* I (1977) 972-974
- 127 Puig MM, Bascon P, Craviso GL, Musacchio JM: Endogenous opioid receptor ligand:

- electrically induced release in the guinea-pig ileum. *Science* 195 (1977) 419-420
- 128 Razdan RK: Structure-activity relationships in cannabinoids. *Pharmacol Rev* 38(2) (1986) 75-149
- 129 Rinaldi-Carmona M, Barth F, Héaulme M: SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 350(2-3) (1994) 240-4
- 130 Rinaldi-Carmona M, Barth F, Millan J: SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 284(2) (1998) 644-50
- 131 Ross SA, Elsohly Martin E: Constituents of *Cannabis sativa* L. XXVIII. A review of the natural constituents: 1980-1994. *Zagazig Journal for Pharmaceutical Sciences* 4 (1995) 1-10
- 132 Ross RA, Brockei HC, Fernando SR, Saha B, Razdan RK, Pertwee RG: Comparison of cannabinoid binding sites in the guinea-pig forebrain and small intestine. *Br J Pharmacol* 125 (1998) 1345-1351
- 133 Rosell S, Agurell S: Effects of 7-hydroxy-delta6-tetrahydrocannabinol and some related cannabinoids on the guinea-pig isolated ileum. *Acta Physiol Scand* 94 (1975) 142-4
- 134 Rosell S, Agurell S, Martin B: Effects of cannabinoids on isolated smooth muscle preparations. In: Nahas GG, ed. *Marihuana: chemistry, biochemistry, and cellular effects*. New Yoek: Springer-Verlag, 1976: 397-406
- 135 Roth SH: Stereospecific presynaptic inhibitory effect of delta9-tetrahydrocannabinol on cholinergic transmission in the myenteric plexus of the guinea-pig. *Can J Physiol Pharmacol* 56 (1978) 968-75
- 136 Roy S, Liu HC, Loh HH: Mu-opioid receptor-knockout mice: the role of mu-opioid receptor in gastrointestinal transit. *Mol Brain Res* 56 (1998) 281-283

-
- 137 Sallan SE, Zinberg NE, Frei E: Antiemetic effect of delta-9-tetrahydrocannabinol in patients receiving cancer chemotherapy. *N Engl J Med* 293 (1975) 795-97
- 138 Sbrenna S, Marti M, Morari M: Modulation of 5-hydroxytryptamine efflux from rat cortical synaptosomes by opioids and nociceptin. *Br J Pharmacol* 130(2) (2000) 425-33
- 139 Schlicker E, Timm J, Gorg T: Symposium in the Cannabinoids, International Cannabinoid Research Society, Vol. 1, p. 63, Burlington, Vermont, USA (1997).
- 140 Schuel H, Chang MC, Berkery D, Schuel R, Zimmerman AM, Zimmerman S: Cannabinoids inhibit fertilization in sea urchins by reducing the fertilizing capacity of sperm. *Pharmacol Biochem Behav* 40(3) (1991) 609-15
- 141 Schuel H, Goldstein E, Mechoulam R, Zimmerman AM, Zimmerman S: Anandamide (arachidonylethanolamide), a brain cannabinoid receptor agonist, reduces sperm fertilizing capacity in sea urchins by inhibiting the acrosome reaction. *Proc Natl Acad Sci* 91(16) (1994) 7678-82
- 142 Shen M, Piser TM, Seybold VS: Cannabinoid receptor agonists inhibit glutamatergic synaptic transmission in rat hippocampal cultures. *J Neurosci* 16 (14) (1996) 4322-34
- 143 Shire D, Carillon C, Kaghad M: An amino-terminal variant of the central cannabinoid receptor resulting from alternative splicing. *J Biol Chem* 270 (1995) 3726-31
- 144 Simon EJ, Hiller JM, Edelman I: Stereo-specific binding of the potent narcotic analgesic (³H)eterophine to rat brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci USA* 70 (1973) 1947-1949
- 145 Simon EJ: In search of the opiate receptor. *American Journal of Medical Sciences* 266 (1973) 160-168

