

**Aus der
Klinik für Gefäßchirurgie und Nierentransplantation
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
(Leiter: Prof. Dr. med. W. Sandmann)**

**und dem
Zentrum für ambulante Schmerztherapie
Neuss-Uedesheim
(Wiss. Leiter: Prof. Dr. med. E. Freye)**

**Konstitutive Opioidrezeptoraktivierung; Voraussetzung für
die Entwicklung eines akuten Opiatentzugssyndroms**

- eine experimentelle Untersuchung am wachen Hund -

**Dissertation
Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf**

vorgelegt von
Piotr Plaza
2003

Inhaltsverzeichnis	Seite
1.0 Einleitung	4
2.0 Fragestellung der Arbeit	7
3.0 Material und Methodik	8
3.1 Die für den Versuch verwendeten Pharmaka.....	8
3.1.1 Das Opioid Sufentanil.....	8
3.1.2 Der Opioidantagonist Naltrexon	9
3.1.3 Der selektive Proteinkinase C Inhibitor H7	11
3.1.4 Das Xanthin Theophillin	13
4.0 Versuchsablauf und Bestimmung der Messparameter	14
5.0 Statistische Analyse der erhobenen Daten.....	17
6.0 Ergebnisse.....	19
6.1 Opioideffekte gefolgt von Entzugsprovokation durch Naltrexon ...	19
6.2 Effekte auf Kreislauf, SSEP und Colon-Dehnungsreiz - Vorgabe mit H7 und anschließende Provokation	21
6.3 Abstinenzskalierung mit und ohne Vorbehandlung mit H7 sowie anschließender Provokation mit Naltrexon	23
6.4 Theophillin zur Blockade präzipitierter Abstinenzsymptome beim opiodvorbehandelten Tier	26
7.0 Diskussion der Ergebnisse	29
7.1 Intrazelluläre Phosphorylierung - Voraussetzung für die Auslösung von Opioidwirkungen	29
7.2 Wirkung des Xanthinabkömmlings Theophillin auf Abstinenzsymptome	32

7.3 Relevanz der Ergebnisse für die Praxis.....	35
8.0 Methodenkritik	36
9.0 Literaturverzeichnis.....	40
10.0 Zusammenfassung.....	47
11.0 Danksagung.....	49
12.0 Curriculum Vitae.....	50

1.0 Einleitung

Während die eigentliche Wirkung eines Opioids erst nach Bindung des Liganden am Rezeptor und eine daran sich anschließende Aktivierung des G-Proteins mit seiner α -, β - und γ - Untereinheit eingeleitet wird, kommt es im Anschluss zu intrazellulären biochemischen Veränderungen, die schließlich in eine Permeabilitätssteigerung benachbarter Ionenkanäle mit Verstärkung des Kaliumioneneinstroms und Verminderung des Calciumioneneinstroms münden. Es resultiert eine Hyperpolarisation der neuronalen Zelle, die hierdurch nicht mehr in der Lage ist eine (nozizeptive) Erregung weiter zu leiten, so dass die Schmerzleitung unterbrochen wird und eine Analgesie die Folge ist. Im Rahmen der Verabreichung von Opioiden werden jedoch auch Mechanismen aktiviert, die der Entwicklung einer Opioidtoleranz und einer Abhängigkeit Vorschub leisten. Denn es konnte gezeigt werden, dass nach Gabe eines Agonisten neben einer basalen Phosphorylierungsrate eine signifikante Zunahme der Phosphorylierung bei einer gleichzeitig damit einhergehenden Internalisierung und Toleranzentwicklung des Opioidrezeptors auf eine Opioid gesteigert wird [1].

Neben dieser Toleranzentwicklung können Opioide aber auch zu einer Abhängigkeitsentwicklung führen. Zwar sind die hierbei ablaufenden biochemischen Prozesse im Einzelnen immer noch nicht bekannt. Es gibt es jedoch dafür mehrere Hinweise, dass das zyklische Aminomonophosphat (c-AMP) eine zentrale Rolle sowohl bei der Vermittlung einer Opioidabhängigkeit [2-4], als auch bei der Ausbildung eines akuten Abstinenzsyndroms, so wie es der Opiatabhängige erfährt wenn die Droge nicht mehr in ausreichendem Masse einnimmt, spielt. Obgleich. von den durch Opioide ausgelösten intrazellulären Veränderungen ist jedoch bekannt, dass als Antwort auf eine akute Einnahme wirkstarker Opioide und/oder der langfristigen Konsumierung schwach-wirkender Opioide, es zu einer Hemmung der Adenylcyclase (AC) mit kompensatorischer, intrazellulärer Aktivitätszunahme von zyklischem AMP (c-AMP) kommt. Diese Aktivitätszunahme wiederum mündet in eine gesteigerte Aktivierung von Proteinkinase A (PKA) und Proteinkinase C (PKC). Letztere sind regulatorische Enzyme, die bei der Aufrechterhaltung der intrazellulären Homöostase eine entscheidende Rolle spielen[5]. Die akute Entfernung eines

Opioids vom Rezeptor führt dann dazu, dass die Überaktivität von c-AMP demaskiert wird und der kompensatorische biochemische Prozess, ursprünglich der entscheidende Mittler eines akuten Entzugssyndroms [6] [7], jetzt offen zutage tritt.

Bei einem Opioidabhängigen werden diese im Zellinneren induzierten sekundären biochemischen Prozesse durch die Dauereinnahme der Droge aktiviert. Und weil sowohl mit der Dauer der Einnahme des Opioids als auch mit Zunahme der Wirkungsstärke eines Liganden die durch einen spezifischen Antagonisten wie dem Naloxon ausgelösten Abstinenzsymptome deutlicher zu Tage treten [8], muss an eine mit der Zeit zunehmenden Sensitivierung des Opioidrezeptors auf den Antagonisten gedacht werden. Solche akut einsetzenden Phänomene eines Opioidentzugs sind sowohl beim Opioidabhängigen als auch in der Klinik bekannt, wo nach der Gabe des für die Narkose wirkpotenten Opioids wie dem Fentanyl oder dem Sufentanil, eine am Ende der Narkose gegebene Naloxondosis zu einem abrupten Erwachen mit allen ihren charakteristischen Symptomen eines akuten Entzugsphänomens wie Tachykardie, Hypertonie, Übelkeit, Erbrechen und einer inneren Unruhe sowie einer starken Zunahme von Schmerzen offenbart [9-11]. Diese erst im Laufe der Zeit zunehmende Sensitivierung des Opioidrezeptors auf den Antagonisten Naloxon stimmt jedoch nicht mit der üblichen Meinung überein, dass eine langfristige Opioideinnahme zu einer Desensibilisierung des Rezeptor führt, d.h. einer Empfindlichkeitsabnahme, wie er im Zustand der Abhängigkeit oder der Gewöhnung vorliegen soll.

Um dieses Paradoxon näher zu untersuchen wurde der Frage nachgegangen, ob durch die wiederholte Gabe eines wirkungstarken Opioids, der im opioid-naiven Zustand vorliegende ruhende Rezeptor in eine konstitutiv hochaktive Rezeptorkonformation überführt wird, so dass anschließend der Rezeptor in vermehrter Masse auf einen spezifischen Antagonisten in Form der Auslösung von Abstinenzsymptome reagiert.

Dieses Modell unterschiedlicher Zustandsformen des Opioidrezeptors, je nachdem ob vorher ein Opioid gegeben wurde oder nicht, wurde ursprünglich von der Arbeitsgruppe um Sadee entwickelt, die von einer nach Bindung eines Opioidliganden verstärkten Bildung konstitutiv aktiver Rezeptoren ausgeht [12]. An diesem Modell lässt sich auch zwanglos eine unter Opioidgabe bei Patienten öfters zu beobachtende Toleranzentwicklung und die Auslösung von abstinenzähnlichen Symptomen bei Gabe ei-

nes Antagonisten am Ende einer opioidgestützten Narkose, erklären. Indem durch das Opioid mehrere Rezeptoren in eine konstitutiv aktivierte Form überführt werden, stehen auch weniger Bindestellen für eine weitere Bindung mit dem Liganden zur Verfügung. Dieser Zustand der letztlich, um ähnliche Effekte auszulösen, die Gabe höherer Dosen notwendig macht, wird als Toleranzentwicklung bezeichnet. Gestützt werden solche Überlegungen auch durch die Tatsache, dass ein Antagonist alleine gegeben bei einem Opiodrezeptor keine Abstinenz auszulösen imstande ist. Dagegen ließe sich der konstitutiv aktive Rezeptorzustand durch einen Antagonisten wie z.B. Naloxon oder Naltrexon anhand der anschließend ausgelösten systemischen Effekte demaskieren. Durch eine solche Demaskierung von Abstinenzeffekten kann letztlich auf die Validität des vorgeschlagenen aktivierten Rezeptormodels rückgeschlossen werden, das als Vorbedingung zur Auslösung einer Abstinenz vorliegen muss, während die inaktive Rezeptorform zu keinerlei Reaktionen führt.

Hinweise für die Vorbedingung eines aktivierten Rezeptormodels bieten die aus der Praxis bekannten Fälle, bei denen sich bei Opioidabhängigen, trotz fehlender Einnahme von Heroin und nicht mehr nachweisbaren Substanzspiegeln im Blut, immer noch eine durch einen Antagonisten auszulösende Abstinenzsymptomatik nachweisen lässt. Dieser Effekt weist erst nach mehreren Wochen eine abnehmende Tendenz auf [13], einer Zeitspanne, in der sich die aktivierte Rezeptorform wieder in ihre eigentliche ruhende Form zurückbildet. Es ist deshalb davon auszugehen, dass die einmal aktivierte Rezeptorform noch über der eigentlichen Bindung mit dem Opioid hinweg weiterhin aktiviert bleibt, so dass die Interaktion mit einem Liganden scheinbar keine zwingende Voraussetzung für die Auslösung von Abstinenzeffekten zu sein scheint. Hier sind andere, sekundäre Prozesse zu diskutieren, die sich intrazellulär abspielen, wobei besonders das Enzym Proteinkinase C als der Teil verantwortlich zu machen ist, der über den Prozess der Phosphorylierung die Überführung eines ruhenden Rezeptors in eine aktive und reagible Bindestelle zur Folge hat.

2.0 Fragestellung der Arbeit

Am Modell des wachen, nichtnarkotisierten Hundes sollte untersucht werden, ob eine durch die wiederholte Gabe des hochwirksamen Liganden Sufentanil ausgelöste Analgesie und eine damit einhergehende Hypotension und Bradykardie, sich durch die anschließende Gabe eines spezifischen Opioidantagonisten umkehren lassen und im welchem Ausmaß hierbei Abstinenzsymptome auftreten. Im Einzelnen kam es darauf an folgende Punkte nachzuweisen:

1. Kann das durch die Antagonisierung gleichzeitig ausgelöste akute Abstinenzsyndrom dadurch inhibiert werden, dass der zur Überführung des ruhenden Rezeptors in seine konstitutiv aktivierte Form notwendige Phosphorylierungsschritt unterbrochen wird. Hierzu war es notwendig, das an der Überführung des Rezeptors in seine aktivierte Form beteiligte Enzym, die Proteinkinase C, welches den Phosphorylierungsschritt einleitet, zu unterbrechen. Zu diesem Zweck wurde ein selektiv wirkender Proteinkinaseinhibitor, das 1-(-5-isoquinolinsulfonyl)-2-methylpiperazine (H7, Fa. Sigma-Aldrich Chemie Schnellendorf, Deutschland) eingesetzt. Es ist ein Hemmstoff, der selektiv den Schritt der Phosphorylierung, d.h. die Überleitung eines inaktiven in einen aktivierten Rezeptorzustand, blockiert.
2. Ist der durch die vorangehende Blockade einer Phosphorylierung wünschenswerter Opioideffekt Analgesie in gleichem oder nur zu einem verminderten Anteil nachweisbar ?

Und schließlich sollte der Nachweis erbracht werden

3. ob ein weiterer Diesterasehemmer, das Xanthin Theophyllin, welches bei der Auslösung allergischer Symptome im Bronchialtrakt eine therapeutische Wirkung entfaltet ebenfalls in der Lage ist, eine gleich starke Hemmung bei der Bildung konstitutiv aktiver Opioidrezeptoren auszulösen wie der Proteinkinaseinhibitor H7 ?

3.0 Material und Methodik

3.1 Die für den Versuch verwendeten Pharmaka

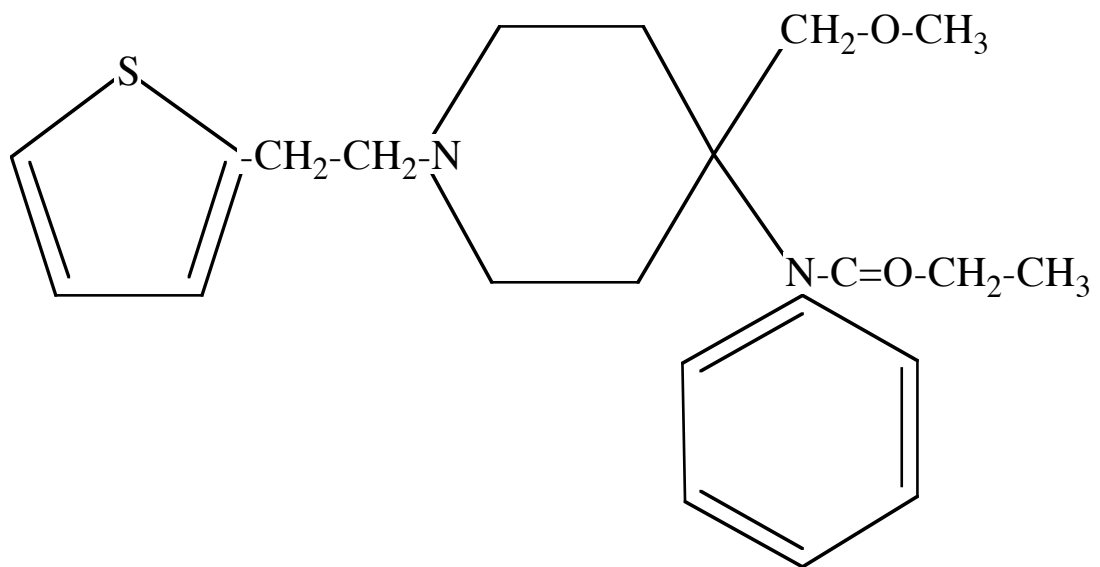
3.1.1 Das Opioid Sufentanil

Für die Aktivierung der Opioidrezeptoren wurde der wirkungsstarke Ligand Sufentanil (Fa. Janssen-Cilag, Neuss) ausgewählt. Dieser Piperdinabkömmling zeichnet sich zum einen durch eine im Vergleich zu Morphin hohe analgetische Potenz (bis zu 1000 x Morphin) und zum anderen aber auch durch eine hohe Selektivität zu dem Opioid μ -Rezeptor aus [14]. Da dieses Opioid (Abb. 1) aufgrund seiner hohen Affinität zum Opioidrezeptor auch innerhalb kürzester Zeit die Bildung konstitutiv aktiver Bindestellen garantierte, wurde Sufentanil in steigenden Dosen von 3-, 6-, und 12 $\mu\text{g/kg}$ intravenös über einen Zeitraum von 60 Minuten am wachen und trainierten Hund verabreicht.

