

II. Medizinische Klinik und Poliklinik  
der Technischen Universität München  
Klinikum rechts der Isar  
(Direktor: Univ.- Prof. Dr. R. M. Schmid)

Einfluss von Opioid- receptor- like 1 (ORL1) und Cannabinoid<sub>1</sub> (CB<sub>1</sub>)-  
Rezeptoren auf den ascendierenden myenterischen Reflex

Untersuchungen am Dünndarm der Ratte

Andreas Haaken

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. R. M. Schmid

Die Dissertation wurde am 22.04.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht  
und durch die Fakultät für Medizin am 17.11.2004 angenommen.

*Für meine Eltern*

# Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung .....	5
2. Material und Methodik .....	7
2.1. Versuchstiere .....	7
2.2. Versuchsanordnung .....	7
2.3. Versuchsdurchführung .....	10
2.4. Datenauswertung und Statistik .....	11
2.5. Verwendete Substanzen .....	12
3. Ergebnisse .....	13
3.1. Charakterisierung des Dreikammerbades .....	13
3.1.1. Atropin .....	13
3.1.2. Hexamethonium .....	17
3.1.3. Nociceptin .....	19
3.1.4. [Nphe <sup>1</sup> ] Nociceptin (1-13)NH <sub>2</sub> .....	28
3.1.5. Nocistatin .....	37
3.1.6. Cannabinoide .....	39
4. Allgemeine Diskussion .....	46
4.1. Die Anatomie des Dünndarms .....	46
4.2. Das extrinsische Nervensystem .....	48
4.2.1. Der Parasympathikus .....	48
4.2.2. Der Sympathikus .....	49
4.3. Das enterische Nervensystem .....	50
4.3.1. Der migrierende Komplex .....	52
4.3.2. Neurotransmitter und gastrointestinale Peptidhormone .....	53
4.3.3. Der myenterische Reflex .....	55
4.3.4. Aszendierender exzitatorischer Reflex .....	57
4.3.5. Deszendierender inhibitorischer Reflex .....	58
4.4. Die Opiode .....	59
4.4.1. Der ORL1- Rezeptor .....	60
4.4.2. Antagonisten am ORL1- Rezeptor .....	62
4.5. Die Cannabinoide .....	63
4.5.1. Der CB <sub>1</sub> - Rezeptor .....	63
4.5.2. Der CB <sub>2</sub> - Rezeptor .....	64
4.5.3. Agonisten und Antagonisten .....	65

5. Spezielle Diskussion .....	66
5.1. Charakterisierung des Dreikammerbades .....	66
5.1.1. Atropin.....	66
5.1.2. Hexamethonium.....	67
5.2. Einfluss des ORL1- Rezeptors.....	69
5.3. Die Cannabinoide.....	74
6. Zusammenfassung.....	78
7. Literatur.....	80
8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	91
9. Lebenslauf.....	94

# 1. Einleitung

Opioide und Cannabinoide gehören zu den weitverbreitetsten, missbräuchlich genutzten Drogen des Menschen. Seit Jahrhunderten werden sie jedoch auch in verschiedenen Religionen und in der Medizin angewandt. Beide Substanzen weisen ähnliche pharmakologische Eigenschaften auf, wie Induktion von Hypothermie, Sedation, Verminderung von Motilität, psychotrope Eigenschaften und im besonderen der analgetische Effekt. In den letzten Jahrzehnten wurde viel Forschungsarbeit geleistet, um sich die Eigenschaften der Cannabinoide und Opiate zu Nutze zu machen. Doch immer noch sind viele physiologische und pharmakologische Wirkungen dieser Substanzen unerforscht.

1994 wurde ein neuer Opioidrezeptor zeitgleich in Mäusen und Menschen entdeckt (70). Dieser opioid receptor like (ORL1) Rezeptor wies eine 60 %ige Strukturgleichheit mit den bekannten Opioidrezeptoren ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ ) auf. Obwohl dieser neue Rezeptortyp viele Gemeinsamkeiten, zum Beispiel in der Signaltansduktion, mit den bekannten Opioidrezeptoren aufwies, zeigte der endogene ORL1- Rezeptoragonist Nociceptin keine ausgeprägte Bindungsaffinität zu den traditionellen Opioidrezeptoren.

In vielen Geweben wurde der ORL1- Rezeptor in den folgenden Jahren nachgewiesen, sein immunhistochemischer Nachweis im Gastrointestinaltrakt (73) legte den Schluss nahe, dass der ORL1- Rezeptor und der endogene Agonist Nociceptin nicht nur in der Schmerzempfindung und Schmerzmodulation eine Rolle spielt, sondern auch Einfluss auf gastrointestinale Funktionen wie Reizverarbeitung, Motilität und Sekretion hat.

Heutzutage sind zwei unterschiedliche Cannabinoidrezeptoren bekannt, der  $CB_1$  und der  $CB_2$  -Rezeptor. Auch sie weisen Ähnlichkeiten zu den Opioidrezeptoren auf, beispielsweise die Signatransduktion über G- Proteine. Während  $CB_2$  – Rezeptoren überwiegend an Zellen des mononukleären Immunsystems und im Knochenmark gefunden werden (30), befinden sich  $CB_1$ - Rezeptoren vor allem im ZNS, aber auch in der Peripherie auf präsynaptischen Nervenendigungen (46), z.B. im menschlichen Ileum (20).

Endogene Liganden am  $CB_1$ - Rezeptor sind Anandamid und 2-Arachidonylglycerol. Sie sind in der Lage, genau wie Opioide, elektrisch induzierte Kontraktionen im Dünndarm zu vermindern.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Wirkung der ORL1- und CB<sub>1</sub>- Rezeptoren auf das komplexe System der Reizverarbeitung und Reizweiterleitung innerhalb des peristaltischen Reflexes am Dünndarm der Ratte.

Zu diesem Zweck wurde das traditionelle Einkammerorganbad in drei voneinander getrennte Kammern unterteilt. Die elektrische Feldstimulation erfolgt in der ersten Kammer, in den darauffolgenden Kammern zwei und drei werden die Kontraktionsantworten des aszendierenden myenterischen Reflexes ausgewertet. Mit diesem System ist es erstmals möglich, den Einfluss von Substanzen auf die Reizsensation, die Reizweiterleitung und die Übertragung auf das Effektororgan, die glatte Muskulatur des Ileums, zu beurteilen.

Im ersten Teil der Arbeit wurde das Dreikammersystem charakterisiert, im zweiten Teil wurden pharmakologische Experimente zu ORL1- und CB<sub>1</sub>- Rezeptoren durchgeführt.

Ziel der Arbeit war es, den Einfluss der ORL1- und CB<sub>1</sub>- Rezeptoren auf den zeitlichen Ablauf und die Kontraktionskraft im aszendierenden myenterischen Reflex zu untersuchen. Bezüglich des ORL1- Rezeptors wurden der endogene Agonist Nociceptin, der Antagonist [Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)<sub>2</sub> und Nocistatin verwendet. Am CB<sub>1</sub>- Rezeptor wurden der endogene Agonist Anandamid und der synthetische Antagonist SR141716A untersucht.

Folgende Fragen sollen mittels der Versuche beantwortet werden:

- Haben Nociceptin, Nocistatin und [Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)<sub>2</sub> einen Einfluss auf Latenz und Kontraktion im aszendierenden myenterischen Reflex?
- Unterscheiden sich die Effekte von Nociceptin im Ein- und Dreikammerbad?
- Gibt es Unterschiede bei Zugabe von Nociceptin und [Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)<sub>2</sub> an unterschiedlichen Orten innerhalb des myenterischen Reflexes?
- Kann [Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)<sub>2</sub> die Effekte von Nociceptin antagonisieren?
- Auf welche Stationen im aszendierenden Reflex hat der ORL1- Rezeptor Einfluss?
- Wie verändern Anandamid und SR141716A einen oral gerichteten, elektrisch induzierten Reflex, wenn die Substanzen am Ort der elektrischen Feldstimulation zugegeben werden?
- Kann SR141716A Effekte von Anandamid antagonisieren?

## 2. Material und Methodik

### 2.1. Versuchstiere

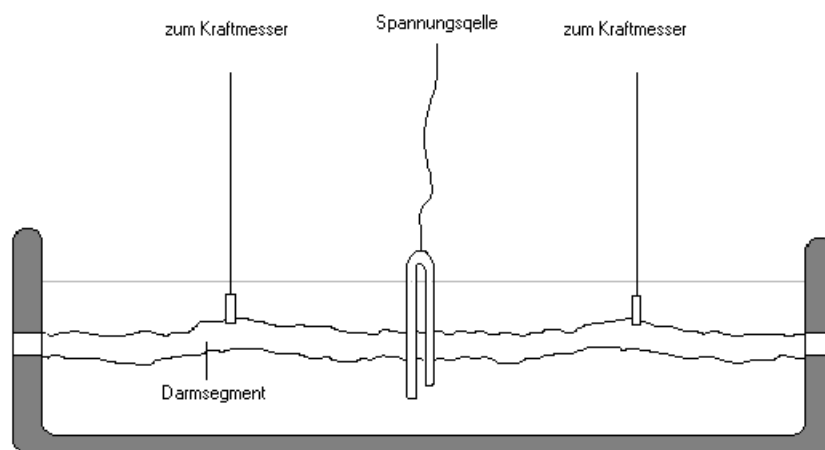
Für die Experimente in diesem Modell wurden männliche Wistar-Ratten (Charles River Wiga GmbH in Sulzberg) mit einem Körpergewicht zwischen 200 und 300 g verwendet. Die Tiere wurden in einem vollklimatisierten Raum bei künstlichem Tag-Nacht-Rhythmus gehalten und mit Trockenfutter und Wasser ernährt. Ab dem Vorabend des Versuchstages erhielten die Tiere nur noch Wasser, damit der Dünndarm standardisiert möglichst frei von Nahrungsresten war.

### 2.2. Versuchsanordnung

Zunächst wurde ein doppelwandiges Einkammer-Organbad mit je einem Ausfluss rechts und links verwendet. In beiden Abflussrohren befand sich ein kleiner Plastikschlauch, über den je ein Ende des Darmsegmentes gestülpt und mit Nadeln sicher befestigt werden konnte. Das Organbad war gefüllt mit ca. 35 ml Krebs-Ringer-Puffer (KRP) ( $\text{Na}^+$  138,68 mM;  $\text{Cl}^-$  122,61 mM;  $\text{HCO}_3^-$  22,14 mM; Glucose 11,11 mM;  $\text{K}^+$  4,60 mM;  $\text{Mg}^{2+}$  1,25 mM;  $\text{Ca}^{2+}$  2,63 mM;  $\text{SO}_4^{2-}$  1,25 mM;  $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$  1,16 mM), der durch einen umgebenden Heizkreislauf konstant auf 37° C gehalten und zur Oxygenierung mit Carbogen (95%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$ ) begast wurde. Zur Stabilisierung diente ein Plastikstab mit einem Durchmesser von 1 mm, der in das Darmlumen und dann in die beiden Abflussrohre eingeführt wurde, so dass der Darm auf einer konstanten Höhe fixiert war.

In der Mitte des Darmsegmentes wurde ein Platinelektrodenpaar mit einer Fläche von je 10 x 5 mm und einem Abstand von 10 mm angebracht, über die der Darm mittels eines Stimulators (Grass Medical Instruments, Quincy, Mass., USA) intermittierend alle zwei Minuten für die Dauer von 15 Sekunden stimuliert wurde. Die elektrische Feldstimulation wurde mit 50 Volt, einer Impulsdauer von einer Millisekunde und einer Frequenz von drei Hertz durchgeführt.

Muskelkontraktionen und Relaxationen der zirkulären glatten Muskulatur wurden mit Hilfe von zwei Kraftwandlern (FTO3C, Grass Medical Instruments, Quincy, Mass., USA) registriert, die durch je einen Faden mit einer Klemme am Darm fixiert waren. Die Kraftwandler wandelten die Kontraktionen in elektrische Spannungsänderungen um, die dann von einem Schreiber (Sensormedics R 611, Anaheim, Kalifornien) aufgezeichnet wurden. Gleichzeitig mit der Motilitätsantwort wurde auch der Zeitpunkt und die Dauer der Stimulation registriert.



*Abb.2.1: Der Darm im Einkammerorganbad*



Nach den ersten Versuchen mit dem Einkammer-Organbad wurde dieses auf ein Modell mit drei von einander getrennten Kammern umgewandelt. Dazu wurden Trennwände aus Silikon gegossen und in das Organbad eingepasst. Dadurch entstanden drei getrennte Kammern mit 12 ml, 7 ml und 12 ml Inhalt. Die Trennwände besitzen in ihrer Mitte eine ca. 1 cm durchmessende, runde Öffnung, durch die ein gerade passendes Plastikröhrchen, über das ein Stück von einem handelsüblichen Präservativ gestülpt ist, durchgeschoben wurde. In die sich nun ergebende dünne Membran aus Latex wurde anschließend mit einer heißen Spitze ein kleines Loch eingebrannt, durch das dann der Darm vorsichtig durchgezogen werden konnte. Dadurch ergab sich ein Organbad mit drei voneinander völlig unabhängigen Kammern. In der ersten Kammer befand sich die oben beschriebene Stimulationselektrode aus Platin, die beiden weiteren Kammern enthielten je einen Kraftwandler zur Messung der Kontraktionen und Relaxationen. Für die Versuche mit Anandamid und SR141716A wurde die zweite Trennwand entfernt, die Position der Kraftmesser blieb jedoch unverändert.

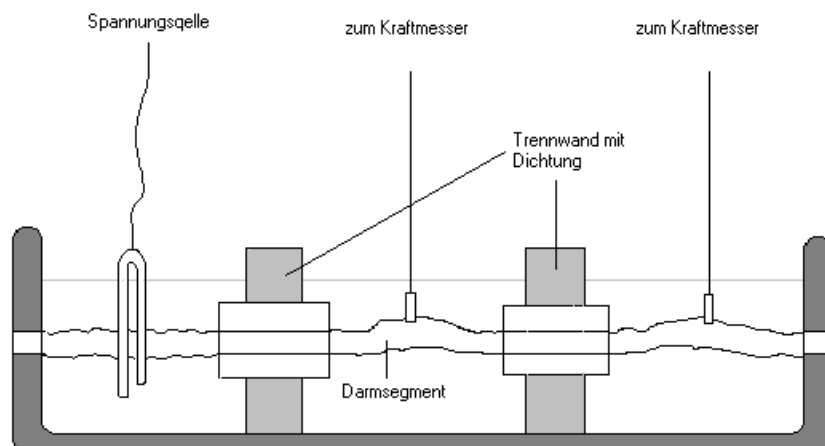


Abb.2.2: Der Darm befindet sich in drei voneinander dicht abgeschlossenen Kammern.

## 2.3. Versuchsdurchführung

Die Tiere wurden mit einer CO<sub>2</sub>-Narkose von 15 Sekunden Dauer und einer anschließenden intraperitonealen Injektion von Na-Pentobarbital in einer Dosierung von 100 mg/kg Körpergewicht betäubt. Ileum und Jejunum wurden sofort entnommen und nach sorgfältigem Abpräparieren von mesenterialem Fett und Bindegewebe in oxygeniertem Krebs-Ringer-Puffer aufbewahrt.

Anschließend wurde ein ca. 8 cm langes Darmsegment innen und außen mit KRP gespült, um etwaige Verunreinigungen zu entfernen, durch die Öffnungen der zwei Trennwände gezogen und in das Lumen ein Plastikstab zur Stabilisierung eingeführt. Der Darm konnte an beiden Enden mit Hilfe von zwei Nadeln an den Plastikschläuchen in den Abflussrohren befestigt werden. Dies geschah immer so, dass sich das Mesenterium oben befand und der Darm seine natürliche Länge beibehielt. Nun wurde im Einkammerbad das Platinelektrodenpaar in der Mitte des Darmsegmentes parallel zum Darm eingebracht, im Dreikammerbad befand sich die Elektrode immer in der ersten Kammer. Die zwei Klemmen, die durch je einen Faden mit den beiden Kraftwandlern verbunden waren, wurden im Einkammerbad zwei Zentimeter oral und aboral der Stimulationselektrode befestigt, im Dreikammerbad befanden sie sich in der zweiten und dritten Kammer in Richtung oral der Elektrode.

Es wurde sofort mit der Stimulation begonnen. Nach einer Equilibrierungsphase von einigen Minuten wurde die niedrigste Konzentration einer Testsubstanz erst dann zugegeben, sobald ein stabiles Niveau mit mindestens fünf gleichen Stimulationsantworten erreicht war. Nach jeweils mindestens drei weiteren Stimulationen wurde die nächsthöhere Konzentration in das Organbad gegeben. Beim Dreikammerbad bot sich die Möglichkeit, die Substanzen zum einen in die erste Kammer mit der Stimulationselektrode, oder aber in eine der beiden anderen Kammern mit den Kraftmessern zu geben. Die Dichtheit des Dreikammersystems konnte am Ende eines Versuches mit der Zugabe von Methylenblau in die mittlere Kammer überprüft werden. Bei einer Blaufärbung der Pufferlösung in den angrenzenden Kammern wurde somit eine nicht intakte Abdichtung nachgewiesen und die Ergebnisse wurden verworfen.

## 2.4. Datenauswertung und Statistik

Die elektrische Feldstimulation löste oral eine Kontraktion der glatten zirkulären Muskulatur und aboral eine Relaxation aus, der eine Kontraktion folgte. Die Fläche über der Basallinie des Ruhetonus diente als Maß für die Kontraktionsstärke. Sie wurde mit Hilfe eines Digitalisierungsbretts und Auswertungsprogrammes (Sigma Scan, Jandel Scientific, Erkrath, Deutschland) ermittelt und als Integral über der Zeit berechnet.

Als Kontrolle wurden die Mittelwerte der Basalwerte vor Substanzzugabe als 100 %- Werte verwendet. Veränderten sich die Kontraktionskurven nach Substanzzugabe wurde die Änderung der Fläche unter der Kurve in Prozent angegeben.

Desweiteren erfolgte eine Messung der Latenzzeit zwischen Beginn der Stimulation und Anfang der Kontraktion. Auch hier wurden wiederum die Mittelwerte der gemessenen Latenzen als 100 %-Werte berechnet, eine etwaige Verlängerung oder Verkürzung der Latenzen nach Substanzzugabe wurde mit den Basalwerten verglichen.

Zum Vergleich der Mittelwerte wurde der Student-T-Test für gepaarte Stichproben mit anschließender Bonferoni- Korrektur mittels eines kommerziellen Statistikprogrammes (Sigma Stat 2.0; Jandel Scientific, Irvine U.K.) durchgeführt.

Die Daten in den Graphen sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM (standard error of the mean:  $SEM = \frac{STD}{\sqrt{n-1}}$ ) angegeben. n bezeichnet die Anzahl unabhängiger Ergebnisse an verschiedenen Organsegmenten. Als Signifikanzniveau wurde eine Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  für \* und  $p < 0,01$  für \*\* festgelegt.

## 2.5. Verwendete Substanzen

Folgende Substanzen wurden in den Versuchen verwendet:

Nociceptin, Nocistatin, [Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub>, Anandamid und SR141716A, alle Biotrend, Köln, Deutschland.

SR141716A wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Sanofi- Synthelabo, Berlin, Deutschland.

Atropin und Hexamethonium von Sigma- Aldrich, München, Deutschland.

Alle Substanzen wurden in destilliertem Wasser gelöst und bis zur Verwendung (maximal drei Monate) bei – 20° C aufbewahrt.

# 3. Ergebnisse

## 3.1. Charakterisierung des Dreikammerbades

### 3.1.1. Atropin

Atropin wirkt antagonistisch an den postganglionären, muskarinergen Synapsen, die durch Acetylcholin erregt werden. Diese Synapsen befinden sich in großer Zahl an den glatten Muskelzellen des Darmes. Der hier vorherrschende Rezeptortyp ist der  $M_3$ -Cholinozeptor, über den die Phospholipase C aktiviert und in Folge davon die intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration erhöht wird. Dies wiederum führt zu einer Kontraktion der glatten Muskelzellen.

Atropin ist ein hochaffiner kompetitiver Antagonist des Acetylcholins an den M-Cholinozeptoren, der konzentrationsabhängig Acetylcholin vom Rezeptor verdrängt und dessen Wirkung somit konzentrationsabhängig abschwächt oder aufhebt.

In unserem Versuch verursachte Atropin bei Zugabe in die 2. Kammer dosisabhängig eine deutliche Hemmung der Kontraktionsantwort und eine Verlängerung der Latenz in Kammer 2.

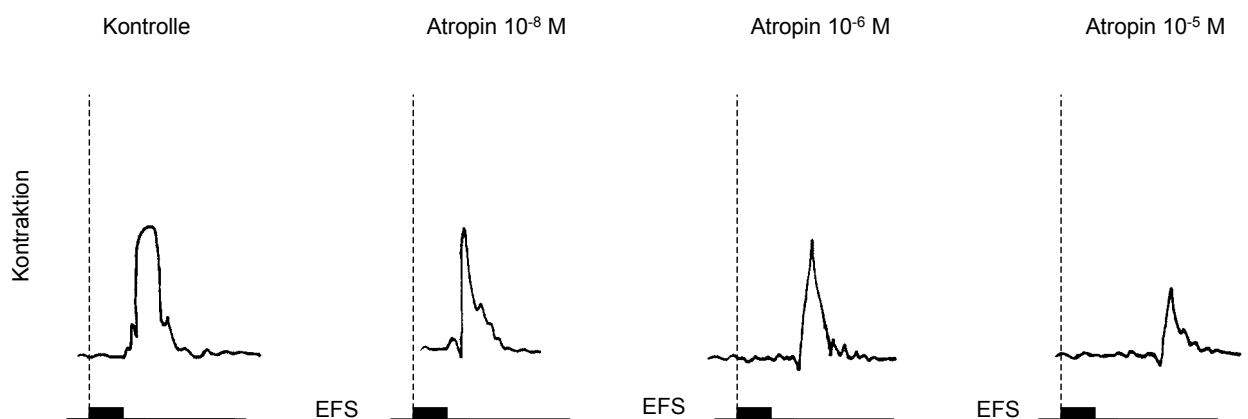


Abb.3.1: Ausgeprägte Kontraktionshemmung von Atropin bei Zugabe und Messung in Kammer2

Tab.3.1: Einfluss von Atropin bei Zugabe in Kammer 2 und Messung in Kammer 2:

Atropin	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 2	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 2	Signifikanz
10 <sup>-9</sup> M	-4,41%	n.s.	0,00 %	
10 <sup>-8</sup> M	-11,71%	n.s.	+ 12,18 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-45,15%	p< 0,05	+ 14,22 %	n.s.
10 <sup>-6</sup> M	-75,03%	p< 0,01	+ 25,00 %	p< 0,05
10 <sup>-5</sup> M	-84,88%	p< 0,01	+ 35,92 %	p< 0,05

Bei gleichzeitiger Messung von Kontraktion und Latenz in der 3. Kammer ergab sich eine schwächere Inhibition der Kontraktion und weniger starke Verlängerung der Latenz als bei Messung in der 2. Kammer:

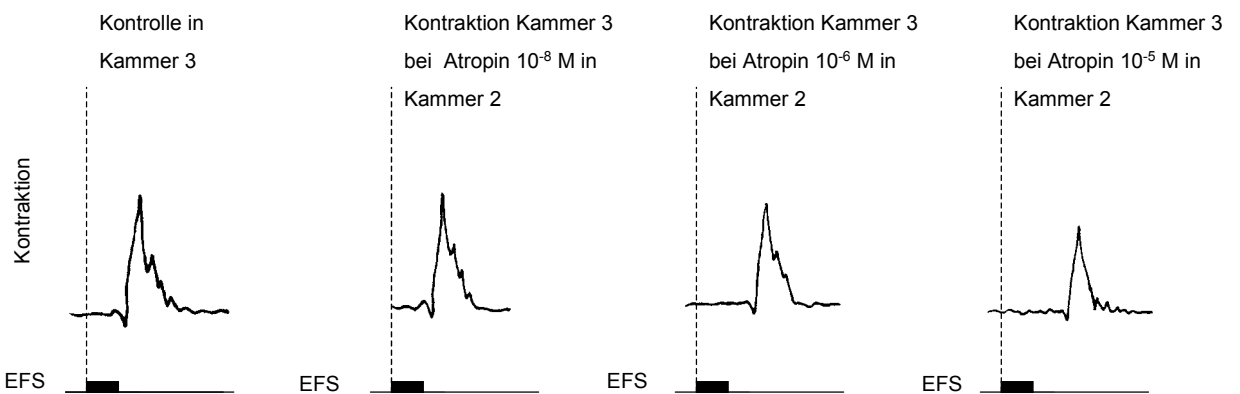


Abb.3.2: Kaum Einfluss von Atropin auf die Kontraktionen und Latenzen in der dritten Kammer bei Zugabe in Kammer 2.

Tab.3.2: Wenig Veränderung der Kontraktionen und Latenzen in Kammer 3 bei Zugabe von Atropin in Kammer 2:

Atropin	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 3	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 3	Signifikanz
10 <sup>-9</sup> M	-1,31%	n.s.	0,00 %	
10 <sup>-8</sup> M	-4,38%	n.s.	0,00 %	
10 <sup>-7</sup> M	-7,20%	n.s.	+ 0,79 %	n.s.
10 <sup>-6</sup> M	-9,53%	n.s.	+ 4,64 %	n.s.
10 <sup>-5</sup> M	-14,62%	p< 0,05	+ 13,82 %	n.s.

