

**Bedeutung von exogenem Endomorphin-1, Endomorphin-2 und
Nociceptin/Orphanin FQ für die Regulation der Somatostatinsekretion
am isoliert perfundierten Rattenmagen**

Kerstin Hüppens

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

**Bedeutung von exogenem Endomorphin-1, Endomorphin-2 und
Nociceptin/Orphanin FQ für die Regulation der Somatostatinsekretion
am isoliert perfundierten Rattenmagen**

Kerstin Hüpgens

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. V. H. Schusdziarra
2. Univ.-Prof. Dr. A. R. Ludwig

Die Dissertation wurde am 21.09.2004 bei der Technischen Universität
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 02.02.2005
angenommen.

1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	5
2.1	Versuchstiere	5
2.2	Präparationsbeschreibung	5
2.3	Versuchsprotokolle	8
2.3.1	Unstimulierte Versuche	8
2.3.2	Prästimulierte Versuche	9
2.3.3	Kontrollversuche	11
2.4	Versuchsauswertung	12
2.4.1	Bestimmung der Somatostatin, Gastrin, Bombesin und VIP Perfusatkonzentration	12
2.4.2	Substanzen	12
2.4.3	Statistische Auswertung	13
3.	Ergebnisse	14
3.1	Effekt von Endomorphin auf die basale neuroendokrine Sekretion	14
3.2	Effekt von Endomorphin auf die prästimulierte Somatostatinsekretion	15
3.3	Effekt von Naloxon auf die durch Endomorphin-1 und Endomorphin-2 induzierte Hemmung der prästimulierten Somatostatinsekretion	16
3.4	Effekt von CTOP auf die durch Endomorphin-1 und Endomorphin-2 induzierte Hemmung der prästimulierten Somatostatinsekretion	18
3.5	Effekt von N/OFQ auf die basale neuroendokrine Sekretion	20
3.6	Effekt von N/OFQ auf die prästimulierte Somatostatinsekretion	21
3.7	Effekt von $[Nphe^1]N/OFQ(1-13)NH_2$ bzw. Naloxon auf die durch N/OFQ induzierte Hemmung der prästimulierten Somatostatinsekretion	22
4.	Diskussion	26
4.1	Regulation der Somatostatinsekretion	26
4.1.1	Struktur	26
4.1.2	Vorkommen	28
4.1.3	Somatostatinrezeptoren	29
4.1.4	Wirkungsmechanismen	30
4.1.5	Biologische Effekte	31
4.1.5.1	Inhibition der Magensäure- und Gastrinsekretion	31
4.1.5.2	Andere biologische Effekte	33
4.1.6	Basale Somatostatinfreisetzung	34
4.1.7	Regulationsmechanismen	35
4.1.8	Cephale Phase	35
4.1.8.1	Somatostatinfreisetzung	35
4.1.9	Gastrale Phase	37
4.1.9.1	Somatostatinfreisetzung	37
4.1.10	Intestinale Phase	39

4.2	Opiate und Opioide _____	41
4.2.1	Wirkungen der Opiate _____	42
4.2.2	Opiatrezeptoren _____	42
4.2.3	Struktur und Rezeptoraffinität der Opiatrezeptorliganden _____	44
4.2.4	Lokalisation endogener Opioide im Organismus _____	46
4.2.5	Funktionelle Bedeutung der Opioide im Gastrointestinaltrakt _____	48
4.2.6	Struktur und Rezeptoraffinität des NOP Rezeptorliganden _____	49
4.2.7	Lokalisation von endogenem N/OFQ im Organismus _____	50
4.2.8	Funktionelle Bedeutung von N/OFQ im Gastrointestinaltrakt _____	51
4.3	Diskussion eigener Ergebnisse _____	53
4.3.1	Bedeutung von exogenem Endomorphin-1 und Endomorphin-2 auf die Sekretion von Somatostatin _____	53
4.3.2	Bedeutung von exogenem N/OFQ auf die Freisetzung von Somatostatin _	55
5.	Zusammenfassung _____	58
6.	Literaturverzeichnis _____	60
7.	Abbildungsverzeichnis _____	78
8.	Danksagung _____	80

1. Einleitung

Durch Experimente sowohl mit audioradiographischen und immunhistochemischen Methoden als auch mit Membranbindungstechniken wurde das Vorkommen von Opiaten und Opiatrezeptoren im Gastrointestinaltrakt der Ratte, des Schweines und des Menschen nachgewiesen (Bagnol et al. 1997, S. 579-591, Nishimura et al. 1986, S. 1084-1094, Polak et al. 1977, S. 972-974). Sie sind Teil des peptidergen Neurotransmittersystems und zum einen an der Regulation der exokrinen und endokrinen Funktion des Gastrointestinaltraktes (Bueno and Fioramonti 1988, S. 123-139, Burks et al. 1988, S. 2177-2181, Esplugues et al. 1992, S. 33-38, Madaus et al. 1990, S. 201-203) und zum anderen an der Regulation der gastrointestinalen Motilität beteiligt (Fioramonti et al. 1988, S. 123-139, Jimenez et al. 1993, S. 71-83, Mittal et al. 1986, S. 936-942, Shea et al. 1983, S. G196-G200, Sullivan et al. 1981, S. 86-87).

Im Magen sind Opiate neben Somatostatin in den D-Zellen zu finden (Polak et al. 1977, S. 972-974). Durch Versuche am isoliert perfundierten Rattenmagen hat sich gezeigt, dass Opiate die Sekretion von Somatostatin hemmen. Diese Inhibition wird über OP₃ Opiatrezeptoren vermittelt (Chiba et al. 1980b, S. 145-149, McIntosh et al. 1990, S. G922-G927), welche im Rattenmagen ansässig sind (Fickel et al. 1997, S. 1-8). Die Opiatrezeptoren werden in OP₁ (früher δ), OP₂ (früher κ) und OP₃ (früher μ) Rezeptoren unterteilt. Bis vor kurzem war jedoch kein spezifischer endogener OP₃ Rezeptoragonist bekannt. Die bisher bekannten Opiate Dynorphin-A, Endorphin und Enkephalin sind spezifische OP₁ und OP₂ Opiatrezeptoragonisten. Zwar wirken Endorphin und Enkephalin auch auf die OP₃ Opiatrezeptoren, doch eine selektive Aktivierung des OP₃ Opiatrezeptors wurde nur mit den synthetischen Agonisten DAMGO (Tyr-D-Ala-Gly-N-Me-Phe-Gly-ol), Sufentanil und PLO17 (N-Me-Phe³-D-Pro⁴-morphiceptin) erzielt. 1997 jedoch isolierten Hackler et al. und Zadina et al. zwei neue endogene Opiattetrapeptide aus dem Gehirn von Rindern und Menschen: **Endomorphin-1** (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) und **Endomorphin-2** (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂) (Hackler et al. 1997, S. 1635-1639, Zadina et al. 1997, S. 499-502). Für diese endogenen Liganden konnte eine hohe Affinität und Selektivität bezüglich des OP₃ Opiatrezeptors im ZNS gezeigt werden. Durch immunhistochemische Methoden konnte die Anwesenheit von Endomorphin in mehreren Gehirnregionen nachgewiesen werden, so zum Beispiel im