Opioid	Therapeutische Breite LD₅₀/ED₅₀	Lipophilie; Oktanol/Wasser- Koeffizient	Wirkstärke zu Morphin=1	Nicht- ionisierte Anteile %	Affinität Ki in nmol/L
Pethidin	6	32	0,1	?	385
Morphin	71	1,4	1	23	1,8
Alfentanil	1080	129	40	89	39
Fentanyl	277	816	200-300	8,5	7,0
Sufentanil	26716	1727	800-1000	20	1,58

Tabelle 1

Vergleichende pharmakologische Eigenschaften verschiedener Opioiden untereinander. Nach[15-17]



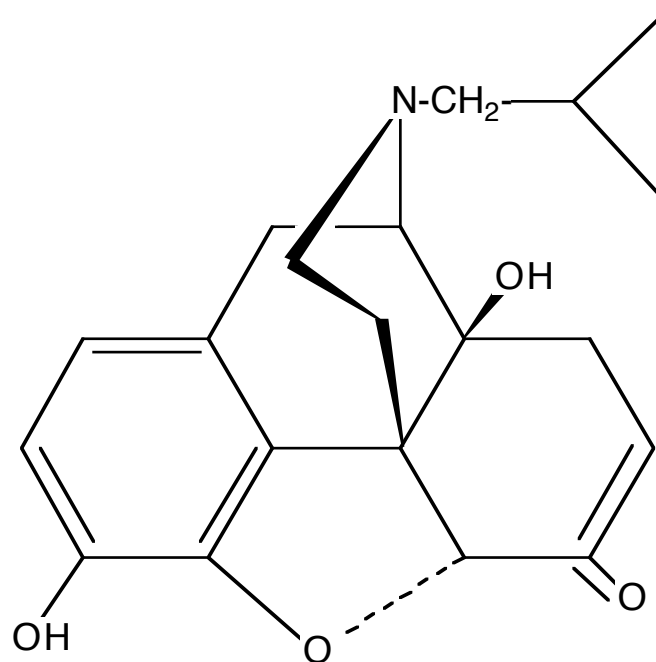
**Die chemische Struktur von Sufentanil, ein
N-{4-(methoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]-4-piperidiny]-
N-phenylpropanamide**

Abb. 1

3.1.2 Der Opioidantagonist Naltrexon

Zur Provokation einer 10 Minuten nach der Gabe des Opioidagonisten Sufentanil akuten Abstinenzsymptomatik wurde der potente Opioidantagonist Naltrexon in einer Dosis von $20 \mu\text{g/kg}$ intravenös verabreicht. Durch die intravenöse Applikation wurde garantiert, dass

ausreichend hohe Wirkstoffkonzentrationen am Ort der Wirkungsvermittlung, den Opioidrezeptoren im zentralen Nervensystem ankommen, so dass ein gesicherter Umkehreffekt zu erwarten war. Für die Provokation einer Abstinenzsymptomatik erschien der Antagonist Naltrexon (Fa. Du Pont, Frankfurt) deswegen geeignet zu sein, weil er im Gegensatz zu dem sonst gebräuchlichen Antagonisten Naloxon eine um das doppelt höhere Wirkungsstärke aufweist[18]. Des Weiteren zeigt dieser Antagonist, im Gegensatz zu Naloxon, eine deutlich geringere Metabolisierungsrate, so dass die Wirkung nicht nach 30 Minuten wieder abnimmt[19].



Die chemische Struktur von Naltrexon einem
17-cyclopropylmethyl-7-(2-hydroxybutyl)-6,14-
endoethano-tetrahydronorthebain

Abb. 2

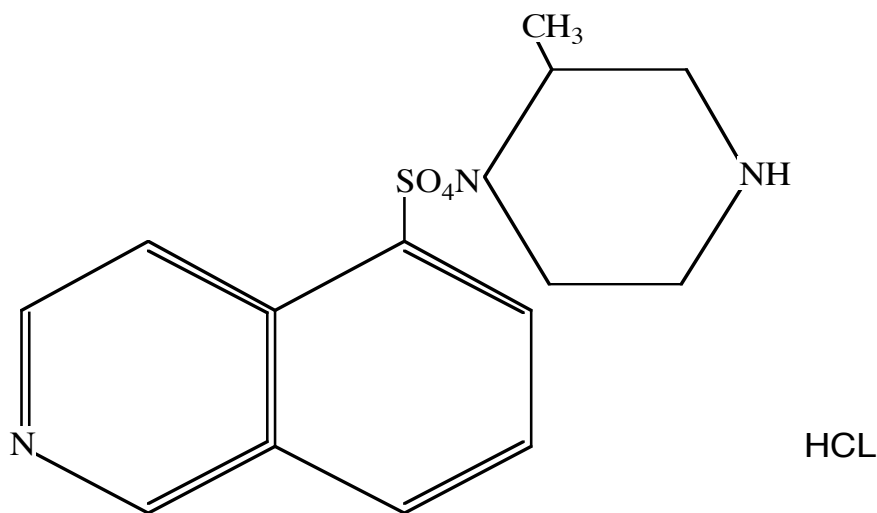
3.1.3 Der selektive Proteinkinase C Inhibitor H7

Zur Verhinderung eines für die Auslösung von Abstinenzeffekten notwendigen Phosphorilisierungsschrittes, wurde der selektiv wirkende Proteinkinase C Inhibitor H7 eingesetzt. Dieser Inhibitor ist chemisch betrachtet ein 1-(5-Isoquinolinesulfonyl)-2-methylpiperazine-hydrochlorid (Fa. Research Biomedical, Ma, USA; Abb. 2, Tabelle 1) und hat die Summenformel $C_{14}H_{17}N_3O_2S \cdot HCl$. H7 wurde in einer Dosis von 250 $\mu g/kg$ intravenös 10 Minuten vor der Gabe steigender Dosen von Sufentanil verabreicht. Der wirkungsstarke Hemmer einer zur Phosphorylierung von Rezeptoren notwendigen Proteinkinase C und der c-AMP abhängigen Proteinkinase [20, 21] musste deshalb in solch hoher Dosis verabreicht werden, weil er, im Gegensatz zu dem Opioid Sufentanil, ausgesprochen hydrophile Eigenschaften aufweist. D.h. als Salz hat es die Tendenz sich gut in Wasser aber schlecht in fettähnlichen Strukturen zu lösen. Und da die schwer zu durchdringende physiologische Barriere zum ZNS, die Blut-Hirnschranke, leicht durch lipophile und weniger gut durch hydrophile Substanzen durchdrungen werden kann, konnte nur durch eine hohe intravenöse Konzentration ein ausreichendes Konzentrationsgefälle dafür sorgen, dass auch genügend Wirkstoffmengen im Bereich der Neurone im ZNS ankommen. Die gewählten Wirkstoffmengen wurden anhand vorangehender Untersuchungen bei intrazerebroventrikulärer Applikation von H7 hochgerechnet [12], wobei im Vergleich zur intraventrikulären Gabe bei der Maus ein um den Faktor 1000 höhere Dosis zur intravenösen Wirkstoffvermittlung zum Einsatz kam. Die für die Blockade der Proteinkinase C hohe Selektivität von H7 war anhand von Affinitätskonstanten nachgewiesen worden, wobei ein naher Verwandter von H7, das H8 zusätzlich noch eine nur annähernd hohe Selektivität für die c-AMP abhängige Proteinkinase aufweist (Tabelle 2).

	HA-1004	H-7	H-8	H-9
c-GMP abhängige Proteinkinase	1,3	5,8	0,48	0,87
c-AMP abhängige Proteinkinase	2,3	3,0	1,2	1,9
Kurzkettige Myosinkinase	150	97	68	70
Proteinkinase C	40	6,0	6,0	18

Tabelle 1

Die für unterschiedliche Proteinkinasen differierende Selektivität von H7 und anderen Proteinkinasehemmern, dargestellt in ihren unterschiedlichen Verdrängungsaffinitäten (K_i). Niedrige Verdrängungswerte (μM) weisen auf eine hohe Selektivität und hohe Werte auf eine niedrige Selektivität hin. Nach [20] [22, 23]



Die chemische Struktur des wirkstarken Inhibitors der Proteinkinase C und der cAMP-abhängigen Proteinkinase, das H7 ein 1-(5-Isoquinolinesulfonyl)-2-methylpiperazin

Abb. 3

3.1.4 Das Xanthin Theophillin

Weil das in der Praxis als Broncholytikum gebräuchliche Theophillin ebenfalls über eine Hemmung der c-AMP abhängigen Phosphodiesterase die Umwandlung von Zellen in eine aktive und damit reaktionsfreudige Form verhindert (Abb. 4), erschien es als Referenzsubstanz im Rahmen der vorliegenden Fragestellung von Interesse.

Zwar ist im Gegensatz zu H7 das Xanthinderivat Theophillin nur zu einem geringeren Masse in der Lage, die Proteinkinase C in ihrer Aktivität zu blockieren. Da dieses Pharmakon jedoch in der Praxis zur Verfügung steht und sich durch einen niedrige Nebenwirkungsrate auszeichnet, erschien seine praktische Relevanz in Bezug auf eine Hemmung der durch Naltrexon ausgelösten Abstinenzsymptome von Bedeutung.

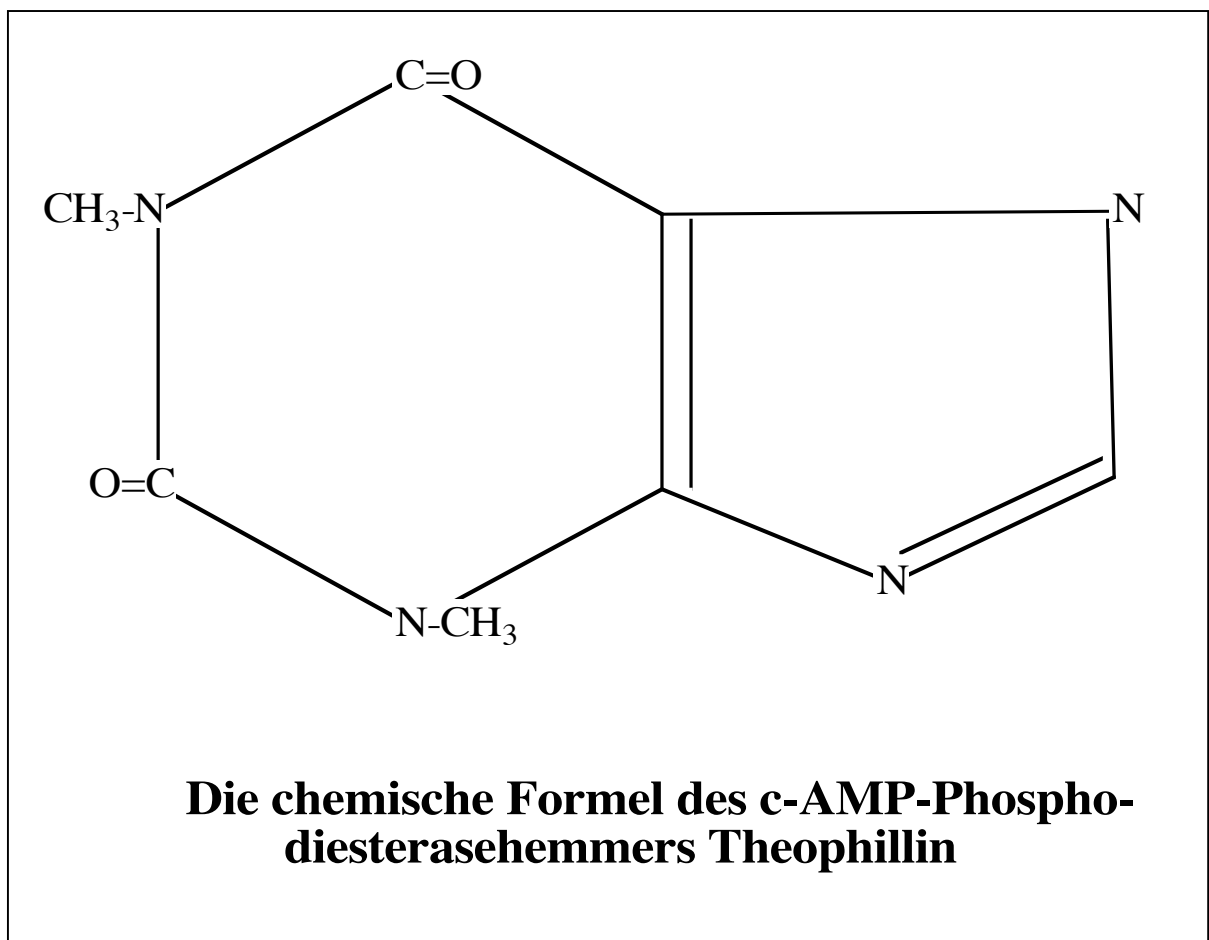


Abb. 4

In einer separaten Versuchsserie wurde deshalb vor Gabe des Opioids dieser Phosphodiesterase-Hemmer verabreicht wobei zu erwarten war, dass aufgrund der unspezifischen Phosphodiesterasehemmung, ein Anstieg der c-AMP verhindert wurde und die anschließende durch den Antagonisten provozierte Symptomatik, wenn nicht unterbrochen, so doch deutlich gedämpft werden konnte.

4.0 Versuchsablauf und Bestimmung der Messparameter

Nach vorangegangener Zustimmung durch die zuständige Ethikkommission zur Genehmigung von Versuchen an Wirbeltieren, wurden 10 Foxhoundbeagelmischlinge aus der Züchtung der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität dahingehend trainiert, ohne Zwang in linker Seitenlage liegen zu bleiben.

Die Messung des Blutdrucks erfolgte hierbei nichtinvasiv über einen am rechten Vorderlauf befestigtes oszillometrisches Messsystem mit Fuzzylogik (Fa. NAIF, Düsseldorf). Dieses System ermöglichte wiederholte Messungen von sowohl systolischen und diastolischen Blutdruck als auch der Herzfrequenz.