-
- 146 Storr M, Geisler F, Neuhuber WL and Allescher HD: Autonomic modulation of vagal input to the rat esophageal muscle – influence of opiates. *Neurogastroenterology – from the basics to the clinics*, ed. by HJ Krammer and MV Singer. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers (2000) 71-77
- 147 Storr M, Geisler F, Neuhuber WL, Schusdziarra V and Allerscher HD: Endomorphin 1 and 2, endogenous ligands for the μ -opioid receptor, inhibit striated and smooth muscle contraction in the rat esophagus. *Neurogastroenterol Mot* 12 (2000) 441-448
- 148 Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A: Enzymatic synthesis of anandamide, an endogenous cannabinoid ligand, through N-acylphosphatidylethanolamine pathway in testis: involvement of Ca^{2+} -dependent transacylase and phosphodiesterase activities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 218 (1996) 113-17
- 149 Sugiura T, Kodaka T, Nakane S: Detection of an endogenous cannabinimimetic molecule, 2-arachidonoylglycerol, and cannabinoid CB₁ receptor mRNA in human vascular cells: is 2-arachidonoylglycerol a possible vasomodulator? *Biochem Biophys Res Commun* 243(3) (1998) 838-43
- 150 Sugiura T, Kodaka T, Nakane S: Evidence that the cannabinoid CB₁ receptor is a 2-arachidonoylglycerol receptor. Structure-activity relationship of 2-arachidonoylglycerol, ether-linked analogues, and related compounds. *J Biol Chem* 274(5) (1999) 2794-801
- 151 Suhara Y, Takayama H, Nakane S: Synthesis and biological activities of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand, and its metabolically stable ether-linked analogues. *Chem Pharm Bull Jul* 48 (7) (2000) 903-7
- 152 Surprenant A: Control of the gastrointestinal tract by enteric neurones. *Annu Rev Physiol* 56 (1994) 117-40
- 153 Taura F, Morimoto S, Shoyama Y: Purification and Characterization of Cannabidiolic-acid Synthase from *Cannabis sativa* L.. *Journal of Biological Chemistry* 271 (1999) 17411-17416

-
- 154 Terenius L: Characteristics of the 'receptor' for narcotic analgesics in synaptic plasma membrane fraction from rat brain. *Acta Pharmacol* 33 (1973) 377-384
- 155 Tonini M, Frigo G, Lechini S, D'Angelo L, Crema A: Hyoscine-resistant peristalsis in guinea pig ileum. *Eur J Pharmacol* 71 (1981) 375-381
- 156 Tonini M, Fiori E, Balestra B: Endomorphin-1 and endomorphin-2 activate μ -opioid receptors in myenteric neurons in the guinea-pig small intestine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 358 (1998) 686-689
- 157 Voth EA, Schwartz RH: Medicinal applications of delta-9-tetrahydrocannabinol and marijuana. *Ann Intern Med* 126 (10) (1997) 791-98
- 158 Ward SJ, Takemori AE: Determination of the relative involvement of mu-opioid receptors in opioid-induced depression of respiratory rate by use of beta-funaltrexamine. *Eur J Pharmacol* 87(1) (1983) 1-6
- 159 Ward SJ, Takemori AE: Relative involvement of mu, kappa and delta receptor mechanisms in opiate-mediated antinociception in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 224(3) (1983) 525-30
- 160 Yasuda K, Raynor K, Kong H, Breder CD, Takeda J, Reisine T, Bell GI: Cloning and functional comparison of kappa and delta opioid receptors from mouse brain. *Proc Natl Acad Sci* 90 (1993): 6736-6740
- 161 Yokatani K, Osumi Y: Involvement of mu-receptor in endogenous opioid peptide-mediated inhibition of acetylcholine release from the rat stomach. *Jpn J Pharmacol* 78 (1998): 93-95
- 162 Zadina JE, Hackler L, Ge LJ: A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature* 386 (1997): 499-502