Thalamus, Hypothalamus, Striatum und im frontalen Kortex (Martin-Schild et al. 1999, S. 450-471, Zadina et al. 1997, S. 499-502). Im Gastrointestinaltrakt findet man die Endomorphine im Plexus myentericus des Schweinedünndarms (Tonini et al. 1998, S. 686-689), wo sie für die selektive Aktivierung der OP_3 Rezeptoren verantwortlich sind. Weiterhin wird ihnen ein inhibitorischer Effekt auf die Acetylcholinausschüttung aus dem Plexus myentericus zugeschrieben, welcher durch den OP_3 Opiatrezeptorantagonisten Cyprodime abgeschwächt werden kann (Nishiwaki et al. 1998, S. 83-86). Neben der Spezie Schwein dienten auch Ratten als Versuchstiere. So stellten Hahn et al. eine Wirkung von Endomorphin auf den auf- und absteigenden Reflex im Rattendünndarm fest; dieser Effekt kann mittels des spezifischen OP_3 Opiatrezeptorantagonisten CTOP aufgehoben werden (Hahn und Allescher 1998, S. A759). Die Wirkung von Endomorphin-1 und -2 auf die endokrine Funktion des Magens ist jedoch bis heute unbekannt.

Neben den oben genannten OP_1 , OP_2 und OP_3 Rezeptoren existiert ein zum Opioid-System gehörender Rezeptor, der erst kürzlich entdeckt wurde und wegen seiner strukturellen Verwandtschaft OP_4 Rezeptor bzw. NOP Rezeptor (Nociceptin/Orphanin FQ Peptid) genannt wurde. Der endogene Ligand ist das Heptadecapeptid N/OFQ, das aus Schweine- und Rattenhirn isoliert wurde. Die Bezeichnung dieses Liganden setzt sich aus den zwei ursprünglich verwendeten Namen zusammen: Nociceptin und Orphanin FQ (Meunier et al. 1995, S. 532-535, Reinscheid et al. 1995, S. 792-794). Weiterhin wurde N/O FQ in Mäusen sowie im Menschen nachgewiesen (Reinscheid et al. 1995, S. 792-794). Zentral wurde es vor allem in Neuronen des Gehirns und des Rückenmarks gefunden, wo es die Adenylatcyclase und Ca^{2+} Kanäle inaktiviert, während die Tyrosinphosphatase und K^+ Kanäle aktiviert werden. Peripher wurde es im Gastrointestinaltrakt, im Vas deferens und in der Milz nachgewiesen (Schulz et al. 1996, S. 3021-3025, Schuligoi et al. 1997, S. 136-138, Riedl et al. 1996, S. 1369-1372, Yazdani et al. 1997, S. A1201, Osinski et al. 1999a, S. G125-G131, Wang et al. 1994, S. 75-79, Mollereau et al. 2000, S. 907-917). Mittels in vivo Experimenten wurde gezeigt, dass N/O FQ zahlreiche biologische Funktionen beeinflusst, wie z.B. Schmerz, Angst, die Neurotransmitterausschüttung, die Nahrungsaufnahme, das Herz-Kreislaufsystem, die Nierenfunktion und die Magen-Darm-Motilität. (Calo et al. 2000b, S. 1261-1283, Meis et al. 2003, S. 158-168). Im Zentralen Nervensystem ist N/O FQ an der Schmerzübermittlung und Schmerzverarbeitung beteiligt. Nach i.v. Verabreichung

ist N/OFQ in der Lage, die durch Opiate induzierte Analgesie aufzuheben. Im Rückenmark besitzt N/OFQ sowohl analgetische als auch hyperalgetische Wirkung (Darland et al. 1998, S. 215-221). Außerdem stimuliert N/OFQ nach zentraler Applikation das Futterverhalten von sedierten Ratten (Pomonis et al. 1996, S. 396-371). In der Maus inhibieren i.c.v. Injektionen von N/OFQ dosisabhängig die Darmaktivität, die Magenentleerung und den intestinalen Transport (Osinski et al. 1999a, S. G125-131).

Neben den oben genannten Wirkungen im ZNS besitzt N/OFQ auch im peripheren Gewebe zahlreiche Funktionen. So inhibiert N/OFQ elektrisch ausgelöste Kontraktionen im Nierenbecken des Schweines und im Vas deferens der Maus (Giuliani et al. 1996, S. 1567-1569, Berzetei-Gurske et al. 1996, S. R1-R2, Calo et al. 1996a, S. R3-R5). Außerdem beeinflusst N/OFQ konzentrationsabhängig die gastrointestinale Motilität durch Inhibition der neurogenen Kontraktion im Dünndarm (Zhang et al. 1997, S. 102-106, Osinski et al. 1999b, S. 281-289, Yazdani et al. 1999, S. 108-117, Guerrini et al. 1997, S. 1789-1793, Gintzler et al. 1997, S. 29-34). Der Effekt beruht auf einer Abnahme der Acetylcholinausschüttung. Diese Wirkung kann aber nicht durch den Opiatrezeptorantagonisten Naloxon beeinflusst werden, was den NOP-Rezeptor als opiatunabhängigen Rezeptor definiert (Meunier 1997, S. 1-15). Außerdem vermag N/OFQ in isolierten Muskelstücken des Rattenkolons konzentrationsabhängig Kontraktionen hervorzurufen. Dies kann auf inhibitorische Mechanismen im Plexus myentericus zurückgeführt werden (Osinski et al. 1999a, S. G125-G131, Yazdani et al. 1999, S. 108-117, Takahashi et al. 2000, S. 1054-1063). Ähnliche Ergebnisse wurden in Versuchen mit isoliertem Mäusekolon und mit narkotisierten Ratten erzielt, sofern N/OFQ intravenös oder subkutan appliziert wurde. Außerdem steigert N/OFQ in vivo den Magendruck und die Kontraktionskraft des Magens. (Osinski et al. 1999a., S. G125-G131, Taniguchi et al. 1998, S. 265-271). Dagegen inhibiert N/OFQ im Magen und Dünndarm durch EFS (electrical field stimulation) hervorgerufene Kontraktionen. Außerdem hemmt es die durch Elektrostimulation hervorgerufene Acetylcholinsekretion des Magens (Osinski et al. 1999a, S. G125-G131, Yazdani et al. 1999, S. 108-117). N/OFQ und seine Rezeptoren zeigen eine hohe Ähnlichkeit zu den Opiaten und deren Rezeptoren. Daher nimmt man an, dass neben der strukturellen Ähnlichkeit eine physiologische Ähnlichkeit besteht. So wurde N/OFQ aus Rattenmägen isoliert und seine Wirkung auf die Magenmotilität genauestens untersucht.