Die Bestimmung der analgetischen Qualität vor und nach Gabe des Opioidagonisten respektive des Opioidantagonisten Naltrexon erfolgte mit Hilfe somatosensorisch-evozierter Potentiale (SSEP). Solche ereigniskorrelierten Potentiale sind in der Lage, Veränderungen in der Verarbeitung afferenter sensorischer Impulse graphisch darzustellen, wodurch eine Quantifizierung der analgetischer Wirkungen ermöglicht wurde. Zu diesem Zweck wurde intermittierend die rechte Vorderpfote mit Hilfe eines Rechteckimpulses von 0.2ms sec Dauer und einer Intensität von 1 mA oberhalb der motorischen Schwelle stimuliert (Digi Stim II®, Fa Neuro Technology, Houston USA). Der durch den elektrische Reiz ausgelöste sensorische Impuls wurde, nachdem er über den afferente Nervenleitung kontralateral zum sensorischen Cortexanteil angelangt war, mit Hilfe von Platinsteelektroden von den Positionen Nasion (inaktive Elektrode) und einem Punkt 7 cm lateral der Sagittalebene und 2 cm dorsal einer gedachten Verbindungslinie zwischen beiden meati acutici externi am Schädel (aktive

Elektrode) abgeleitet. Die kortikale Antwort wurde anschließend zur weiteren Verarbeitung in einen Elektroenzephalographen eingespeist (Lifescan®, Neurometrics, San Diego, USA), der die spezifische Antwort auf den elektrischen Reiz aus dem normalen Hintergrundrauschen des Elektroenzephalogramms arithmetisch herausmittelte. Hierdurch konnte nach einer Aufsummierung von 256 Einzelreizen (5 Hz) das sog. ereigniskorrelierte Antwortpotential auf einem Bildschirm dargestellt werden[24]. Anschließend wurde das über einen Zeitraum von 150 ms sich darstellende Antwortpotential manuell durch Cursorplazierung ausgemessen, indem die Amplitudenhöhe indem das 50 ms nach dem Reiz sich darstellendes Potential als maßgebliche Antwort diente. Indem der Abstand zwischen der maximaler Deflektion und dem maximaler negativen Deflektion im abfallenden Schenkel der Amplitudenwelle bestimmt wurde, ließ sich eine relevante Messgröße, die Anzahl der pro Zeiteinheit am Cortex ankommenden afferenten Impulse, bestimmen. Weil sich im Rahmen der experimentellen Schmerzmessung ein Amplitudenabfall im SSEP sowohl beim Menschen [25-28] als auch beim Tier [29, 30] durch eine enge Beziehung zu einer durch Analgetika ausgelösten Schmerzhemmung ableiten lässt, wurde dieses Verfahren als ausreichend zuverlässig angesehen, die individuelle Schmerzleitung und Schmerzbewertung beim Tier zu quantifizieren.

Um jedoch eine weitere vom SSEP unabhängige Schmerzbewertung zu dokumentieren, wurde der von der Arbeitsgruppe um Gebhardt inaugurierte Colon-Dehnungsreiz bestimmt [31]. Hierbei wird ein Ballon in das Rektum installiert und langsam bis zu dem Punkt aufgeblasen, an dem der Hund den zunehmenden Dehnungsreiz als unangenehm bis schmerzhaft empfindet und dies durch objektivierbare Äußerung wie z.B. Drehen des Kopfes zum Verursacher, Jaulen, bzw. ein Wegziehen des Hinterteils äußert. Gemessen wurde hierbei der Druck in mmHg bei dem der Dehnungsreiz vom Tier als unangenehm empfunden wurde.

Zur Beurteilung der nach dem Antagonisten präzipitierten Abstinenzsymptomatik wurden mehrere Items registriert, die sich an einer von anderen Arbeitsgruppen entwickelten Skalierung anlehnten [32, 33]. Durch eine Quantifizierung der Intensitäten einzelner Abstinenzsymptome (0 = keine; 1 = schwach; 2 = mittel; 3 = stark) war es möglich, das Gesamtausmaß des

akut ausgelösten Entzugssyndroms zu erfassen. Es wurden hierbei unterschiedliche Items einer graduellen Skalierung während des Entzugs unterzogen, wobei im Einzelnen folgende Symptome berücksichtigt wurden:

1. Eine offensichtliche Unruhe, wobei das Tier wiederholt versucht aufzustehen,
2. Hecheln in unterschiedlicher Intensität und Dauer,
3. Lecken, wobei die Zunge wiederholt über Mund und Nüstern geführt wird,
4. Hin und her Werfen des Kopfes,
5. Vokalisieren in Form von Winseln, wobei in kurzen Abständen Luft aus dem Thorax gepresst wird,
6. Gähnen, charakterisiert durch wiederholtes Aufsperrn des Rachens mit tiefen Inspirationszügen,
7. Nagen, wobei das Tier mahlende Bewegungen mit dem Zähnen ausführt,
8. eine unterschiedlich starke Salivation und/oder Rhinorrhoe,
9. eine unterschiedlich starke Mydriasis,
10. unwillkürliches Treten und Stemmen mit den Läufen
11. Ansätze von Erbrechen respektive echtes Erbrechen

Hinzu kamen objektivierbare Zeichen von Seiten des Kreislaufsystems und des sensorischen Nervensystems zur Anwendung, die sich sowohl in Form eines

12. Blutdrucksanstiegs (systolisch und diastolisch), einer
13. Tachykardie, einer
14. Zunahme der Amplitude im somatosensorisch-evozierten Potential (SSEP) und schließlich und in einer
15. Zunahme der Reaktion auf den Colon-Dehnungsreiz

darstellen ließen.

Nach einer Kontrollmessung gefolgt von der Gabe des PKC-Blockers H7, wurden jeweils im Abstand von 10 Minuten steigende Dosen (3-, 6-, 12- μ g/kg) des Opioids Sufentanil intravenös verabreicht. Hieran schloss sich

im Abstand von 10 Minuten zur Provokation eines Entzugs, die Gabe des Antagonisten Naltrexon an.

Nach einer Auswaschperiode von mindestens 14 Tagen wurden die gleichen Tiere anstatt mit H7 mit dem Phosphodiesterase-Hemmer Theophillin (3,5 mg/kg) vorbehandelt. Hieran schloss sich ebenfalls die Gabe steigender Dosen des Opioids Sufentanil (3-, 6-, 12 μ g/kg), gefolgt von der Provokation der Abstinenzsymptomatik mit Hilfe von Naltrexon an.

5.0 Statistische Analyse der erhobenen Daten

Alle Daten werden im Folgenden als Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ($\pm$ SD) ausgewiesen. Beim SSEP (somatosensorisch-evozierte Potential) wurde die Welle im 50 ms-Bereich bezüglich ihrer Amplitudenhöhe ausgemessen. Nach vorangegangener Cursorplatzierung wurde vom Punkt des höchsten Maximums bis zum Punkt der stärksten negativen Deflektion im abfallenden Schenkel der Amplitudenwelle, automatisch die Amplitudendifferenz durch das EEG-Gerät in der Dimension μ V berechnet und angezeigt.

Zur Berechnung der für den Versuch notwendigen Anzahl und der damit einhergehenden Wahrscheinlichkeit, dass nach einer statistischen Analyse die gewonnenen Ergebnisse den vorgegebenen α -Wert (im vorliegenden Fall 0.05) erreichen, wurde ein a priori Power-Test durchgeführt. Er diente dazu, die notwendige Stichprobengröße, unter Berücksichtigung der Trennschärfe zwischen den verschiedenen Effekten, mit und ohne H7 zu definieren. Hierzu wurde, unter Berücksichtigung der aus Vorversuchen bekannten Standardabweichungen für Blutdruck, Herzfrequenz, SSEP und dem Colondehnungsreiz, eine zur Aussage statistischen Signifikanz mit einer Macht (Power) von mindestens 80% und einem α -Wert von 0.05, eine notwendige Versuchsanzahl von mindestens 10 errechnet [34].

Bei einer Power von 0.80 war davon auszugehen, dass die Wahrscheinlichkeit einen Fehler vom Typ II (1.00-0.80) nur 20% beträgt, während mit einem α -Wert von 0.05 ein Fehler vom Typ I (0.20/.05 = 4) vier Mal so schädlich wäre wie ein Fehler vom Typ II. Aufgrund der in Vorversuchen ermittelten Effektgrößen und einem α -Wert von 0.05, konnte bei einer

Stichprobe von 10 deshalb ein signifikantes Ergebnis mit einer Power (Macht) von 80% erwartet werden.

Im Vergleich zur Kontrollperiode, wurden alle Werte zu dem Zeitpunkt nach der letzten Opioidgabe, mit und ohne Provokation durch den Antagonisten, einer statistischen Signifikanzberechnung unterworfen. Hierzu wurde der Wilcoxon-Rangsummentest für gepaarte Daten angewendet. Da es sich um wiederholte Messzeiten bei dem gleichen Tier handelte, wurde in die Signifikanzberechnung zusätzlich die Bonferroni-Korrektur einbezogen. Bei dem gegenüberstellenden Vergleich der H7-Gruppe gegenüber der Gruppe nach Theophillin, kam der zweiseitige Student t-Test zur Anwendung. Eine Signifikanz liegt dann vor, wenn $p < 0.05$ ist.

6.0 Ergebnisse

6.1 Opioideffekte gefolgt von Entzugsprovokation durch Naltrexon

Im Vergleich zum wachen Zustand induziert das Opioid unter steigenden Dosierungen einen nur geringen, jedoch nicht signifikanten Abfall im systolischen und diastolischen Blutdruck. Dagegen induziert das Opioid in seiner höchsten Dosierung von insgesamt $21 \mu\text{g/kg}$ eine im Vergleich zum Kontrollwert signifikante Verringerung der Herzfrequenz ($p < 0.01$) und der Amplitude im somatosensorisch-evozierten Potential (SSEP). Des Weiteren lässt sich auch eine signifikante Zunahme ($p < 0.05$) der Toleranz auf den Colondehnungsdruck nachweisen (Tabelle 3).

Die daran sich anschließende Gabe des Antagonisten Naltrexon induziert einen zum Kontrollwert hochsignifikanten ($p < 0.01$) Anstieg in allen Kreislaufparametern (systolisch, diastolisch und Herzfrequenz; Tabelle 3). So steigt der systolische Blutdruck im Mittel von 137 mmHg auf 160 mmHg, der diastolische Blutdruck im Mittel von 77 mmHg auf 105 mmHg an und nimmt die Herzfrequenz im Mittel von 106/min auf 157/min zu.

Lediglich die Amplitude im somatosensorisch-evozierten Potential und die Toleranz auf einen zunehmenden Colondehnungsdruck weisen eine zum Ausgangswert nur geringe Signifikanz ($p < 0.05$) auf. Denn mit einem Ausgangswert im SSEP von im Mittel $10,5 \mu\text{V}$ steigt die Amplitude nach dem Antagonisten nur auf einen mittleren Wert von $15,5 \mu\text{V}$ an. Bei dem Colon-Dehnungsreiz wird, ausgehend von einem mittleren Kontrollwert von 138,0 mmHg, nach Naltrexon ein Mittelwert von 129,0 mmHg erreicht (Tabelle 3).

Zustand	Systolisch (mmHg)	Diastolisch (mmHg)	Herzfrequenz (Schläge/min)	SSEP (μV)	Colonreiz (mmHg)
Kontrolle	137 $\pm 17,3$	77 $\pm 10,6$	106 $\pm 18,5$	10,5 $\pm 4,5$	138 ± 26
Sufentanil 21 μg/kg	117 $\pm 17,3$	74 $\pm 13,3$	74 $\pm 6,6$	1,9 $\pm 1,0$	167 $\pm 49,8$
Naltrexon 20 μg/kg	160** $\pm 21,3$	105** $\pm 15,8$	157** $\pm 28,2$	15,5* $\pm 5,6$	129* $\pm 33,8$

Tabelle 3

Kreislauffeffekte und die Auswirkungen auf das evozierte Potential (SSEP) respektive den Colon-Dehnungsreiz nach dem Opioid Sufentanil gefolgt von der anschließenden Provokation durch den Antagonisten Naltrexon (Mittelwerte $\pm$ SD). Signifikante Zunahme (**p >0.01; *p >0.05) der Parameter im Vergleich zum Kontrollwert

6.2 Effekte auf Kreislauf, SSEP und Colon-Dehnungsreiz - Vorgabe mit H7 und anschließende Provokation

Im Vergleich zur wachen Kontrolle induziert die Vorbehandlung mit H7 keine signifikanten Veränderungen in allen gemessenen Parametern (Tabelle 4). Dies trifft auch für die anschließende Opioidgabe zu. Dagegen ist die Provokation mit Naltrexon durch eine im Vergleich zur Gabe ohne H7 deutlich geringere Zunahme in allen Parametern charakterisiert, wobei im Vergleich zum Kontrollwert die Wertzunahme für die Parameter systolischer Blutdruck und Herzfrequenz eine nur geringe Signifikanz ($p < 0.05$) aufweisen (Tabelle 4).

Zustand	Systolisch (mmHg)	Diastolisch (mmHg)	Herzfrequenz (Schläge/min)	SSEP (μV)	Colonreiz (mmHg)
Vorbe- handlg H7	133 $\pm 25,8$	73 $\pm 7,3$	104 $\pm 15,7$	12,7 $\pm 2,7$	129 $\pm 33,8$
Sufentanil 20 μ g/kg	139 $\pm 24,9$	73 $\pm 6,8$	90 $\pm 18,9$	7,3 $\pm 3,2$	167 $\pm 22,5$
Naltrexon 20 μ g/kg	149* $\pm 18,8$	84 $\pm 15,5$	125* $\pm 22,0$	10,5 $\pm 2,7$	125,0 $\pm 22,0$

Tabelle 4

Vorbehandlung mit H7 und die Auswirkungen auf den Kreislauf, das evozierte Potential (SSEP) und den Colondehnungsreiz. Durch die anschließende Gabe von Sufentanil und dem anschließenden Opioidantagonisten Naltrexon weist nur der systolische Blutdruck und die Herzfrequenz eine zur Vorbehandlung signifikante (* $p < 0.05$) Zunahme auf (Mittelwert $\pm$ SD).

Eine graphische Gegenüberstellung der Wirkungen mit und ohne H7 Vorbehandlung verdeutlicht die Abb. 5, wobei insbesondere der geringere Anstieg im diastolische Blutdruck und die geringere Zunahme der Herzfrequenz ins Auge fallen.