**Einfluss von Atropin auf die ascendierende Kontraktion  
Applikation in die 2. Kammer**

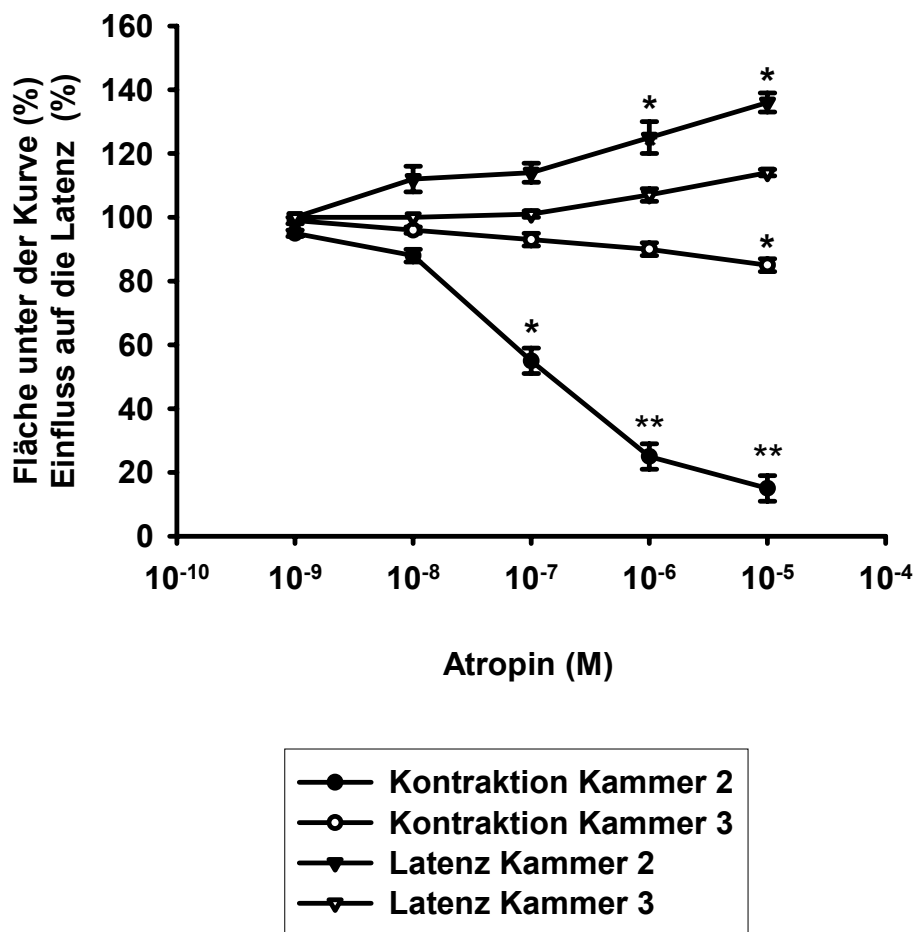


Abb.3.3: Einfluss von Atropin auf ascendierende Kontraktion und Latenz bei Zugabe in Kammer 2, \*:  $P < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ .

Wurde Atropin in hoher Konzentration ( $10^{-5}$  M) in die erste Kammer zugegeben, änderten sich Kontraktion und Latenz in den beiden Kammern 2 und 3 kaum:

Tab. 3.3: Einfluss von Atropin in Kammer 2 und 3 bei Zugabe in Kammer 1:

Atropin	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	in Kammer 2		in Kammer 2	
$10^{-5}$ M	-3,67%	n.s.	+ 0,83 %	n. s.
	in Kammer 3		in Kammer 3	
$10^{-5}$ M	-2,99%	n.s.	0,00 %	

### Einfluss von Atropin auf den aszendierenden myenterischen Reflex Applikation in die Stimulationskammer

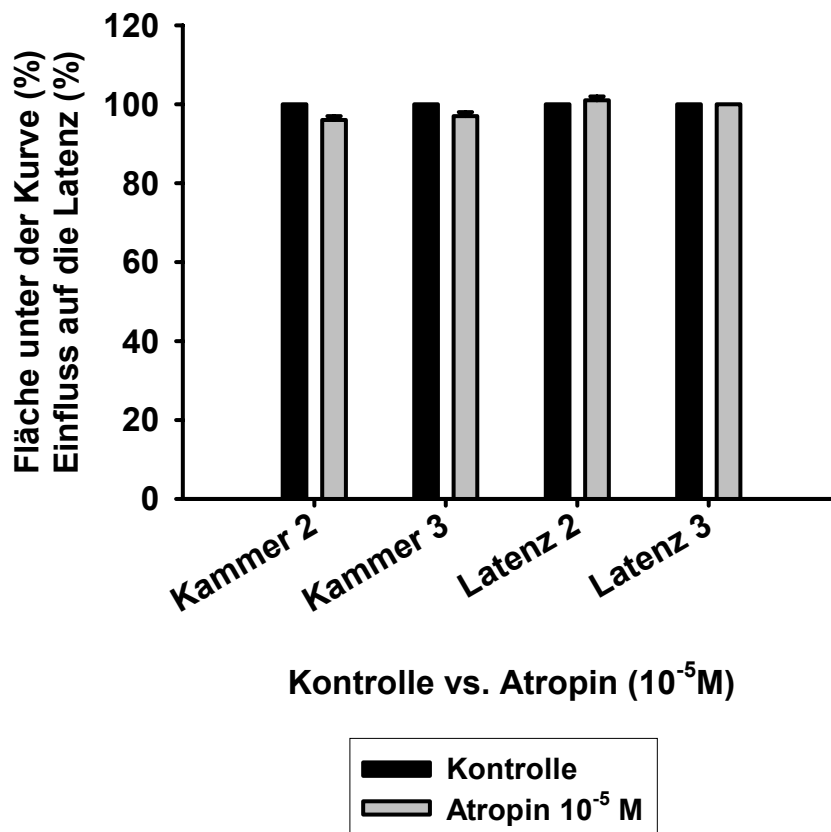


Abb.3.4.: Nahezu unveränderte Kontraktionen und Latenzen in Kammer 2 und 3 bei Zugabe von Atropin in die Stimulationskammer.



### 3.1.2. Hexamethonium

Hexamethonium hat einen selektiv depolarisierenden Effekt an allen nikotinergen Rezeptoren, die postsynaptisch an der Skelettmuskulatur, den vegetativen Ganglien und im ZNS vorkommen. Die parasympatischen Ganglien befinden sich im intramuralen Auerbach-Plexus des Darms. Da Hexamethonium auf die motorische Endplatte, den Sympathikus und den Parasympathikus gleichzeitig wirkt, wird es heute nur noch zu experimentellen Zwecken und als Standard bei der Prüfung anderer ganglionär wirkender Substanzen verwendet.

Bei Zugabe von Hexamethonium in einer Konzentration von  $10^{-5}$  mol/l in die Stimulationskammer waren in den darauffolgenden Kammern 2 und 3 keine Kontraktionsantworten oder Latenzen mehr messbar.

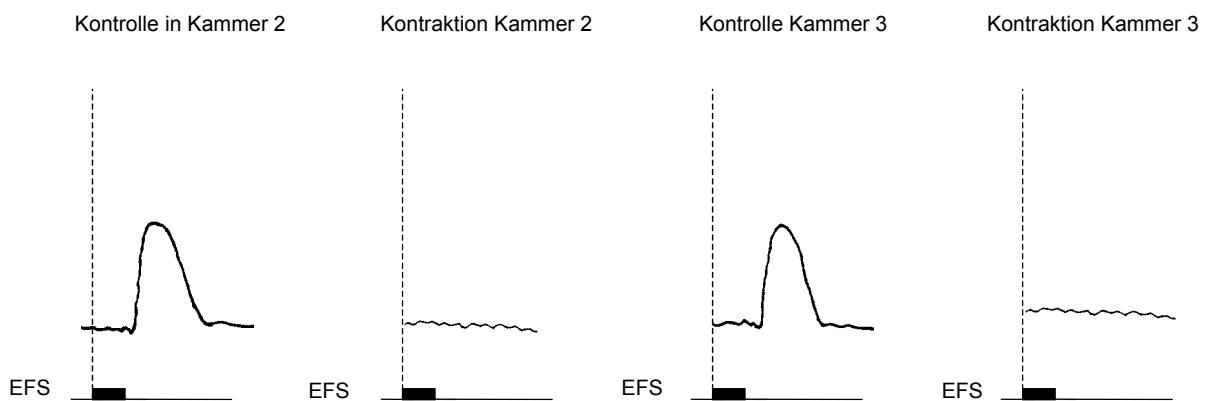


Abb. 3.5: Zugabe von  $10^{-5}$  M Hexamethonium in die 1. Kammer führt zu einer Auslöschung der Kontraktionen in den Kammern 2 und 3.

Tab.3.4: Einfluss von Hexamethonium in Kammer 2 und 3 bei Zugabe in Kammer 1:

Hexamethonium	Einfluss auf die Kontraktion	Einfluss auf die Latenz
	in Kammer 2	in Kammer 2
$10^{-5}$ M	--100,00 %	keine messbare Veränderung
Hexamethonium	Einfluss auf die Kontraktion	Einfluss auf die Latenz
	in Kammer 3	in Kammer 3
$10^{-5}$ M	--100,00 %	keine messbare Veränderung

Bei einer Konzentration von  $10^{-5}$  mol/l Hexamethonium in der zweiten Kammer kam es ebenso zu einer völligen Auslöschung der Kontraktionen in beiden Kammern, Latenzen waren nicht mehr messbar.

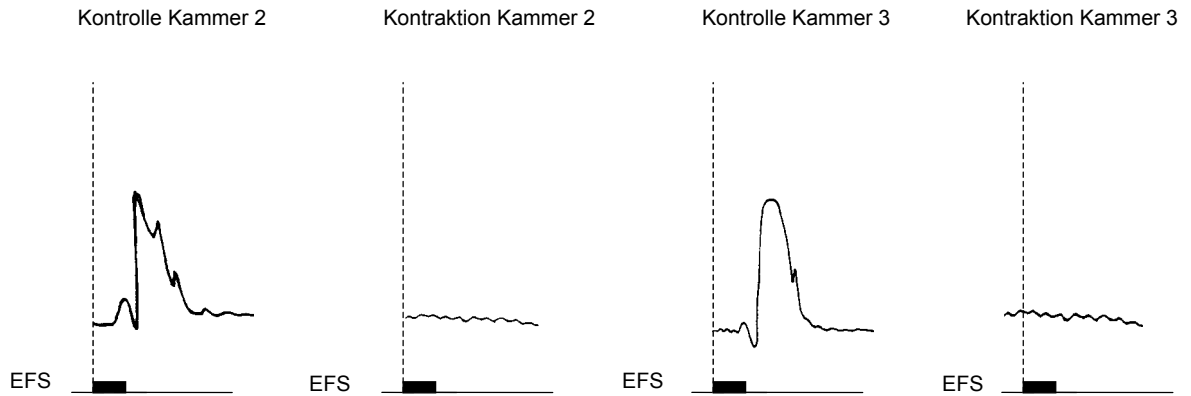


Abb.3.6: Hexamethonium bewirkt bei Zugabe in Kammer 2 eine vollständige Auslöschung von Kontraktionen in Kammer 2 und 3.

Tab.3.5: Einfluss von Hexamethonium in Kammer 2 und 3 bei Zugabe in Kammer 2:

Hexamethonium	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 2	Einfluss auf die Latenz in Kammer 2
$10^{-5}$ M	--100,00 %	keine messbare Veränderung

Hexamethonium	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 3	Einfluss auf die Latenz in Kammer 3
$10^{-5}$ M	--100,00 %	keine messbare Veränderung

### 3.1.3. Nociceptin

Nociceptin ist ein endogener Agonist am ORL1- Rezeptor. Um die Wirkung des Nociceptins am Dünndarm der Ratte näher zu differenzieren, wurden Versuche zunächst am Einkammerbad und anschließend am Dreikammerbad durchgeführt. Im Einkammerbad führte Nociceptin zu einer deutlichen Hemmung der Kontraktionen und einer Verlängerung der Latenz sowohl im ascendierenden (oralen) als auch im deszendierenden (aboralen) Reflex.

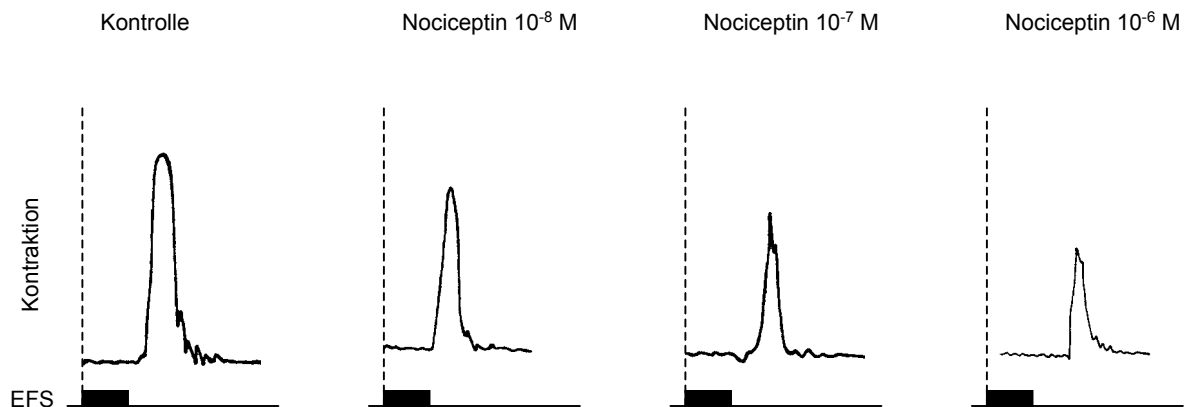


Abb.3.7: Nociceptin vermindert im oralen Reflexweg die Kontraktionen.

Tab.3.6: Verlängerung der Latenz und Verminderung der Kontraktion im ascendierenden Reflexweg bei Zugabe von Nociceptin im Einkammerbad:

Nociceptin	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	oral		oral	
10 <sup>-10</sup> M	-4,42%	n.s.	+ 1,02 %	n.s.
10 <sup>-9</sup> M	-8,95%	n.s.	+ 4,28 %	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	-28,56%	p< 0,05	+ 11,27 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-43,00%	p< 0,05	+ 21,41 %	p< 0,05
10 <sup>-6</sup> M	-65,80%	p< 0,01	+ 32,39 %	p< 0,05

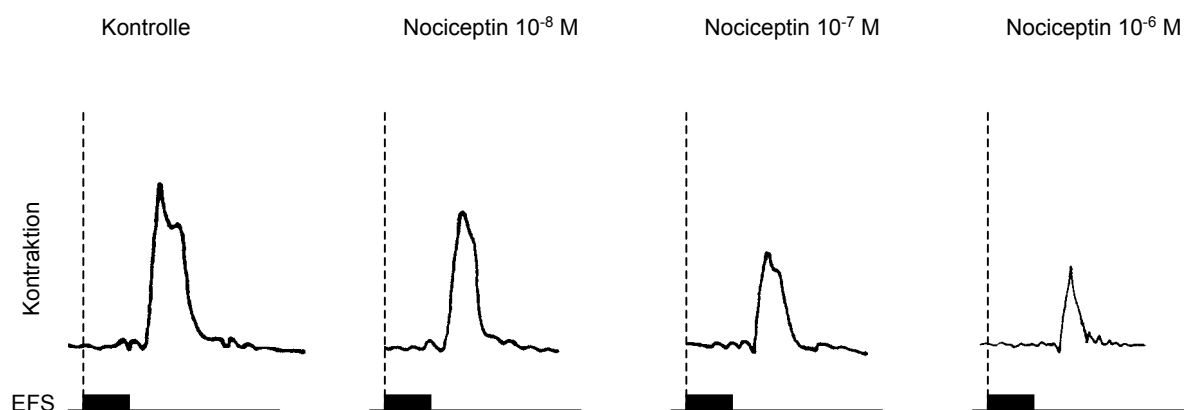


Abb.3.8: Auch im deszendierenden Reflexweg verlängert Nociceptin dosisabhängig die Latenz und verringert die Kontraktion.

Tab.3.7: Einfluss von Nociceptin auf den deszendierenden Reflexweg.

Nociceptin	Einfluss auf die Kontraktion		Einfluss auf die Latenz	
	aboral	Signifikanz	aboral	Signifikanz
10 <sup>-10</sup> M	-2,43%	n.s.	0,00 %	
10 <sup>-9</sup> M	-10,62%	n.s.	+ 1,67 %	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	-24,96%	p< 0,05	+ 10,08 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-38,18%	p< 0,05	+ 26,01 %	p< 0,05
10 <sup>-6</sup> M	-69,90%	p< 0,01	+ 36,48 %	p< 0,01

### Einfluss von Nociceptin im Einkammerbad

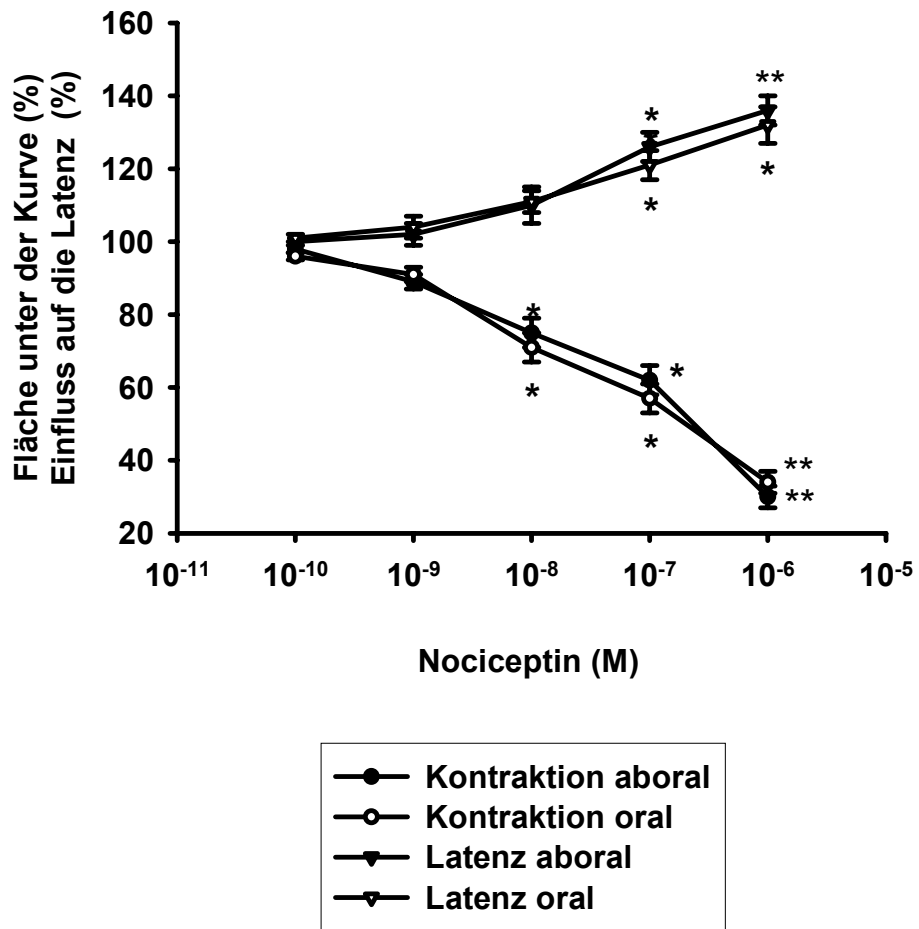
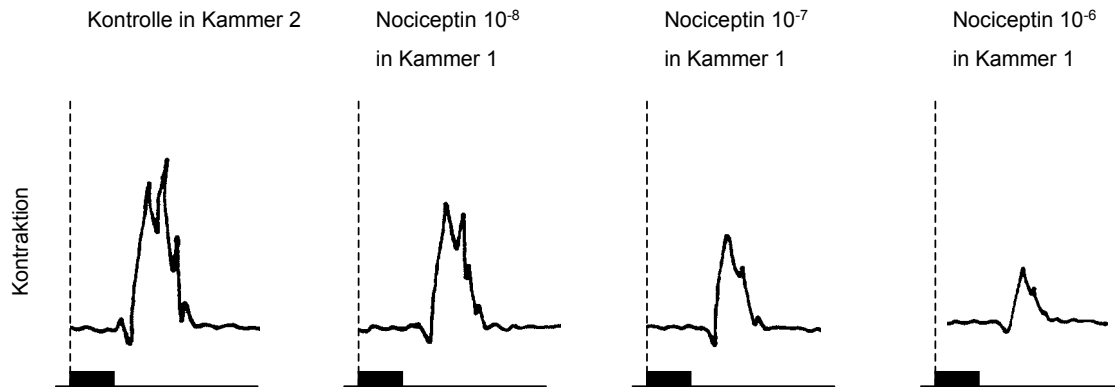


Abb.3.9: Gesamtübersicht über die Effekte von Nociceptin im Einkammerbad.

\*:  $p < 0,05$  ; \*\*:  $p < 0,01$ .

Im Dreikammerbad verursacht Nociceptin bei Zugabe in die Stimulationskammer ebenso eine Hemmung der Kontraktion und Verlängerung der Latenz, die ähnlich stark ausgeprägt sind wie im Einkammerbad:



*Abb.3.10: Nociceptin verringert Kontraktionen und verlängert Latenzen in der 2. Kammer, wenn es in die Stimulationskammer zugegeben wird.*

Tab.3.8: Bei Zugabe von Nociceptin in die Stimulationskammer verringern sich die Kontraktionen und die Latenzen in Kammer 2 und 3:

Nociceptin	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 2	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 2	Signifikanz
10 <sup>-10</sup> M	-4,05%	n.s.	-0,67%	n.s.
10 <sup>-9</sup> M	-15,17%	p< 0,05	+ 7,31 %	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	-31,72%	p< 0,05	+ 11,08 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-40,37%	p< 0,01	+ 18,95 %	p< 0,05
10 <sup>-6</sup> M	-64,72%	p< 0,01	+ 33,93 %	p< 0,05

Nociceptin	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 3	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 3	Signifikanz
10 <sup>-10</sup> M	-5,50%	n.s.	+ 1,19 %	n.s.
10 <sup>-9</sup> M	-10,50%	n.s.	+ 5,04 %	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	-28,21%	p< 0,05	+ 12,42 %	p< 0,05
10 <sup>-7</sup> M	-41,65%	p< 0,05	+ 19,13 %	p< 0,05
10 <sup>-6</sup> M	-65,72%	p< 0,01	+ 29,28 %	p< 0,05

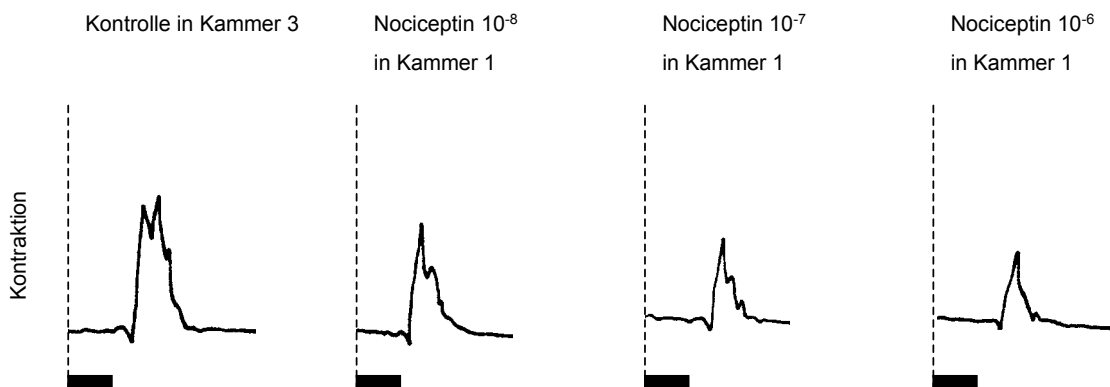
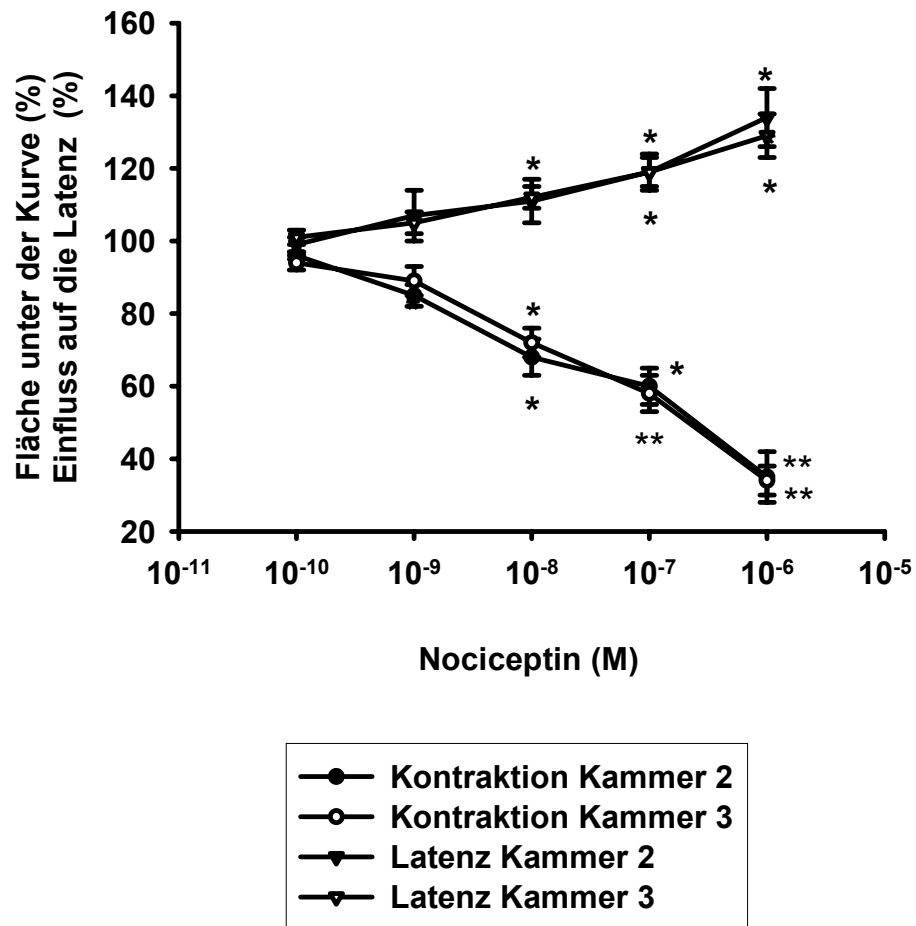


Abb.3.11: Kontraktionen und Latenzen in Kammer 3 zeigen bei Zugabe von Nociceptin in die Stimulationskammer ein ähnliches Bild wie in Kammer 2.