Der Effekt von N/OFQ auf die neuroendokrine Funktion des Magens, speziell auf die Somatostatinsekretion, ist jedoch bis jetzt noch nicht untersucht worden und ist somit noch unbekannt.

Da der Einfluss sowohl von Endomorphin-1 und -2 als auch von N/OFQ auf die neuroendokrine Sekretion des Magens noch unbekannt war, war es deshalb von Interesse, in der vorliegenden Arbeit die Wirkung von exogen verabreichtem Endomorphin-1 und -2 und N/OFQ auf die Ausschüttung von Somatostatin, vasoactive intestinal polypeptide (VIP), Gastrin und Bombesin aus dem isoliert perfundierten Rattenmagen zu untersuchen.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere werden männliche Wistarratten mit einem Gewicht von 200 bis 400 g verwendet (Charles River Wiga GmbH, Sulzfelden, Deutschland). Diese werden unter standardisierten Bedingungen im Veterinärbereich des Instituts für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München gehalten.

Die standardisierten Bedingungen sind :

- künstlicher Tag/Nacht Rhythmus
- Luftfeuchtigkeit 60-70%
- Raumtemperatur 20-23° C
- Ernährung mit Wasser und Spezialfuttermittel für Ratten (ssniff Spezialdiäten GmbH, Guest)

Die Versuchstiere werden 12 Stunden vor Versuchsbeginn nüchtern gesetzt, Zugang zu Wasser ist aber möglich.

2.2 Präparationsbeschreibung

Ziel der Präparation des isolierten perfundierten Magens ist es, den Magen über einen in den Truncus coeliacus implantierten Katheter selektiv zu perfundieren und das Perfusat über einen in die V. portae implantierten Katheter in vorgeschriebenen Zeiträumen zu sammeln.

Nach einer Kohlenmonoxidinhalation werden die Versuchstiere durch eine intraperitoneale Pentobarbitalinjektion (60 mg/kg) narkotisiert (Narcoren[®], Rhone Merieux, Köln, Deutschland). Nach Eintritt der Narkose werden die Ratten in Rückenlage fixiert.

Zu Beginn der Präparation wird das Abdomen durch einen Schnitt in der Medianlinie eröffnet. Nach Darstellung des Magenantrums und des proximalen Duodenums, sucht

man den Lobus caudatus auf und mobilisiert diesen. Außerdem erfolgt die Freilegung des Lig. hepatoduodenale. Anschließend stellt man die Milz dar und entfernt sie unter Schonung der gastroepiploischen Gefäße an der großen Kurvatur.

Als nächstes wird das Pankreas entfernt. Dieses liegt zum größten Teil im Mesenterium des Duodenums. Die Entfernung erfolgt durch Ligatur der im Mesenterium des Duodenums liegenden Gefäße. Circa einen Zentimeter distal des Pylorus wird das Duodenum doppelt ligiert und durchtrennt.

Die Aorta abdominalis wird vom Truncus coeliacus nach distal bis zum Abgang der Arteria renalis sinistra stumpf freipräpariert und vierfach angeschlossen.

1. Anschlingung: proximal des Truncus coeliacus
2. + 3. Anschlingung: zwischen Truncus coeliacus und A. mesenterica superior
4. Anschlingung: distal der Arteria mesenterica superior

Die Arteria mesenterica superior wird ligiert. Nachdem der Blutfluss nach distal durch Ligatur der Aorta abdominalis distal der Arteria mesenterica superior (4. Umschlingung) unterbunden wurde, wird die Aorta proximal des Truncus coeliacus abgeklemmt. Nach Inzision proximal der 4. Umschlingung erfolgt die Kanülierung der Aorta mit einem Katheter (Silastic-Katheter, Ø 1.5mm, Portex, Hythe, England). Mit der 2. und 3. Umschlingung wird der Katheter mit der Spitze am Abgang des Truncus coeliacus fixiert. Um eine Thrombosierung zu verhindern, wird der Katheter mit 2-3ml heparinierter 0,9% isotonischer Kochsalzlösung (25000 I.E./l NaCl 0,9%) geblockt. Anschließend wird die proximal des Truncus coeliacus gelegene Klemme entfernt, so dass der Magen während der restlichen Präparation gut perfundiert ist.

Als nächstes wird die V. portae katheterisiert. Nach Inzision einer Mesenterialvene wird ein Katheter (Ø 1.3mm, Portex) bis zur Einmündung der V. gastroepiploica dextra vorgeschoben und das umliegende Dünn- und Dickdarmgewebe entfernt.

Der Ösophagus wird nun subdiaphragmal durchtrennt. Anschließend werden die Aorta abdominalis proximal des Truncus coeliacus (1. Umschlingung) und die V. portae im Ligamentum hepatoduodenale ligiert. Nachdem beide Gefäße ligiert wurden, ist der Magen nicht mehr perfundiert und oxygeniert. Um eine Thrombosierung der Gefäße zu

vermeiden, wird der Magen über den Aortenkatheter mit 10ml heparinisierte isotoner Kochsalzlösung gespült. Der Magen wird mit samt seiner Gefäßversorgung aus dem Situs entnommen.