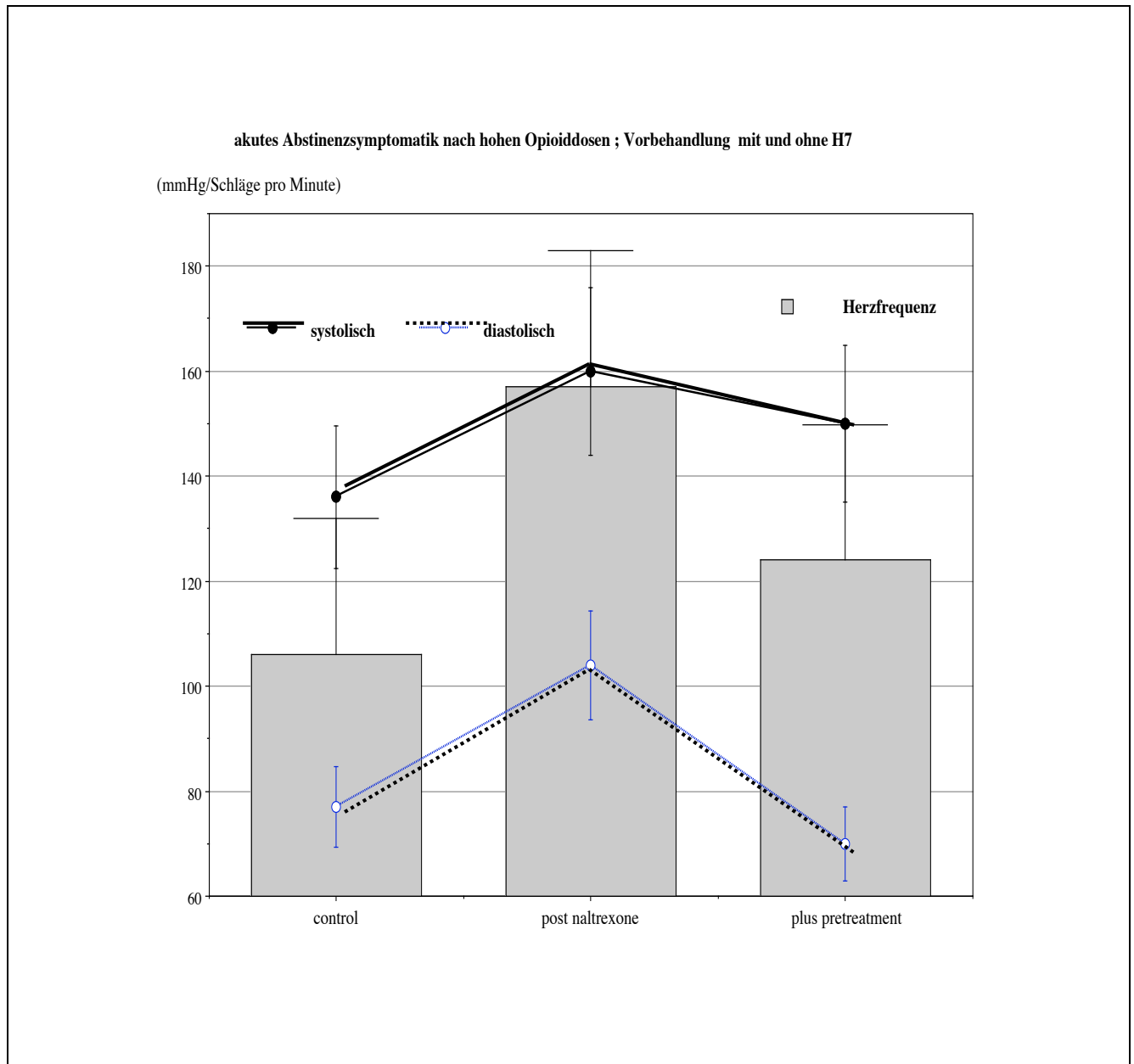


Abb. 5

Gegenüberstellung von systolischem, diastolischem Blutdruck und Herzfrequenz nach Provokation mit Naltrexon mit und ohne H7 Vorbehandlung (Mittelwert $\pm$ SD).

6.3 Abstinenzskalierung mit und ohne Vorbehandlung mit H7 sowie anschließender Provokation mit Naltrexon

Die Intensität der im Rahmen einer akuten Umkehr von Opioideffekten ausgelösten Symptome wie Unruhe, Kopfwerfen, Gähnen, Nagen, Salivation, Rhinorrhoe, Winseln, Wimmern und Treten waren im Vergleich zum Zeitraum ohne Vorbehandlung hochsignifikant ($p < 0.001$) geringer vorhanden (Abb. 6).

Die Skalierung für die Items Hecheln und Lecken war, ähnlich wie die geringere Zunahme im Blutdruck und in der Herzfrequenz, aufgrund der Vorbehandlung mit H7 ebenfalls signifikant ($p < 0.01$) niedriger (Abb. 6).

Auch wird unter Berücksichtigung aller Abstinenzsymptome die im Vergleich ohne Vorbehandlung geringere Gesamtintensität der Abstinenzsymptome offensichtlich ein Effekt, der auf eine deutliche Hemmung der Proteinkinase C mit Hilfe des Inhibitors H7 hinweist (Abb. 7).

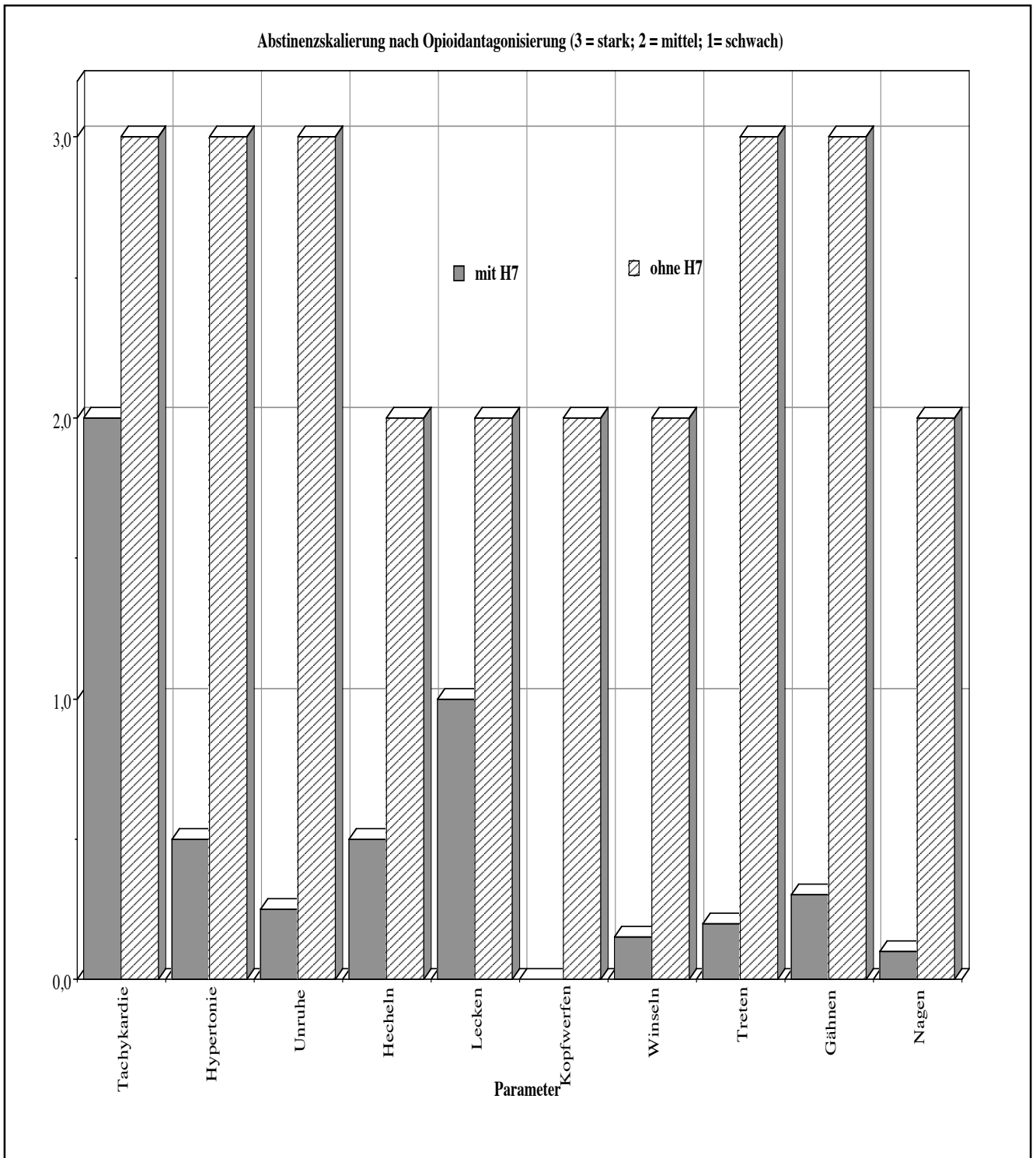


Abb. 6

Quantifizierung verschiedener, akut auftretender Abstinenzsymptome nach Naltrexongabe (0 = keine; 1 = schwach; 2 = mittel; 3 = stark) mit und ohne Vorbehandlung mit dem Proteinkinase C Inhibitor H7

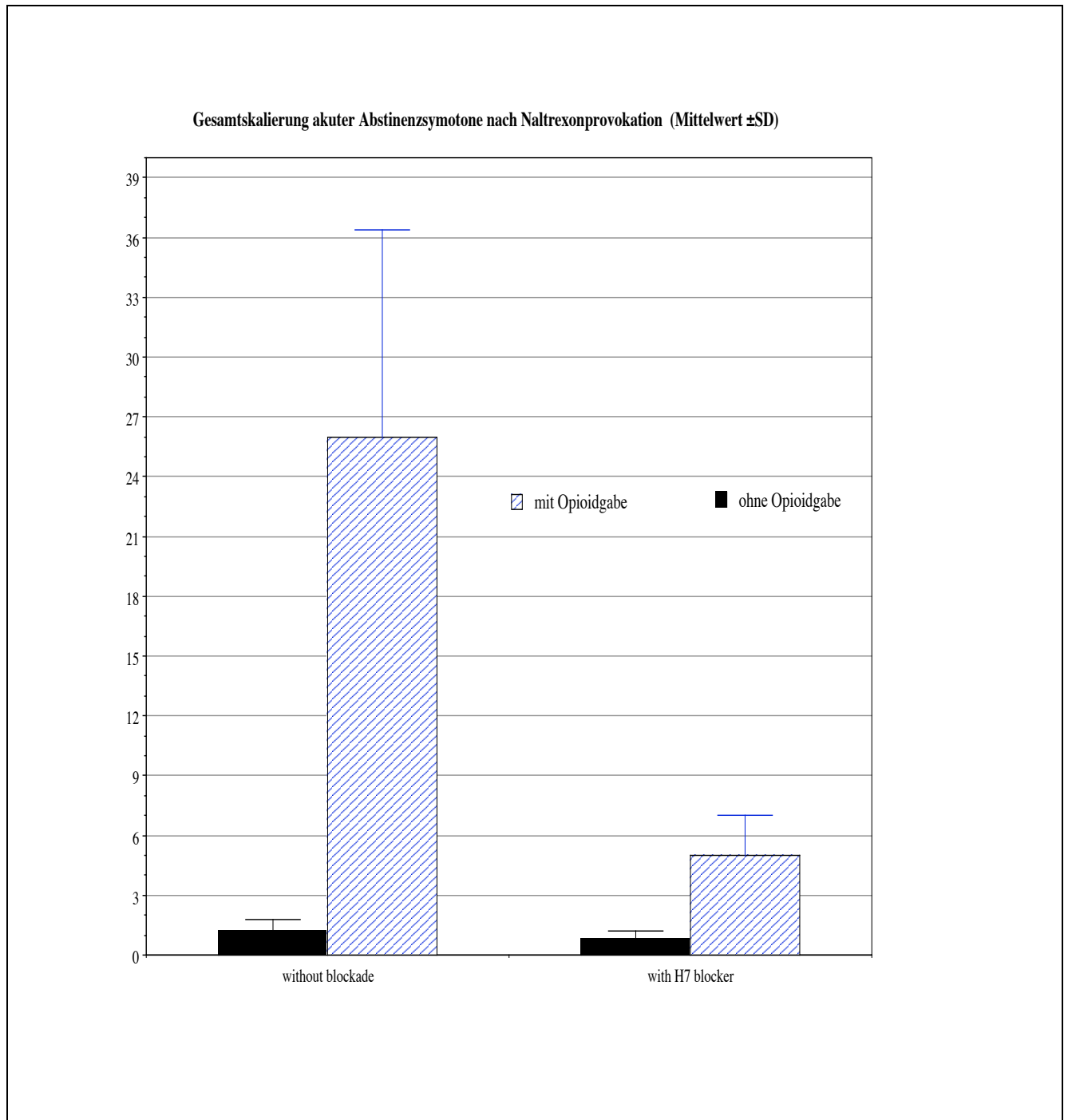


Abb. 7

Gesamtskalierung aller präzipitierter Abstinenzsymptome bei opioidtherapierten Hunden ausgelöst durch den Opioidantagonisten Naltrexon (Mittelwert $\pm$ SD)

6.4 Theophillin zur Blockade präzipitierter Abstinenzsymptome beim opioidvorbehandelten Tier

Das Xanthinderivat Theophillin verursacht, ähnlich wie H7, eine im Vergleich zur alleinigen Provokation geringere Intensität innerhalb der verschiedenen Abstinenzsymptome (Tabelle 4). Jedoch ist die Intensität der Hemmung mit Theophillin nicht so ausgeprägt wie nach der Vorbehandlung mit H7. Dennoch ist auch hier eine Wirkung auf das Ausmaß der Abstinenzsymptomatik bezogen sowohl auf den systolischen, den diastolischen Blutdruck, und der Herzfrequenz, als auch in der Amplitude im sensorisch-evozierten Potential und im Colondehnungsreiz nachweisbar.

Zustand	Systolisch (mmHg)	Diastolisch (mmHg)	Herzfrequenz (Schläge/min)	SSEP (μV)	Colonreiz (mmHg)
Vorbehandlung mit Theophillin	142 $\pm 14,9$	70 $\pm 6,1$	128 $\pm 19,0$	12,8 $\pm 3,9$	130 $\pm 23,0$
Sufentanil 21 μ g/kg	149 $\pm 22,1$	71 $\pm 2,9$	101 $\pm 15,9$	10,9 $\pm 3,0$	203 $\pm 30,2$
Provokation mit Naltrexon 20 μ g/kg	139 $\pm 20,1$	91* $\pm 22,2$	138* $\pm 17,4$	13,4 $\pm 3,0$	115* $\pm 20,9$

Tabelle 4

Vorbehandlung mit Theophillin und die Auswirkungen auf den Kreislauf, das evozierte Potential (SSEP) und den Colondehnungsreiz (Mittelwert $\pm$ SD). Durch die anschließende Gabe von Naltrexon kommt es im Vergleich zur Vorbehandlung nur bei einigen Parametern signifikanten Zunahme (*p < 0,05)

Hierbei wird augenfällig, dass eine zur Vorbehandlung relevante Zunahme nur des diastolischen Blutdruck, der Herzfrequenz und dem Colondehnungsreiz nachzuweisen sind.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Beurteilung der anderen subjektiv erhobenen Items zur Beurteilung der Abstinenzsymptomatik. Hier lässt sich zwar eine deutliche Zunahme in den Intensitäten erkennen. Jedoch ist, aufgrund der Vorbehandlung mit Theophillin, die Intensität im Vergleich zur Gruppe ohne Vorbehandlung signifikant geringer ausgeprägt. Dies wird besonders durch die Ergebnisse im sensorisch-evozierten Potential in Abb. 8 verdeutlicht, wo im Vergleich zum wachen Ausgangswert, die Amplitudenhöhe nach Provokation mit Naltrexon, eine zur Vorbehandlung ohne Theophillin signifikant geringere ($p < 0.01$) Zunahme aufweist. Dennoch ist dieser Hemmeffekt weniger stark ausgeprägt als nach der Vorbehandlung mit H7, was auf die eher unspezifische Wirkungsstärke des zu Unterdrückung von Abstinenzsymptomen verwendeten Xanthinderivates zurückzuführen ist. Ein Hemmeffekt ist jedoch im Vergleich zu den Daten ohne Vorbehandlung nachweisbar (Abb. 8)..