- 163 Zias J, Stark H, Sellgman J, Levy R, Werker E: Early medical use of cannabis. *Nature* 363 (1993): 215

8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

- Abb. 1: Schematisierte Darstellung des Versuchmodells
- Abb. 2: Darstellung der hemmenden Wirkung des CB₁-Agonisten Anandamid auf die elektrisch induzierte Kontraktion der Muskulatur (10^{-7}M – 10^{-5}M) und der reduzierenden Wirkung von AM 630 (10^{-5}M) auf den beobachteten Effekt
- Abb. 3: Darstellung der hemmenden Wirkung des CB₁-Agonisten WIN 55,212-2 auf die elektrisch induzierte Kontraktion der Muskulatur (10^{-8}M – 10^{-5}M). AM 630 (10^{-5}M) hatte keinen reduzierenden Effekt auf die beobachtete Wirkung.
- Abb. 4: Darstellung der induzierenden Wirkung des CB₁-Agonisten Methanandamid auf die elektrisch induzierte Kontraktion der Muskulatur (10^{-7}M – 10^{-5}M). AM 630 (10^{-5}M) hatte keinen signifikanten Einfluss auf den beobachteten Effekt.
- Abb. 5: Beispiel für die elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin (10^{-7}M) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen
- Abb. 6: Darstellung der Wirkung des CB₁-Agonisten Anandamid (10^{-5}M) auf die elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin (10^{-7}M) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Bedingungen
- Abb. 7: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen nicht-cholinergen Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7}M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit Anandamid (10^{-7} – 10^{-5}M) und dem CB₁-Antagonisten AM 630 (10^{-5}M) (n=8). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant.
*: $p < 0.05$ vs. Kontrolle; +: $p < 0.05$ Anandamid 10^{-5}M vs. Anandamid 10^{-5}M + AM 630 10^{-5}M
- Abb. 8: Darstellung der Wirkung des CB₁-Agonisten WIN 55,212-2 (10^{-5}M) auf die

elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin (10^{-7}M) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholineren Bedingungen

Abb. 9: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen nicht-cholineren Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7}M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit WIN 55,212-2 (10^{-7} – 10^{-5}M) und dem CB_1 -Antagonisten AM 630 (10^{-5}M) (n=8). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant.

*: $p < 0.05$ vs. Kontrolle; +: $p < 0.05$ WIN 55,212-2 10^{-5}M vs. WIN 55,212-2 10^{-5}M + AM 630 10^{-5}M .

Abb. 10: Darstellung der Wirkung des CB_1 -Antagonisten AM 630 (10^{-5}M) auf die elektrisch induzierte Relaxation der mit Serotonin (10^{-7}M) vorbehandelten Muskulatur unter nicht-adrenergen, nicht-cholineren Bedingungen

Abb. 11: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen nicht-cholineren Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7}M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit dem CB_1 -Antagonisten AM 630 (10^{-7} – 10^{-5}M) (n=8). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant.

*: $p < 0.05$ vs. Kontrolle.

Abb. 12: Darstellung des hemmenden Effekts von Endomorphin-1 (10^{-10}M – 10^{-5}M) und Endomorphin-2 (10^{-10}M – 10^{-5}M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzelle (10 sek./min.; 40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer)

Abb. 13: Darstellung der durch die elektrische Feldstimulation verursachten Relaxation unter nicht-adrenergen, nicht-cholineren Bedingungen auf die mit Serotonin (10^{-7}M) vorstimulierte Muskulatur ohne und mit Endomorphin-1 (10^{-7} – 10^{-5}M), Endomorphin-2 (10^{-7} – 10^{-5}M) und CTOP (10^{-5}M) (n = 6). Die Ergebnisse waren statistisch signifikant. *: $p < 0.05$ vs. Kontrolle; +: $p < 0.05$ Endomorphin 10^{-5}M vs. Endomorphin 10^{-5}M + CTOP 10^{-5}M .