Zur Aufrechterhaltung eines konstanten intragastralen pH-Wertes während des Versuchs, wird der Magen über einen ösophagealen Katheter (Perfusor-Leitung Typ N, Braun Melsungen) und über einen duodenalen Katheter (Infusomat-Leitung Typ sec/II, Braun Melsungen), welche in das Magenlumen eingeführt und fixiert werden, perfundiert. Das Magenlumen wird anschließend mit 20ml NaCl-Lösung pH 2 gespült, um eventuell vorhandene Nahrungsreste zu entfernen. Der Magen wird nun in ein Organbad mit auf 37°C temperiertem Krebs-Ringer-Puffer gehängt. Über eine Rollerpumpe (STA Schlauchpumpe, Desaga GmbH, Heidelberg, Deutschland) wird der Magen luminal und vaskulär mit einem Flow von 1.5ml/min kontinuierlich perfundiert. Die luminale Perfusion erfolgt mit einer auf pH 2 eingestellten isotonen NaCl Lösung. Für die vaskuläre Perfusion wird ein auf pH 7,35 eingestellter und mit 95% O₂ und 5% CO₂ gesättigter modifizierter Krebs-Ringer-Puffer verwendet, in dem die zu untersuchenden Substanzen gelöst werden. Dieser Puffer setzt sich aus folgenden Komponenten zusammen: 154 mM NaCl, 4.5 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.2 mM MgSO₄, 21.1 mM NaHCO₃, 5.5 mM Glucose, 2g/l Rinderserumalbumin (Serva Heidelberg, Deutschland) und 40g/l Dextran T70 (Pharmacia, Uppsala, Schweden). Das vaskuläre Perfusat wird über den Portalkatheter in einminütigen Intervallen mittels eines Fraktionssammlers aufgefangen und bis zur Durchführung des Radioimmunassay bei -20° C tiefgefroren.

Die Operationszeit beträgt im Durchschnitt circa fünfunddreißig Minuten, wobei die Zeit der Ischämiephase von der Ligatur der Aorta bis zum Anschluss des Magens an das Perfusionssystem bei circa zehn Minuten liegt.

2.3 Versuchsprotokolle

2.3.1 Unstimulierte Versuche

Zunächst wird der Einfluss von Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M, 10^{-6} M auf die basale Freisetzung von Bombesin, Gastrin, VIP und Somatostatin untersucht. Dazu wird der Magen während einer Äquilibrationsphase von fünfzehn Minuten und einer basalen Phase von zehn Minuten mit modifiziertem Krebs-Ringer-Puffer perfundiert. Anschließend folgt eine zehnminütige Stimulationsphase, in der Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M und 10^{-6} M dem vaskulären Perfusat beigefügt wird. Auf diese Stimulationsphase folgt eine Nachlaufphase von fünfzehn Minuten, in der der Magen mit modifiziertem Krebs-Ringer-Puffer perfundiert wird. Luminal wird über die gesamte Versuchsdauer isotone NaCl Lösung (pH 2.0) infundiert (Abbildung 1). Das Perfusat der Äquilibrationsphase wird am Versuchsende verworfen und nicht radioimmunologisch untersucht. In den folgenden Versuchsbeschreibungen wird auf die Nennung der fünfzehnminütigen Äquilibrationsphase sowohl im Text als auch in den Graphiken verzichtet, wogegen die luminale Perfusion mit NaCl pH 2 während der gesamten Versuchsdauer in den Graphiken, jedoch nicht mehr im Text, erwähnt wird.

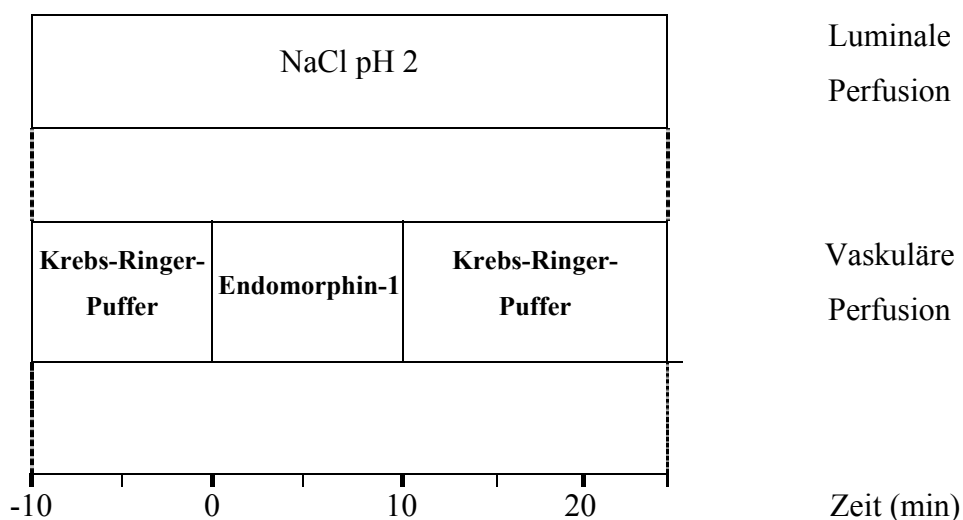


Abbildung 1: Versuchsschema der unstimulierten Endomorphin-1 Versuche

Im zweiten unstimulierten Versuchsansatz wird statt Endomorphin-1 N/OFQ in den Konzentrationen 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M, 10^{-6} M infundiert. Dabei wird der Magen in einer basale Phase von zehn Minuten zuerst mit Krebs-Ringer-Puffer perfundiert. In der darauffolgenden fünfzehnminütigen Stimulationsphase wird nun N/OFQ in den Konzentrationen 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M, 10^{-6} M infundiert. Die Nachlaufphase mit Krebs-Ringer-Puffer beträgt zwanzig Minuten (Abbildung 2).