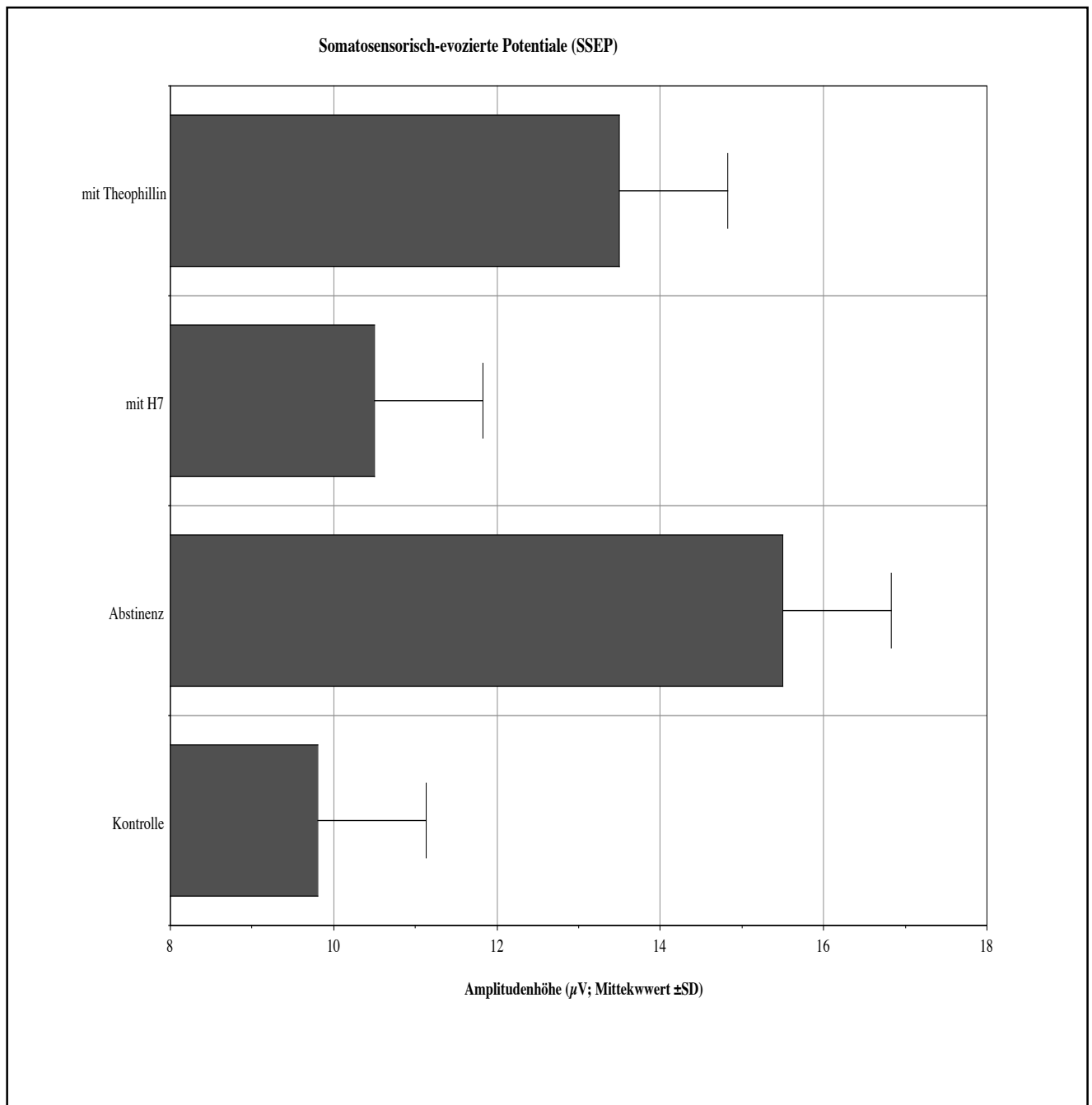


Abb. 8

Präzipitierte Abstinenzsymptome bei opioidtherapierten Hunden ausgelöst durch den Opioidantagonisten Naltrexon, wie sie sich in der Amplitudenhöhe des evozierten Potentials darstellen. Verringerung der Abstinenzintensität durch die Vorbehandlung mit H7 respektive Theophillin (Mittelwert $\pm$ SD)

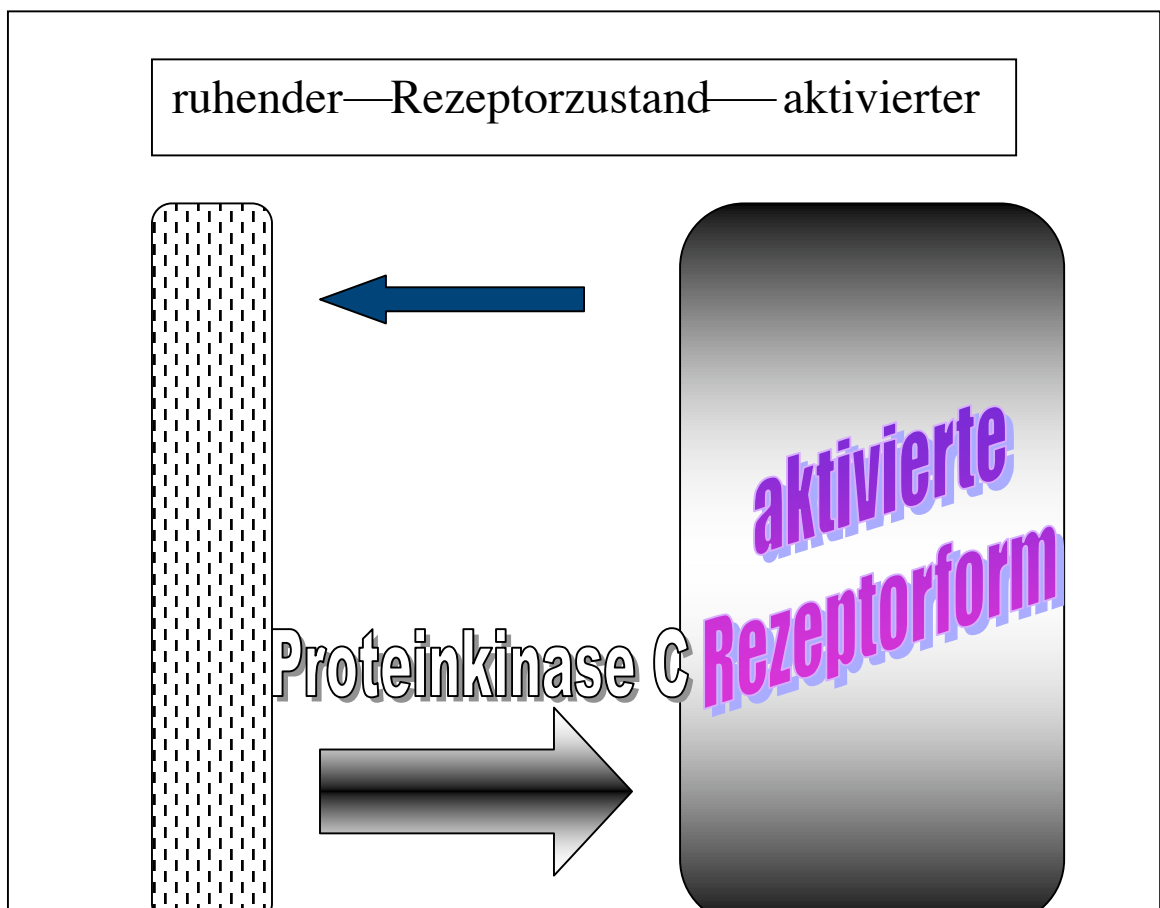
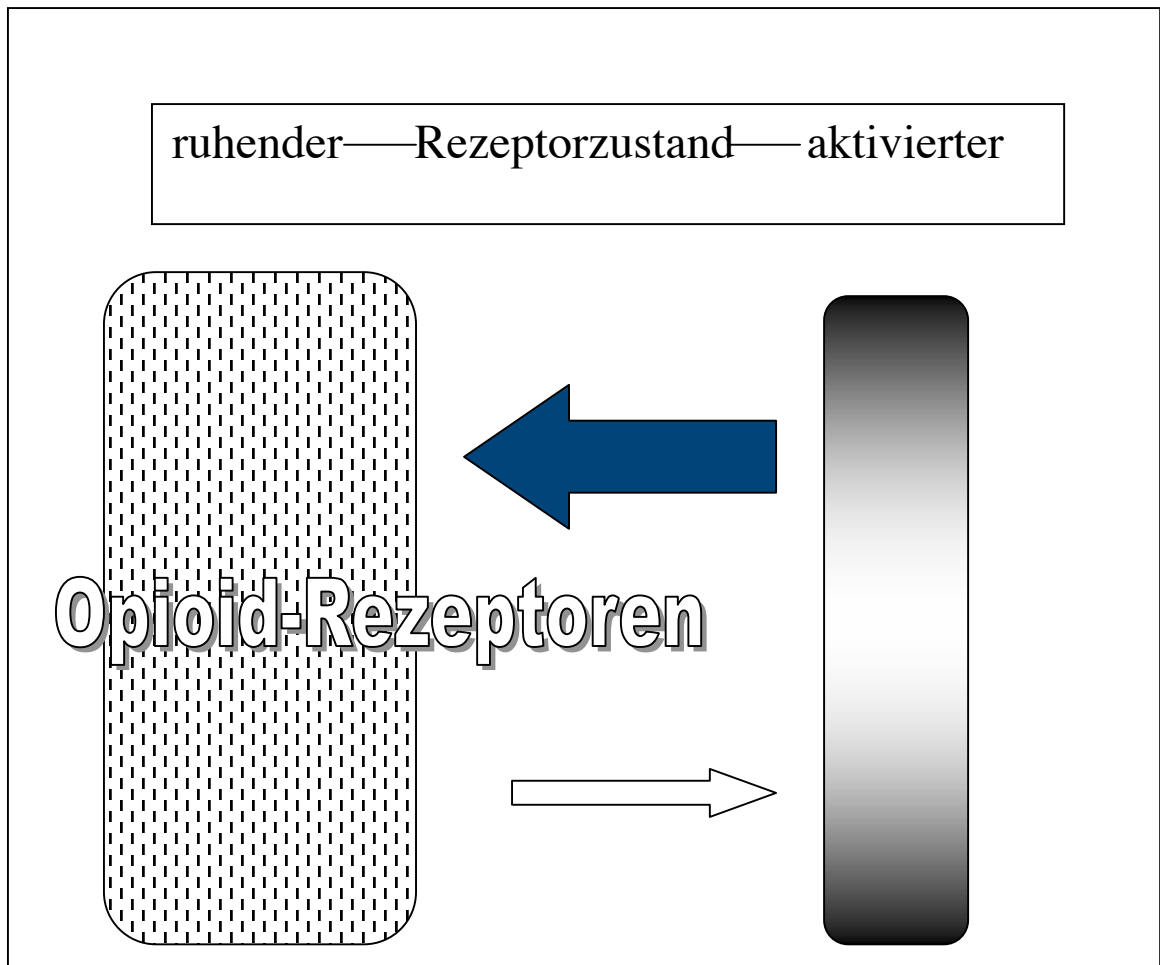
7.0 Diskussion der Ergebnisse

7.1 Intrazelluläre Phosphorylierung - Voraussetzung für die Auslösung von Opioidwirkungen

Die vorliegenden Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine der wichtigsten Voraussetzungen für die Präzipitation eines akuten Abstinenzsyndroms, die Umwandlung ruhender Rezeptoren in eine konstitutiv aktive Form ist. Diese aktive Form steht dann für die eigentliche Bindung mit einem weiteren Liganden nicht mehr zur Verfügung. Dies wird auch durch Ergebnisse aus der Praxis gestützt, indem nachgewiesen werden konnte, dass unter einer chronischen Opioidapplikation mit der Zeit die Reaktion auf das Opioid immer geringer wird und die Dosis bis zum Erreichen eines wünschenswerten Effektes stetig gesteigert werden muss [35]. Dass es sich hierbei um eine, wie anfänglich im hypothetischen Modell dargestellte aktivierte Rezeptorform für Opiode handelt (Abb. 9), wird nicht nur durch die vorliegenden Ergebnisse sondern auch durch die Daten anderer Untersuchungen gestützt. Denn nicht die alleinige Antagonistengabe, sondern nur die vorangegangene Umwandlung des ruhenden Rezeptors in seine konstitutiv aktive Form führt, bei Gabe eines Antagonisten, zur Auslösung von Abstinenzsymptomen.

Im Folgenden ist dies in Abb. 9 abgebildet, dass das Modell des ruhenden Rezeptors und die durch Gabe eines Opioids ausgelöste Überführung in seine konstitutiv aktivierte Form, darstellt. Hier wirkt der Gegenspieler des Opioids, der Antagonist Naltrexon als inverser Antagonist, der erst am konstitutiv aktivierten Rezeptor seine volle Wirkung entfalten kann und Abstinenzsymptome auslöst.

Schematische Darstellung (Abb. 9) des Rezeptormodells wobei die über die Proteinkinase C (PKC) konstitutiv aktivierten Rezeptoranteile zugezogen haben und an dem der Opioidantagonist Naltrexon als inverser Agonist seine eigentliche Wirkung entfaltet.



Die in der vorliegenden Untersuchung dargestellte Hemmung akut ausgelöster Abstinenzsymptome wird jedoch auch durch Daten anderer Arbeitsgruppen gestützt. Denn dort war H7 in der Lage, ein nach vorangegangener Proteinkinase C-Hemmung bei der Ratte präzipitiertes Entzugsspringen zu blockieren. Dieses Entzugsspringen konnte jedoch nicht in gleichem Maße durch einen nahen Verwandten von H7, dem H8 vermindert werden [36], was letztlich auf die hohe Spezifität des Proteinkinase C Blockers H7 hinweist.

Jedoch konnte in diesen Untersuchungen eine in heißem Wasser mit Hilfe des Schwanzrückziehreflexes gemessene morphinbedingte Analgesie durch die vorangegangene intrazerebroventrikulärer Injektion von H7 beobachtet werden [37, 38]. Auch in den vorliegenden Ergebnissen ließ sich eine Verringerung der Analgesie dann ableiten, wenn die intravenöse Vorgabe von H7 erfolgte. Hieraus kann abgeleitet werden, dass selbst ein wirkungsstarkes Opioid wie das Sufentanil dann nicht mehr in der Lage ist, einen analgetischen Effekt (gemessen mit Hilfe der im SSEP abgeleiteten Amplitudenreduktion und des Colondehnungsreizes) in dem gleichen Maße zu induzieren wie ohne Vorbehandlung. Somit scheint für die Auslösung einer nach Bindung des Opioids am Rezeptor ausgelöste Analgesie erst dann aufzutreten, wenn der hierfür notwendige Phosphorylierungsschritt durchgeführt worden ist. Dieser scheinbar notwendige intermediäre Schritt, auf den die Proteinkinase C einen maßgeblichen Einfluss hat, stellt auch bei der Ausbildung einer Toleranzentwicklung auf Opioide einen entscheidenden Faktor dar. Denn es konnte von anderen Untersuchern gezeigt werden, dass in Abhängigkeit der Aktivierung der Proteinkinase C, sowohl die Geschwindigkeit als auch das Ausmaß einer verminderten Ansprechrate des Opioidrezeptors auf einen Liganden signifikant zunimmt [39].