**Einfluss von Nociceptin auf die ascendierende Kontraktion  
Applikation in die 1. Kammer**



*Abb.3.12: Einfluss von Nociceptin in aufsteigenden Konzentrationen auf den ascendierenden Reflex bei Zugabe in die Stimulationskammer. \*:  $p < 0,05$  ; \*\*:  $p < 0,01$ .*



Bei Zugabe aufsteigender Konzentrationen von Nociceptin in die zweite Kammer werden die Kontraktionen und die Latenzen in Kammer 2 und 3 in ähnlicher Weise abgeschwächt, wie bei Zugabe in die Stimulationskammer:

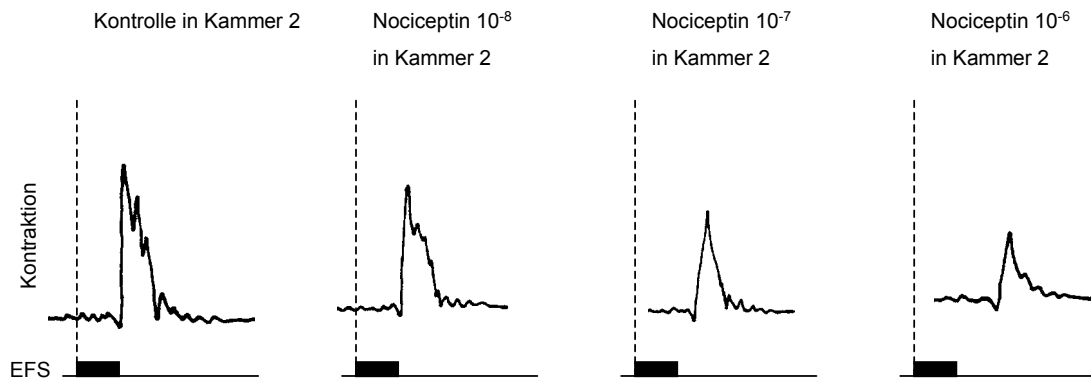


Abb.3.13: In Kammer 2 nehmen die Kontraktionen ab und die Latenzen zu, wenn Nociceptin anwesend ist.

Ein fast identisches Kontraktionsmuster ist bei diesen Versuchen in Kammer 3 zu beobachten:

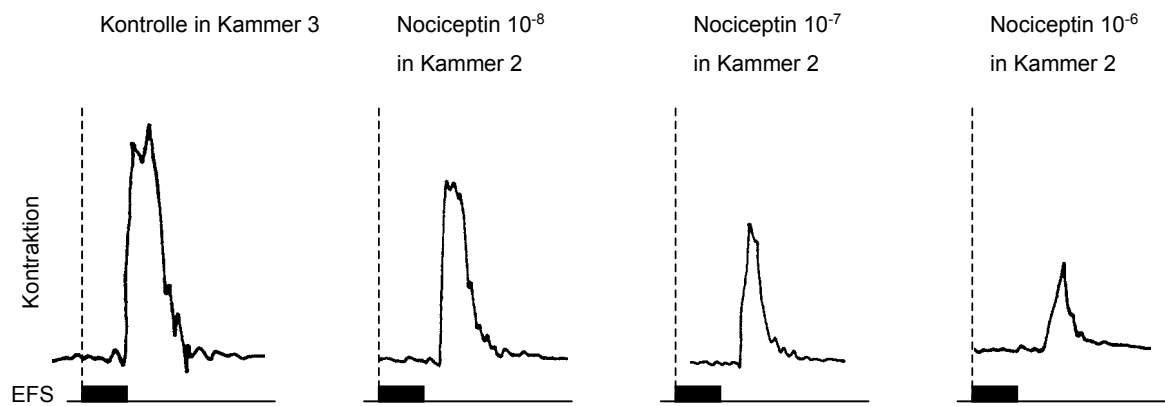


Abb.3.14: Kontraktionskurven in Kammer 3 bei Zugabe von Nociceptin in Kammer 2.

Tab.3.9: Einfluss von Nociceptin bei Zugabe in Kammer 2:

Nociceptin	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 2	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 2	Signifikanz
10 <sup>-10</sup> M	-4,49%	n.s.	0,00%	n.s.
10 <sup>-9</sup> M	-13,41%	n.s.	+ 8,33 %	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	-37,39%	p< 0,05	+ 18,75 %	p< 0,05
10 <sup>-7</sup> M	-46,40%	p< 0,01	+ 21,43 %	p< 0,05
10 <sup>-6</sup> M	-60,43%	p< 0,01	+ 33,33 %	p< 0,05

Nociceptin	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 3	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 3	Signifikanz
10 <sup>-10</sup> M	-3,63%	n.s.	0,00%	n.s.
10 <sup>-9</sup> M	-10,88%	n.s.	+ 2,56 %	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	-21,70%	p< 0,05	+ 6,98 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-45,79%	p< 0,05	+ 14,46 %	p< 0,05
10 <sup>-6</sup> M	-62,82%	p< 0,01	+ 24,95 %	p< 0,05

**Einfluss von Nociceptin auf die ascendierende Kontraktion  
Applikation in die 2. Kammer**

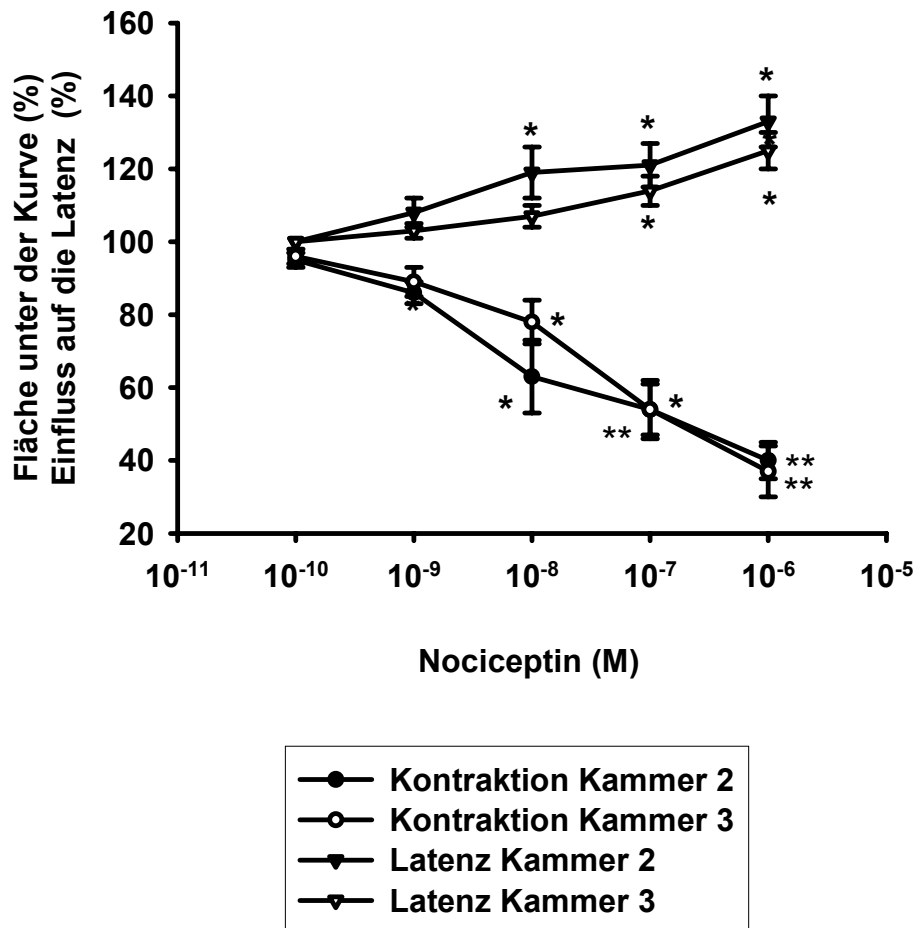


Abb. 3.15: Nociceptin verringert die Kontraktionen und verlängert die Latenzen in Kammer 2 und 3.

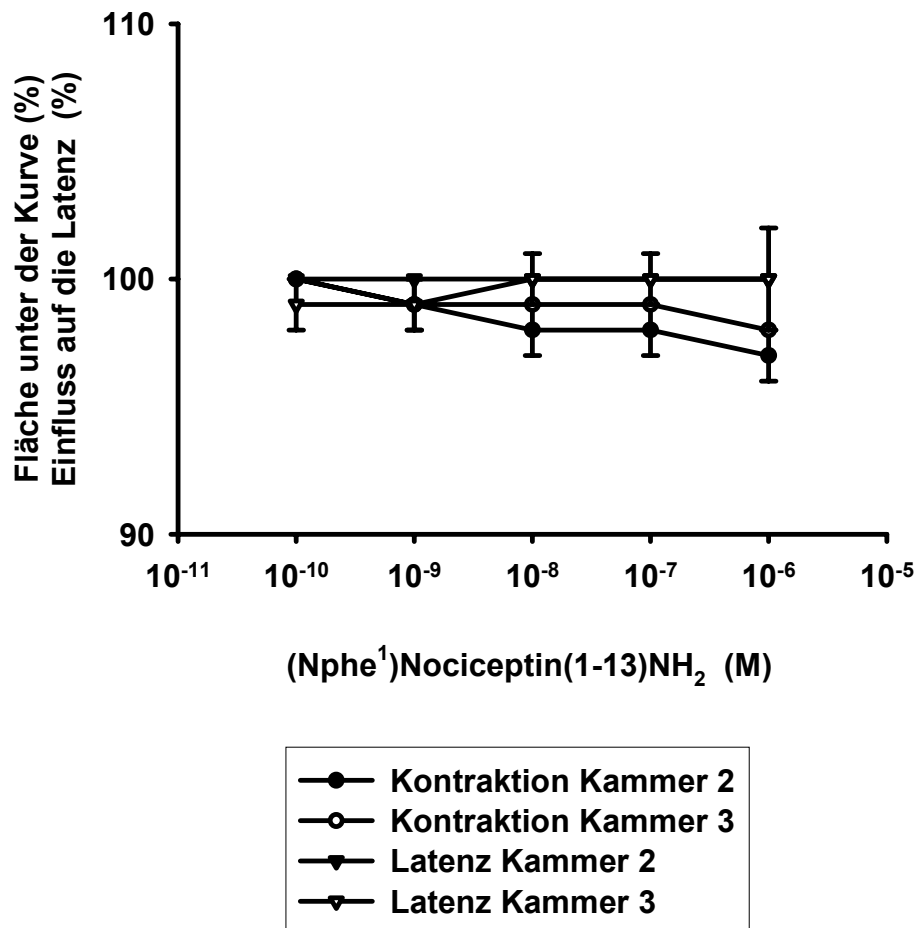
\*:  $p < 0,05$  ; \*\*:  $p < 0,01$ .

### 3.1.4. [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub>

[Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> ist ein selektiver, kompetitiver Antagonist am ORL1-Rezeptor. Um seine Wirkung am myenterischen Reflex des Dünndarms der Ratte zu untersuchen, wurden aufsteigende Konzentrationen von [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> in die Kammern 1 und 2 des Organbads zugegeben. Nach Erreichen der höchsten Konzentration von 10<sup>-6</sup> M in der Stimulationskammer wurde 10<sup>-6</sup> M Nociceptin zugegeben, um die antagonistische Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> nachzuweisen.

Unter Anwesenheit des Antagonisten [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> konnte gezeigt werden, daß die Inhibition der Kontraktion und die Verlängerung der Latenz des Nociceptin teilweise antagonisiert werden konnte. [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> allein hatte keinen signifikanten Einfluss auf Kontraktion und Latenz.

**Einfluss von (Nphe<sup>1</sup>)Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub>  
auf die ascendierende Kontraktion  
Applikation in die 1. Kammer**



*Abb.3.16: Schwache, nicht signifikante Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe in Kammer 1.*

Wurde jedoch anschließend Nociceptin in die Stimulationskammer gegeben, in der sich  $[Nphe^1]$  Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> in einer Konzentration von 10<sup>-6</sup> M befand, wurden die Kontraktionen weniger verringert und die Latenzen weniger verlängert, als bei alleiniger Gabe von Nociceptin:

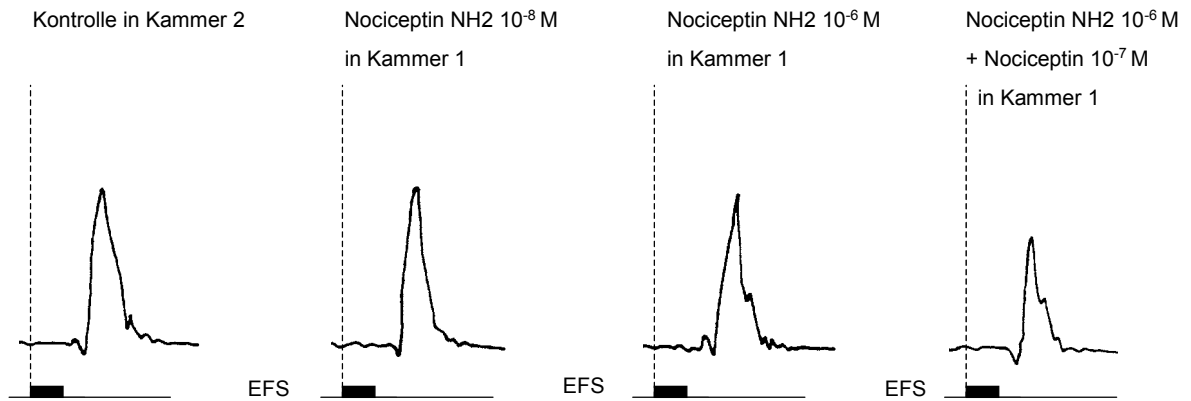


Abb.3.17: Antagonistische Wirkung des  $[Nphe^1]$  Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe in Kammer 1. Kontraktionskurven aus Kammer 2.

Auch in der entfernten 3. Kammer wurden die Reflexantworten weniger abgeschwächt:

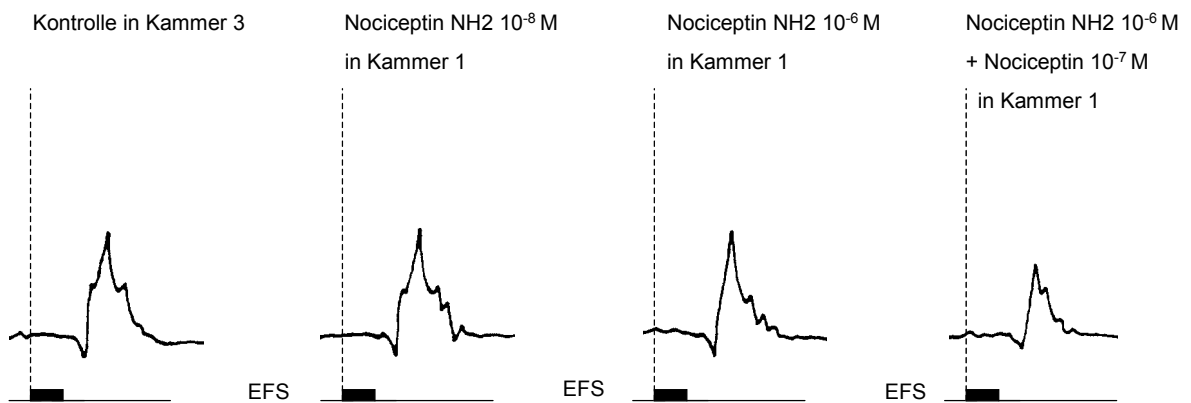


Abb.3.18: Kontraktionskurven in der 3. Kammer bei Anwesenheit von Nociceptin und  $[Nphe^1]$  Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> in der Stimulationskammer.

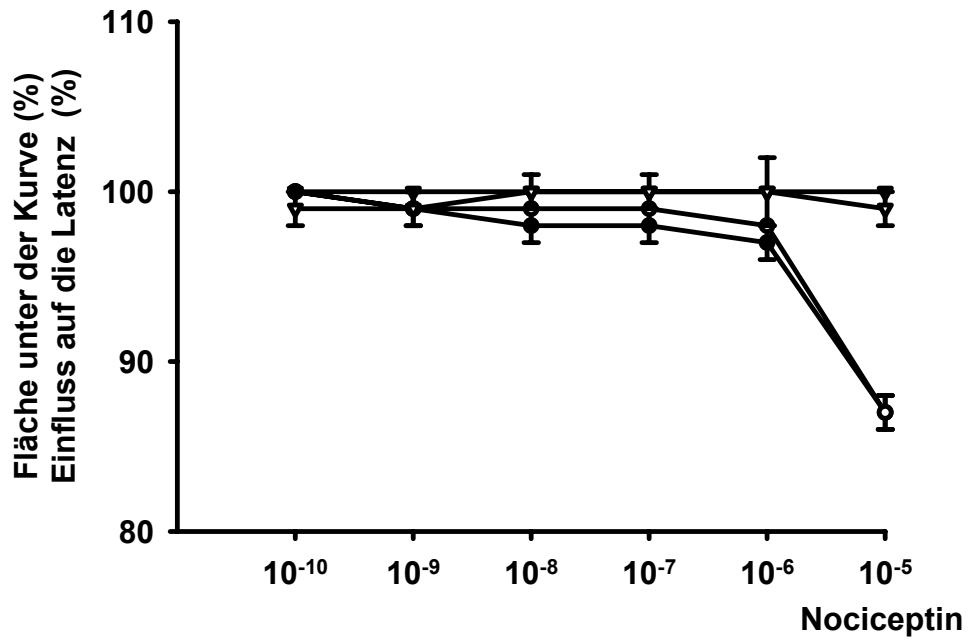
Tab.3.10: Antagonistischer Effekt des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> in der Stimulationskammer:

Nociceptin- antagonist NH <sub>2</sub>	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 2	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 2	Signifikanz
10 <sup>-10</sup> M	-0,18%	n.s.	0,00%	
10 <sup>-9</sup> M	-1,04%	n.s.	0,00%	
10 <sup>-8</sup> M	-1,76%	n.s.	0,00%	
10 <sup>-7</sup> M	-2,08%	n.s.	0,00%	
10 <sup>-6</sup> M	-2,50%	n.s.	0,00%	
Nociceptin				
10 <sup>-6</sup>	-13,33%	n.s.	0,00%	

Nociceptin- antagonist NH <sub>2</sub>	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 3	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 3	Signifikanz
10 <sup>-10</sup> M	-0,38%	n.s.	-0,69%	n.s.
10 <sup>-9</sup> M	-0,51%	n.s.	-0,69%	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	-0,88%	n.s.	+ 0,05 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-1,37%	n.s.	-0,13%	n.s.
10 <sup>-6</sup> M	-1,67%	n.s.	-0,08%	n.s.
Nociceptin				
10 <sup>-6</sup>	-13,01%	n.s.	-1,22%	n.s.

Im Vergleich zur alleinigen Gabe von Nociceptin in die Stimulationskammer (vgl. Tabelle 3.8), wo Nociceptin in einer Konzentration von 10<sup>-6</sup> M die Kontraktionen um ca. 65 % verringerte und die Latenzen um ca. 31 % verlängerte, wird der antagonistische Effekt des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> deutlich.

**Einfluss von (Nphe<sup>1</sup>)Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> und Nociceptin  
auf die ascendierende Kontraktion  
Applikation in die 1. Kammer**



**(Nphe<sup>1</sup>)Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> (M)**



*Abb.3.19: Gesamtdarstellung der Effekte von [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> und Nociceptin in der Stimulationskammer.*



In der zweiten Kammer zeigte  $[Nphe^1]$  Nociceptin (1-13) $NH_2$  kaum Einfluss auf die Kontraktionen, die Latenzen wurden jedoch um bis zu 24 % verlängert:

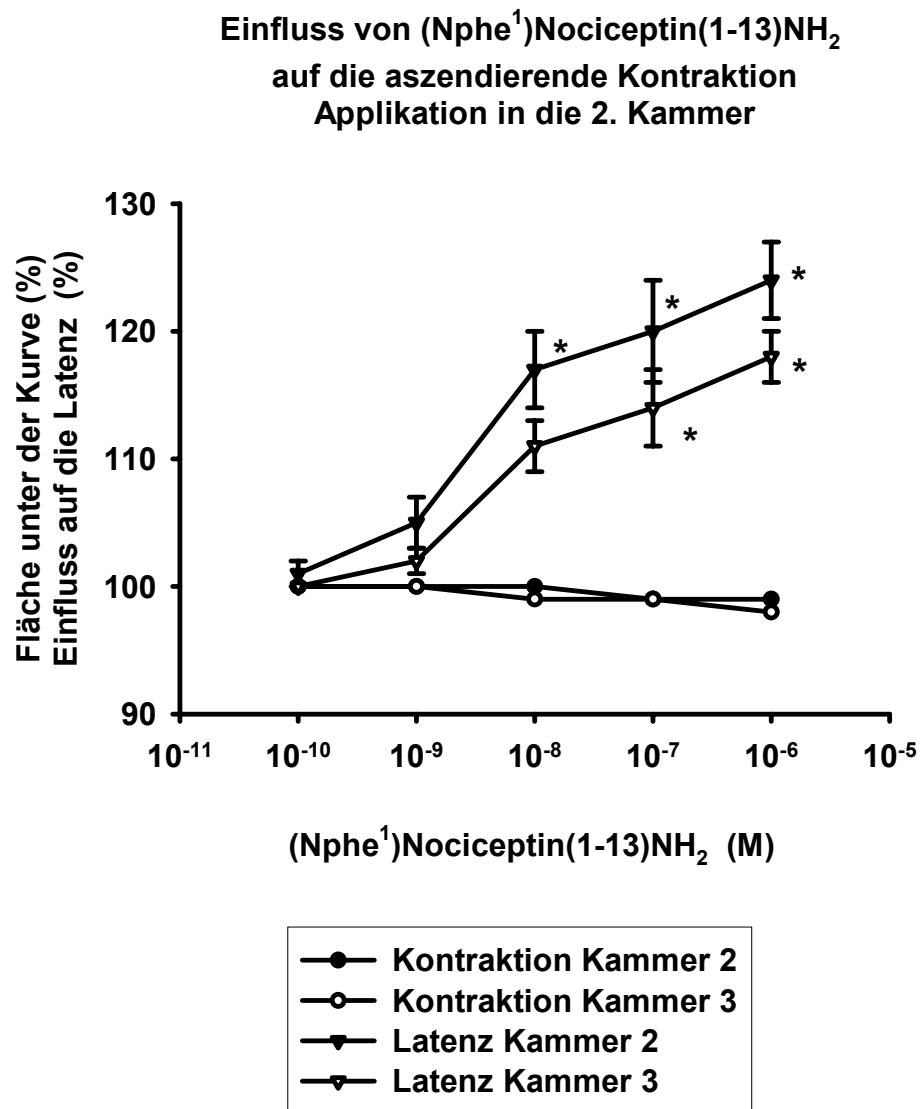


Abb.3.20:  $[Nphe^1]$  Nociceptin (1-13) $NH_2$  verlängert die Latenzen bei Zugabe in Kammer 2, die Kontraktionen bleiben nahezu unverändert. \*:  $p < 0,05$ .

Die anschließende Zugabe von Nociceptin in aufsteigenden Konzentrationen in die noch [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> enthaltende 2. Kammer ergab eine verminderte Wirkung des Nociceptins unter Anwesenheit des Antagonisten.

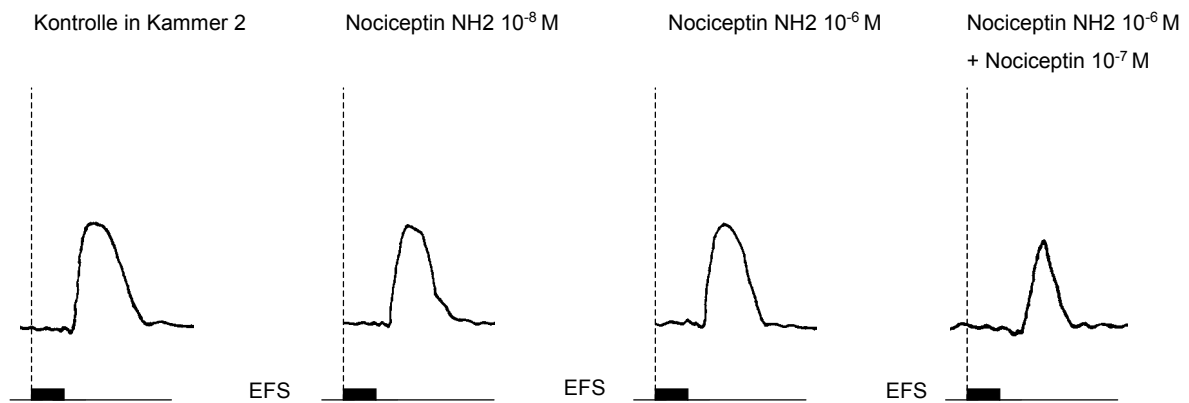


Abb.3.21: Antagonistische Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe von Nociceptin in Kammer 2. Kontraktionskurven in Kammer 2.

Derselbe Effekt wurde auch in der dritten Kammer beobachtet:

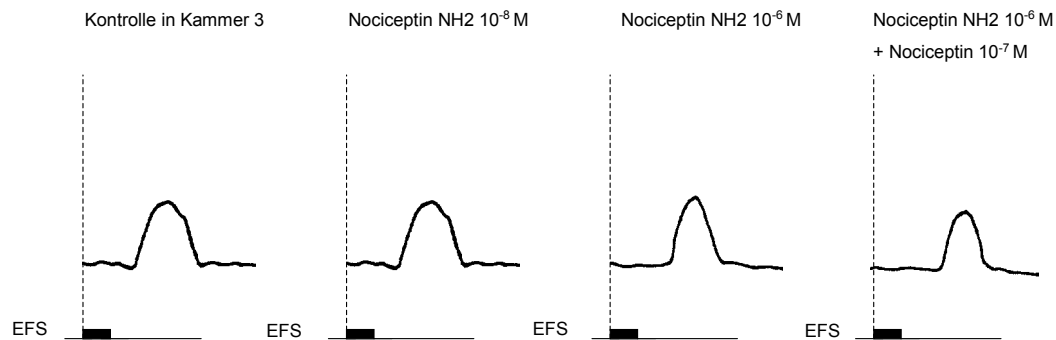


Abb.3.22: Antagonistische Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe von Nociceptin in Kammer 2. Kontraktionskurven in Kammer 3.