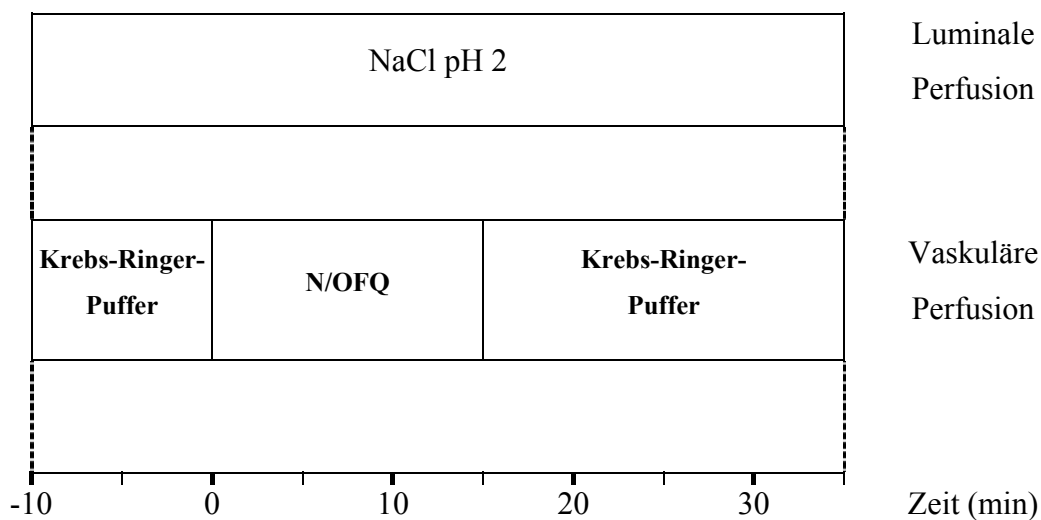


Abbildung 2: Versuchsschema der unstimulierten N/OFQ Versuche

2.3.2 Prästimulierte Versuche

In diesem Versuchsansatz wird die Wirkung von Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-7} M und 10^{-6} M und Endomorphin-2 10^{-6} M auf die mit $\text{GIP } 10^{-9}$ M prästimulierte Somatostatinsekretion getestet. Nach einer basalen Phase von fünf Minuten, in der modifizierter Krebs-Ringer-Puffer infundiert wird, wird der Magen die gesamte Versuchsdauer über mit $\text{GIP } 10^{-9}$ M prästimuliert. Dreißig Minuten nach Beginn der Infusion mit $\text{GIP } 10^{-9}$ M wird dem vaskulären Perfusat Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-7} M bzw. 10^{-6} M bzw. Endomorphin-2 in der Konzentration 10^{-6} M für fünfzehn Minuten beigefügt (Abbildung 3). In einem 2. Versuchsansatz wird nach der basalen Phase von fünf Minuten der OP_3 selektive Rezeptorantagonist CTOP in den Konzentrationen 10^{-7} M, 10^{-6} M und 10^{-5} M zusammen mit $\text{GIP } 10^{-9}$ M über die

gesamte Versuchsdauer infundiert. Wie bisher, wird nach dreißig Minuten dem vaskulären Perfusat Endomorphin-1 für einen Zeitraum von fünfzehn Minuten beigefügt (Abbildung 3). Analog wird in einer 3. Versuchsgruppe anstelle von CTOP der unselektive Opiatrezeptorantagonist Naloxon in der Konzentration 10^{-6} M infundiert (Abbildung 3).

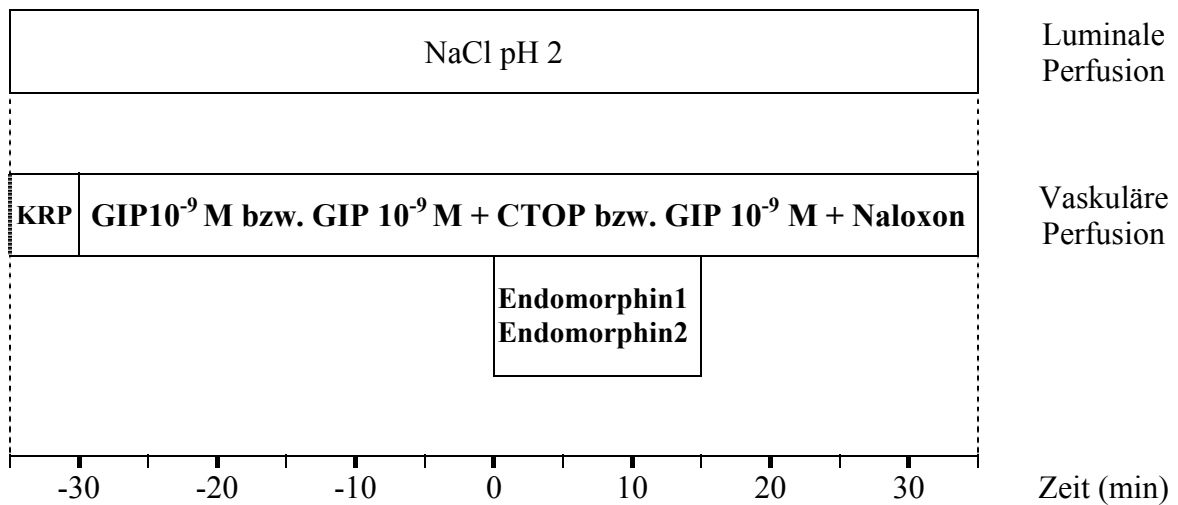


Abbildung 3: Versuchsschema der prästimulierten Endomorphin-1 und -2 Versuche

In einer neuen Versuchsreihe wird die Wirkung von N/OFQ in den Konzentrationen 10^{-8} M und 10^{-6} M auf die mit GIP 10^{-9} M prästimulierte Somatostatinsekretion getestet. Der Versuchsaufbau ist analog zu den prästimulierten Endomorphin Versuchen (Abbildung 4).

In einer weiteren Versuchsreihe wird die Wirkung des spezifischen kompetitiven N/OFQ-Rezeptorantagonisten [Nphe¹]Noc-(1-13)NH₂ 10^{-6} M bzw. 10^{-5} M und des Opiatrezeptorantagonisten Naloxon 10^{-6} M auf die N/OFQ 10^{-8} M und 10^{-6} M induzierte Hemmung der Somatostatinsekretion getestet. Hierbei wird nach der fünfminütigen Basalphase der jeweils verwendete Antagonist zusammen mit GIP 10^{-9} M über den gesamten Versuchszeitraum infundiert. Nach dreißig Minuten wird N/OFQ 10^{-8} M und 10^{-6} M über einen Zeitraum von fünfzehn Minuten hinzugefügt (Abbildung 4).