Die vorliegenden Ergebnisse können dahingehend interpretiert werden, dass die Aktivität der Proteinkinase C ebenfalls ein wichtiger Schritt bei der Ausbildung einer Abstinenzsymptomatik darstellt und dass durch die Vorgabe des spezifischen Proteinkinase C Inhibitors H7, eine Abstinenzsymptomatik signifikant verringert werden kann. Letztlich wird diese Hypothese auch durch Daten anderer Forschungsgruppen unterstrichen, die unter chronischer Opioidgabe Zunahme in der Aktivität der Proteinkinase C beobachteten, ein Effekt der durch die Vorgabe eines gemischt wirkenden Agonisten/Antagonisten wie dem Butorphanol verhindert werden

konnte [5]. Letztlich lassen solche Daten vermuten, dass für die Aktivierung der Proteinkinase C nur ein reiner Agonist und kein gemischt wirkender Agonist/Antagonist von Bedeutung ist, der über seinen antagonistischen Anteil, die Ausbildung konstitutiv aktiver Rezeptoren verhindert.

7.2 Wirkung des Xanthinabkömmlings Theophillin auf Abstinenzsymptome

Die in diesem Zusammenhang abgeleiteten Daten mit dem Xanthinabkömmling Theophillin weisen darauf hin, dass ähnlich wie unter Hemmung mit H7, die zur Bildung von c-AMP notwendige Phosphodiesterase ebenfalls gehemmt wird. Dieser Effekt ist jedoch in einem deutlich verminderten Ausmaß nachzuweisen, wobei ursächlich die geringere Selektivität des Xanthinabkömmlings Theophillin zur Blockade der Phosphodiesterase zu suchen ist. Aus diesen Daten kann jedoch auch abgeleitet werden, dass bei Bindung eines Opioids mit dem Rezeptor neben einer Aktivitätssteigerung der Phosphodiesterase auch das aus Adenosintriphosphat (ATP) gebildete zyklische Aminomonophosphat (c-AMP), wie von mehreren Arbeitsgruppen an klonierten Opioidrezeptoren und am Ganztier nachgewiesen werden konnte [40] [41, 42], zunimmt. Andererseits ist jedoch auch zu diskutieren, dass Theophillin seine Wirkung intermediär direkt bei der Bildung von zyklischem Aminomonophosphat (c-AMP) über eine Hemmung des Adenosinrezeptors entfaltet, wobei als Folge die Adenylcyclaseaktivität (AC) deutlich abnimmt (Abb. 10). Diese von Theophillin induzierte direkte Blockade des Adenosinrezeptors, ist im vorliegenden Kontext insofern naheliegend, weil gleichzeitig der Nachweis erbracht werden konnte, dass Opioide u.a. ihre Wirkung auch über eine Aktivierung des Adenosinrezeptors vermitteln [43].

Nimmt man die vorliegenden Ergebnisse und die der anderen Untersucher zusammen, so kann daraus gefolgert werden, dass die nach Gabe eines wirkungsstarken Opioids wie dem Sufentanil ausgelöste physiologische Aktivierung der Proteinkinase C und eine Hemmung der Adenylcyclase die entscheidenden intrazellulären Schritte darstellen, damit es zur

Ausbildung einer für den Antagonisten Naltrexon reaktionsfreudigen Rezeptorkonformation kommt.

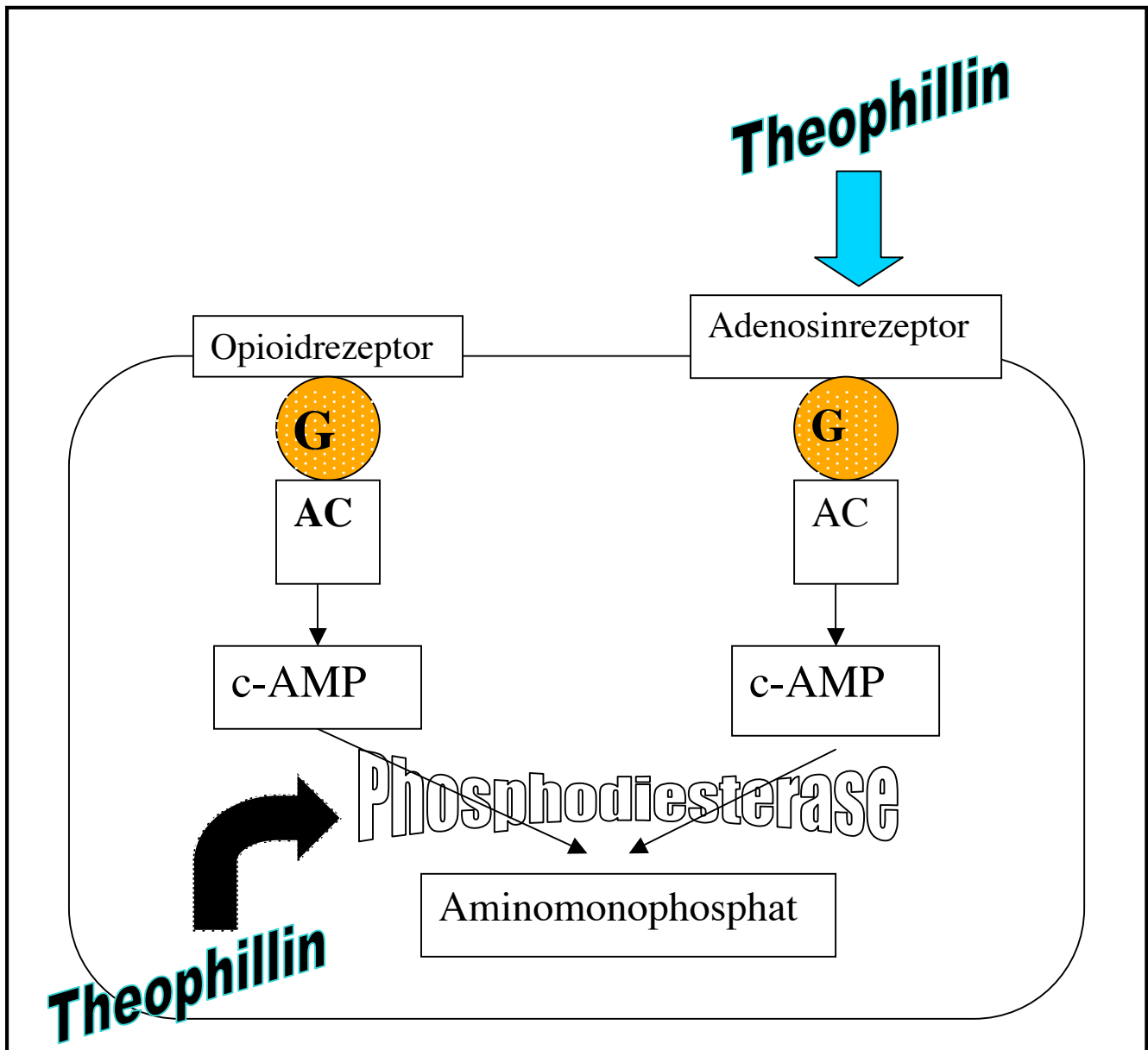


Abb. 10

Die postulierten Wirkungsmechanismen von Theophyllin, die zum einen in einer Hemmung der Phosphodiesterase (PDE) und zum anderen in einer direkten Blockade des Adenosinrezeptors münden (AC = Adenylcyclase; G = G-Protein, sekundärer Mittler nach Rezeptorbindung; c-AMP = zyklisches Aminomonophosphat). Nach [43]

Letztlich wird die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse aber auch dadurch unterstrichen, dass die nach Gabe eines Antagonisten akut auszulösende Abstinenzsymptomatik mit einer überschießenden Bildung von c-AMP einhergeht, eine Zunahme die, wie Studien an isolierten Zellkulturen zeigen konnten, nur durch die vorangehende Gabe von H7 verhindert werden konnte [12, 40]. Deshalb wird die verminderte Bildung konstitutiv aktivierter Bindungsstellen durch Hemmung einer nach Opioidgabe induzierten Aktivitätssteigerung von Kinasen und Phosphatasen durch den daraus resultierenden Wirkungsverlust des Antagonisten unterstrichen.

Die Beantwortung der Frage, wann sich die einmal aktivierte konstitutive Form des Opioidrezeptors wieder in die inaktive Form zurückbildet, kann mit den vorliegenden Daten nicht beantwortet werden. Immerhin kann festgehalten werden, dass ein solcher Rückbildungseffekt erst dann einsetzt, wenn das Opioid weggelassen wird, und dieser Prozess nur langsam vonstatten geht. Denn aus der Praxis ist bekannt, dass noch mehrere Tage nach einer Opioidentwöhnung das Individuum sehr stark mit Abstinenzsymptomen auf die Provokation mit einem Antagonisten reagiert, und dass sich ein solcher Effekt erst im Laufe von Wochen verliert [13, 44]. Letztlich werden solche Daten aus der Praxis auch durch tierexperimentelle Ergebnisse gestützt, die darauf hinweisen, dass das Maximum einer provozierten akuten Abstinenzsymptomatik vier Stunden nach Morphingabe ausgelöst werden kann, während erst in der 12. Stunde die Provokation mit Naloxon keine Wirkungen mehr zeigte [38].

7.3 Relevanz der Ergebnisse für die Praxis

Praktisch lässt sich aus den vorliegenden Daten ableiten, dass eine unter Opioidgabe konstitutiv aktive Rezeptorbildung durch einen Antagonisten zur spezifischen Auslösung von Abstinenzsymptomen führt. Hieraus ist abzuleiten, dass die nach einem Entzug propagierte Dauergabe von Naltrexon nicht unbedingt zu empfehlen ist. Denn wie aus den vorangehenden Daten abgeleitet werden kann, scheint ein Opioid, insbesondere dann wenn es über einen längeren Zeitraum eingenommen wurde oder wenn es sich nur um die kurzfristige Einnahme eines sehr wirkungsstarken Liganden handelt, den ruhenden Rezeptorzustand rasch in eine konstitutiv aktivierte Form zu überführen. An dieser aktivierten Form hat der Antagonist dann die Funktionen eines „inversen Agonisten“, d.h. eines Liganden, der keine verdrängende Funktion inne hat, sondern an dem Rezeptor völlig gegensätzliche Wirkungen wie das Opioid auslöst. Und schließlich wird der Antagonist nur mit dem aktivierten Rezeptorzustand reagieren, wobei eine Rückentwicklung in die ehemals ruhende Form, wie auch an isolierten Zellkulturen demonstriert werden konnte, nur sehr langsam von statten geht [12]. Es sollte deshalb im Rahmen der Langzeithherapie eines ehemaligen Opioidabhängigen statt eines Antagonisten wie dem Naltrexon, schon vor dem Beginn eines Entzugs, die Therapie mit einem Proteinkinase C Inhibitor eingeleitet werden. Denn dieser Inhibitor verhindert jede weitere Aktivierung von Rezeptoren ein Effekt der, wie auch die vorliegenden Ergebnisse bestätigen konnten, sich letztlich in einer Verringerung der Abstinenzsymptomatik niederschlägt. Zwar ist die Therapie mit Naltrexon zur Rückfallprophylaxe nach einem kontrollierten Entzug, zum gegenwärtigen Zeitpunkt ein mittlerweile immer noch etabliertes Verfahren[45-47]. Weil jedoch bei solch einem Vorgehen die Patienten bis über mehrere Monate hinweg über Schlaflosigkeit, Phasen von Depressionen und intermittierenden Schmerzen klagen, ist naturgemäß Gefahr eines Rückfalls schon vorprogrammiert. Zwar lässt sich solch ein Rückfall durch die langfristige Antagonistengabe mit dem über 24 Stunden lang wirkenden und oral eingenommenen Antagonisten Naltrexon blockieren. Denn die Opioidbindestellen bleiben langfristig besetzt und es können keine Agonisten mehr binden, die eine Wirkung wie z.B. die wünschenswerte Eupho-

rie vermitteln. Lässt jedoch der Ehemalige nur für einen Tag die Naltrexoneinnahme weg, so kann das Heroin wieder ungehindert am Rezeptor binden und der Rückfall ist perfekt.

Es wäre deshalb zu prüfen, ob aufgrund der vorliegenden Datenlage es nicht von praktischer Bedeutung ist, ein Xanthinderivat wie das Theophyllin im Rahmen eines Entzugs mit einzusetzen, damit sich der hochreagible Rezeptorzustand wieder rascher normalisiert und gleichzeitig die Intensität der Entzugssymptomatik reduziert werden kann.

8.0 Methodenkritik

Das zur Beurteilung der analgetischen Wirkungsstärke von Sufentanil und seiner Umkehr durch Naltrexon verwendete somatosensorisch-evozierte Potential (SSEP) stellt eine anerkannte Methode dar, um die antinozizeptive Wirkungsstärke von Analgetika beim Tier zu überprüfen [25, 48, 49]. Andere Forschungsgruppen propagieren u.a. insbesondere beim Hund, auch das Elektroenzephalogramm (EEG) als eine der Methoden, die analgetische Wirkungsstärke von Substanzen zu bestimmen. Bei dem letztgenannten Verfahren werden unter elektrischer Reizung des N. tibialis die hierdurch induzierten elektroenzephalographischen Veränderungen in Form einer arousal- oder Weckreaktion abgeleitet, was sich in einer Akzentuierung in den schnellen Beta-Frequenzen (13-30 Hz) niederschlägt [50]. Durch den nozizeptiven Reiz ausgelöst, kann hiermit das Ausmaß der Desynchronisierung, d.h. die Zunahme in den schnellen Frequenzen abgeleitet werden, woraus sich die unterschiedliche Wirkungsqualitäten von Analgetika am Tier bestimmt lassen, ohne dass hierbei dem Hund unnötigerweise starke Schmerzen zuzufügen.

Unter dem gleichen Gesichtspunkt, dem Tier nicht unnötigerweise Schmerzen zuzufügen, dabei jedoch gleichzeitig eine klinisch relevante Aussage zur Analgesie machen zu können, wurden im vorliegenden Fall anstatt Stechelektroden nur mit einem Leitgel bestrichene Klebeelektroden eingesetzt und zur Stimulation des N. medianus in der Nähe des rechten Metatarsus plziert. Hierbei wurde im Abstand zwischen Anode und

Kathode von 2 cm, einer standardisierten Reizstärke von jeweils 1 mA oberhalb der motorischen Schwelle verwendet, die auch während des Versuches immer beibehalten wurde. Hierdurch wurde garantiert, dass gleiche Reizstärken eingesetzt wurden und ein zum Ausgangswert mögliche Veränderung objektiviert werden konnte. Indem das auf den Reiz induzierte Antwortpotential in der sensorischen Kortexhälfte abgeleitet wurde, konnte die gesamte durch das Opioid im Bereich des sensorischen Nervenleitung ausgelöste Wirkung auf den peripheren Nerven, den Hirnstamm, den tiefen subkortikalen Zentren bis hin zum somatosensiblen Kortex objektiviert werden.