Tab.3.11: Gesamtübersicht über den Einfluss des Nociceptinantagonisten [ $Nphe^1$ ] Nociceptin ( $1-13$ ) $NH_2$  bei Zugabe in Kammer 2:

Nociceptin- antagonist $NH_2$	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 2	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 2	Signifikanz
$10^{-10}$ M	-0,12%	n.s.	+ 0,71 %	n.s.
$10^{-9}$ M	-0,28%	n.s.	+ 4,82 %	n.s.
$10^{-8}$ M	-0,43%	n.s.	+ 16,64 %	$p < 0,05$
$10^{-7}$ M	-0,78%	n.s.	+ 20,16 %	$p < 0,05$
$10^{-6}$ M	-1,25%	n.s.	+ 24,04 %	$p < 0,05$
Nociceptin				
$10^{-9}$	-1,66%	n.s.	+ 23,41 %	$p < 0,05$
$10^{-8}$	-16,24%	n.s.	+ 24,04 %	$p < 0,05$
$10^{-7}$	-28,10%	$p < 0,05$	+ 24,04 %	$p < 0,05$

Nociceptin- antagonist $NH_2$	Einfluss auf die Kontraktion in Kammer 3	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz in Kammer 3	Signifikanz
$10^{-10}$ M	-0,12%	n.s.	0,00%	
$10^{-9}$ M	-0,30%	n.s.	+ 2,02 %	n.s.
$10^{-8}$ M	-0,64%	n.s.	+ 11,43 %	n.s.
$10^{-7}$ M	-1,27%	n.s.	+ 13,65 %	$p < 0,05$
$10^{-6}$ M	-2,30%	n.s.	+ 17,82 %	$p < 0,05$
Nociceptin				
$10^{-9}$	-2,55%	n.s.	+ 17,46 %	$p < 0,05$
$10^{-8}$	-19,04%	n.s.	+ 17,82 %	$p < 0,05$
$10^{-7}$	-28,00%	$p < 0,05$	+ 17,82 %	$p < 0,05$

**Einfluss von Nociceptin bei Anwesenheit  
von  $10^{-5}$  M (Nphe<sup>1</sup>)Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub>  
auf die ascendierende Kontraktion  
Applikation in die 2. Kammer**

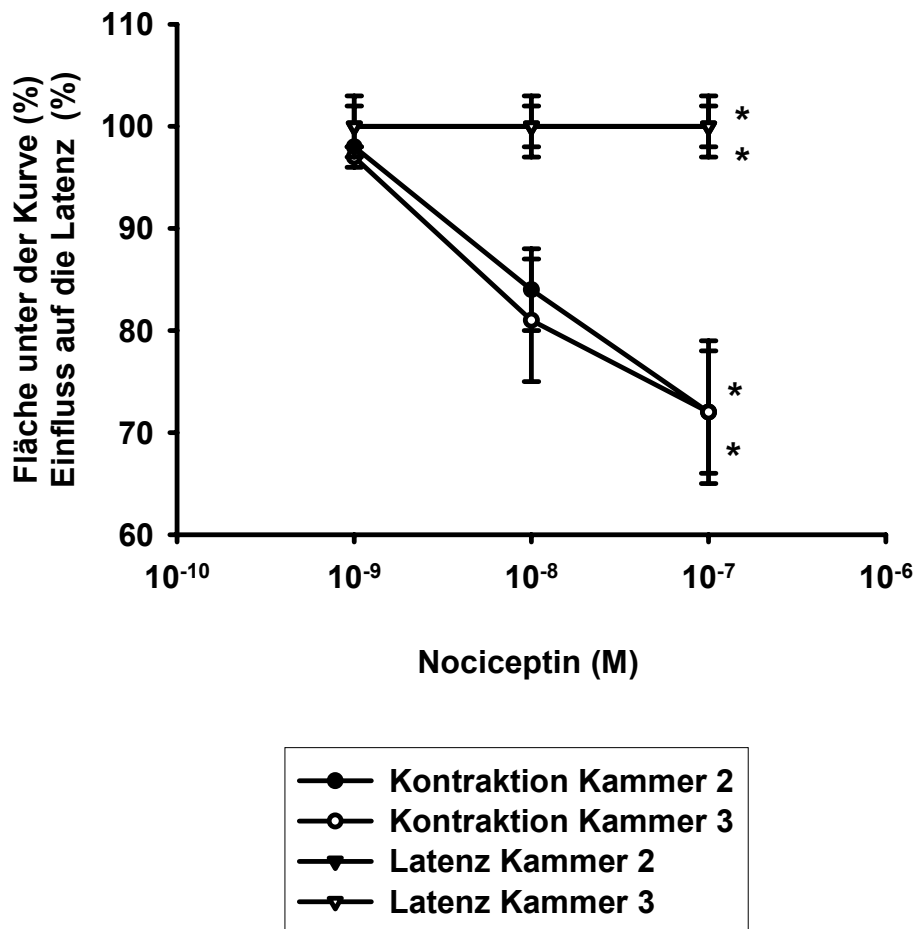


Abb.3.23: Befand sich der Nociceptinantagonist [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bereits in Kammer 2, war der hemmende Effekt des Nociceptins auf Kontraktion und Latenz weniger stark ausgeprägt.

\*:  $p < 0,05$ .

### 3.1.5. Nocistatin

Bisher konnte Nocistatin einige Effekte des Nociceptin im ZNS antagonisieren, eine Wirkung außerhalb des ZNS einschließlich des Rückenmarks wurde noch nicht beobachtet. In unseren Versuchen wurde der Einfluss von Nocistatin auf den aszendierenden und den deszendierenden myenterischen Reflex im Einkammerbad getestet.

In aufsteigenden Konzentrationen von Nocistatin bis zu  $10^{-6}$  M ließ sich eine mäßige Abschwächung der Kontraktionen und eine leichte Verlängerung der Latenzen feststellen:

*Tab.3.12: Einfluss von Nocistatin auf den oralen und aboralen Reflexweg im Einkammerbad:*

Nocistatin	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	aboral		aboral	
$10^{-10}$ M	-0,37%	n.s.	+ 0,71 %	n.s.
$10^{-9}$ M	-1,09%	n.s.	+ 2,05 %	n.s.
$10^{-8}$ M	-1,76%	n.s.	+ 3,05 %	n.s.
$10^{-7}$ M	-4,84%	n.s.	+ 9,45 %	n.s.
$10^{-6}$ M	-14,16%	n.s.	+ 12,07 %	n.s.

Nocistatin	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	oral		oral	
$10^{-10}$ M	-0,12%	n.s.	0,00 %	n.s.
$10^{-9}$ M	-0,30%	n.s.	+ 2,02 %	n.s.
$10^{-8}$ M	-0,64%	n.s.	+ 2,10 %	n.s.
$10^{-7}$ M	-5,36%	n.s.	+ 6,71 %	n.s.
$10^{-6}$ M	-12,13%	n.s.	+ 12,82 %	n.s.

### Einfluss von Nocistatin im Einkammerbad

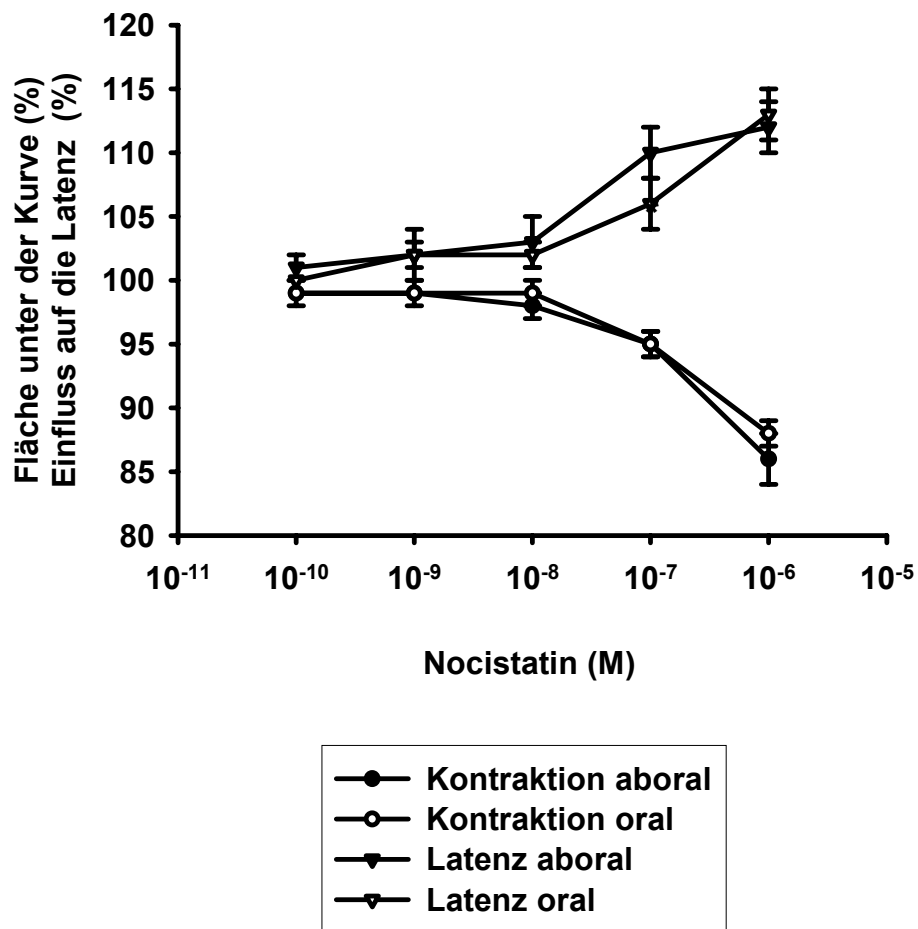


Abb.3.24: Bei Zugabe von Nocistatin in das Einkammerbad verlängerten sich die Latenzen und verminderten sich die Kontraktionen im aufsteigenden und absteigenden Reflexweg mäßig.

### 3.1.6. Cannabinoide

In den folgenden Versuchen wurde der Einfluss von zwei Cannabinoiden auf den aufsteigenden myenterischen Reflex untersucht. Ziel war es, die Wirkung der Substanzen in der Stimulationskammer zu charakterisieren. Daher wurde das ursprüngliche Dreikammerbad in nur zwei Kammern unterteilt: die unveränderte Stimulationskammer und die Messkammer, in der die aufsteigenden Kontraktionen nach 4 cm und nach 7 cm, gemessen ab der Elektrode in der Stimulationskammer, aufgezeichnet werden können.

Anandamid gehört zu den endogenen Cannabinoiden und ist ein Agonist am CB<sub>1</sub>- Rezeptor. Unter aufsteigenden Konzentrationen von Anandamid kommt es nach 4 und nach 7 cm zu einer konzentrationsabhängigen Inhibierung der Kontraktionen, gleichzeitig verlängert sich die Latenz vom elektrischen Stimulationsreiz zur Reflexantwort.

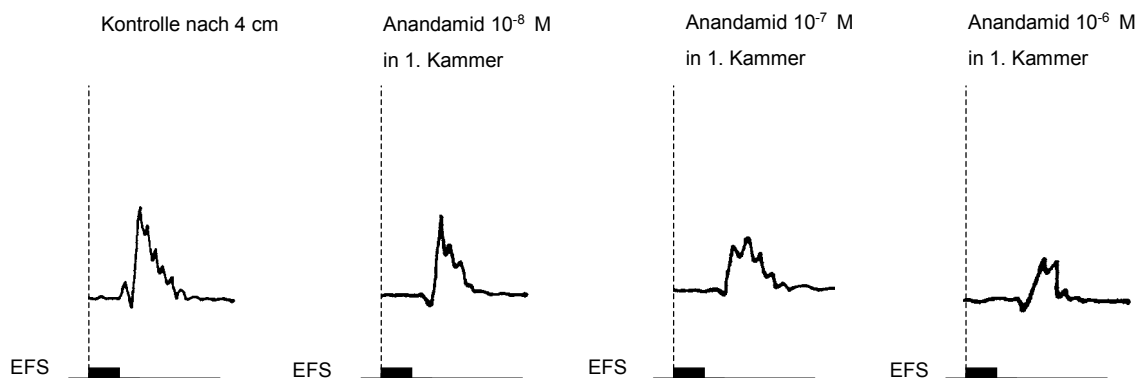


Abb.3.25: Inhibitorische Wirkung von Anandamid auf den aufsteigenden Reflex nach 4 cm bei Zugabe in Kammer 1.

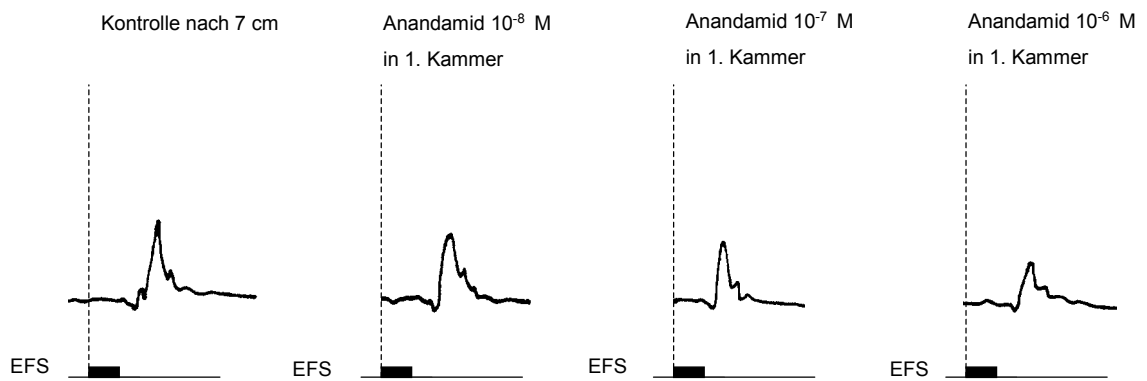


Abb.3.26: Inhibitorische Wirkung von Anandamid auf den ascendierenden Reflex nach 7 cm bei Zugabe in Kammer 1.

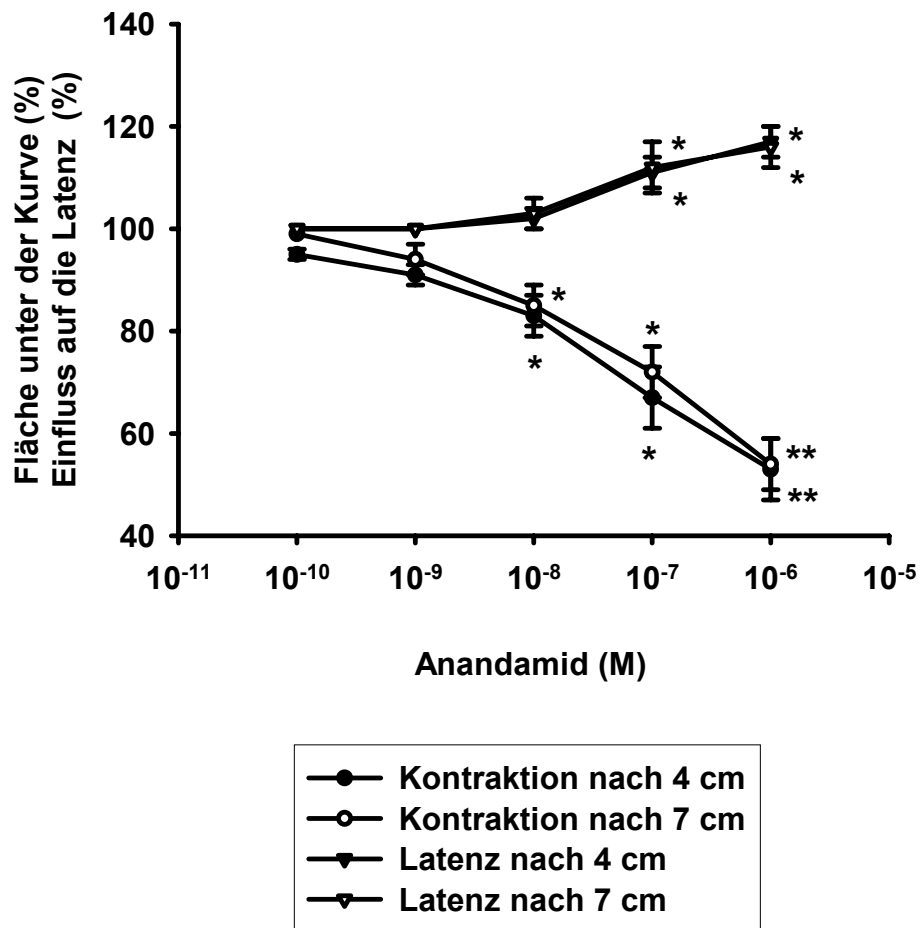
Tab.3.13: Einfluss von Anandamid auf den ascendierenden Reflex nach 4 und 7 cm:

Anandamid	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	nach 4 cm		nach 4 cm	
10 <sup>-10</sup> M	-4,64%	n.s	0,00%	
10 <sup>-9</sup> M	-8,67%	n.s	0,00%	
10 <sup>-8</sup> M	-17,37%	p< 0,05	+ 2,38 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-32,73%	p< 0,05	+ 11,07 %	n.s.
10 <sup>-6</sup> M	-47,12%	p< 0,05	+ 16,78 %	p< 0,05
10 <sup>-5</sup> M	-48,42%	p< 0,01	+ 28,33 %	p< 0,05

Anandamid	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	nach 7 cm		nach 7 cm	
10 <sup>-10</sup> M	-0,98%	n.s.	0,00%	
10 <sup>-9</sup> M	-6,31%	n.s.	0,00%	
10 <sup>-8</sup> M	-15,06%	p< 0,05	+ 2,50 %	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	-27,72%	p< 0,05	+ 12,40 %	n.s.
10 <sup>-6</sup> M	-45,50%	p< 0,05	+ 16,31 %	p< 0,05
10 <sup>-5</sup> M	-49,35%	p< 0,01	+ 29,78 %	p< 0,05



**Einfluss von Anandamid auf die ascendierende Kontraktion  
Applikation in die Stimulationskammer**



*Abb.3.27: Kontraktionsverminderung und Latenzverlängerung nach 4 und 7 cm im ascendierenden Reflex bei Zugabe von Anandamid in die Stimulationskammer. \*:  $p < 0,05$  ; \*\*:  $p < 0,01$ .*

Bei Zugabe des CB<sub>1</sub>- Rezeptorantagonisten SR 141716A in die Stimulationskammer konnte eine konzentrationsabhängige Steigerung der elektrisch induzierten Kontraktion nach 4 und nach 7 cm beobachtet werden. Gleichzeitig kam es zu einer Verkürzung der Latenz.

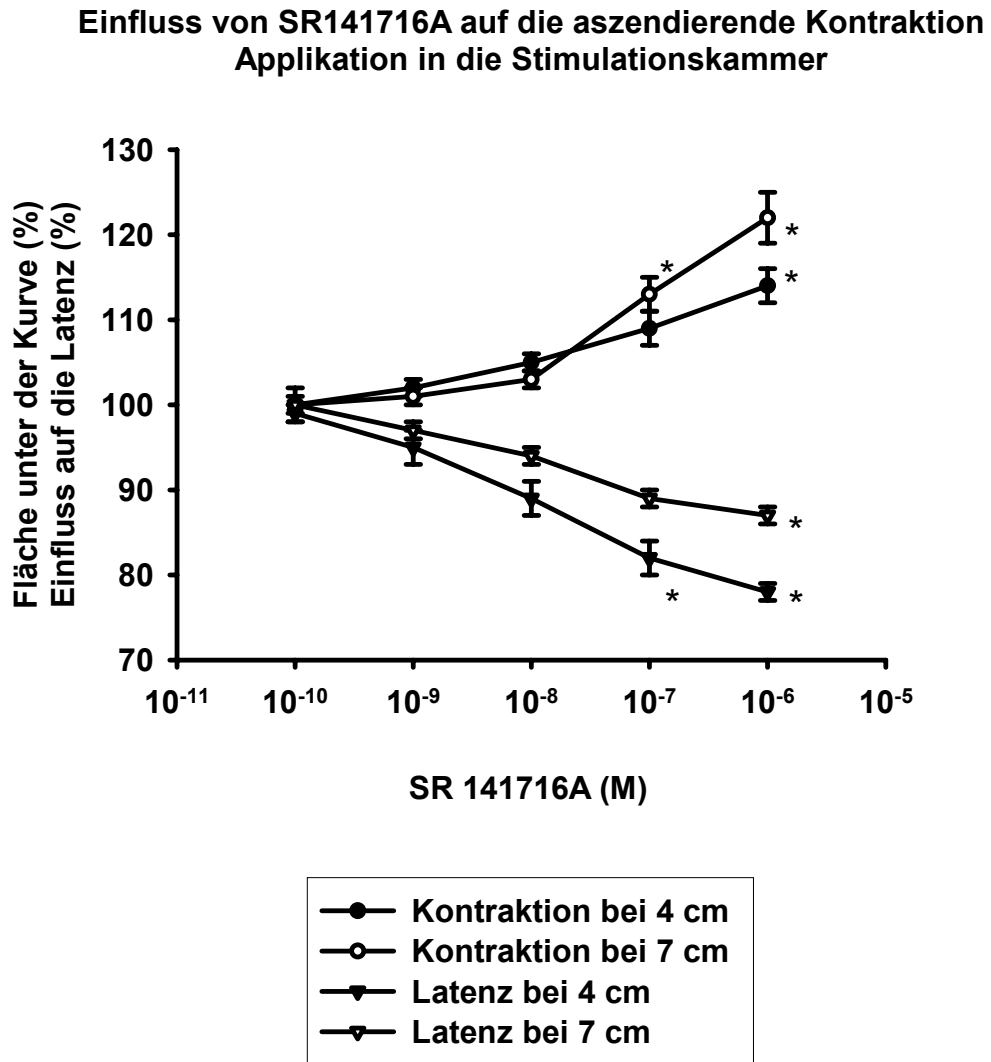


Abb.3.28: Verstärkte Kontraktionsantwort und verkürzte Latenz nach 4 und 7 cm im ascendierenden Reflex bei Zugabe von SR141716A in die Stimulationskammer. \*:  $p < 0,05$ .

Anschließend wurde Anandamid in aufsteigenden Konzentrationen in die Stimulationskammer gegeben, diese enthielt zu diesem Zeitpunkt noch  $10^{-6}$  M SR141716A. Es zeigte sich, dass die Wirkung des Anandamids bis zu einer Konzentration von  $10^{-5}$  M durch SR141716A deutlich antagonisiert werden konnte.

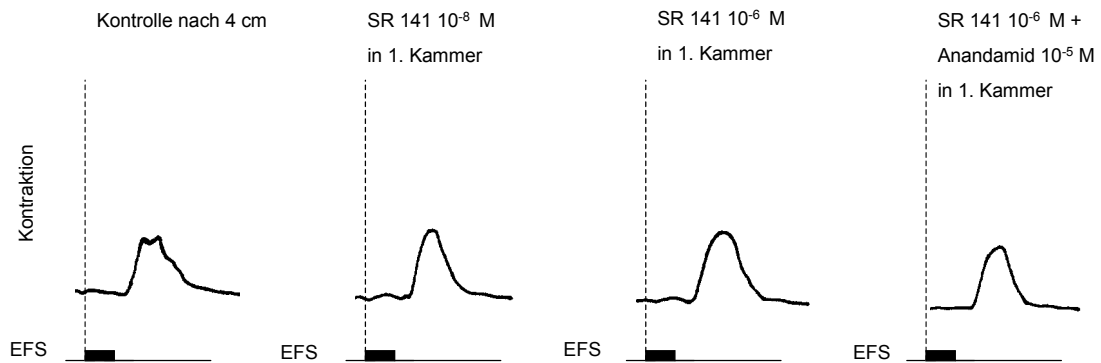


Abb.3.29: Die inhibierende Wirkung von Anandamid wird durch SR141716A deutlich antagonisiert. Messung nach 4cm im aufsteigenden Reflex.

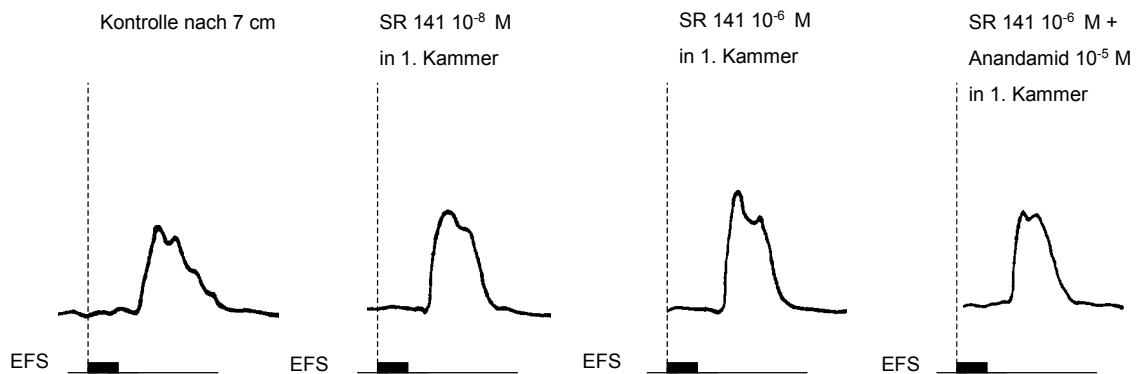


Abb.3.30: Auch nach 7 cm antagonisiert SR141716A die Wirkung von Anandamid.