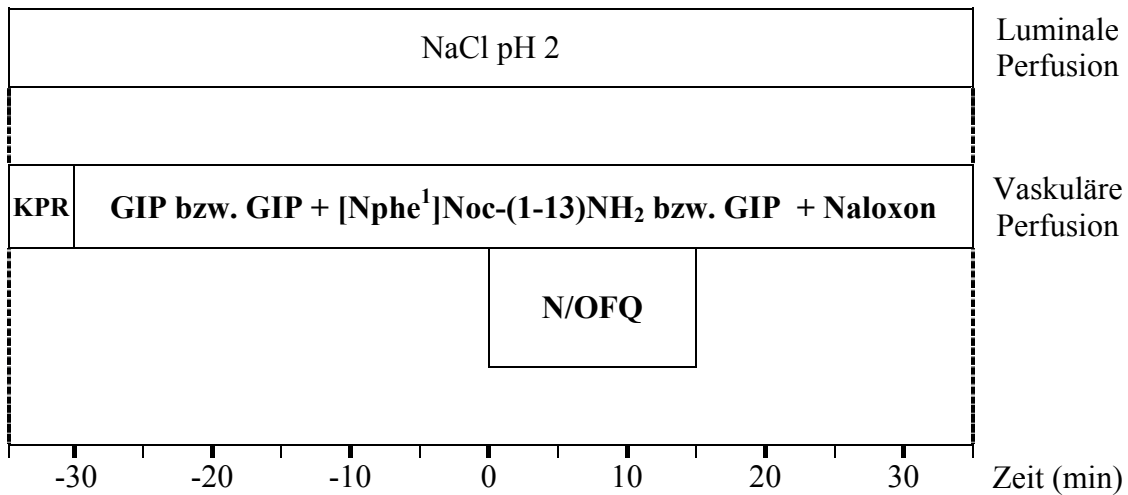


Abbildung 4: Versuchsschema der prästimulierten N/OFQ Versuche

2.3.3 Kontrollversuche

In diesen Kontrollversuchen wird der Effekt von GIP 10^{-9} M und CTOP 10^{-7} M und 10^{-6} M auf die basale Somatostatinsekretion untersucht. Hierbei soll geklärt werden, ob die prästimulierte Somatostatinsekretion unter GIP über sechzig Minuten konstant ist bzw. ob CTOP per se einen Effekt auf die Somatostatinsekretion hat. Nach einer fünfminütigen Perfusion, in der der Magen mit modifiziertem Krebs-Ringer-Puffer perfundiert wird, wird GIP bzw. CTOP über sechzig Minuten infundiert (Abbildung 5). Kontrollen mit Naloxon werden nicht durchgeführt, da bekannt ist, dass Naloxon per se keinen Effekt auf die gastrale Somatostatinsekretion hat (Madaus et al. 1990).

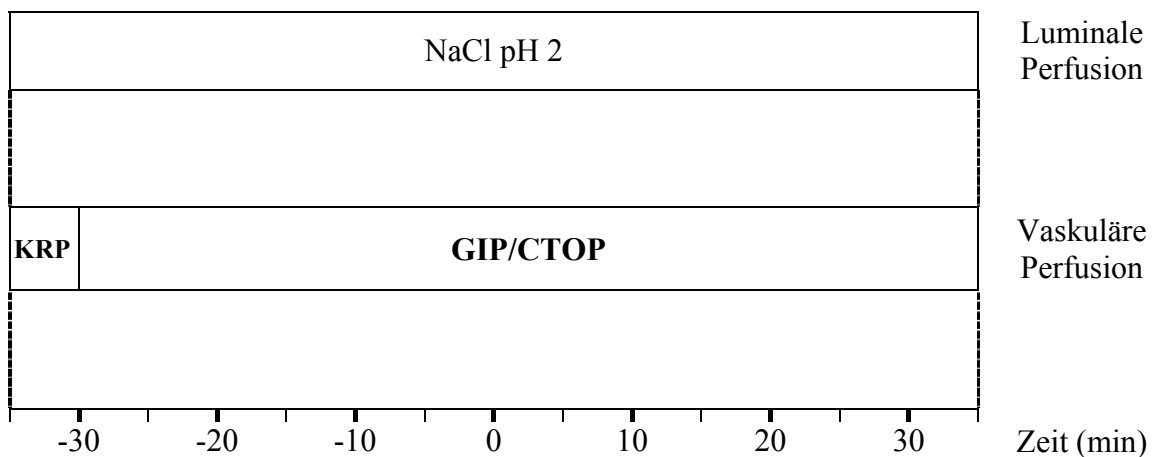


Abbildung 5: Versuchsschema der Kontrollversuche mit GIP 10^{-9} M bzw. CTOP 10^{-7} M, 10^{-6} M

2.4 Versuchsauswertung

2.4.1 Bestimmung der Somatostatin, Gastrin, Bombesin und VIP Perfusatkonzentration

Die Perfusatkonzentrationen werden mit einer radioimmunologischen Methode bestimmt. Das Prinzip des kompetitiven Radioimmunassays besteht darin, dass das zu messende Hormon in einer Plasmaprobe mit radioaktiv markierten Molekülen (Tracer) um die Bindungsstellen an spezifischen Antikörpern konkurriert. Der Anteil an gebundener Radioaktivität verhält sich umgekehrt proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Hormons. Die Somatostatinkonzentration wird mit einem von Harris et al. beschriebenen Radioimmunassay ermittelt (Harris et al. 1978, S. 275-283). Zur Bestimmung der Gastrinperfusatkonzentration wird ein im Handel erhältlicher Gastrin Kit verwendet (Becton und Dickinson, Heidelberg, Deutschland) (Yalow und Berson 1970, S. 1-14). Die Bombesin-like-immunoreactivity (BLI) wird mit einem Radioimmunassay untersucht, der Antikörper gegen Lys⁴-Bombesin enthält (Schusdziarra et al. 1983a, S. 21-29).

Die Reaktivität des vasoactive intestinal polypeptide (VIP) wird mit einem Radioimmunassay bestimmt, erhältlich bei S.R. Bloom (Hammersmith Hospital London, England), der Schweine VIP Antikörper enthält (Willis et al. 1996, S. 59-64).

2.4.2 Substanzen

N/O₂FQ, [Nphe¹]Noc-(1-13)NH₂ und Naloxon (Biotrend Chemikalien GmbH, Köln, Deutschland), gastric inhibitory polypeptide (Schweine GIP, Bachem Biochemica GmbH, Heidelberg, Deutschland) Endomorphin-1 und -2 (Peninsula Laboratories europe LTD, St. Helens, England), CTOP (Peninsula Laboratories, Belmont, California, USA).

2.4.3 Statistische Auswertung

Die Daten aus der radioimmunologischen Bestimmung von Somatostatin werden EDV gerecht erfasst und mit dem Statistikprogramm Sigma Stat ausgewertet. Die Höhe des gemessenen Somatostatin-, Bombesin-, und Gastrinspiegels wird als Mittelwert \pm SEM angegeben sowie in picogramm/min. Die Anzahl der Versuche wird mit n bezeichnet.

Zur statistischen Auswertung innerhalb der Versuchsgruppen wird der vergleichende t-Test verwendet. Zur Bestimmung der Werteunterschiede zwischen den Versuchsgruppen wird der one-way-analysis of variance (ANOVA) Test verwendet, gefolgt vom Dunnett post hoc Test. Werte mit $p < 0,05$ werden als signifikant angegeben.