Auch im vorliegenden Fall wurden die für tierexperimentelle Untersuchungen von Analgetika 5 notwendigen Kriterien zur Testung voll erfüllt werden[51]:

1. Die Validität des Tests, d.h., der Test weist einen Bezug zur Klinik auf. Dies ist durch die Anwendung von SSEPs in der Klinik im Rahmen der Schmerzforschung gegeben [52] [53].
2. Die Verlässlichkeit des Tests, indem seine Reproduzierbarkeit auch während des gesamten Untersuchungszeitlaufs zu fordern ist. Diese Forderung konnte anlässlich mehrerer Studien mit evozierten Potentialen eindeutig beantwortet werden [48] [49] [54].
3. Die einfache Anwendung des Testverfahrens, das als ein standardisierter nozizeptiver Reiz eingesetzt werden kann.
4. Die Sensitivität des Tests; sie muss ausreichend hoch sein, dass auch unterschiedlich wirkstarke und selbst schwache Analgetika im Rahmen der Diskriminierung eine Wirkung auslösen.
5. Die Quantifizierung der Wirkung, indem mit den Daten eine Datenanalyse ermöglicht wird.

Da im vorliegenden Fall mit dem SSEP alle Kriterien erfüllt werden konnten, kann dieses Verfahren, ebenso wie der Colondehnungsreiz, zur Beantwortung der gestellten Fragen als ausreichend valide angesehen werden.

Obgleich im Rahmen der Messung der sensorisch-evozierten Potentiale die elektrische Reizung des N. medianus voraussetzt, so werden doch neben sensorischen auch motorische Fasern gereizt. Es kann deshalb eingewendet werden, dass eine Differenzierung zwischen den die Nozizeption leitenden

A δ - und C-Fasern und der motorischen Nervenleitung nicht möglich ist. Weil jedoch im vorliegenden Fall die im Rahmen der sensorischen Nervenleitung induzierte Antwort an dem korrespondierenden sensorischen Kortexareal abgeleitet wurde und hierbei auch die Verarbeitung des nozizeptiven Antwortpotentials durch höhere schmerzverarbeitende Zentren, wie Untersuchungen am Tier [55] Menschen [56] darlegen konnten, beeinflusst werden, kann von einer spezifischen Messung der Nozizeption ausgegangen werden.

Bei dem Colondehnungsreiz handelt es sich um ein Reflexverhalten, indem die durch die Reizung ausgelösten Empfindungen, ein protektives Verhalten beim Tier induzieren. Hierbei handelt es sich um eine von der peripheren sensorischen Empfindung ausgehende unterschiedliche Nozizeption. Denn hierbei werden die tieferen unspezifischen Nervenimpulse über C-Fasern aktiviert, die speziell die schlecht lokalisierbaren und dumpfen Empfindungen vermitteln. Die Beurteilung dieses Reizes erschien in der vorliegenden Fragestellung deshalb von Bedeutung, weil er nicht nur beim Menschen zur Quantifizierung der Wirkung von Analgetika herangezogen wird [31], sondern auch beim Tier Daten über seine Spezifität vorliegen [57]. Und außerdem kann neben einer Quantifizierung der Colondehnungsreiz auch wiederholt verabreicht werden, so dass ein Vergleich der erhobenen Ergebnisse mit der Kontrollperiode ermöglicht wurde.

Eine weitere wichtige Frage betrifft die Spezifität der in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Substanzen. Während dem Opioid Sufentanil und der spezifische Antagonist Naltrexon, aufgrund vorangehender Untersuchungen, eindeutig als hoch spezifische Liganden in der Verarbeitung nozizeptiver Impulse beschrieben identifiziert werden [14, 58] [59, 60], kann dem selektiven Proteinkinase C Inhibitor H7 ebenfalls eine hohe Spezifität zugeschrieben werden [20] [22, 23].

Anders liegen die Verhältnisse bei dem Phosphodiesterase-Hemmer Theophillin, der sowohl die c-AMP Produktion und damit die Mediatorfreisetzung aus Mast- und anderen Entzündungszellen hemmt. Solche Mechanismen werden im Rahmen einer Broncholyse genutzt. Des Weiteren weist Theophillin aber zusätzlich auch einen Adenosin-Antagonismus auf, der sich letztlich aus der strukturellen Ähnlichkeit des Methyl-

xanthins mit dem Adenosinmolekül erklären läßt. Deswegen kann Theophillin auch als Adenosinrezeptorantagonist eingestuft werden kann[43]. Trotz seiner unspezifischen Wirkung erschien die Verwendung von Theophillin deswegen indiziert zu sein, weil sich hieraus auch eine praktische Anwendung beim Menschen ableiten ließ.

Die Verwendung der in der vorliegenden Studie verwendeten Items zu Beurteilung der Abstinenzsymptomatik und ihrer Intensität entspricht üblichen im Rahmen experimenteller Studien zur Beurteilung des Abhängigkeitspotentials von Opioiden eingesetzten Verfahren. Während jedoch bei Nagetieren hauptsächlich Items wie das Entzugsspringen, die Piloerektion und das "wet-dog-shaking" (Ausschütteln des nassen Fells) zur Beurteilung der Intensität eingesetzt werden, können es beim Primaten schon spezifischere Verhaltensmuster wie z.B. Gähnen, Blässe, Salivation, Rhinorrhoe, Lakrimation, Tachypnoe, Tremor, Zittern unprovokedes Schreien, respektive eine gegenüber dem Experimentator ausgesprochene Aggressivität beobachtet werden. Hierdurch lässt sich eine Beurteilung der Entzugssymptomatik sowohl besser quantifizieren als auch qualitativ einordnen [61]. Letztlich gilt dies auch bei einem anderen Vertebraten dem Hund, bei dem die in der vorliegenden Untersuchung provozierten Abstinenzsymptomen denen des Menschen recht nahe kommen [62, 63]. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die von einem Antagonisten ausgelösten Abstinenzeffekte denen beim Nager, beim Affen, dem opioidabhängigen Menschen und selbst dem isolierten Ileum [64] recht ähnlich sind, wobei nur die zur Provokation der Abstinenzsymptome notwendigen Dosen des Antagonisten einen deutlichen Unterschied aufweisen[65-68].

9.0 Literaturverzeichnis

1. Arden , J.R., et al., Phosphorylation and agonist-specific intracellular trafficking of an epitope-tagged μ -opioid receptor expressed in HEK 293 cells. *J Neurochem*, 1995. **65**: p. 1636-1645.
2. Cox, B.M., Molecular and cellular mechanisms in opioid tolerance. In: *Towards a new pharmacotherapy of pain*, A.I. Basbaum and J.M. Besseon (Editors) 1991, John Wiley & Sons: New York. pp. 137.
3. Basbaum, A.I., Insights into the development of opioid tolerance. *Pain*, 1995. **61**: p. 349-352.
4. Chia, Y.Y., et al., Intraoperative high dose fentanyl induces postoperative fentanyl tolerance. *Can J Anaesth*, 1999. **46**: p. 872-877.
5. Narita, M., et al., Influence of chronic morphine treatment on protein kinase C activity: comparison with butorphanol and implication for opioid tolerance. *Brain Res*, 1994. **650**: p. 175-.
6. Mao, J., D.D. Price, and D.J. Mayer, Mechanisms of hyperalgesia and morphine tolerance: a current view of their possible interaction. *Pain*, 1995. **62**: p. 259-274.
7. Nestler, E.J., B.T. Hope, and W. K.L., Drug addiction: a model for the molecular basis of neural plasticity. *Neuron*, 1993. **11**: p. 995-.
8. Loh, H.H. and A.P. Smith, Molecular characterization of opioid receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1990. **30**: p. 123-147.
9. Boulard, G., et al., Syndrome abstinence après arrêt de la sedation par fentanyl en neuro-réanimation. *Ann Fr Anesth Réanim*, 1983. **2**: p. 100-101.
10. Freye, E., B. Neruda, and O. Wilder-Smith, Studies on the abstinence-like overshoot following reversal of the potent 19-isoamyl derivative of etorphine with naloxone - a comparison with the opioids fentanyl and alfentanil. *Arzmittelforsch/Drug Res*, 1997. **47(I)**: p. 6-9.
11. Freye, E. and J. Levy, Acute abstinence syndrome following abrupt cessation of long-term use of tramadol (Ultram®): a case study. *Eur J Pain*, 2000. **4**: p. 307-311.

12. Wang, Y., et al., Constitutive μ opioid receptor activation as a regulatory mechanism underlying narcotic tolerance and dependence. *Life Sci*, 1994. **54**: p. 339-350.
13. Kolb, L. and C.K. Himmelsbach, Clinical studies of drug addiction. III. A critical review of the withdrawal treatments with method of evaluating abstinence syndromes. *Am J Psychiat*, 1938. **94**: p. 759-797.
14. Niemegeers, C.J.E., et al., Sufentanil, a very potent and extremely safe intravenous morphine-like compound in mice, rats and dogs. *Arzneimittelforsch/Drug Res*, 1976. **216**: p. 1551-1556.
15. Magnan, J., et al., The binding spectrum of narcotic analgesic drugs with different agonist and antagonist properties. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1982. **319**: p. 197-205.
16. Schmidt, W.K., et al., Nalbuphine. *Drug Alcohol Depend*, 1985. **14**: p. 339-362.
17. Meert, T.F., Pharmacological effects of epidural opioids, in *Therapeutics Today: Epidural Use of a new opioid: Sufentanil*. 1989, Adis Press: Hong Kong. p. 1-9.
18. Smith, T.C., Comparison of naloxone and naltrexone in man. *Anesthesiology*, 1979. **51**: p. S 573.
19. Verebey, K., et al., Naltrexone: Disposition, metabolism and effects after acute and chronic dosing. *Clin Pharmacol Ther*, 1976. **20**: p. 315-328.
20. Hidaka, H., et al., Isoquinolinesulfonamides, novel and potent inhibitors of cyclic nucleotide dependent protein kinase and protein kinase C. *Biochemistry*, 1984. **23**: p. 5036.
21. Kawamoto, S. and H. Hidaka, 1-(-Isoquinolinesulfonyl)-2-methylpiperazine (H-7) is a selective inhibitor of protein kinase C in rabbit platelets. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984. **125**: p. 258-.
22. Saitoh, M., M. Naka, and H. Hidaka, The modulatory role of myosin light chain phosphorylation in human platelet activation. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986. **140**: p. 280-.
23. Saitoh, M., et al., Selective inhibition of catalytic activity of smooth muscle myosin light chain kinase. *J Biol Chem*, 1987. **262**: p. 7796-.

24. Dawson, G.E., A summation technique for the detection of small evoked potentials. *Electroencephalog Clin Neurophysiol*, 1954. **6**: p. 65.
25. Bromm, B., Neue Aspekte der Schmerzmessung. In: *Schmerz - Eine interdisziplinäre Herausforderung*, A. Doenicke (Hrsg) 1986, Springer: Berlin-Heidelberg-New York. p. 1-31.
26. Kochs, E., et al., Somatosensory evoked responses in relation to subjective pain ratings. *Anesthesiology*, 1996. **85**: p. 304-314.
27. Freye, E., B. Neruda, and K. Falke, EEG-Powerspektren und evozierte Potentiale unter Alfentanil/Midazolam-Analgosedierung bei Intensivpatienten. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 1991. **26**: p. 384-388.
28. Kubicki, S., R. Stölzel, and R. Haas, Auslöschung des Fentanyl-Effektes durch Pentazocine im EEG und somato-sensorisch evoziertem Potential. In: *Postoperative Schmerzbekämpfung*, W.F. Henschel (Hrsg) 1972, Schattauer: Stuttgart-New York. p. 103-110.
29. Freye, E., M. Segeth, and M. Hartung, Somatosensorisch-evozierte Potentiale unter Alfentanil. *Anaesthesist*, 1984. **33**: p. 103-107.
30. Wauquier, A., Neurophysiologische Untersuchungen mit dem kurzwirksamen, intravenösen Analgetikum Alfentanil. In: *Alfentanil*, A. Doenicke (Hrsg) 1982, Springer: Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo. p. 78-89.
31. Ness, T.J., A.M. Metcalf, and G.F. Gebhard, A psychophysiological study in humans using phasic colonic distension as a noxious visceral stimulus. *Pain*, 1990. **43**: p. 377-386.
32. Seevers, M.H., Opiate addiction in the monkey. I. Methods of study. *J Pharmacol Expt Ther*, 1936. **56**: p. 147-156.
33. Villareal, J.E. and M.G. Karbowski, The actions of narcotic antagonists in morphine dependent rhesus monkeys. In: *Narcotic Antagonists*, M.C. Braude, et al.(Editors) 1974, Raven Press: New York, pp 273-289.
34. Beaumont, J.J. and S.G. Springer, Power considerations in epidemiological studies of vinyl chloride workers. *Am J Epidemiol*, 1981. **114**: p. 725-734.

35. Freye, E. and L. Latasch, Toleranzentwicklung unter Opioidgabe - Molekulare Mechanismen und klinische Bedeutung. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 2003. **1**: p. 14-26.
36. Narita, M., et al., A protein kinase inhibitor H7, inhibits the development of tolerance to opioid antinociception. *Eur J Pharmacol*, 1994. **271**: p. 543-545.
37. Sadee, W., et al., Constitutive activation of the μ -opioid receptor: Novel paradigm of receptor regulation in narcotic analgesia, tolerance, and dependence. *Analgesia*, 1994. **1**(1): p. 11-14.
38. Bilsky, E., et al., Effects of naloxone and D-Phe-Cys-Tyr-D-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-Pen-Thr-NH₂ (CTAP) and the protein kinase inhibitor H7 and H8 on acute morphine dependence and antinociceptive tolerance in mice. *J Pharmacol Expt Ther*, 1995. **277**: p. 484-490.
39. Gucker, S. and J.M. Bidlack, Protein kinase C activation increases the rate and magnitude of agonist-induced δ -opioid receptor down-regulation in NG108-15 cells. *Mol Pharmacol*, 1993. **42**: p. 656-.
40. Cooper, D., M. Mons, and J. Karpen, Adenylyl cyclases and the interaction between calcium and cAMP signaling. *Nature*, 1995. **373**: p. 421-424.
41. Johnson, P., et al., Expressed mu opiate receptor couples to adenylyl cyclase and phosphatidyl inositol turnover. *Neuroreport*, 1994. **5**: p. 507-509.
42. Xie, G., et al., Primary structure and functional expression of a guinea pig kappa opioid (dynorphin) receptor. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 1994. **91**: p. 3779-3783.
43. Hachenthal, E., *Pharmaka mit Wirkung auf den Respirationstrakt*. In: *Pharmakologie und Toxikologie*, E. Oberdisse, H. E., and K. Kuschinsky (Hrsg) 1997, Springer: Berlin, Heidelberg, New York. pp. 577-596.
44. Jasinski, D.R., J.D. Griffith, and C.B. Carr, Etorphine in man. I. Subjective effects and suppression of morphine abstinence. *Clin Pharm Therap*, 1974. **17**: p. 267-272.
45. Martin, W.R., D.R. Jasinski, and P.A. Mansky, Naltrexone, an antagonist for the treatment of heroin dependence. *Arch Gen Psychiatry*, 1973. **28**: p. 784-791.