Abb. 14: Schematische Darstellung des Funktionskreises zwischen zentralem und enterischen Nervensystem

- Abb. 15: Schematische Darstellung eines G-Protein gekoppelten Rezeptors vor Stimulation durch einen Signalstoff
- Abb. 16: Schematische Darstellung eines G-Protein gekoppelten Rezeptors nach der Stimulation durch einen Signalstoff. Die α -Einheit ist an ein Effektorprotein gebunden, der Ionenkanal hat sich geöffnet
- Abb. 17: Vorkommen der CB₁-Rezeptoren im ZNS (78)
- Abb. 18: Aufbau des CB₁- bzw. CB₂-Rezeptors im Vergleich. Aus Marijuana and Medicine
- Abb. 19: Strukturformeln des natürlich vorkommenden Cannabinoids Δ^9 -THC und des synthetischen Liganden CP 55,940
- Abb. 20: Strukturformel des CB₁-Agonisten WIN 55,212-2
- Abb. 21: Strukturformel des endogenen Cannabinoids Anandamid
- Abb. 22: Darstellung der identischen und nicht-identischen Bereiche der unterschiedlichen Opioidrezeptoren (μ , κ , δ)
- Tabelle 1: In den Experimenten untersuchte Opioide und Cannabinoide mit Antagonisten (alle Biotrend, Köln, Deutschland)
- Tabelle 2: Einfluss der Cannabinoid-Agonisten Anandamid, WIN 55,212-2, Methanandamid und des Antagonisten AM 630 auf das durch Carbachol (10^{-7} M) induzierte Kontraktionsplateau der glatten Muskelzelle (n.s. bedeutet nicht signifikant)
- Tabelle 3: Einfluss des CB₁-Agonisten Anandamid (10^{-9} M– 10^{-5} M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzellen. n=6; * = $p < 0.05$ Anandamid vs. Kontrolle; + = $p < 0.05$ Anandamid vs. Anandamid + AM 630

Tabelle 4: Einfluss des CB₁-Agonisten WIN 55,212-2 (10⁻⁹M–10⁻⁵M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzellen. n=6; * = p < 0.05 WIN 55,212-2 vs. Kontrolle

Tabelle 5: Einfluss des CB₁-Agonisten Methanandamid (10⁻⁹M–10⁻⁵M) auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskelzellen. n=6; * = p < 0.05 Methanandamid vs. Kontrolle

Tabelle 6: Effekt der Opioid-Rezeptoragonisten Endomorphin-1 und Endomorphin-2 auf die durch Carbachol vorstimulierte Muskulatur (Carbachol 10⁻⁶; n.s. steht für nicht signifikant; p < 0,05; n = 5)

Tabelle 7: Effekt von Endomorphin-1, Endomorphin-2 und dem μ -Rezeptor Antagonisten CTOP auf die durch elektrische Feldstimulation (10 sek./min.; 40V; 5Hz; 1ms Pulsdauer) hervorgerufenen cholinergen Kontraktionen des Ileums. (Endomorphin-1: n = 11; * = p < 0.05 EM1 vs. Kontrolle; + = p < 0.05 EM1 vs. EM1 + CTOP; Endomorphin-2: n = 11; * = p < 0.05 EM2 vs. Kontrolle; + = p < 0.05 EM2 vs. EM2 und CTOP)

Tabelle 8: Beispiele für die bisher bekannten cannabinoiden Bestandteile des Marihuanas

Tabelle 9: Meilensteine der Cannabinoidforschung

Tabelle 10: Klassische Entzugserscheinungen: Marihuana und Opioide im Vergleich

Tabelle 11: Meilensteine der Opioidforschung

Tabelle 12: Wirkung der Cannabinoide am Gastrointestinaltrakt

Tabelle 13: Wirkung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 am Gastrointestinaltrakt