3. Ergebnisse

3.1 Effekt von Endomorphin auf die basale neuroendokrine Sekretion

Die Infusion von Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M und 10^{-6} M zeigt keinen signifikanten Einfluss auf die basale Freisetzung von Gastrin, Bombesin und VIP. Auch auf die basale Somatostatinsekretion hat Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-12} M und 10^{-10} M keine signifikante Wirkung. Bei der Infusion von Endomorphin-1 10^{-8} M zeigt sich eine geringe Inhibition, die jedoch keine Signifikanz erreicht. Bei der Infusion von Endomorphin-1 10^{-6} M ist eine signifikante Reduktion der Somatostatinsekretion von 73 ± 3 pg/min auf 27 ± 3 pg/min zu erkennen (entsprechend einer integrierten Reduktion von 458 ± 86 pg/10min auf 179 ± 28 pg/10min, $p < 0.05$; $n = 5$) (Abbildung 6).

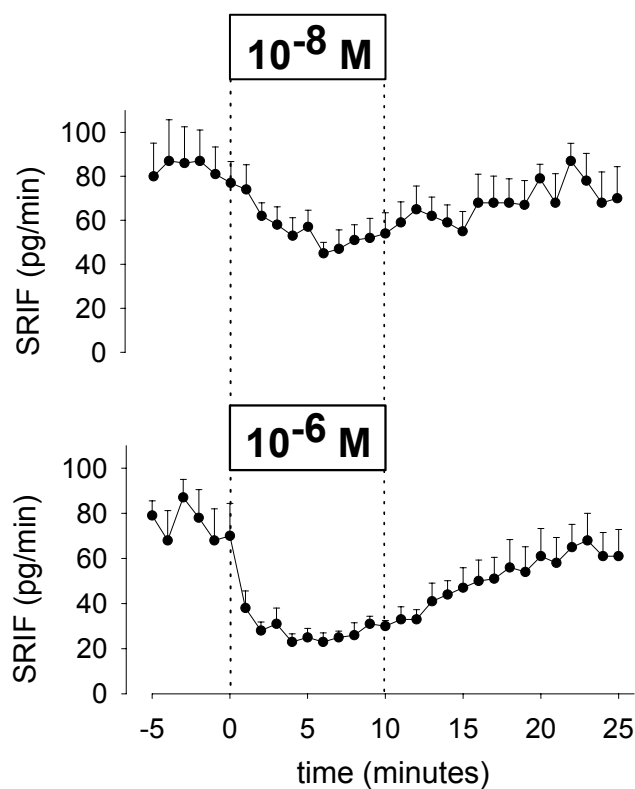


Abbildung 6: Inhibitorischer Effekt von Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-8} M ($n=5$) und 10^{-6} M ($n=5$) auf die basale Somatostatinsekretion aus dem isoliert perfundierten Rattenmagen. Mittelwert \pm SEM

3.2 Effekt von Endomorphin auf die prästimulierte Somatostatinsekretion

GIP hat keinen Effekt auf die basalen Spiegel von Bombesin und Gastrin und VIP. Dagegen wirkt GIP auf die Somatostatinsekretion stimulierend. Die alleinige Infusion von Endomorphin-1 zeigt keinen Einfluss auf die oben genannten Neuropeptide. Wie aus der Abbildung 7 ersichtlich wird, vermag Endomorphin-1 10^{-7} M die mit GIP vorstimulierte Somatostatinsekretion signifikant zu hemmen. So fällt die Somatostatinsekretion während der fünfzehnminütigen Infusion von Endomorphin-1 von 469 ± 65 pg/min auf 184 ± 12 pg/min ab (entspricht einem integrierten Abfall von 3503 ± 327 pg/15min auf 2401 ± 468 pg/15min, $n=6$; $p < 0.05$).

Endomorphin-1 in einer Konzentration von 10^{-6} M hemmt nahezu vollständig die prästimulierte Somatostatinsekretion von 1146 ± 270 pg/min auf 111 ± 14 pg/min. (entspricht einem Abfall der integrierten Sekretion von 11391 ± 44645 pg/15min auf 1363 ± 447 pg/15min, $n=6$; $p < 0.05$).

Neben Endomorphin-1 wird auch die Wirkung von Endomorphin-2 10^{-6} M auf die prästimulierte Somatostatinsekretion untersucht. Auch hierbei lässt sich eine signifikante Hemmung der Somatostatinsekretion von 514 ± 15 pg/min (7999 ± 864 pg/15min) auf 204 ± 45 pg/min (4961 ± 537 pg/15min) nachweisen ($n=6$; $p < 0.05$).

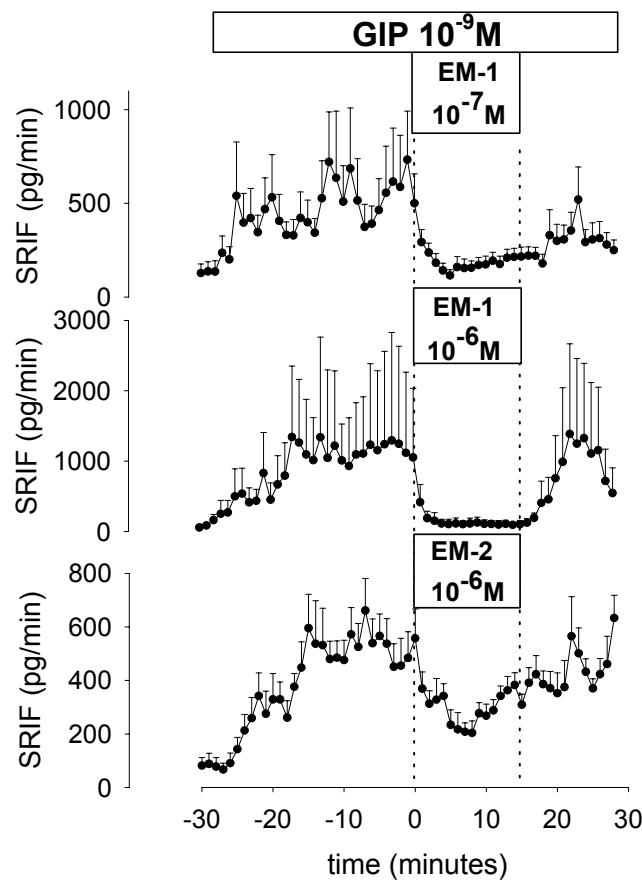


Abbildung 7: Inhibitorischer Effekt von Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-7} M (n=6) und 10^{-6} M (n=6) und Endomorphin-2 in der Konzentration 10^{-6} M (n=6) auf die mit $\text{GIP } 10^{-9}$ M vorstimulierte Somatostatinsekretion aus dem isoliert perfundierten Rattenmagen. Mittelwert \pm SEM