46. Greenstein, R.A., et al., Predictors of favorable outcome following naltrexone treatment. *Drug Alcohol Depend*, 1983. **12**: p. 173-180.
47. Yamaguchi, K. and J.M. Anderson, Biocompatibility studies of naltrexone sustained release formulations. *J Cont Rel*, 1992. **19**: p. 299-314.
48. Chapmann, C.R., A.C.N. Chen, and S.W. Harkins, Brain evoked potentials as correlates of laboratory pain: A review and perspective. In: *Advances in Pain Research and Therapy*, J.J. Bonica, J.C. Liebeskind, and D.G. Albe-Fessard (Editors) 1979, Raven Press: New York. pp. 791-803.
49. Chapmann, C.R., et al., Event-related potential correlates of analgesia; comparison of fentanyl, acupuncture and nitrous oxide. *Pain*, 1982. **14**: p. 327-337.
50. Moore, M.P., S.A. Greene, and R.D. Keegan, A method for assessing noxious stimuli in anesthetized dogs. In: *Animal Pain*, C.E. Short and A. van Poznak (Editors) 1979, Churchill Livingstone: New York, Edinburgh, London. pp. 439-446.
51. Raffe, M.R., Animal models for the evaluation of analgesic agents. In: *Animal pain*, C.E. Short and A. Van Poznak (Editors) 1979, Churchill Livingstone: New York, Edinburgh, London. pp. 453-458.
52. Kochs, E., et al., Surgical stimulation induces changes in brain electrical activity during isoflurane/nitrous oxide anesthesia. *Anesthesiology*, 1994. **80**(1026-1034).
53. Buchsbaum, M.S., et al., Pain enhances naloxone-induced hyperalgesia in humans as assessed by somatosensory-evoked potentials. *Psychopharmacology*, 1983. **79**: p. 99-103.
54. Butler, S.H., et al., Opiate analgesia and its antagonism in dental event-related potentials: evidence for placebo antagonism. *Pharmacology*, 1983. **79**: p. 325-328.
55. Armstrong-James, M., The functional status and the columnal organization of single cells responding to cutaneous stimulation in neonatal rat somatosensory cortex SI. *J Physiol*, 1975. **246**: p. 501-538.

56. Buchsbaum, M.S., G.C. Davis, and W.E. Bunney, Naloxone alters pain perception and somatosensory evoked potentials in normal subjects. *Nature*, 1977. **270**: p. 620-622.
57. Meller, S.T. and G.F. Gebhardt, Nitric oxide (NO) and antinociceptive processing in the spinal cord. *Pain*, 1993. **52**: p. 127-136.
58. Van Bever, W.F.M., et al., N-4-substituted 1-(2-arylethyl)-4-piperidinyl-N-phenylpropanamides, a novel series of extremely potent analgesics with unusually high safety margin. *Drug Res/Arzneimittelforsch* 1978. **26**: p. 1548-1551.
59. Blumberg, H. and H.B. Dayton, Naloxone, naltrexone, and related noroxymorphones. In: *Narcotic Antagonists*, M.C. Braude, et al. (Editors) 1974, Raven: New York. p. 33-43.
60. Freye, E., E. Hartung, and G.K. Schenk, Effects of the three narcotic antagonists (naltrexone, diprenorphine, S-20682) on blood pressure, heart rate and electrical cortical activity. *Pharmacology*, 1983. **26**: p. 110-116.
61. Villareal, J.E. and M.H. Seevers. Evaluation of new compounds for morphine-like physical dependence in the rhesus monkey. in 30th CPPD Meeting. 1968. Indianapolis, IN. Addendum
62. Jasinski, D.R., Assessment of the abuse potentiality of morphine-like drugs. In: *Drug Addiction*, W.R. Martin (Editor) 1977, Springer: Berlin, Heidelberg, New York. pp. 197-258.
63. Martin, W.R. and D.R. Jasinski, Assessment of the abuse potential of narcotic analgesics in animal. In: *Drug Addiction. I. Morphine, sedative/hypnotic and alcohol dependence*, W.R. Martin (Editor) 1977, Springer: Berlin, Heidelberg, New York. pp. 159.
64. Kosterlitz, H.W., A.A. Warenfield, and V. Berhoud, Assessment of the agonist and antagonist properties of narcotic analgesic drugs by their action on the morphine receptor in the guinea pig ileum. In: *Narcotic Antagonists*, M.C. Braude, et al. (Editors) 1974, Raven Press: New York. p. 319-334.
65. Jasinski, D.R., W.R. Martin, and C.A. Haertzen, Human pharmacology of the abuse potential of N-allylnoroxymorphone (naloxone) and buprenorphine. *J Pharmacol Exp Ther*, 1967. **157**: p. 420-426.

66. Jasinski, D.R. and P.A. Mansky, Evaluation of nalbuphine for abuse potential. *Clin Pharmac Ther*, 1971. **13**: p. 77-90.
67. Blumberg, H., H.B. Dayton, and P.S. Wolf, Analgesic and narcotic antagonist properties of noroxymophone derivatives. *Toxicol Appl Pharmac*, 1967. **10**: p. 405-412.
68. Blumberg, H., P.S. Wolf, and H.B. Dayton, Use of writhing test for evaluating analgesic activity of narcotic antagonists. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1965. **118**: p. 763-766.

10.0 Zusammenfassung

In der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchung sollte der Nachweis erbracht werden, ob sich die nach Gabe steigender Dosen des wirkungsstarken Opioids Sufentanil (3,-6-,12 $\mu\text{g/kg}$) anschließende Provokation mit dem Opioidantagonisten Naltrexon ausgelösten Abstinenzeffekte durch die Vorgabe mit dem Proteinkinase-Hemmer H7 (ein Isoquinolinesulfonyl-Abkömmling) verhindern lassen. Im Vergleich zur Blockade der Proteinkinase C wurden in einer separaten Versuchsserie die Tiere mit dem der Xanthinderivat Theophillin vorbehandelt und die nach Naltrexon induzierten Abstinenzsymptome bestimmt.

Zur Beurteilung der Abstinenzintensitäten wurden die Auswirkungen auf den Kreislauf (Blutdruck, Herzfrequenz), das somatosensorisch-evozierte Potential, der Colondehnungsreiz und charakteristische Abstinenzsymptome wie Gähnen, Salivation, Rhinorrhoe, Treten, Winseln, Lecken, Kopfwerten in Bezug auf ihre Intensitäten (0 = keine; 1 = schwach; 2 = mittel; 3 = stark) beurteilt.

Im Vergleich zur Provokation von Abstinenzeffekten ohne Vorgabe von H7 führt die Hemmung der zur Phosphorylierung des Opioidrezeptors notwendigen Proteinkinase C (PKC) zu einer signifikant geringeren Ausprägung der Abstinenzeffekte auf den Kreislauf, das evozierte Potential und den Colondehnungsreiz. Letztlich war die Verringerung der Abstinenz auch in den subjektiv ermittelten Verhaltensweisen beim Tier nachzuweisen, wobei insbesondere die Items Unruhe, Kopfwerten, Wimmern, Treten, Nagen und Gähnen eine signifikant geringere Intensität aufwiesen. Ähnliche Effekte waren auch unter der Vorbehandlung mit dem Xanthinderivat Theophillin zu beobachten. Hier war jedoch die Signifikanz deutlich geringer, was auf die geringere Selektivität auf das Enzym Proteinkinase C hinweist.

Aus den erhobenen Daten ist abzuleiten, dass der zur Auslösung einer Abstinenz beim opioidabhängigen Individuum notwendige Phosphorylierungsschritt über die Proteinkinase C erfolgt. Auf die Klinik übertragen würde dies aber auch bedeuten, dass die übliche Langzeittherapie zur

Verhinderung eines Rückfalls beim ehemaligen Opiatabhängigen langfristig auch immer eine Abstinenzsymptomatik zur Folge haben wird. In solchen Fällen würde die Therapie mit einem selektiven Blocker, der den zur Auslösung von Abstinenzsymptomen notwendigen Phosphorylierungsschritt blockiert, in eine geringere Abstinenzsymptomatik münden.

11.0 Danksagung

Für die Überlassung der Arbeit und Beratung insbesondere bei der Aufarbeitung der Daten aus dem somatosensorisch-evozierten Potential, danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Enno Freye, Klinik für Gefäßchirurgie und Nierentransplantation. Er zeigte auch dafür Verständnis, dass ich im Rahmen meiner Tätigkeit als niedergelassener Arzt für Allgemeinmedizin zeitlich nicht immer präsent war und das Niederschreiben der Ergebnisse doch mehr Zeit als ursprünglich geplant in Anspruch genommen hat.

Mein besonderer Dank gilt Dipl. ing. Preissler von der Firma Preissler Medizintechnik in Memmingen/Allgäu, der das Gerät zur Registrierung elektroenzephalographischer und somatosensorischer Daten zur Verfügung gestellt hat. Ein Dankeschön aber auch an die Mitarbeiter in der Tierversuchsanlage der Universität Düsseldorf, insbesondere Herrn Dr. med. vet. Sager und Frau Schrey, die mir rat und Tat bei der Vorbereitung für die Versuche tatkräftig zur Seite standen.

Nicht zuletzt möchte ich die Versuchstiere erwähnen, wobei es mein Anliegen war, die Stresssituation für die Tiere so gering wie möglich zu halten und nach jedem Versuch den „Mitarbeiter“ mit einem leckeren Happen zu belohnen.

12.0 Curriculum Vitae

Name	Plaza
Vorname	Piotr
Geburtsdatum	17.05.1954
Geburtsort	Kattowitz/Oberschlesien
Familienstand	geschieden, 1 Kind
Konfession	katholisch
Wohnhaft	Am Birkenfeld 6, 42551 Velbert
1961- 1975	Besuch von Grundschule und Gymnasium in Kattowitz
1972	Umsiedlung nach Deutschland
1972-1976	Besuch Oberhausener Kolleg und Gymna- sium in Versmold/Westfahlen
1976	Ablegen des Abiturientenexamens
1976-1977	Krankenpflege im Knappschaftsranken- haus Bochum-Langendreer
1977 – 1988	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
21.11.1983	Erteilung der Approbation durch den Regierungspräsidenten der Stadt Düsseldorf

Berufliche Aus- und Weiterbildung

2.01.84-29.03.85	Leitender Sanitätsoffizier bei der Bundeswehr im BVK Düsseldorf
1.04.85-30.06.87	Assistenzarzt an der Chirurgischen Abteilung des Evangelischen Krankenhauses in Düsseldorf-Mettmann (Chefarzt Prof. Dr. Nieman)
1.07.87-30.09.89	Assistenzarzt an der Inneren Abteilung des Marienhospitals in Hückeswagen (Chefarzt Dr. Albacht)
1.10.89-31.01.90	Assistenzarzt in der Praxis Dr. Vinnemeier in Velbert
1.02.90-31.07.91	Assistenzarzt in der Praxis Dr. Gutenberger in Düsseldorf
August 1991 bis jetzt	Niederlassung in Velbert als Facharzt für Allgemeinmedizin

Konstitutive Opioidrezeptoraktivierung; Voraussetzung für die Entwicklung einer akuten Opiatentzugssyndroms

- eine experimentelle Untersuchung am wachen Hund –

Zusammenfassung

In der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchung sollte der Nachweis erbracht werden, ob sich die nach Gabe steigender Dosen des wirkungsstarken Opioids Sufentanil (3,-6-,12 $\mu\text{g/kg}$) anschließende Provokation mit dem Opioidantagonisten Naltrexon auslösten Abstinenzeffekte durch die Vorgabe mit dem Phosphodiesterase-Hemmer H7 (ein Isoquinolinesulfonyl-Abkömmling) verhindern lassen. Im Vergleich zur Blockade der Proteinkinase C wurde in einer separaten Versuchsserie die Tiere mit dem der Xanthinderivat Theophillin vorbehandelt und die nach Naltrexon induzierten Abstinenzsymptome bestimmt.

Zur Beurteilung der Abstinenzintensitäten wurden die Auswirkungen auf den Kreislauf (Blutdruck, Herzfrequenz), das somatosensorisch-evozierte Potential, der Colondehnungsreiz und charakteristische Abstinenzsymptome wie Gähnen, Salivation, Rhinorrhoe, Treten, Winseln, Lecken, Kopfwurfen in Bezug auf ihre Intensitäten (0 = keine; 1 = schwach; 2 = mittel; 3 = stark) beurteilt.

Im Vergleich zur Provokation von Abstinenzeffekten ohne Vorgabe von H7 führt die Hemmung der zur Phosphorylierung des Opioidrezeptors notwendigen Proteinkinase C (PKC) zu einer signifikant geringeren Ausprägung der Abstinenzeffekte auf den Kreislauf, das evozierte Potential und den Colondehnungsreiz. Letztlich war die Verringerung der Abstinenz auch in den subjektiv ermittelten Verhaltensweisen beim Tier nachzuweisen, wobei insbesondere die Items Unruhe, Kopfwurfen, Wimmern, Treten, Nagen und Gähnen eine signifikant geringere Intensität aufwiesen.

Ähnliche Effekte waren auch unter der Vorbehandlung mit dem Xanthinderivat Theophillin zu beobachten. Hier war jedoch die Signifikanz deutlich geringer, was auf die geringere Selektivität auf das Enzym Proteinkinase C hinweist.

Aus den erhobenen Daten ist abzuleiten, dass der zur Auslösung einer Abstinenz beim opioidabhängigen Individuum notwendige Phosphorylierungsschritt über die Proteinkinase C erfolgt. Auf die Klinik übertragen würde dies aber auch bedeuten, dass die übliche Langzeittherapie zur Verhinderung eines Rückfalls beim ehemaligen Opiatabhängigen langfristig auch immer eine Abstinenzsymptomatik zur Folge haben wird. In solchen Fällen würde die Therapie mit einem selektiven Blocker, der den zur Auslösung von Abstinenzsymptomen notwendigen Phosphorylierungsschritt blockiert, in eine geringere Abstinenzsymptomatik münden.

E. Freye

(Prof. Dr. Enno Freye)

Genehmigt, Neuss 24. Juni 2003

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Heinrich Heine
Universität Düsseldorf

Gez.: Prof. Dr. Raab

Dekan

Referent: Prof. Dr. Freye

Korreferent: Prof. Dr. Grabitz