Tab.3.14: Einfluss von Anandamid auf den aufsteigenden Reflex nach 4 und 7 cm unter Anwesenheit des Antagonisten SR141716A:

SR141716A	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	nach 4 cm		nach 4 cm	
10 <sup>-10</sup> M	-0,10%	n.s.	-1,08%	n.s.
10 <sup>-9</sup> M	+ 1,68 %	n.s.	-4,77%	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	+ 4,68 %	n.s.	-10,92%	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	+ 8,44 %	n.s.	-17,66%	p< 0,05
10 <sup>-6</sup> M	+ 14,06 %	p< 0,05	-21,35%	p< 0,05
Anandamid				
10 <sup>-9</sup>	+ 10,38 %	n.s.	-18,08%	n.s.
10 <sup>-8</sup>	+ 7,08 %	n.s.	-6,72%	n.s.
10 <sup>-7</sup>	-0,99%	n.s.	-4,13%	n.s.
10 <sup>-6</sup>	-7,23%	n.s.	-1,82%	n.s.
10 <sup>-5</sup>	-12,41%	p< 0,05	-1,82%	p< 0,05

SR141716A	Einfluss auf die Kontraktion	Signifikanz	Einfluss auf die Latenz	Signifikanz
	nach 7 cm		nach 7 cm	
10 <sup>-10</sup> M	-0,05%	n.s.	0,00%	
10 <sup>-9</sup> M	+ 0,54 %	n.s.	-2,72%	n.s.
10 <sup>-8</sup> M	+ 2,76 %	n.s.	-6,15%	n.s.
10 <sup>-7</sup> M	+ 13,18 %	p< 0,05	-11,28%	n.s.
10 <sup>-6</sup> M	+ 22,23 %	p< 0,05	-13,10%	p< 0,05
Anandamid				
10 <sup>-9</sup>	+ 18,62 %	n.s.	-13,10%	n.s.
10 <sup>-8</sup>	+ 12,15 %	n.s.	-9,67%	n.s.
10 <sup>-7</sup>	+ 6,83 %	n.s.	-3,37%	n.s.
10 <sup>-6</sup>	-1,40%	n.s.	+ 0,54 %	n.s.
10 <sup>-5</sup>	-10,31%	p< 0,05	+ 0,54 %	p< 0,05

**Einfluss von Anandamid in Gegenwart von SR141716 ( $10^{-6}$ M) auf die  
aszendierende Kontraktion  
Applikation in die Stimulationskammer**

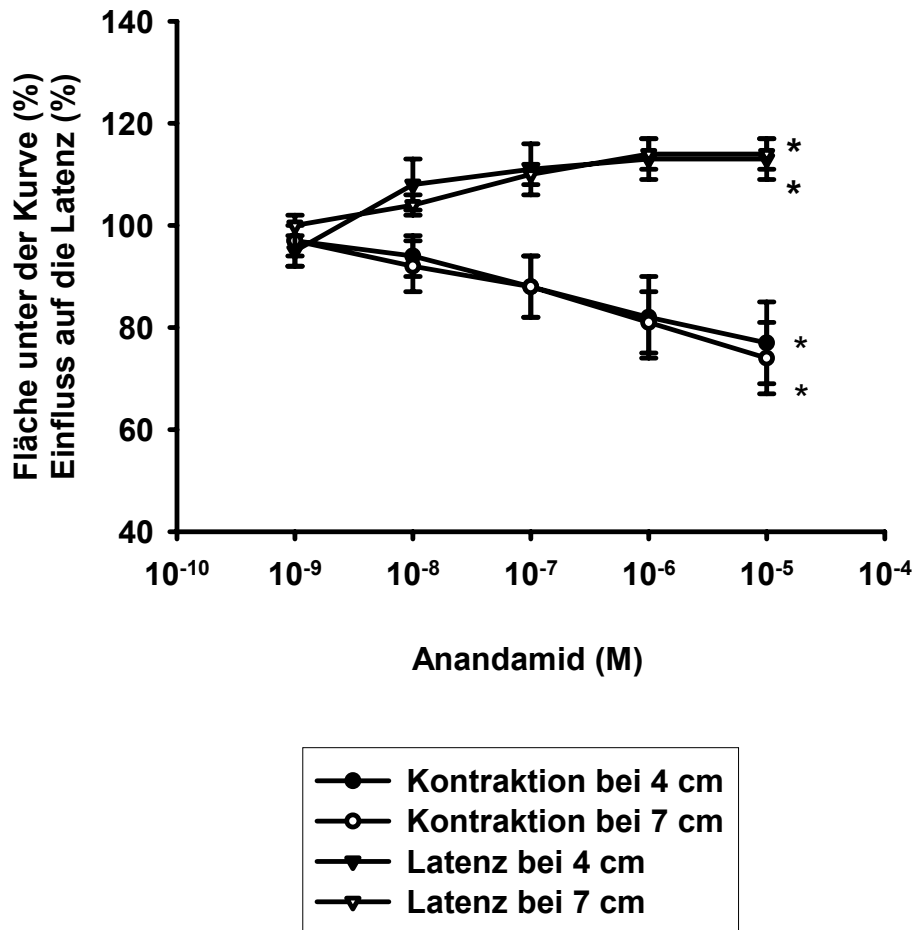


Abb. 3.31: Darstellung der antagonistischen Wirkung von SR141716A in Gegenwart von Anandamid in der Stimulationskammer. \*:  $p < 0,05$ .

# 4. Allgemeine Diskussion

## 4.1. Die Anatomie des Dünndarms

Alle Abschnitte des Verdauungskanal - Ösophagus, Magen, Duodenum, Jejunum, Ileum, Colon und Analkanal - haben einen im Prinzip gleichartigen Wandbau. Dieser modifiziert sich allerdings von Abschnitt zu Abschnitt. Gemeinsam sind folgende Schichten und Unterschichten:

Tunica mucosa

- Epithelium mucosae
- Lamina propria mucosae
- Lamina muscularis mucosae

Tunica submucosa

Tunica muscularis

- Stratum circulare
- Stratum longitudinale

Tunica adventitia

Tunica serosa

Die ab- und zuführenden Blutgefäße des Dünndarms verlaufen im Mesenterium, einer Bauchfellduplikatur und treten durch die Muskulatur hindurch in die Submucosa, in der sie einen größeren Plexus bilden. Von hier aus ziehen Äste durch die lamina propria mucosae und weiter in die Zotten.

In der Wand des Dünndarms bestehen ausgedehnte Nervenplexus: der Plexus submucosus (Meissnerscher Plexus) in der Submucosa und der Plexus myentericus (Auerbachscher Plexus) zwischen der zirkulären und der longitudinalen Muskulatur, beide mit autonomen und vegetativen Anteilen.

Gemäß Costa et al (29) werden die Ganglien der beiden Plexus durch kleine internodale Stränge verbunden und bilden zusammen mit ihren Fortsätzen das enterische Nervensystem.

## 4.2. Das extrinsische Nervensystem

Erstmals wurde das Autonome Nervensystem des Darms 1921 von Langley in ein extrinsisches System, bestehend aus sympathischen und parasympathischen Fasern, und in das enterische Nervensystem (ENS) unterteilt.

Das extrinsische autonome Nervensystem hat einen bedeutenden Einfluss sowohl auf die motorischen wie auch auf die sekretorischen Funktionen des gesamten Magen-Darm-Traktes.

### 4.2.1. Der Parasympathikus

Die präganglionären Fasern des N. vagus aus dem Nucleus dorsalis nervi vagi der Medulla oblongata versorgen Ösophagus, Magen und Dünndarm bis zum Cannon-Böhm-Punkt sowie Leber, Gallenblase und Pankreas. Sigmoid, Rektum und die Analregion werden hingegen über präganglionäre Fasern aus dem Sakralmark gesteuert.

Im Magen-Darm-Trakt enden beide an den Ganglien des intramuralen Auerbach-Plexus. Hier werden sie überwiegend über cholinerge, nikotinerge Rezeptoren auf postganglionäre Neurone umgeschaltet.

Acetylcholin dient in diesem Fall als Überträgersubstanz.

Es werden aber auch andere Transmitterstoffe von den präganglionären Vagusfasern freigesetzt. Auch postganglionär tritt Acetylcholin als ein möglicher Transmitter auf. Hier wird die Wirkung hauptsächlich über muskarinerge Rezeptoren vermittelt.

Die viszerale Afferenzen machen mehr als die Hälfte der Nn. vagi aus. Im Bereich des Magen-Darm-Traktes haben diese Afferenzen unter anderem mechanosensitive Eigenschaften und messen z.B. die Volumendehnung des jeweiligen Organs.



## 4.2.2. Der Sympathikus

Die Neurone des Sympathikus des Brust- und Lendenmarks findet man in den Seitenhörnern der Rückenmarkssegmente C<sub>8</sub>- L<sub>3</sub> (thorakolumbales System des vegetativen Nervensystems). Die markhaltigen Neuriten verlaufen als präganglionäre Fasern über die ventralen Wurzeln und weiter über die Rami communicantes albi zum Grenzstrang. In den Grenzstrangganglien erfolgt die Umschaltung eines Teils der Fasern. Die postganglionären Fasern erreichen über Rami communicantes grisei und die Spinalnerven das Erfolgsorgan, ein Teil wird weiter peripher in den prävertebralen Ganglien (Ganglion coeliacum, mesentericum superior und inferior) oder in den intramuralen Ganglien auf das postganglionäre Neuron umgeschaltet. Der Sympathikus enthält afferente viszerosensible Fasern für die Schmerzempfindung der Eingeweide.

## 4.3. Das enterische Nervensystem

Das enterische Nervensystem unterscheidet sich vom extrinsischen Nervensystem durch seine Autonomie, das heißt, es ist in der Lage, unabhängig die Funktion des Darmes, z.B. die Peristaltik, aufrechtzuerhalten. Ein entnommenes Darmsegment kann auch über Stunden im Organbad seine peristaltischen Bewegungen ohne weitere Kontrollinstanz, wie z.B. das ZNS, durchführen.

Das enterische Nervensystem ist ein komplexes neuronales Netzwerk, eingebettet in die Wand des Gastrointestinaltraktes (29). Es reicht vom Pharynx bis zum analen Sphinkter und besteht aus intrinsischen Neuronen und den Fortsätzen von afferenten und efferenten extrinsischen Neuronen. Das enterische Nervensystem besitzt zwei Mikroganglien enthaltende Plexus, die wiederum die Zellkörper der enterischen Neurone enthalten: der myenterische oder Auerbachsche Plexus und der submuköse oder Meissnersche Plexus. Zusätzlich gehen von diesen beiden Plexus kleinere Bündeln von Nervenfasern aus und bilden nichtganglionäre Plexus in der Longitudinalmuskulatur, der Zirkulärmuskulatur, im Bereich von Blutgefäßen und in der Tunica muscularis mucosae.

Der Transport des Nahrungsbolus ist abhängig von der Tätigkeit des enterischen Nervensystems. Enterische Neurone tragen zudem zur Kontrolle der Freisetzung von gastrointestinalen Hormonen bei. Der Blutfluß im Gastrointestinaltrakt wird sowohl von intrinsischen als auch von extrinsischen Neuronen gesteuert. Die Koordination all dieser verschiedenen Funktionen benötigt eine ausgeprägte neuronale Integration. Die benötigten neuronalen Verbindungen befinden sich im enterischen Nervensystem.

Der Aufbau des enterischen Nervensystems besteht aus Reflexbögen mit sensorischen Neuronen, Interneuronen und motorischen Nerven. Diese verschiedenen Neurone zeigen strukturell unterschiedliche Charakteristika.

Die enterischen Neurone werden nach Furness und Costa in drei unterschiedliche Gruppen unterteilt: sensorische Neurone, Interneurone und motorische Neurone. Sensorische Neurone messen beispielsweise die Spannung der Darmwand oder die Zusammensetzung des Darminhaltes. Die Interneurone dienen der Informationsverknüpfung zwischen den enterischen Neuronen.

Motorische Neurone bewirken eine Änderung der Aktivität des Darmes indem sie Muskelkontraktionen auslösen, Gefäße dilatieren oder den Transport von Flüssigkeit oder Elektrolyten im Bereich der Mukosa regulieren.

Eine Grundlage der rhythmischen Darmkontraktionen bilden sogenannte "slow-waves" ("langsame Wellen"). Hierbei handelt es sich um regelmäßige Änderungen der Membranpotentiale der Zellwände der glatten Muskulatur und folgenden Kontraktionen. Die "slow waves" stehen in engem Zusammenhang mit den "Interstitial cells of Cajal", die als Generatoren dieser langsamen Wellen fungieren. Diese bekommen neurale Innervation und zeigen enge Membrankontakte ("Gap junction"-Kontakte) zur glatten Muskulatur. In Sphinkterregionen scheint es so zu sein, dass diese "Interstitial cells of Cajal" als elektrische Vermittler zwischen Nervenstrukturen und den Zellen der glatten Muskulatur fungieren (1). Die nervale Versorgung determiniert nach Furness und Costa (29) den Grad der Erregbarkeit und die Länge der erregten Region, während die "slow waves" die Frequenz der Kontraktion in dieser Region festlegen. Wenn exzitatorische Neurone auf einen kurzen Darmbezirk einwirken (3-4mm), dann wird jede "slow wave" in eine Kontraktion verwandelt, so dass eine rhythmische Kontraktionsserie die Folge ist. Die Frequenz der "slow waves" nimmt innerhalb einer Spezies von oral nach anal ab (97). Das ist ein Grund dafür, dass die Bewegung des Nahrungsbreis von oraler in aboraler Richtung erfolgen kann. Um eine effektive Kontraktion zu erzielen sind jedoch zusätzlich zu den "slow waves" neurale Erregungen der glatten Darmmuskulatur notwendig. "Slow waves" allein bewirken lediglich eine rhythmische Bewegung des Darmes ohne propulsive oder mechanische Funktion (102).

### 4.3.1. Der migrierende Komplex

Der sogenannte migrierende Motorkomplex ist von der peristaltischen Funktion zu trennen: Vom Ösophagus in Richtung terminales Ileum kommt es in regelmäßigen Abständen zu einer periodischen kontraktilen Aktivität. Dieses schon 1905 von Boldyreff entdeckte Phänomen wird in drei verschiedene Aktivitätsphasen unterteilt:

- Phase 1: kaum Aktionen des Darmes
- Phase 2: Kontraktionen der Darmmuskulatur in ungleichen Abständen
- Phase 3: lang anhaltende Phase mit vollkommen regelmäßigen Kontraktionen der Ringmuskulatur.

Durch die bekannten Hemmstoffe Hexamethonium und Atropin sind die "migrierenden Motorkomplexe" zu blockieren, so dass es dann nicht zu einer weiteren Ausbreitung der Kontraktion kommen kann (14;29). Man weiß aber auch, dass das Auftreten von "migrierenden Motorkomplexen" an die Intaktheit des extrinsischen Nervensystems (N.vagus) und an zyklische Veränderungen von gastrointestinalen Hormonen (Motilin) gebunden ist bzw. diese hervorruft.

## 4.3.2. Neurotransmitter und gastrointestinale

### Peptidhormone

Die Signaltransduktion zwischen den einzelnen Neuronen erfolgt mit Hilfe einer Vielzahl von Neurotransmittern, die in Nervenendigungen gespeichert sind.

Einer der wichtigsten exzitatorischen Transmitter ist Acetylcholin, das von enterischen exzitatorischen Motorneuronen an der intestinalen glatten Muskulatur, von vagalen und pelvinen Nerven und von exzitatorischen Interneuronen in den Plexus freigesetzt wird.

Acetylcholin konnte auch in intrinsischen Neuronen nachgewiesen werden, die Freisetzung von Acetylcholin nach Nervenstimulation ist beschrieben, im Darm wird es vor allem im Bereich des myenterischen Plexus synthetisiert (29).

Ebenso exzitatorisch wirken Tachykinine wie Substanz P und Neurokinin A.

Die Wirkung von Acetylcholin im Gastrointestinaltrakt kann durch Antagonisten, die auf die muskarinergen Rezeptoren wirken (z. B. Atropin), blockiert werden.

Auch Substanzen die hemmend auf die nikotinergen Rezeptoren wirken, wie etwa Hexamethonium, üben einen inhibierenden Effekt aus.

Neben den bereits erwähnten gibt es eine ganze Reihe von weiteren Neurotransmittern. Zu diesen zählen Calcitonin-"gene-related peptide" (CGRP), die Opioidpeptide (Enkephaline, Dynorphine und Endorphine), Bombesin, das Gastrin-Releasing-Peptide (GRP) und die gastrointestinalen Hormone Cholezystokinin und Somatostatin.

Ebenfalls eine Doppelrolle als Hormon und Neurotransmitter erfüllen die beiden Substanzen Motilin und Neurotensin.

Stickstoffmonoxid, Neuropeptid VIP, Somatostatin und ATP wurden als Transmitter an nicht-adrenergen, nicht cholinergen (NANC) Neuronen im enterischen Nervensystem identifiziert.

Diese NANC-Neurone haben eine meist inhibitorische Wirkung auf den peristaltischen Reflex.

Tab.4.1: Wichtige Neurotransmitter und Hormone des Gastrointestinaltraktes:

Bezeichnung	Vorkommen	Wichtigste Funktion
<b>Neurotransmitter</b>		
Vasoaktives intestinales Peptid	Neurone und Nervenfasern des Intestinaltrakts	Vasodilatation, Relaxation der glatten Muskulatur
Substanz P	Gesamter Intestinaltrakt	Kontraktion der glatten Muskulatur
Bombesin	Magen, Duodenum, Jejunum	Pankreassekretion?
Enkephalin	Gesamter Intestinaltrakt	
<b>Hormone</b>		
Gastrin	Antrum des Magens, oberes Duodenum	Stimulierung der HCL-Sekretion
Sekretin	Duodenum, Jejunum	Stimulierung der pankreatischen HCO <sub>3</sub> - Sekretion
Cholecystokinin/ Pankreozymin	Duodenum Jejunum	Stimulierung der pankreatischen Enzymsekretion Kontraktion der Gallenblase
Gastroinhibitorisches Peptid	Duodenum bis oberes Jejunum	Stimulierung der Insulinsekretion
Motilin	oberes Jejunum, Duodenum	Stimulierung der Motilität von Magen und Dünndarm
Neurotensin	unterer Dünndarm Colon	Stimulierung der Sekretion von Insulin und Glukagon. Inhibitorische Wirkung auf die Motilität.
Enteroglucagon	Ileum und Colon	Trophischer Faktor für Epithelzellen des Intestinaltraktes
Somatostatin	gesamter Intestinaltrakt, Pankreas	Hemmung sekretorischer Vorgänge

### 4.3.3. Der myenterische Reflex

Mehrere unterschiedliche Reize können in der longitudinalen und zirkulären Muskulatur des Darmes zum myenterischen Reflex und damit zum Weitertransport des Nahrungsbreis (Propulsion) führen. Dazu gehören Dehnung der Darmwand und mechanische und chemische Reizung der Mukosa.

Bayliss und Starling stellten in ihren Versuchen 1899 fest (3), dass das Aufpumpen eines intraluminal platzierten Ballons im denervierten Dünndarm des Kaninchens oral zu einer Kontraktion der Zirkulärmuskulatur und anal zu einer Relaxation führte. Wurde der Ballon im Darm Richtung anal geführt, zeigte sich eine Kontraktion hinter dem Ballon und eine Relaxation vor dem Ballon. Dadurch ist ein kontinuierlicher Weitertransport des Nahrungsbreis Richtung anal gewährleistet. Die longitudinale Muskulatur dient hier weniger der Propulsion als vielmehr einer Durchmischung des Darminhaltes (100).

Die Auslösung der Darmperistaltik durch Muskeldehnung und Stimulation der Mukosa erfolgt über die Aktivierung von sensorischen Neuronen (IPAN) (36).

In ihrer 1991 veröffentlichten Arbeit zeigen Smith et al (90) die verschiedenen Möglichkeiten auf, in der ilealen Zirkulärmuskulatur des Meerschweinchens einen peristaltischen Reflex auszulösen. Die verwendeten Stimulationsmodi waren Dehnung des Darmes, mechanische Reizung der Villi durch eine kleine Bürste, sowie ein chemischer Stimulationsreiz mit Hilfe von 0,5M HCl. In allen Fällen wurden oral des Stimulationsortes exzitatorische Potentiale beobachtet, während anal des Stimulationsortes inhibitorische Potentiale auftraten. Es war bereits bekannt, dass die orale Stimulation aufgrund von Dehnung durch Acetylcholinausschüttung vermittelt wird. Smith et al konnten durch die Zugabe von 10<sup>-6</sup>M N-Butylscopolaminiumbromid (IUPAC) zeigen, dass die Reflexantwort nach mechanischer Stimulation der Mukosa auf diese Weise teilweise hemmbar war. Sie folgerten daraus, dass diese Stimulationsantwort ebenfalls zum Teil, wenn auch nicht vollständig, durch Acetylcholin ausgelöst wird.

Die Rezeption der mechanischen Reizung schreibt Kirchgessner becherartigen Zellen in der Mukosa zu (52). Diese spezialisierten enterochromaffinen Zellen tragen auf der dem Darmlumen zugewandten Seite einige Pili, deren Abscherung eine Freisetzung von 5-Hydroxytryptamin (5-HT) bewirkt. Das 5-HT erregt über 5-HT<sub>1P</sub>-Rezeptoren Neuronen.

Dieser Effekt kann durch einen entsprechenden Antagonisten blockiert werden (52). Als intrinsisches, primär afferentes Neuron für die mucosavermittelte chemische und mechanische Reizung konnten AH/Dogiel Typ II Neurone nachgewiesen werden (57). Dieselben Neuronen vermitteln auch die Reflexauslösung aufgrund von Dehnung der Darmwand .

Diese intrinsischen primär afferenten Neurone erregen Motoneurone von monosynaptischen Reflexbahnen oder Interneurone von polysynaptischen Reflexbahnen, die dann ihrerseits Motoneurone erregen (57).



#### 4.3.4. Aszendierender exzitatorischer Reflex

Beim aszendierenden exzitatorischen Reflex wird nach einem adäquaten Stimulus, physiologischer Weise durch Volumenerweiterung oder mechanische Reizung, experimentell mittels elektrischer Feldstimulation oder pharmakologischer Stimulation, ein Neuron mittels eines Transmitters aktiviert. Die in den aszendierenden Reflex einbezogenen Neurone sind sensorische Neurone, aszendierende Interneurone und motorische Neurone.

Als Transmitter der sensorischen Neurone fungieren Acetylcholin und Tachykinine wie Substanz P und Substanz K. Die Reizweiterleitung wird überwiegend von nikotinergen cholinergen Neuronen und NK<sub>3</sub>- Rezeptoren vermittelt. Die NK<sub>3</sub>- Rezeptoren sind sensitiv für Tachykinine wie Substanz P und Substanz K. Muskarinerg- cholinerge Neurone lassen sich an den Synapsen sensorischer Neurone ebenfalls nachweisen, sie scheinen jedoch eine untergeordnete Rolle zu spielen (50).

Nach mechanischer Reizung der Mukosa und auch nach Zugabe von Capsaicin konnte eine vermehrte Freisetzung von CGRP und eine verstärkte Reizantwort experimentell festgestellt werden (37). Ebenso wurde für Serotonin eine Wirkung auf sensorische Neurone über 5-HT<sub>1P</sub>- Rezeptoren dargestellt werden (52) Dies spricht auch für eine Neurotransmitterrolle von CGRP und Serotonin an den sensorischen Neuronen.

Das sensorische Neuron aktiviert anschließend aszendierende cholinerge Interneurone. Hier sind vor allem, wenn nicht sogar ausschließlich, die Hexamethonium- sensitiven, nikotinergen cholinergen Neuronen die wichtigsten Vermittler der aszendierenden Reizweiterleitung, mittels immunhistochemischer Methoden konnten hier zwar auch NK<sub>3</sub>- Rezeptoren nachgewiesen werden, sie scheinen für die Reizweiterleitung jedoch eine untergeordnete Rolle zu spielen (90)/(50).

Exzitatorische Motoneurone ziehen anschließend zur zirkulären Muskulatur via nikotinerge cholinerge Neurone und vermutlich auch über Tachykinin- sensitive NK<sub>3</sub>- Rezeptoren. Zuletzt wird der Reiz im aszendierenden myenterischen Reflex mittels Atropin- sensitiver muskarinerg Neurone auf die motorische Endplatte der glatten Muskulatur übertragen (21)/(38)/(45).

### 4.3.5. Deszendierender inhibitorischer Reflex

Die Relaxation der aboralen Darmabschnitte ist für den suffizienten Weitertransport des Nahrungsbreis genauso wichtig wie die Kontraktion auf der oralen Seite.

Die 1993 erschienene Arbeit von Du et al betont die bedeutende Rolle der enterischen neuronalen Inhibition im Rahmen der Kontrolle der gastrointestinalen Motilität (24). Hier werden zyklische Nukleotide, wie etwa cGMP oder cAMP als second messenger vieler inhibitorischer neuraler Antworten hervorgehoben.

So betonen Smith et al, dass NO, eine Substanz die als Mediator von vielen inhibitorischen neuronalen Antworten des Gastrointestinaltraktes gilt, eine Erhöhung des intrazellulären cGMP-Spiegels bewirkt (91).

Viele derjenigen Rezeptoren, die an die Aktivierung von Adenylatzyklase gekoppelt sind, haben laut Smith et al eine  $\beta$ -Adrenoceptor-Stimulation, eine purinerge P1-Stimulation oder eine Stimulation von VIP-Rezeptoren zur Folge.

Wenn es zu einem Anstieg von cAMP in der Zelle kommt, führt dies zur Aktivierung einer c-AMP-abhängigen Proteinkinase, welche zelluläre Proteine phosphoryliert. Es kommt als Folge zu einer Hyperpolarisation der Membran, somit zu einer Herabsetzung der Öffnungswahrscheinlichkeit der spannungsabhängigen  $Ca^{++}$ -Kanäle. Dies führt zu einer Reduktion des intrazellulären Calcium und damit zu einer Relaxation.

Grider et. al. stellten in verschiedenen Arbeiten die Regelkreise der intestinalen Relaxation dar, indem sie eine enge Verknüpfung von Neuronen über die Transmitter Somatostatin, Opioiden, GABA, VIP und NO nachwiesen (39).

NO wird desweiteren nicht nur von Neuronen freigesetzt, sondern kann auch direkt über VIP von glatten Muskelzellen in der Darmwand produziert werden (39).

Als die wichtigsten inhibitorischen Neurotransmitter gelten daher VIP, NO, Somatostatin, Opioiden und ATP.

Das Verhältnis dieser drei Transmitter ist in den verschiedenen Darmabschnitten und innerhalb verschiedener Spezies variabel (5).