9 Abkürzungs- und Synonymverzeichnis

Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
AM 630	6-Iodo-2-methyl-1-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-1 <i>H</i> -indol-3-yl](4-methoxyphenyl) methanon
Anandamid	(all <i>Z</i>)- <i>N</i> -(2-Hydroxyethyl)-5,8,11,14-eicosatetraenamid
Ca²⁺	zweiwertige Kalziumionen
CaCl	Kalziumchlorid
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CB₁	Cannabinoidrezeptor Typ 1
CB₂	Cannabinoidrezeptor Typ 2
cDNA	copy-Desoxyribonucleinsäure
CO₂	Kohlendioxid
CP 55,240	(-)- <i>cis</i> -3-[2-Hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)phenyl]- <i>trans</i> -4-(3-hydroxypropyl)cyclohexanol
CTOP	D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH ₂
Endomorphin-1	Tyr-Pro-Trp-Phe-NH ₂
Endomorphin-2	Tyr-Pro-Phe-Phe-NH ₂
GDP	Guanosindiphosphat
GTP	Guanosintriphosphat
i.c.v.	intracerebroventrikulär
i.t.	intrathekal
i.v.	intravenös
K⁺	einwertige Kaliumionen
KCl	Kaliumchlorid
KRS	Krebs-Ringer-Solution
mRNA	Messenger-Ribonucleinsäure
n	Anzahl
Methanandamid	(all- <i>Z</i>)- <i>N</i> -(2-Hydroxy-1-methylethyl)-5,8,11,14-eicosatetraenamid
MgSO₄	Magnesiumsulfat
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO₃	Natriumhydrogencarbonat
NaH₂PO₄	Natriumdihydrogenphosphat

NANC	nicht-adrenerg, nicht-cholinerg
NO	Stickstoff
n.s.	nicht signifikant
PCR	Polymerase-chain-reaction
s.c.	subkutan
SR141716A	N-(piperidin-1-yl)-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1H-pyrazol-3-carboxamid HCl
THC	Tetrahydrocannabinol
TTX	Tetrodotoxin
VIP	Vasoaktives intestinales Peptid
WIN 55,212-2	(R)-(+)-[2,3-Dihydro-5-methyl-3-(4-morpholinylmethyl) pyrrolo [1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-6-yl]-1-naphthalenylmethanon
5-HT	5-Hydroxytryptamin

Danksagung

Bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. H.D. Allescher, möchte ich mich für die Überlassung des Themas, für die Aufnahme und Integration in seine Arbeitsgruppe und für seine Unterstützung der Arbeit bedanken.

Ganz besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. med. M. Classen und Herrn Prof. Dr. med. V. Schusdziarra für die freundliche Bereitstellung der technischen Einrichtungen.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. med. M. Storr für seine gewissenhafte Anleitung, wissenschaftliche Betreuung und seine ständige Bereitschaft mir mit Rat und Tat beizustehen. Danke auch an Herrn J. Zimmermann für seine wertvolle Unterstützung im Labor.

Nicht zuletzt gilt mein Dank aber meinen Eltern, die mir stets bei der Verwirklichung meiner Ziele zur Seite standen.

Lebenslauf

Evelyn Claudia Gaffal

Geboren am 10.06.1976 in München

Eltern: Prof. Dr. Franz Gaffal, Ministerialrat im Bayerischen Wissenschaftsministerium,
München

Gundi Gaffal, geb. Irlbeck, Abteilungsleiterin Sani-Plus Apotheke im PEP

Schulbildung

1982-1986 Besuch der Volksschule Neubiberg

1986-1988 Besuch des Gymnasiums Neubiberg

1988-1995 Besuch des Edith-Stein-Gymnasiums, München (Allgemeine Hochschulreife)

Berufsausbildung

1995-1998 Universität Regensburg (Ärztliche Vorprüfung)

1998-2002 Technische Universität München

März 1999 1. Abschnitt der Ärztlichen Vorprüfung

1998-2000 Famulaturen in München, Hamburg, Davos und Canberra (University of
Sydney)

Praktikum im medizinischen Verlag Urban & Fischer

Sept. 2001 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

2001-2002 Praktisches Jahr am Klinikum Rechts der Isar, München (Dermatologie,
Chirurgie und Innere Medizin)