## 4.4. Die Opioide

Obwohl Opiate, deren natürliche Herkunftsplanze der Schlafmohn (*Papaver somniferum*) ist, schon seit mehreren tausend Jahren vom Menschen verwendet werden, gelang es erst 1806 dem deutschen Apotheker Friedrich Wilhelm Sertürner, den Hauptwirkstoff des Opiums, das Morphin, zu isolieren.

Seitdem verbreitete es sich rasch als hochpotentes Schmerzmittel in der Medizin.

Erst 1973 gelang es Pert (78), Simon (88) und Terenius (99), die Existenz eines spezifischen Opioidrezeptors im Gehirn und Rückenmark von Ratten (78)/(89)/(99) nachzuweisen.

Schnell wurde klar, dass es nicht nur einen Opioidrezeptor geben kann und 1979 wurden diese erstmals in drei Gruppen  $\mu$ -,  $\kappa$ -, und  $\delta$ - Rezeptoren- eingeteilt (10)/(11)/(12). Dieser Einteilung liegt der typische Agonist, bzw. das Gewebe, an dem die Wirkung des Opioids getestet wurde, zugrunde:

M steht für den Agonisten Morphin,  $\kappa$  für Ketocyclazocin und  $\delta$  für das Vas deferens der Maus.

Nachdem 1992 der  $\delta$ - Rezeptor synthetisiert wurde (26)/(51), gelang ein Jahr später auch die Strukturanalyse der  $\kappa$ - und  $\mu$ -Rezeptoren (13)/(103).

Die  $\mu$ -,  $\kappa$ -, und  $\delta$ - Rezeptoren werden vor allem im zentralen Nervensystem gefunden, peripher wurden alle drei Rezeptorgruppen im enterischen Nervensystem nachgewiesen. So findet man die  $\kappa$ - und  $\mu$ -Rezeptoren im myenterischen Plexus, der  $\delta$ - Rezeptor ist im myenterischen und submukösen Plexus lokalisiert (12)/(72).

Die Opioidrezeptoren gehören zur Gruppe der G- Protein gekoppelten Rezeptoren. Grob vereinfachend lassen sich vier große Familien von ubiquitär vorkommenden G- Proteinen differenzieren: Die  $G_s$ - Familie aktiviert die Adenylatzyklase, die  $G_i/G_0$ - Familie hemmt die Adenylatzyklase, aktiviert Kaliumkanäle und inaktiviert Calciumkanäle; über die  $G_9/G_{11}$ - Familie wird die Aktivierung der Phospholipase C vermittelt und  $G_{12/13}$  aktivieren Proteine der Rho- Familie (74).

Jeder G- Protein gekoppelte Rezeptor besteht aus sieben transmembranären Helices, an die die Botenstoffe binden.

Die Signalübertragung erfolgt an ein Guanosinnucleotid- bindendes Protein, das sogenannte G- Protein. Die mit der Effektorbindung einhergehende Konformationsänderung des Rezeptors führt dazu, dass an der  $\alpha$ - Untereinheit des G- Proteins ein GDP gegen ein GTP ausgetauscht wird. Dadurch kommt es zu einer Dissoziation des G- Proteins in seine

Untereinheiten, die GTP- beladene  $\alpha$ - Untereinheit ist nun in der Lage, die Adenylatzyklase zu aktivieren oder inaktivieren: Ionenkanäle öffnen oder schließen sich, Enzyme werden aktiviert oder inhibiert.

Die notwendige Signalauslöschung kommt dadurch zustande, dass durch eine intrinsische GTPase- Aktivität des G- Proteins GTP wieder in GDP umgewandelt wird. Dadurch kommt das System wieder in seinen Ausgangszustand zurück und ein neuer Aktivierungszyklus kann beginnen.

### 4.4.1. Der ORL1- Rezeptor

Erstmals wurde 1994 im Gehirn von Mäusen und Menschen ein neuartiger Rezeptor entdeckt, der der Gruppe der Opioidrezeptoren (ORL1) zugeschrieben wurde. Die Struktur des ORL1- Rezeptors ist der von bekannten  $\mu$ -,  $\kappa$ - und  $\delta$ - Opioidrezeptoren sehr ähnlich (>60 %) (70)/(13)/(28) und die Signaltransduktion wird wie beispielsweise beim  $\mu$ -Opioidrezeptor über Gi/Go-Proteine vermittelt. Desweiteren ist der ORL1- Rezeptor in der Lage, wie Opioidrezeptoren die Adenylatzyklase zu inhibieren (58)/(84). Als endogener Agonist am ORL-1 Rezeptor gilt ein Heptadekapeptid (NH<sub>2</sub> -Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln-COOH), das strukturell dem Dynorphin A9 ähnlich ist und den Namen Nociceptin erhalten hat, weil es intrazerebroventrikulär in Mäusen eine Hyperalgesie hervorruft (58). Dieses Nociceptin, auch Orphanin FQ genannt, hat jedoch keinerlei Affinität zu bekannten Opioidrezeptoren (84). Mittlerweile sind auch außerhalb des zentralen Nervensystems ORL1- Rezeptoren entdeckt worden, z.B. im Darm, im Vas deferens und in Milz und Niere. Die offensichtlich weite Verbreitung dieses Rezeptors legt den Schluss nahe, dass Nociceptin nicht nur an der Schmerzentstehung und –verarbeitung beteiligt ist, sondern auch Einfluss auf Motorik, Balance-Kontrolle, Sensorik und verschiedene autonome und physiologische Prozesse hat. Trotz der strukturellen Ähnlichkeit zu Dynorphin fehlt dem Peptid Nociceptin ein N- endständiger Tyrosinrest, der aber für die Aktivität an  $\mu$ -,  $\kappa$ - und  $\delta$ - Opioidrezeptoren essentiell ist (69)/(84)/(83).

Im Gastrointestinaltrakt sind zahlreiche durch endogene und exogene Opiode vermittelte Effekte bezüglich der Motilität (68)/(34), der Ausschüttung von Neurotransmittern (84)/(34) und der Beeinflussung des peristaltischen Reflexes (16)/(17)/(25)/(77) nachgewiesen. Obwohl der Signalmechanismus des ORL1- Rezeptors viele Ähnlichkeiten zu denen anderer

Opioidrezeptoren aufweist, sind die Effekte, hervorgerufen durch Nociceptin, unterschiedlich von bekannten Opioidrezeptoren. Die Effekte klassischer Opioide an ihren Rezeptoren bezüglich Signaltransduktion und Motilität sind allgemein bekannt, wohingegen die Rolle des Nociceptin und des ORL1-Rezeptors im zentralen und peripheren Nervensystem und mögliche Interaktionen zwischen Nociceptin und Opioiden bisher weitgehend unbekannt sind.

## 4.4.2. Antagonisten am ORL1- Rezeptor

Nocistatin ist ein Precursor- Molekül des Nociceptin. Es wurde erstmals im Gehirn von Rindern entdeckt, später auch im Gehirn von Mäusen, Ratten, Menschen und im menschlichen Liquor. Im Gehirn konnte das endogene Heptadecapetid Nocistatin die durch Nociceptin hervorgerufene Allodynie und Hyperalgesie antagonisieren (75), die erhöhte Nahrungsaufnahme bei Ratten, verursacht durch Nociceptin, wurde ebenfalls herabgesetzt (76). Im Rückenmark und im Gehirn ist Nocistatin weit verbreitet, im Gastrointestinaltrakt wurde es bisher noch nicht nachgewiesen. Nocistatin zeigt eine hohe Affinität zu Membranen des Rückenmarks und des Gehirns, am ORL1- Rezeptor scheint es nicht zu binden (75). Untersuchungen an der Arteria meninge media zeigten, dass die Inhibierung der Vasodilatation, hervorgerufen durch Nociceptin, durch Nocistatin nicht antagonisiert werden konnte, wohl aber durch  $[Nphe^1]Nociceptin-(1-13)NH_2$ , einen synthetischen ORL1- Antagonisten.

Zum heutigen Zeitpunkt sind nur wenige Antagonisten am ORL1- Rezeptor bekannt. Der erste ORL1- Rezeptorantagonist war ein Struktur analogon des Nociceptin, das  $[Phe^1Y(CH_2-NH)Gly_2]Nociceptin-(1-13)NH_2$ . Diese neu entdeckte Substanz hatte jedoch nur an einigen peripheren Geweben eine antagonistische Wirkung, im ZNS zeigte es einen kompletten agonistischen Effekt (40)/(9). Erst die genauere Untersuchung der Molekularstruktur des Nociceptins brachte ein Molekül hervor, welches eine komplett antagonistische Wirkung am ORL1- Rezeptor aufwies, es war  $[Nphe^1]Nociceptin-(1-13)NH_2$ . Dieses neue Molekül bindet selektiv an rekombinanten und nativen ORL1- Rezeptoren, die antagonistische Wirkung ist in der Peripherie und im ZNS nachweisbar (7). An der glatten Muskulatur verschiedener Gewebe aus unterschiedlichen Spezies konnte  $[Nphe^1]Nociceptin-(1-13)NH_2$  den inhibitorischen Effekt auf elektrisch provozierte Kontraktionen antagonisieren (7). Spontane Kontraktionen an isolierten Muskelstreifen vom Hasen sistierten unter dem Einfluss von Nociceptin, in Gegenwart von  $[Nphe^1]Nociceptin-(1-13)NH_2$  konnte dieser Effekt deutlich reduziert werden. Eine intrinsische Aktivität von  $[Nphe^1]Nociceptin-(1-13)NH_2$  ist nicht bekannt (80).

## 4.5. Die Cannabinoide

Seit mehreren Jahrhunderten werden Cannabinoide in der Religion und Medizin verwendet, typische Anwendungsgebiete waren früher die Therapie der Malaria, Obstipation oder rheumatische Beschwerden (106). Heutzutage finden Cannabinoide als Appetitanreger bei Kachexie oder als Antiemetikum in der Chemotherapie Verwendung. Neuere Anwendungsmöglichkeiten bei der Behandlung von Migräne, chronischen Schmerzen, Epilepsie, Glaukom und Bluthochdruck werden diskutiert.

Die Beschreibung der Molekularstruktur des Marihuana wurde 1964 veröffentlicht. Das damals entdeckte  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) hat eine halluzinogene Potenz und ist verantwortlich für viele pharmakologische Wirkungen des Cannabis. Es begann anschließend die Erforschung weiterer cannabinoider Inhaltsstoffe des Marihuanas, bis heute sind ca. 70 weitere bekannt (23).

### 4.5.1. Der CB<sub>1</sub>-Rezeptor

Eine der beiden bisher bekannten Zielstrukturen des  $\Delta^9$ -THC ist der CB<sub>1</sub>-Rezeptor, der 1988 von Davane et al. (22) im Gehirn von Ratten nachgewiesen werden konnte. Besonders in den Basalganglien (60)/(44)/(42), im Hippocampus (43), im Klein- und Vorderhirn findet sich eine hohe Dichte an CB<sub>1</sub>-Rezeptoren, die in diesen Lokalisationen die halluzinogene und psychomotorische Wirkung des Cannabis gut erklären. Die in den Schmerzbahnen des Rückenmarkes und des Kortex nachgewiesenen CB<sub>1</sub>-Rezeptoren (79) erklären die analgetischen Eigenschaften bekannter CB<sub>1</sub>-Agonisten. In tieferen Hirnstammregionen, die für die Kontrolle kardiovaskulärer und respiratorischer Funktionen verantwortlich sind, finden sich nur wenige CB<sub>1</sub>-Rezeptoren.

Außerhalb des ZNS ist der CB<sub>1</sub>-Rezeptor beim Menschen im Ileum (20), im Hoden (31), auf Spermazellen (86), auf Endothelzellen (95), sowie in der Harnblase und im Vas deferens jeweils präsynaptisch an Nervenendigungen (46) nachgewiesen worden.

Der CB<sub>1</sub>-Rezeptor gehört zur Gruppe der G<sub>i</sub>/G<sub>0</sub>-Protein gekoppelten Rezeptoren. Seine Aktivierung hat eine Hemmung der Adenylatzyklase zur Folge (vgl. 5.3). Im Gegensatz dazu wurde aber auch die Bildung von cAMP unter bestimmten Bedingungen beschrieben (35). Weiterhin ist bekannt, dass eine CB<sub>1</sub>-Rezeptoraktivierung Kalziumkanäle blockieren und Kaliumkanäle aktivieren kann. Offensichtlich inhibiert die Kalziumkanalblockade die

Freisetzung von Neurotransmittern wie Acetylcholin im Hippocampus (32)/(33), Norepinephrin an sympathischen Nervenendigungen (46) und im Hippocampus, Kortex und im Kleinhirn. Im Hippocampus wird auch die Glutamatfreisetzung vermindert (87).

## 4.5.2. Der CB<sub>2</sub>- Rezeptor

Im Gegensatz zum CB<sub>1</sub>- Rezeptor, der vor allem im ZNS zu finden ist, wurden die meisten CB<sub>2</sub>- Rezeptoren im peripheren Immunsystem entdeckt. Erstmals wurde der CB<sub>2</sub>- Rezeptor 1992 in der Milz von Ratten nachgewiesen. CB<sub>2</sub>- mRNA wurde in den Tonsillen, im Knochenmark, im Thymus, im Pankreas und in hohen Konzentrationen besonders in B-Zellen und natural- killer- cells gefunden (30). Δ<sup>9</sup>- THC wirkt in vivo und in vitro immunsuppressiv und inhibiert die humorale sowie die zellvermittelte Immunität (71). Über die G<sub>i</sub>/G<sub>o</sub>- Protein- gekoppelte Hemmung der Adenylatzyklase mit konsekutiver Verminderung von NO könnte der immunsuppressive, CB<sub>2</sub>- Rezeptor- vermittelte Einfluss der Cannabinoide auf das Immunsystem erklärt werden (15)/(49).

Im Gegensatz zum CB<sub>1</sub>- Rezeptor hat der CB<sub>2</sub>- Rezeptor keinen Einfluss auf Kalzium- oder Kaliumkanäle.

Die beiden bisher bekannten Cannabinoidrezeptoren gleichen sich in 44 % in ihrem Aufbau, die in der Zellmembran befindlichen Strukturen besitzen 68 % identische Aminosäuresequenzen.



### 4.5.3. Agonisten und Antagonisten

Noch vor der Entdeckung der endogenen Cannabinoide gelang es mit dem künstlich entwickelten und anschließend radioaktiv markierten CB<sub>1</sub>- Rezeptorligand CP- 55,940 spezifische Bindungsstellen im Gehirn von Ratten nachzuweisen (22). Er hat eine höhere Potenz als  $\Delta^9$ - THC und ist weniger lipophil. Weitere synthetische Agonisten am CB<sub>1</sub>- Rezeptor sind WIN 55,212-2, HU 210, Levonantradol, R(+)- Methanandamid und Nabilon. Devane et al. suchten im Gehirn von Schweinen nach organisch löslichen Substanzen um ein endogenes Cannabinoid nachzuweisen. Dies gelang ihnen schließlich 1992, die neue Substanz war Arachidonylethanolamid welches sie „Anandamid“ nannten. „Ananda“ bedeutet „Glückseligkeit“, „Amid“ ist die enthaltene chemische Struktur.

Diese neu entdeckte Substanz wurde im Thalamus (43), Hoden (96) und in der Milz (27) nachgewiesen. Es war ein Agonist an den CB<sub>1</sub>- und CB<sub>2</sub>- Rezeptoren, inhibierte die Adenylatzyklase und hatte über den CB<sub>1</sub>- Rezeptor Einfluss auf Kalzium- und Kaliumkanäle. Die von  $\Delta^9$ - THC verursachten Effekte wie Hypothermie, Analgesie, Hypomobilität und Katalepsie wurden auch durch Anandamid hervorgerufen. Dazu waren jedoch hohe Konzentrationen von Anandamid erforderlich, möglicherweise ist dies auf einen raschen Metabolismus zurückzuführen. Das synthetische Cannabinoid R(+)- Methanandamid zeigte sich bezüglich des Metabolismus als resistenter.

Auf der Suche nach weiteren, möglicherweise potenteren, endogenen Agonisten ist das 2- Arachidonylglycerol (2-AG) entdeckt worden (67), welches derzeit noch genauer charakterisiert wird.

Der erste selektive CB<sub>1</sub>- Rezeptorantagonist war SR141716A, der 1994 synthetisiert wurde (85). Seine Bindungspotenz am CB<sub>1</sub>- Rezeptor ist um ein Vielfaches höher als am CB<sub>2</sub>- Rezeptor, die Wirkung der Agonisten bezüglich der Hemmung der Adenylatzyklase und der Inhibition von elektrisch induzierten Kontraktionen wird antagonisiert. Verhaltens- und Wesensänderungen, verursacht durch CB<sub>1</sub>- Rezeptoragonisten, werden durch SR141716A abgeschwächt (62).

Ein weiterer selektiver CB<sub>1</sub>- Rezeptorantagonist ist AM 630, beiden Substanzen gemeinsam ist eine inverse Wirkung am CB<sub>1</sub>- Rezeptor (4)/(61)/(59).

Am CB<sub>2</sub>- Rezeptor ist die Substanz SR144528 ein selektiver Antagonist (85).

# 5. Spezielle Diskussion

## 5.1. Charakterisierung des Dreikammerbades

### 5.1.1. Atropin

Atropin stammt aus Nachtschattengewächsen wie der Tollkirsche oder dem Stechapfel. Es ist ein hochaffiner Antagonist an muskarinergen Cholinozeptoren, in hohen Dosen wird auch die Erregungsübertragung an den nikotinergen Cholinozeptoren gehemmt. Es bewirkt u.a. eine Spasmolyse im Mastdarm und hemmt die Peristaltik in Magen und Darm.

In den hier beschriebenen Versuchen wurde der Einfluss von Atropin auf den ascendierenden myenterischen Reflex im Ileum der Ratte untersucht. Erstmals geschah dies mittels eines Dreikammerbades, mit dem die unterschiedlichen Effekte des Atropins auf den elektrisch induzierten Reiz, die Reizweiterleitung und die Wirkung am Endorgan untersucht werden konnte.

Die antagonisierende Wirkung von Atropin am muskarinergen Cholinozeptor wurde bei Zugabe von aufsteigenden Atropinkonzentrationen in die zweite Kammer dargestellt: Dosisabhängig kam es zu einer ausgeprägten Hemmung der Kontraktionsantwort und Verlängerung der Latenz in der zweiten Kammer, verursacht durch die verminderte Freisetzung von Acetylcholin an der motorischen Endplatte. Die Kontraktionen und Latenzen in der dritten Kammer wurden jedoch kaum beeinflusst.

Befand sich Atropin ( $10^{-5}$  M) in der Stimulationskammer, hatte dies fast keinen Effekt auf die Kontraktionen und die Latenzen in den nachfolgenden, substanzfreien Kammern.

In einer Arbeit von Johnson et al. (50) wurde 1996 festgestellt, dass die muskarinergen Cholinozeptoren eine weit weniger wichtige Rolle in der Signaltransduktion des ascendierenden myenterischen Reflexes spielen als die Nikotinergen.

Dies passt gut zu unseren Ergebnissen, in denen Atropin bei Zugabe in die 2. Kammer auch in der höchsten Konzentration von  $10^{-5}$  M auf die Fortleitung des Reizes in die entfernte 3. Kammer kaum Effekt hatte. Die Kontraktionsantwort fiel in der dritten Kammer nur wenig vermindert aus, die Latenz war in gleichem Maße verlängert.

## 5.1.2. Hexamethonium

Hexamethonium ist ein Antagonist an nikotineren Cholinozeptoren, deren Transmitter ebenfalls das Acetylcholin ist. Die nikotineren Cholinozeptoren befinden sich in allen Ganglien des vegetativen Nervensystems, also auch in den intramuralen Plexus des Magen-Darm – Trakts. Hier sind vor allem die ascendierenden Interneurone und exzitatorischen Motoneurone Gegenstand unserer Untersuchungen gewesen.

Aktuellen Untersuchungen zufolge schätzt man die Gesamtzahl aller Neurone im enterischen Nervensystem auf annähernd  $10^8$  Neurone. Auf zehn Millimetern des Meerschweinchenileums befinden sich ungefähr 6500 intrinsische primär afferente Neurone, 4200 ascendierende oder descendierende Interneurone und 3000 Motoneurone, die die Zirkulärmuskulatur innervieren (56).

Bei Zugabe von Hexamethonium in einer Konzentration von  $10^{-5}$  M in die Stimulationskammer zeigte sich in den beiden nachfolgenden Kammern eine vollständige Auslöschung der Kontraktionen, Latenzen waren durch fehlende Kontraktionsantworten nicht mehr messbar. Befand sich Hexamethonium in einer Konzentration von  $10^{-5}$  M in der 2. Kammer, so war auch in dieser und in der darauffolgenden Kammer keine Kontraktionsantwort mehr sichtbar. Dieser Effekt ist durch die fehlende Reizweiterleitung in den Kammer selbst und in die nachfolgenden Kammern durch Blockierung von ascendierenden Interneuronen und Motoneuronen erklärbar. In den Arbeiten von P.J. Johnson (50) und P. Holzer (45) wurde dieser Effekt ebenfalls beschrieben.

Diese Ergebnisse zeigen, dass der ascendierende myenterische Reflex, also die Reizweiterleitung zwischen ascendierenden Interneuronen und von diesen auf exzitatorische Motoneurone, über Acetylcholin an nikotineren Rezeptoren vermittelt wird. Muskarinerne Rezeptoren scheinen eine untergeordnete Rolle zu spielen, sie sind hauptsächlich für die Vermittlung des Reizes an der motorischen Endplatte der glatten Muskelzelle verantwortlich. Eine weitere, wichtige Rolle im ascendierenden myenterischen Reflex spielen Tachykinine, die am  $NK_3$ - Rezeptor wirken (50), von uns in diesen Versuchen jedoch nicht untersucht wurden.

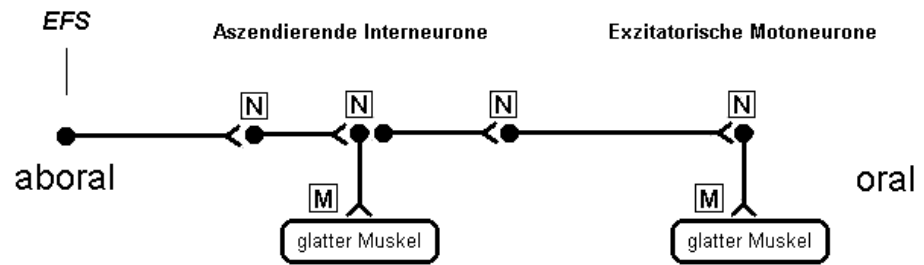


Abb.6.1.: Die Rolle von nikotinergen (N) und muskarinergen (M) Rezeptoren im aszendierenden myenterischen Reflex.

## 5.2. Einfluss des ORL1- Rezeptors

Endogene Opioide und ihre Rezeptoren spielen nicht nur in der Nozizeption eine wichtige Rolle, sondern auch in der Regulation intestinaler Perestaltik. Die Entdeckung eines neuen, opioidähnlichen Peptids namens Nociceptin (Orphanin FQ) und seines Rezeptors, des ORL1-Rezeptors ( ORL: opioid- receptor- like), hat das Interesse geweckt, die Auswirkungen dieses Transmittersystems auf die intestinale Perestaltik zu erforschen. Bei aller Ähnlichkeit dieses neu entdeckten Transmittersystems zu bekannten Opioidsystemen scheint es jedoch einige grundlegende Unterschiede in der Wirkung am Gastrointestinaltrakt zu geben.

Neuesten Untersuchungen zufolge scheint es keine direkte Wirkung des ORL1- Rezeptors an glatten Muskelzellen aus dem Ileum des Rattendarms zu geben. Gleiche Ergebnisse wurden schon in früheren Untersuchungen erzielt, in denen kein direkter Effekt von Nociceptin auf glatte Muskelzellen aus verschiedenen Regionen des Gastrointestinaltraktes unterschiedlicher Spezies gefunden werden konnte (93)/(8)/(105).

An elektrisch stimulierten Präparationen des Ileum von Meerschweinchen bewirkte Nociceptin eine bis zu 50- %ige Verringerung der Kontraktionen, im Vas deferens der Maus betrug die Inhibition sogar 75 % (8)/(105). Der inhibierende Einfluss von Nociceptin auf cholinerge exzitatorische Neurotransmission via ORL1- Rezeptoren ist Gegenstand vieler Untersuchungen.

Immunhistochemische Untersuchungen am myenterischen Plexus des Meerschweinchens legen die Vermutung nahe, dass Nociceptin über einen Feedbackmechanismus autoinhibitorisch an exzitatorischen Motoneuronen wirkt, nicht jedoch an Zellen glatter Muskulatur (73).

Der inhibierende Effekt von Nociceptin mittels des ORL1- Rezeptors auf cholinerg vermittelte Neurotransmission ist inzwischen ausführlich an glatter Muskulatur des Gastrointestinaltrakts untersucht worden, jedoch ist bisher wenig bekannt über die Wirkung von Nociceptin an komplexeren Systemen, beispielsweise am myenterischen Teil des perestaltischen Reflexes. Neuere Studien geben Hinweise darauf, dass Nociceptin an Capsaicin- sensitiven sensorischen Neuronen im Ileum von Meerschweinchen wirkt (94). Am Kolon, wo Nociceptin im Gegensatz zum Ileum Kontraktionen auslöst, inhibiert Nociceptin purinerge inhibitorische Neuronen bei Ratten (98) ebenso wie NO- inhibitorische Neuronen in Mäusen (68).

Gemäß Bayliss und Starling (3) besteht der peristaltische Reflex aus den beiden Hauptkomponenten aufsteigender exzitatorischer Reflex und absteigender inhibitorischer Reflex.

Trendelenburg und andere Forschungsgruppen zeigten, dass isolierte Präparationen vom Darm mittels aufsteigender Kontraktionen und absteigender Relaxationen, vermittelt durch myenterische Neuronen, den peristaltischen Reflex ausführen (100)/(16)/(53).

In den vorangegangenen Versuchen mit Atropin und Hexamethonium wurde der Einfluss von Acetylcholin an nikotinergen, exzitatorischen Motoneuronen beim aufsteigenden myenterischen Reflex dargestellt. In einer immunhistochemischen Untersuchung von ORL1-Rezeptoren am Dünndarm des Meerschweinchens zeigte sich, dass an allen ORL1-Rezeptor-positiven Neuronen auch gleichzeitig Acetylcholinesterase nachgewiesen werden konnte (73). Folglich müssten ORL1-positive Neuronen cholinerg sein. Basierend auf immunhistochemischen Untersuchungen konnten verschiedene Neuronen-Subtypen differenziert werden, es gab keine Hinweise dafür, dass ORL1-Rezeptoren in primär afferenten Neuronen vorhanden sind (73). Die überwiegende Mehrheit der ORL1-Rezeptor-positiven Neuronen sind exzitatorische Motoneurone, die die longitudinale und zirkuläre glatte Muskulatur innervieren. Die ORL1-Rezeptor-positiven Neuronen waren nicht nur gleichzeitig Acetylcholinesterase-positiv, sondern in 60 % wurde eine Koexistenz von Calretinin und in 50 % die von Substanz P nachgewiesen. Zusammenfassend zeigen funktionelle und immunhistochemische Untersuchungen, dass Nociceptin von exzitatorischen Motoneuronen freigesetzt wird und die exzitatorische Reizweiterleitung mittels eines negativen Feedback-Mechanismus inhibiert wird.

In unseren Versuchen zeigte Nociceptin bei Zugabe in die zweite Kammer eine konzentrationsabhängige Verminderung der Kontraktionsantworten (- 60 % bei  $10^{-6}$  M) und eine deutliche Verlängerung der Latenz (+ 33 % bei  $10^{-6}$  M). Im gleichen Versuchsaufbau waren in der darauffolgenden, dritten Kammer fast identische Reaktionen zu beobachten, die Kontraktionen fielen im Vergleich zu den Kontrollen um bis zu 63 % niedriger aus, die Latenz war um 25 % verlängert.

Befand sich Nociceptin in der Stimulationskammer konnten in den oralwärts gelegenen Kammern 2 und 3 dosisabhängig verminderte Kontraktionen und verlängerte Latenzen gemessen werden (bei  $10^{-6}$  M Nociceptin – 65 % der Kontraktion in Kammer 2 und 3, Latenzverlängerung um 34 % in Kammer 2 und um 29 % in Kammer 3).

Im Einkammerbad verringerte Nociceptin bei einer Konzentration von  $10^{-6}$  M die Kontraktionen auf der aboralen Seite um 70 %, auf der oralen um 66 %. Die Latenzen verlängerten sich aboral um 33 % und oral um 25 %.

Die verminderten Kontraktionen und verlängerten Latenzen in Kammer 2 in Gegenwart von Nociceptin sprechen für eine Inhibition von exzitatorischen Motoneuronen. Ein gleichartiges Ergebnis bei Zugabe von Nociceptin in die Stimulationskammer spricht jedoch für eine Beteiligung von anderen neuronalen Strukturen, nicht exzitatorischen Motoneuronen am aufsteigenden myenterischen Reflex.

Versuche im Einkammerbad mit Nocistatin zeigten einen geringen Einfluss auf aufsteigende und absteigende Kontraktionen. Sie waren bei einer maximalen Konzentration von  $10^{-6}$  M Nocistatin aboral um 14 % und oral um 12 % verringert. Die Latenzen verlängerten sich im Vergleich zur Kontrolle aboral um 12 % und oral um 13 %. Bisher ist Nocistatin außerhalb des ZNS noch nicht nachgewiesen worden, im ZNS konnte es zwar bestimmte Wirkungen des Nociceptin auf Schmerzempfindung und Nahrungsaufnahme antagonisieren, an den ORL1-Rezeptor bindet es jedoch nicht (75). Die in unseren Versuchen gemessene, schwach antagonistische Wirkung ist möglicherweise nicht auf die Wirkung des Nocistatins zurückzuführen, die nachlassenden Kontraktionen und verlängerten Latenzen können auch zeitbedingt verursacht sein. Bei einer Konzentration von  $10^{-7}$  M Nocistatin war der Effekt auf die Kontraktionen ( aboral und oral – 5% ) und die Latenzen ( aboral und oral + 12 % ) außerdem deutlich geringer, Nociceptin verursachte bei dieser Konzentration schon eine Verringerung der Kontraktionen um 41 %. Eine antagonistische Wirkung des Nocistatin in Gegenwart von Nociceptin konnte ebenfalls nicht festgestellt werden ( Daten nicht gezeigt ). Die weitere Erforschung des Nocistatins am Gastrointestinaltrakt erscheint daher im Moment nicht sinnvoll, zumal inzwischen selektive, potente Antagonisten am ORL1- Rezeptor zur Verfügung stehen.

Der ORL1- Rezeptorantagonist  $[Nphe^1]Nociceptin(1-13)NH_2$  hatte kaum Einfluss auf die Kontraktionen und Latenzen des ascendierenden Reflexes, weder bei Zugabe in die Stimulationskammer, noch in Kammer 2. Befand sich  $[Nphe^1]Nociceptin(1-13)NH_2$  in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M in der Stimulationskammer und wurde anschließend  $10^{-6}$  M Nociceptin dazugegeben, verringerten sich die Kontraktionen in Kammer 2 und 3 nur um 13 %, die Latenz stieg in Kammer 3 um ca. 1 %, in Kammer 2 blieb sie unverändert. Befand sich  $[Nphe^1]Nociceptin(1-13)NH_2$  in der zweiten Kammer, ließ sich auf die Kontraktionen in dieser und in Kammer 3 kein signifikanter Einfluss feststellen, die Latenzen wurden um 24 % in Kammer 2 und um 18 % in Kammer 3 bei  $10^{-6}$  M verlängert. Wurde anschließend Nociceptin bis zu einer Konzentration von  $10^{-7}$  M in Kammer 2 zugegeben, verringerten sich die Kontraktionsantworten um 28 % in beiden Kammern, die Latenzen blieben unverändert. Eine intrinsische Aktivität von  $[Nphe^1]Nociceptin(1-13)NH_2$  konnte also nicht festgestellt werden, die antagonistische Wirkung am ORL1- Rezeptor wurde bestätigt. In zahlreichen anderen Versuchen konnte die antagonistische Wirkung des  $[Nphe^1]Nociceptin(1-13)NH_2$  in elektrisch stimulierten Präparationen aus glatter Muskulatur, beispielsweise Ileum oder Vas deferens, an unterschiedlichen Spezies gezeigt werden (7).

Die Entwicklung des Dreikammerbades ermöglicht es, Substanzen an unterschiedlichen Stationen der Reizweiterleitung im perestaltischen Reflex zu untersuchen. In der Stimulationskammer beeinflussen zugegebene Substanzen die Entstehung und Weiterleitung von Aktionspotentialen, wird die Kontraktion in oraler Richtung gemessen, sind auch cholinerge Motoneurone beteiligt. Zugabe in die mittlere Kammer lässt eine Untersuchung der Substanzen auf die ganglionäre Übertragung und Fortleitung von Aktionspotentialen zu. Gleichfalls kann hier auch der Einfluss auf die motorische Endplatte beurteilt werden. Strukturelle und elektronenphysiologische Untersuchungen legen den Schluss nahe, dass die neuronalen Verschaltungen des ascendierenden, kontraktiven Teils des perestaltischen Reflexes polysynaptisch sind. Die sensorische Komponente besteht aus Capsaicin- sensitiven Neuronen, 5-HT 3 und 5-HT 4 Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle. In vivo werden die in der Mukosa liegenden sensorischen Neuronen (IPAN) hauptsächlich durch intraluminalen Druck aktiviert, in unseren Versuchen wird dieser Weg umgangen, die elektrische Feldstimulation erregt exzitatorische Neuronen, die für die Reizübertragung beim ascendierenden Reflex verantwortlich sind. Die Umgehung der sensorischen Neuronen in der Mukosa ist für die Charakterisierung der ORL1- Rezeptoren beim ascendierenden



myenterischen Reflex vertretbar, da bisher keine ORL1- Rezeptoren in der Mukosa des Rattenileums nachgewiesen werden konnte.

Die ascendierenden Kontraktionen werden an den neuromuskulären Verschaltungen hauptsächlich durch Acetylcholin, Tachykinine ( Substanz P und Neurokinin A ) und Enkephaline vermittelt, nikotinerge Rezeptoren spielen dort eine entscheidende Rolle.

Aufgrund der vielen Ähnlichkeiten zwischen dem ORL1- Rezeptorsystem und den klassischen Opioiden ist eine Interaktion zwischen beiden Systemen sehr wahrscheinlich. Das Verteilungsmuster der ORL1- Rezeptoren im Darm entspricht dem der Opioidrezeptoren (2) im Rattendarm, die vorliegende und viele andere Arbeiten machen deutlich, dass Nociceptin ein Neuromodulator gastrointestinaler Motorik ist.

Transgene Mäuse, die den ORL1- Rezeptor nicht mehr besitzen, zeigten in Versuchen einen teilweisen Verlust der Opioidtoleranz (101). Chronische Obstipation ist eine gravierende unerwünschte Arzneimittelwirkung unter langdauernder Opioidmedikation. Im Gegensatz zur Atemdepression unterliegt die Obstipation durch Opiode fast keiner Gewöhnung (63). Sollten die ORL1- Rezeptoren tatsächlich einen Einfluss auf die Opioidtoleranz ausüben, ergäben sich möglicherweise neue pharmakologische Therapieoptionen.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse unserer Arbeit für Nociceptin eine konzentrationsabhängige Verminderung von elektrisch ausgelösten Kontraktionen und eine Verlängerung von Latenzen an unterschiedlichen Angriffspunkten des ascendierenden myenterischen Reflexes im Ileum der Ratte.

Der selektive ORL1- Rezeptorantagonist [Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> konnte die inhibierende Wirkung des Nociceptin in allen Versuchsanordnungen teilweise antagonisieren, eine intrinsische Aktivität wurde nicht festgestellt.

Der Einfluss des ORL1- Rezeptors wurde unseres Wissens erstmals an komplexeren neuromodulatorischen Modellen des myenterischen Reflexes untersucht. Die Ergebnisse sprechen für eine Beteiligung des ORL1- Rezeptors nicht nur an exzitatorischen Motoneuronen, sondern auch an anderen neuronalen Strukturen, die der Signaltransduktion im ascendierenden myenterischen Reflex dienen, es handelt sich wahrscheinlich um ascendierende Interneurone.

## 5.3. Die Cannabinoide

Immunhistochemische Untersuchungen bestätigen die Existenz von CB<sub>1</sub>- Rezeptoren im Dünndarm von Ratten (18), beim Menschen (20) und in vielen anderen Spezies. Über diese CB<sub>1</sub>- Rezeptoren beeinflussen Cannabinoide die gastrointestinale Tätigkeit in vivo und in vitro.

Mittels immunhistochemischer Untersuchungen fand man CB<sub>1</sub>- Rezeptor- positive Aktivität an Neuronen und Nervenfasern des myenterischen Plexus, und im submukösen Plexus des Magens, Dünndarm und Kolons (81). In unmittelbarer Nähe zur CB<sub>1</sub>- Rezeptoraktivität fand man auffallend oft die Aktivität von Acetylcholinesterase. Die Assoziation von CB<sub>1</sub>- Rezeptoren mit cholinergen Neuronen bestätigen funktionelle Studien, in denen die CB<sub>1</sub>- vermittelte Inhibition von Cannabinoidagonisten auf die intestinale Motilität, Säureproduktion und Sekretion beschrieben wird. Dabei wird der Einfluss auf die Motilität über eine Inhibierung der Freisetzung von Acetylcholin aus myenterischen Neuronen erreicht, die Sekretion vermutlich über verminderte Freisetzung von Acetylcholin aus Neuronen des submukösen Plexus (54)/(55)/(66)/(82). CB<sub>1</sub>- Rezeptoren sind außerdem gelegentlich mit Substanz P- immunoreaktiven intestinalen Neuronen vergesellschaftet, jedoch nicht mit NO- Synthetase- positiven Neuronen oder Nervenfasern.

Die Wirksamkeit von Cannabinoiden an Präparationen von zirkulärer, glatter Muskulatur von Meerschweinchenileum wurde ausführlich von Izzo et al. beschrieben (47). Alle untersuchten Cannabinoide bis auf SR141716A reduzierten dosisabhängig elektrisch ausgelöste Kontraktionen, SR141716A konnte diese inhibierende Wirkung antagonisieren. Die selben Ergebnisse waren auch am menschlichen Ileum reproduzierbar (64).

Anandamid hat in Versuchen mit glatter Muskulatur aus dem Fundus von Rattenmägen keinen Einfluss auf spontane Kontraktionen von unbehandelten oder mit 5- Hydroxytryptamin vorstimulierten Muskelzellen gezeigt. Wurden die glatten Muskelzellen jedoch elektrisch stimuliert, verringerten sich die Kontraktionen bei einer Konzentration von 10<sup>-5</sup> M Anandamid um 42 % (92). Der hemmende Einfluss des CB<sub>1</sub>- Rezeptors auf elektrisch induzierte Kontraktionen ist in zahlreichen Untersuchungen verschiedener Forschungsgruppen bestätigt worden. Elektrophysiologische Untersuchungen an myenterischen Neuronen kamen zu dem Ergebnis, dass die synthetischen CB<sub>1</sub>- Rezeptoragonisten WIN 55,212-2 und CP 55,940 die schnellen, cholinerg vermittelten,

exzitatorischen Potenziale an den Synapsen verringern und WIN 55,212-2 zusätzlich auch inhibierend auf die langsamen exzitatorischen Potenziale ( NO- vermittelt ) wirkt (60). Der CB<sub>1</sub>- Rezeptorantagonist SR 141716A erhöhte nicht nur die cholinerg vermittelten, elektrisch induzierten Kontraktionen (47) sondern erhöhte auch die Acetylcholinausschüttung in enterischen Neuronen. (19).

Um die Wirkung von Cannabinoiden auf die Darmperestaltik näher zu untersuchen gaben Izzo et al ein bestimmtes Flüssigkeitsvolumen in den präparierten Darm. Wird somit ein definierter Schwellenwert überschritten, löst der perestaltische Reflex aus und die longitudinale Muskulatur kontrahiert sich.

Die beiden synthetischen CB<sub>1</sub>- Rezeptoragonisten WIN 55,212-2 und CP 55,940 erhöhten das zur Reflexauslösung benötigte Volumen, während die Kontraktionsfähigkeit der longitudinalen Muskulatur abnahm. SR141716A als alleinige Substanz verursachte in diesen Versuchen einen erhöhten Ejektionsdruck (48). In vivo führte die Aktivierung von CB<sub>1</sub>- Rezeptoren bei der Maus zu verminderter Ausscheidung und zur Verlangsamung der Magen-Darmpassage im oberen Gastrointestinaltrakt (20), die Ergebnisse wurden für Anandamid in vivo bestätigt (6).

Die vorliegende Arbeit hat den Einfluss des endogenen Cannabinoids Anandamid und die des Antagonisten SR141716A auf den aszendierenden myenterischen Reflex erstmals in einer Versuchsanordnung untersucht, die eine Unterscheidung des Wirkortes der Cannabinoide zulässt.

Zu diesem Zweck wurden nicht mehr drei Kammern benutzt, sondern nur zwei. Die aszendierenden Kontraktionen wurden im Abstand von 4 und 7 cm abgeleitet, gemessen ab der Stimulationselektrode in der ersten Kammer. Die Kraftumwandler, die sich in den vorherigen Versuchen in Kammer 2 und 3 befanden, werden in den Cannabinoidversuchen nunmehr als Messpunkte nach 4 und 7 cm im aszendierenden Reflex bezeichnet. Der Versuchsaufbau unterschied sich ansonsten nicht vom Dreikammerbad, insbesondere die Abdichtung von der Stimulationskammer zur zweiten Kammer war sichergestellt.

In unseren Versuchen zeigte sich bei Zugabe von Anandamid in die Stimulationskammer eine dosisabhängige Verminderung der Kontraktionen . Bei einer Konzentration von  $10^{-5}$  M Anandamid in der Stimulationskammer waren die Kontraktionen im Vergleich zur Kontrolle nach 4 cm um 48 % verringert. Die Latenzen verlängerten sich um 28 %. Gleichzeitig waren die Kontraktionen nach 7 cm um 49 % verringert, die Latenzen auf 30 % verlängert.

Der selektive CB<sub>1</sub>- Rezeptorantagonist SR141716A hatte bei Zugabe in die Stimulationskammer bis zu einer Konzentration von 10<sup>-6</sup> M einen agonistischen Effekt auf die aszendierenden Kontraktionen nach 4 und 7 cm, die Kontraktionen waren im Vergleich zur Kontrolle um 14 % ( nach 4 cm ) und um 13 % ( nach 7 cm ) erhöht. Die Latenzen waren nach 4 cm um 21 % und nach 7 cm um 13 % verkürzt. Wurde nun Anandamid in aufsteigenden Konzentrationen in die SR141716A (10<sup>-6</sup> M) enthaltende Stimulationskammer zugegeben, wurden ab einer Konzentration von 10<sup>-7</sup> M Anandamid die Kontraktionen schwächer als die der Kontrolle. Bei einer maximalen Konzentration von 10<sup>-5</sup> M fielen die Kontraktionen nach 4 cm um 12 % und nach 7 cm um 10 % niedriger aus als in den Kontrollen. Die Latenzen verlängerten sich um 2 % ( 4 cm ) beziehungsweise um 1 % ( 7 cm ). Die starke antagonistische Potenz von SR141716A und seine intrinsische Aktivität am CB<sub>1</sub>- Rezeptor konnten somit nachgewiesen werden. Die Konzentration von Anandamid war gegen Ende des Versuchs 10fach höher als die des SR141716A. Bei gleichen Konzentrationen von Anandamid und SR141716A konnte die inhibitorische Wirkung von Anandamid auf die Kontraktion fast vollständig antagonisiert werden. Dies spricht für einen ausgeprägten Antagonismus des SR141716A am CB<sub>1</sub>- Rezeptor. Derselbe Effekt von SR141716A wurde bei aszendierender Reizweiterleitung nach intraluminaler Druckerhöhung auch am Meerschweinchenileum festgestellt (41).

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit für Anandamid eine konzentrationsabhängige Verminderung elektrisch ausgelöster Kontraktionen und eine Verlängerung der Latenz im aszendierenden myenterischen Reflex. Dabei ist eine direkte Wirkung von Anandamid an der glatten Muskulatur durch das segmentierte Organbad ausgeschlossen. Mit Blick auf die Ergebnisse anderer Forschungsgruppen inhibiert Anandamid die Freisetzung von Acetylcholin an cholinergen Neuronen, es handelt sich wahrscheinlich nicht nur um exzitatorische Motoneurone, sondern auch um aszendierende Interneurone. Die Rolle des SR141716A als inverser Agonist und selektiver Antagonist am CB<sub>1</sub>- Rezeptor wurde in unseren Versuchen bestätigt.

Cannabinoide werden in der Medizin schon seit vielen Jahren in der antiemetischen Therapie bei Chemotherapie mit Erfolg eingesetzt. Im zentralen Nervensystem ist die von Cannabinoiden verursachte Hypomotilität bei Erkrankungen wie Chorea Huntington oder Morbus Parkinson von Interesse. In einer erst kürzlich veröffentlichten Studie gaben Patienten mit multipler Sklerose eine Besserung von Spastik und Schmerz unter der Behandlung mit Cannabinoiden an (104).

Die Existenz der CB<sub>1</sub>- Rezeptoren im menschlichen Darm (20), die schmerzhemmende Wirkung von Cannabinoiden (65) ohne Atemdepression und der Einfluss auf die gastrointestinale Motorik, der auch durch diese Arbeit dargestellt wird, macht einen Einsatz von Cannabinoiden in der Behandlung von Krankheiten des Gastrointestinaltraktes vielversprechend. Denkbar ist eine Anwendung beispielsweise beim Reizdarmsyndrom, bei Morbus Crohn oder bei paralytischem Ileus.

## 6. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss des opioidähnlichen Rezeptors ORL1 und des Cannabinoidrezeptors CB<sub>1</sub> auf den ascendierenden myenterischen Reflex am Ileum der Ratte. Die Untersuchungen fanden überwiegend in einem aus dem bewährten Einkammerorganbad weiterentwickelten Dreikammerbad statt. Hiermit konnten Substanzen unabhängig an verschiedenen Orten des elektrisch induzierten, ascendierenden Reflexes getestet werden. Am ORL1- Rezeptor wurden der endogene Agonist Nociceptin, der Antagonist [Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> und Nocistatin untersucht. Am CB<sub>1</sub>- Rezeptor wurden der endogene Agonist Anandamid und der synthetische Antagonist SR141716A getestet. Gemessen wurde der Einfluss der Substanzen auf die Kontraktionskraft und die Zeitdauer bis zur Kontraktionsantwort nach elektrischer Feldstimulation.

Im Rahmen der Arbeit wurden folgende Ergebnisse erzielt:

### Versuche am ORL1- Rezeptor:

Nociceptin hemmt die Kontraktionen und verlängert die Latenzen signifikant unabhängig davon, ob es in die Stimulationskammer oder in die nachfolgenden Kammern zugegeben wurde. Dieser hemmende Effekt war auf der ganzen Länge (ca. 10 cm) des ascendierenden Reflexweges nachweisbar.

[Nphe<sup>1</sup>]Nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> hat allein keinen Einfluss auf Kontraktionen, egal in welche Kammer es gegeben wird. Es vermag die Inhibition der Kontraktion und die Verlängerung der Latenz von Nociceptin teilweise zu antagonisieren.

Nocistatin hatte im Einkammerbad keinen signifikanten Einfluss auf Kontraktionen und Latenzen.

### Versuche am CB<sub>1</sub>- Rezeptor:

Anandamid hemmt bei Zugabe in die Stimulationskammer signifikant die Kontraktionen und verlängert Latenzen nach 4 und nach 7 cm im ascendierenden Reflex. Dieser Effekt ist durch SR141716A antagonisierbar. SR141716A allein bewirkt eine signifikante Steigerung der Kontraktionen und verkürzt die Latenzen.

Nach unserem Wissen ist in dieser Arbeit erstmals der Einfluss von ORL1- Rezeptoren und von CB<sub>1</sub>- Rezeptoren auf komplexere Signalwege im myenterischen Reflex der Ratte untersucht worden. Frühere Arbeiten beschränken sich auf die Untersuchung isolierter Signalwege und Effektorsysteme im myenterischen Reflex, beispielsweise Untersuchungen an isolierten Muskelstreifen aus der longitudinalen Muskulatur des Rattendarms.

Unsere Ergebnisse zeigen für den ORL1- Rezeptor und den CB<sub>1</sub>- Rezeptor eine Funktion als Neuromodulator der gastrointestinalen Motilität. Die Wirkung beider Rezeptoren ist nicht nur auf exzitatorische Motoneurone beschränkt, sondern schließt, wie hier erstmalig gezeigt wurde, auch andere neuronale Strukturen im ascendierenden myenterischen Reflex ein. Es handelt sich höchstwahrscheinlich um ascendierende Interneurone, die Hexamethoniumsensitiv sind und demnach nikotinergen cholinergen Interneuronen entsprechen.

Der Einfluss beider Rezeptorsysteme auf die gastrointestinale Motilität und ihre schmerzmodulatorischen Eigenschaften können in Zukunft eine Grundlage für die Entwicklung neuer Therapieoptionen in der Behandlung gastrointestinaler Störungen darstellen.

## 7. Literatur

1. Allescher HD, Berezin I, Jury J, Daniel EE. Characteristics of canine lower esophageal sphincter: a new electrophysiological tool. *Am.J.Physiol* 1988;255(4 Pt 1):G441-G453.
2. Bagnol D, Mansour A, Akil H, Watson SJ. Cellular localization and distribution of the cloned mu and kappa opioid receptors in rat gastrointestinal tract. *Neuroscience* 1997;81(2):579-91.
3. Bayliss WM, Starling EH. The movements and innervation of the large intestine. *J.Physiol.(Lond.)* 1900;26:107-18.
4. Bouaboula M, Perrachon S, Milligan L, Canat X, Rinaldi-Carmona M, Portier M, Barth,F.; Calandra,B.; Pecceu,F.; Lupker,J.; Maffrand,J.P.; Le Fur,G.; Casellas,P. 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.* 1997;272(35):22330-9.
5. Burnstock G. The past, present and future of purine nucleotides as signalling molecules. *Neuropharmacology* 1997;36(9):1127-39.
6. Calignano A, La Rana G, Makriyannis A, Lin SY, Beltramo M, Piomelli D. Inhibition of intestinal motility by anandamide, an endogenous cannabinoid. *Eur.J.Pharmacol.* 1997;340(2-3):R7-R8.
7. Calo' G, Guerrini R, Bigoni R, Rizzi A, Marzola G, Okawa H, Bianchi,C.; Lambert, D.G.; Salvadori, S.; Regoli, D. Characterization of [Nphe(1)]nociceptin(1-13)NH(2), a new selective nociceptin receptor antagonist. *Br.J.Pharmacol.* 2000;129(6):1183-93.
8. Calo G, Rizzi A, Bogoni G, Neugebauer V, Salvadori S, Guerrini R, Bianchi,C., Regoli,D. The mouse vas deferens: a pharmacological preparation sensitive to nociceptin. *Eur.J.Pharmacol.* 1996;311(1):R3-R5.



9. Carpenter KJ, Dickenson AH. Evidence that [Phe1 psi(CH2-NH)Gly2]nociceptin-(1-13)-NH<sub>2</sub>, a peripheral ORL-1 receptor antagonist, acts as an agonist in the rat spinal cord. *Br.J.Pharmacol.* 1998;125(5):949-51.
10. Chang KJ, Cooper BR, Hazum E, Cuatrecasas P. Multiple opiate receptors: different regional distribution in the brain and differential binding of opiates and opioid peptides. *Mol.Pharmacol.* 1979;16(1):91-104.
11. Chang KJ, Cuatrecasas P. Heterogeneity and properties of opiate receptors. *Fed.Proc.* 1981;40(13):2729-34.
12. Chavkin C, James IF, Goldstein A. Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor. *Science* 1982;215(4531):413-5.
13. Chen Y, Fan Y, Liu J, Mestek A, Tian M, Kozak CA, Yu,L.. Molecular cloning, tissue distribution and chromosomal localization of a novel member of the opioid receptor gene family. *FEBS Lett.* 1994;347(2-3):279-83.
14. Code CF, Marlett JA. The interdigestive myo-electric complex of the stomach and small bowel of dogs. *J.Physiol* 1975;246(2):289-309.
15. Coffey RG, Yamamoto Y, Snella E, Pross S. Tetrahydrocannabinol inhibition of macrophage nitric oxide production. *Biochem.Pharmacol.* 1996;52(5):743-51.
16. Costa M, Furness JB. The peristaltic reflex: an analysis of the nerve pathways and their pharmacology. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 1976;294(1):47-60.
17. Costa M, Furness JB, Pullin CO, Bornstein J. Substance P enteric neurons mediate non-cholinergic transmission to the circular muscle of the guinea-pig intestine. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 1985;328(4):446-53.
18. Coutts AA, Irving AJ, Mackie K, Pertwee RG, Anavi-Goffer S. Localisation of cannabinoid CB(1) receptor immunoreactivity in the guinea pig and rat myenteric plexus. *J.Comp Neurol.* 2002;448(4):410-22.
19. Coutts AA, Pertwee RG. Inhibition by cannabinoid receptor agonists of acetylcholine release from the guinea-pig myenteric plexus. *Br.J.Pharmacol.* 1997;121(8):1557-66.

20. Croci T, Manara L, Aureggi G, Guagnini F, Rinaldi-Carmona M, Maffrand JP, Le Fur, G., Mukenge, S., Ferla, G.. In vitro functional evidence of neuronal cannabinoid CB1 receptors in human ileum. *Br.J.Pharmacol.* 1998;125(7):1393-5.
21. De Ponti F, Cosentino M, Lecchini S, Frigo GM, Crema A. Physiopharmacology of the peristaltic reflex: an update. *Ital.J.Gastroenterol.* 1991;23(5):264-9.
22. Devane WA, Dysarz FA, III, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol.Pharmacol.* 1988;34(5):605-13.
23. Di Carlo G, Izzo AA. Cannabinoids for gastrointestinal diseases: potential therapeutic applications. *Expert.Opin.Investig.Drugs* 2003;12(1):39-49.
24. Du C, Carl A, Smith TK, Sanders KM, Keef KD. Mechanism of cyclic AMP-induced hyperpolarization in canine colon. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 1994;268(1):208-15.
25. Emmerson PJ, Miller RJ. Pre- and postsynaptic actions of opioid and orphan opioid agonists in the rat arcuate nucleus and ventromedial hypothalamus in vitro. *J.Physiol* 1999;517 ( Pt 2):431-45.
26. Evans CJ, Keith DE, Jr., Morrison H, Magendzo K, Edwards RH. Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science* 1992;258(5090):1952-5.
27. Felder CC, Nielsen A, Briley EM, Palkovits M, Priller J, Axelrod J, Nguyen, D.N., Richardson, J.M., Riggan, R.M., Koppel, G.A., Paul, S.M., Becker, G.W. Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett.* 1996;393(2-3):231-5.
28. Fukuda K, Kato S, Mori K, Nishi M, Takeshima H, Iwabe N, Miyata, T., Houtani, T., Sugimoto, T. cDNA cloning and regional distribution of a novel member of the opioid receptor family. *FEBS Lett.* 1994;343(1):42-6.
29. Furness JB, Costa M. The enteric nervous system. 1ed. Edinburgh, London: Churchill Livingstone; 1987.
30. 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.* 1995;232(1):54-61.

31. Gerard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem.J.* 1991;279 ( Pt 1):129-34.
32. Gessa GL, Mascia MS, Casu MA, Carta G. Inhibition of hippocampal acetylcholine release by cannabinoids: reversal by SR 141716A. *Eur.J.Pharmacol.* 1997;327(1):R1-R2.
33. Gifford AN, Ashby CR, Jr. 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.* 1996;277(3):1431-6.
34. Gintzler AR, Adapa ID, Toll L, Medina VM, Wang L. Modulation of enkephalin release by nociceptin (orphanin FQ). *Eur.J.Pharmacol.* 1997;325(1):29-34.
35. Glass M, Dragunow M. Induction of the Krox 24 transcription factor in striosomes by a cannabinoid agonist. *Neuroreport* 1995;6(2):241-4.
36. Grider JR. Interplay of VIP and nitric oxide in regulation of the descending relaxation phase of peristalsis. *Am.J.Physiol* 1993;264(2 Pt 1):G334-G340.
37. Grider JR. CGRP as a transmitter in the sensory pathway mediating peristaltic reflex. *Am.J.Physiol* 1994;266(6 Pt 1):G1139-G1145.
38. Grider JR, Makhlof GM. Regulation of the peristaltic reflex by peptides of the myenteric plexus. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.* 1990;303:232-51.
39. Grider JR, Murthy KS, Jin JG, Makhlof GM. Stimulation of nitric oxide from muscle cells by VIP: prejunctional enhancement of VIP release. *Am.J.Physiol* 1992;262(4 Pt 1):G774-G778.
40. Guerrini R, Calo G, Rizzi A, Bigoni R, Bianchi C, Salvadori S, Regoli D. A new selective antagonist of the nociceptin receptor. *Br.J.Pharmacol.* 1998;123(2):163-5.

41. Heinemann A, Shahbazian A, Holzer P. Cannabinoid inhibition of guinea-pig intestinal peristalsis via inhibition of excitatory and activation of inhibitory neural pathways. *Neuropharmacology* 1999;38(9):1289-97.
42. Herkenham M, Groen BG, Lynn AB, De Costa BR, Richfield EK. Neuronal localization of cannabinoid receptors and second messengers in mutant mouse cerebellum. *Brain Res.* 1991;552(2):301-10.
43. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, De Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J.Neurosci.* 1991;11(2):563-83.
44. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, De Costa BR, Rice K.C. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1990;87(5):1932-6.
45. Holzer P. Ascending enteric reflex: multiple neurotransmitter systems and interactions. *Am.J.Physiol* 1989;256:G540-G545.
46. Ishac EJ, Jiang L, Lake KD, Varga K, Abood ME, Kunos G. Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB1 receptors on peripheral sympathetic nerves. *Br.J.Pharmacol.* 1996;118(8):2023-8.
47. 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.* 1998;124(7):1363-8.
48. Izzo AA, Mascolo N, Tonini M, Capasso F. Modulation of peristalsis by cannabinoid CB(1) ligands in the isolated guinea-pig ileum. *Br.J.Pharmacol.* 2000;129(5):984-90.
49. 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.* 1996;50(2):334-41.
50. Johnson PJ, Bornstein JC, Yuan SY, Furness JB. Analysis of contributions of acetylcholine and tachykinins to neuro-neuronal transmission in motility reflexes in the guinea-pig ileum. *Br.J.Pharmacol.* 1996;118(4):973-83.

51. 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.U.S.A* 1992;89(24):12048-52.
52. Kirchgessner AL, Tamir H, Gershon MD. Identification and stimulation by serotonin of intrinsic sensory neurons of the submucosal plexus of the guinea pig gut: activity-induced expression of Fos immunoreactivity. *J.Neurosci.* 1992;12(1):235-48.
53. Kosterlitz HW, Lees GM. Pharmacological Analysis of intrinsic intestinal reflexes. *Pharmacol.Rev.* 1964;16:301-39.
54. Kulkarni-Narla A, Brown DR. Localization of CB1-cannabinoid receptor immunoreactivity in the porcine enteric nervous system. *Cell Tissue Res.* 2000;302(1):73-80.
55. Kulkarni-Narla A, Brown DR. Opioid, cannabinoid and vanilloid receptor localization on porcine cultured myenteric neurons. *Neurosci.Lett.* 2001;308(3):153-6.
56. Kunze WA, Furness JB. The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. *Annu.Rev.Physiol* 1999;61:117-42.
57. Kunze WA, Furness JB, Bertrand PP, Bornstein JC. Intracellular recording from myenteric neurons of the guinea-pig ileum that respond to stretch. *J.Physiol* 1998;506 ( Pt 3):827-42.
58. Kurjak M, Schusdziarra V, Allescher HD. Release of somatostatin-like immunoreactivity from enriched enteric nerve varicosities of rat ileum. *Eur.J.Pharmacol.* 1995;281(3):295-301.
59. Landsman RS, Makriyannis A, Deng H, Consroe P, Roeske WR, Yamamura HI. AM630 is an inverse agonist at the human cannabinoid CB1 receptor. *Life Sci.* 1998;62(9):L109-L113.
60. Lopez-Redondo F, LEES GM, Pertwee RG. Effects of cannabinoid receptor ligands on electrophysiological properties of myenteric neurones of the guinea-pig ileum. *Br.J.Pharmacol.* 1997;122(2):330-4.

61. MacLennan SJ, Reynen PH, Kwan J, Bonhaus DW. Evidence for inverse agonism of SR141716A at human recombinant cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Br.J.Pharmacol.* 1998;124(4):619-22.
62. Mallet PE, Beninger RJ. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A attenuates the memory impairment produced by delta9-tetrahydrocannabinol or anandamide. *Psychopharmacology (Berl)* 1998;140(1):11-9.
63. Manara L, Bianchetti A. The central and peripheral influences of opioids on gastrointestinal propulsion. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.* 1985;25:249-73.
64. Manara L, Croci T, Guagnini F, Rinaldi-Carmona M, Maffrand JP, Le Fur G, Mukenge,S.; Ferla,G. Functional assessment of neuronal cannabinoid receptors in the muscular layers of human ileum and colon. *Dig.Liver Dis.* 2002;34(4):262-9.
65. Manzanares J, Corchero J, Romero J, Fernandez-Ruiz JJ, Ramos JA, Fuentes JA. Pharmacological and biochemical interactions between opioids and cannabinoids. *Trends Pharmacol.Sci.* 1999;20(7):287-94.
66. Mascolo N, Izzo AA, Ligresti A, Costagliola A, Pinto L, Cascio MG, Maffia,P.; Cecio,A.; Capasso,F.; Di, Marzo,V. The endocannabinoid system and the molecular basis of paralytic ileus in mice. *FASEB J.* 2002;16(14):1973-5.
67. Mechoulam R, Ben Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher,A.; Almog,S.; Martin,B.R.; Compton,D.R. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem.Pharmacol.* 1995;50(1):83-90.
68. Menzies JR, Corbett AD. Nociceptin inhibits tonic nitric oxide release in the mouse isolated proximal colon. *Eur.J.Pharmacol.* 2000;388(2):183-6.
69. Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Suaudeau C, Moisand C, Alvinerie P, Butour,J.L.; Guillemot,J.C.; Ferrara,P.; Monsarrat,B. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor- like ORL1 receptor. *Nature* 1995;377(6549):532-5.

70. Mollereau C, Parmentier M, Mailleux P, Butour JL, Moisand C, Chalon P, Caput, D.; Vassart, G.; Meunier, J.C. ORL1, a novel member of the opioid receptor family. Cloning, functional expression and localization. *FEBS Lett.* 1994;341(1):33-8.
71. Nahas GG, Suci-Foca N, Armand JP, Morishima A. Inhibition of cellular mediated immunity in marijuana smokers. *Science* 1974;183(123):419-20.
72. North RA, Williams JT, Surprenant A, Christie MJ. Mu and delta receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 1987;84:5487-91.
73. O'Donnell AM, Ellis LM, Riedl MS, Elde RP, Mawe GM. Distribution and chemical coding of orphanin FQ/nociceptin-immunoreactive neurons in the myenteric plexus of guinea pig intestines and sphincter of Oddi. *J.Comp Neurol.* 2001;430(1):1-11.
74. Oberdisse, E, Hackenthal, E, and Kuschinsky, K. *Pharmakologie und Toxikologie.* 1997. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York.
75. Okuda-Ashitaka E, Ito S. Nocistatin: a novel neuropeptide encoded by the gene for the nociceptin/orphanin FQ precursor. *Peptides* 2000;21(7):1101-9.
76. Olszewski PK, Shaw TJ, Grace MK, Billington CJ, Levine AS. Nocistatin inhibits food intake in rats. *Brain Res.* 2000;872(1-2):181-7.
77. Peluso J, LaForge KS, Matthes HW, Kreek MJ, Kieffer BL, Gaveriaux-Ruff C. Distribution of nociceptin/orphanin FQ receptor transcript in human central nervous system and immune cells. *J.Neuroimmunol.* 1998;81(1-2):184-92.
78. Pert CB, Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* 1973;179(77):1011-4.
79. Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog.Neurobiol.* 2001;63(5):569-611.
80. Pheng LH, Calo G, Guerrini R, Regoli D. [Nphe(1)]nociceptin-(1-13)NH(2) selectively antagonizes nociceptin effects in the rabbit isolated ileum. *Eur.J.Pharmacol.* 2000;397(2-3):383-8.

81. Pinto L, Capasso R, Di Carlo G, Izzo AA. Endocannabinoids and the gut. Prostaglandins Leukot.Essent.Fatty Acids 2002;66(2-3):333-41.
82. Pinto L, Izzo AA, Cascio MG, Bisogno T, Hospodar-Scott K, Brown DR, Mascolo, N.; Di, Marzo, V; Capasso, F. Endocannabinoids as physiological regulators of colonic propulsion in mice. Gastroenterology 2002;123(1):227-34.
83. Reinscheid RK, Nothacker H, Civelli O. The orphanin FQ/nociceptin gene: structure, tissue distribution of expression and functional implications obtained from knockout mice. Peptides 2000;21(7):901-6.
84. Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A, Ardati A, Henningsen RA, Bunzow JR, Grandy, D.K.; Langen, H.; Monsma, F.J., Jr.; Civelli, O. Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein- coupled receptor. Science 1995;270(5237):792-4.
85. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Millan J, Derocq JM, Casellas P, Congy C, Oustric, D.; Sarran, M.; Bouaboula, M.; Calandra, B.; Portier, M.; Shire, D.; Breliere, J.C.; Le Fur, G.L. SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor. J.Pharmacol.Exp.Ther. 1998;284(2):644-50.
86. 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. 1991;40(3):609-15.
87. Shen M, Piser TM, Seybold VS, Thayer SA. Cannabinoid receptor agonists inhibit glutamatergic synaptic transmission in rat hippocampal cultures. J.Neurosci. 1996;16(14):4322-34.
88. Simon EJ. In search of the opiate receptor. Am.J.Med.Sci. 1973;266(3):160-8.
89. Simon EJ, Hiller JM, Edelman I. Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic (3H) Etorphine to rat-brain homogenate. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 1973;70(7):1947-9.
90. Smith TK, Bornstein JC, Furness JB. Interactions between reflexes evoked by distension and mucosal stimulation: electrophysiological studies of guinea-pig ileum. J.Auton.Nerv.Syst. 1991;34(1):69-75.



91. Smith TK, Robertson WJ. Synchronous movements of the longitudinal and circular muscle during peristalsis in the isolated guinea-pig distal colon. *J.Physiol* 1998;506 ( Pt 2):563-77.
92. Storr M, Gaffal E, Saur D, Schusdziarra V, Allescher HD. Effect of cannabinoids on neural transmission in rat gastric fundus. *Can.J.Physiol Pharmacol.* 2002;80(1):67-76.
93. Storr M, Geisler F, Neuhuber WL, Schusdziarra V, Allescher HD. Endomorphin-1 and -2, endogenous ligands for the mu-opioid receptor, inhibit striated and smooth muscle contraction in the rat oesophagus. *Neurogastroenterol.Motil.* 2000;12(5):441-8.
94. Sugimori S, Kadowaki M, Yoneda S, Yamanouchi M, Nakano H, Takaki M. Nociceptin inhibits capsaicin-sensitive contraction to mesenteric nerve stimulation in the guinea-pig isolated ileum. *Auton.Neurosci.* 2000;86(1-2):65-9.
95. Sugiura T, Kodaka T, Nakane S, Kishimoto S, Kondo S, Waku K. Detection of an endogenous cannabimimetic molecule, 2-arachidonoylglycerol, and cannabinoid CB1 receptor mRNA in human vascular cells: is 2-arachidonoylglycerol a possible vasomodulator? *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 1998;243(3):838-43.
96. Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Tonegawa T, Nakane S, Yamashita A, Waku, K. Enzymatic synthesis of anandamide, an endogenous cannabinoid receptor ligand, through N-acylphosphatidylethanolamine pathway in testis: involvement of Ca(2+)-dependent transacylase and phosphodiesterase activities. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 1996;218(1):113-7.
97. Szursweski JH. Electrophysiologic basis of Gastrointestinal motility. In: Leonard RJ, Christensen J, Jackson MJ, Jacobson DE, Walsh JH, editors. *Physiology of the gastrointestinal tract.* 2 ed. New York: Raven Press; 1987. p. 406-8.
98. Takahashi T, Bagnol D, Schneider D, Mizuta Y, Ishiguchi T, LePard K, Galligan, J.J.; Watson, S.J.; Owyang, C. Orphanin FQ causes contractions via inhibiting purinergic pathway in the rat colon. *Gastroenterology* 2000;119(4):1054-63.
99. Terenius L. Characteristics of the "receptor" for narcotic analgesics in synaptic plasma membrane fraction from rat brain. *Acta Pharmacol.Toxicol.(Copenh)* 1973;33(5):377-84.

100. Trendelenburg P. Physiologische und pharmakologische Versuche über die Dünndarmperistaltik. Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 1917;81:55-129.
101. Ueda H, Yamaguchi T, Tokuyama S, Inoue M, Nishi M, Takeshima H. Partial loss of tolerance liability to morphine analgesia in mice lacking the nociceptin receptor gene. *Neurosci.Lett.* 1997;237(2-3):136-8.
102. Weisbrodt NW. Motility of the Small Intestine. *Physiology of the Gastrointestinal Tract.* 2 ed. New York: Raven Press; 1987. p. 631-63.
103. Yasuda K, Raynor K, Kong H, Breder CD, Takeda J, Reisine T, Bell, G.I. Cloning and functional comparison of kappa and delta opioid receptors from mouse brain. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1993;90(14):6736-40.
104. Zajicek J, Fox P, Sanders H, Wright D, Vickery J, Nunn A., Thompson, A. Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;362(9395):1517-26.
105. Zhang G, Murray TF, Grandy DK. Orphanin FQ has an inhibitory effect on the guinea pig ileum and the mouse vas deferens. *Brain Res.* 1997;772(1-2):102-6.
106. Zias J, Stark H, Sellgman J, Levy R, Werker E, Breuer A, Mechoulam, R. Early medical use of cannabis. *Nature* 1993;363(6426):215.

## 8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb.2.1: Der Darm im Einkammerorganbad

Abb.2.2: Der Darm befindet sich in drei voneinander dicht abgeschlossenen Kammern.

Abb.3.2: Kaum Einfluss von Atropin auf die Kontraktionen und Latenzen in der dritten Kammer bei Zugabe in Kammer 2.

Abb.3.3: Einfluss von Atropin auf aufsteigende Kontraktion und Latenz bei Zugabe in Kammer 2, \*:  $P < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ .

Abb.3.4.: Nahezu unveränderte Kontraktionen und Latenzen in Kammer 2 und 3 bei Zugabe von Atropin in die Stimulationskammer.

Abb.3.5: Zugabe von  $10^{-5}$  M Hexamethonium in die 1. Kammer führt zu einer Auslöschung der Kontraktionen in den Kammern 2 und 3.

Abb.3.6: Hexamethonium bewirkt bei Zugabe in Kammer 2 eine vollständige Auslöschung von Kontraktionen in Kammer 2 und 3.

Abb.3.7: Nociceptin vermindert im oralen Reflexweg die Kontraktionen.

Abb.3.8: Auch im absteigenden Reflexweg verlängert Nociceptin dosisabhängig die Latenz und verringert die Kontraktion.

Abb.3.9: Gesamtübersicht über die Effekte von Nociceptin im Einkammerbad.  
\*:  $p < 0,05$  ; \*\*:  $p < 0,01$ .

Abb.3.10: Nociceptin verringert Kontraktionen und verlängert Latenzen in der 2. Kammer, wenn es in die Stimulationskammer zugegeben wird.

Abb.3.11: Kontraktionen und Latenzen in Kammer 3 zeigen bei Zugabe von Nociceptin in die Stimulationskammer ein ähnliches Bild wie in Kammer 2.

Abb.3.12: Einfluss von Nociceptin in aufsteigenden Konzentrationen auf den absteigenden Reflex bei Zugabe in die Stimulationskammer. \*:  $p < 0,05$  ; \*\*:  $p < 0,01$ .

Abb.3.13: In Kammer 2 nehmen die Kontraktionen ab und die Latenzen zu, wenn Nociceptin anwesend ist.

Abb.3.14: Kontraktionskurven in Kammer 3 bei Zugabe von Nociceptin in Kammer 2.

Abb.3.15: Nociceptin verringert die Kontraktionen und verlängert die Latenzen in Kammer 2 und 3. \*:  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$ .

Abb.3.16: Schwache, nicht signifikante Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe in Kammer 1.

Abb.3.17: Antagonistische Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe in Kammer 1. Kontraktionskurven aus Kammer 2.

Abb.3.18: Kontraktionskurven in der 3. Kammer bei Anwesenheit von Nociceptin und [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> in der Stimulationskammer.

Abb.3.19: Gesamtdarstellung der Effekte von [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> und Nociceptin in der Stimulationskammer.

Abb.3.20: [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> verlängert die Latenzen bei Zugabe in Kammer 2, die Kontraktionen bleiben nahezu unverändert. \*: p < 0,05 .

Abb.3.21: Antagonistische Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe von Nociceptin in Kammer 2. Kontraktionskurven in Kammer 2.

Abb.3.22: Antagonistische Wirkung des [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe von Nociceptin in Kammer 2. Kontraktionskurven in Kammer 3.

Abb.3.23: Befand sich der Nociceptinantagonist [Nphe<sup>1</sup>] Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bereits in Kammer 2, war der hemmende Effekt des Nociceptins auf Kontraktion und Latenz weniger stark ausgeprägt. \*: p < 0,05 .

Abb.3.24: Bei Zugabe von Nocistatin in das Einkammerbad verlängerten sich die Latenzen und verminderten sich die Kontraktionen im aufsteigenden und absteigenden Reflexweg mäßig.

Abb.3.25: Inhibitorische Wirkung von Anandamid auf den aufsteigenden Reflex nach 4 cm bei Zugabe in Kammer 1.

Abb.3.26: Inhibitorische Wirkung von Anandamid auf den aufsteigenden Reflex nach 7 cm bei Zugabe in Kammer 1.

Abb.3.27: Kontraktionsverminderung und Latenzverlängerung nach 4 und 7 cm im aufsteigenden Reflex bei Zugabe von Anandamid in die Stimulationskammer. \*: p < 0,05 ; \*\* p < 0,01.

Abb.3.28: Verstärkte Kontraktionsantwort und verkürzte Latenz nach 4 und 7 cm im aufsteigenden Reflex bei Zugabe von SR141716A in die Stimulationskammer. \*: p < 0,05.

Abb.3.29: Die inhibierende Wirkung von Anandamid wird durch SR141716A deutlich antagonisiert. Messung nach 4cm im aufsteigenden Reflex.

Abb.3.30: Auch nach 7 cm antagonisiert SR141716A die Wirkung von Anandamid.

Abb.3.31: Darstellung der antagonistischen Wirkung von SR141716A in Gegenwart von Anandamid in der Stimulationskammer. \*: p < 0,05.

Abb.6.1.: Die Rolle von nikotinergen ( N ) und muskarinergen ( M ) Rezeptoren im aufsteigenden myenterischen Reflex.

- Tab.3.1: Einfluss von Atropin bei Zugabe in Kammer 2 und Messung in Kammer 2.
- Tab.3.2: Wenig Veränderung der Kontraktionen und Latenzen in Kammer 3 bei Zugabe von Atropin in Kammer 2.
- Tab.3.3: Einfluss von Atropin in Kammer 2 und 3 bei Zugabe in Kammer 1.
- Tab.3.4: Einfluss von Hexamethonium in Kammer 2 und 3 bei Zugabe in Kammer 1.
- Tab.3.5: Einfluss von Hexamethonium in Kammer 2 und 3 bei Zugabe in Kammer 2.
- Tab.3.6: Verlängerung der Latenz und Verminderung der Kontraktion im aufsteigenden Reflexweg bei Zugabe von Nociceptin im Einkammerbad.
- Tab.3.7: Einfluss von Nociceptin auf den absteigenden Reflexweg.
- Tab.3.8: Bei Zugabe von Nociceptin in die Stimulationskammer verringern sich die Kontraktionen und die Latenzen in Kammer 2 und 3.
- Tab.3.9: Einfluss von Nociceptin bei Zugabe in Kammer 2.
- Tab.3.10: Antagonistischer Effekt des  $[Nphe^1]$  Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> in der Stimulationskammer.
- Tab.3.11: Gesamtübersicht über den Einfluss des Nociceptinantagonisten  $[Nphe^1]$  Nociceptin (1-13)NH<sub>2</sub> bei Zugabe in Kammer 2.
- Tab.3.12: Einfluss von Nocistatin auf den oralen und aboralen Reflexweg im Einkammerbad.
- Tab.3.13: Einfluss von Anandamid auf den aufsteigenden Reflex nach 4 und 7 cm.
- Tab.3.14: Einfluss von Anandamid auf den aufsteigenden Reflex nach 4 und 7 cm unter Anwesenheit des Antagonisten SR41716.
- Tab.4.1: Wichtige Neurotransmitter und Hormone des Gastrointestinaltraktes.

# 9. Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name	Andreas Haaken
Geburtsdatum	24. Oktober 1975
Geburtsort	Siegen
Familienstand	verheiratet

## Bildungsgang

1982- 1986	Grundschule „Am Giersberg“, Siegen
1986- 1995	Gymnasium „Am Löhrtor“, Siegen
Juni 1995	Abitur
1996- 1998	Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg
1998- 2002	Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität München
August 1999	Erstes Staatsexamen
August 2001	Zweites Staatsexamen
November 2002	Drittes Staatsexamen
seit November 2002	Arzt im Praktikum in der Abteilung Dermatologie und Venerologie des Bundeswehrkrankenhauses Ulm