3.3 Effekt von Naloxon auf die durch Endomorphin-1 und Endomorphin-2 induzierte Hemmung der prästimulierten Somatostatinsekretion

In Versuchen mit dem unspezifischen Opiatrezeptorantagonisten Naloxon zeigt sich, dass die Infusion von Naloxon 10^{-6} M den Effekt von Endomorphin-1 10^{-7} M auf $16 \pm 7.9\%$ (n=6, $p < 0.05$) reduziert. Bei Endomorphin-1 10^{-6} M wird der inhibitorische Effekt auf $35 \pm 8.2\%$ (n=4, $p < 0.05$) abgeschwächt. Der verbleibende inhibitorische Effekt von Endomorphin-1 während der Infusion von Naloxon ist signifikant verschieden, verglichen mit der vorangegangenen Prästimulationsphase. In dieser Versuchsreihe wird

auch die Wirkung von Naloxon auf den inhibitorischen Effekt von Endomorphin-2 10^{-6} M untersucht. Dabei schwächt Naloxon den inhibitorischen Effekt von Endomorphin-2 10^{-6} M von $42 \pm 5.0\%$ auf $20 \pm 5.0\%$ ($n=13$; $p<0.05$) (Abbildung 8), was immer noch signifikant verschieden von der vorangegangenen Prästimulationsphase ist.

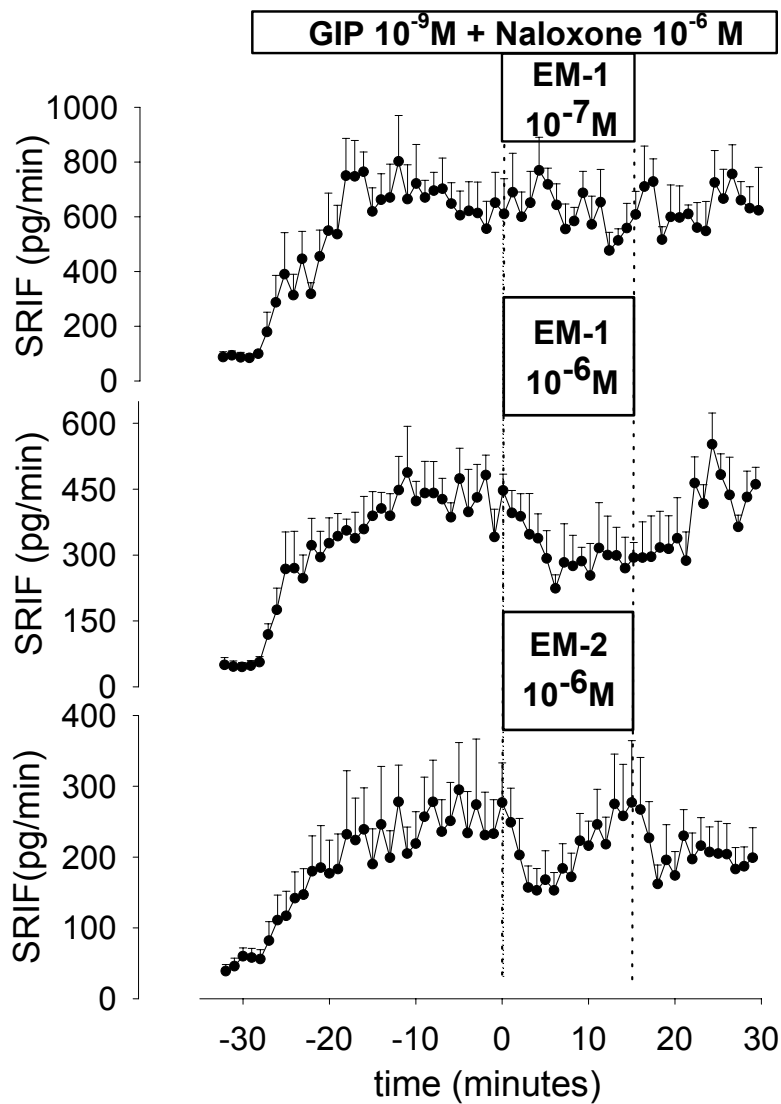


Abbildung 8: Effekt von Naloxon 10^{-6} M auf die Endomorphin-1 10^{-7} M ($n=6$) und 10^{-6} M ($n=4$), sowie Endomorphin-2 10^{-6} M ($n=13$) induzierte Hemmung der mit GIP 10^{-9} M prästimulierten Somatostatinssekretion. Mittelwert \pm SEM

3.4 Effekt von CTOP auf die durch Endomorphin-1 und Endomorphin-2 induzierte Hemmung der prästimulierten Somatostatinsekretion

Zur Überprüfung der Frage, über welchen Subtyp von Opiatrezeptoren Endomorphin-1 seine Wirkung entfaltet, wird der spezifische OP_3 Rezeptorantagonist CTOP in verschiedenen Konzentrationen (10^{-7} M, 10^{-6} M und 10^{-5} M) mit zwei Konzentrationen von Endomorphin-1 (10^{-7} M und 10^{-6} M) getestet. Die als Kontrollversuch durchgeführte alleinige Infusion von CTOP hat keinen Einfluss auf die Somatostatinsekretion. Die Infusion von CTOP schwächt den inhibitorischen Effekt sowohl von Endomorphin-1 10^{-7} M als auch 10^{-6} M signifikant ab. CTOP schwächt den inhibitorischen Effekt von Endomorphin-1 10^{-7} M von $67 \pm 4\%$ auf $34 \pm 5\%$ (10^{-7} M, $n=6$, $p<0.05$), $33 \pm 3\%$ (10^{-6} M, $n=5$, $p<0.05$) bzw. $30 \pm 9\%$ (10^{-5} M, $n=6$, $p<0.05$) ab (Abbildung 9). Der inhibitorische Effekt von Endomorphin-1 10^{-6} M wird durch CTOP von $94 \pm 2\%$ auf $60 \pm 11\%$ (10^{-7} M, $n=6$, $p<0.05$), $61 \pm 5.5\%$ (10^{-6} M, $n=7$, $p<0.05$) bzw. $51 \pm 13\%$ (10^{-5} M, $n=4$, $p<0.05$) reduziert (Abbildung 10).

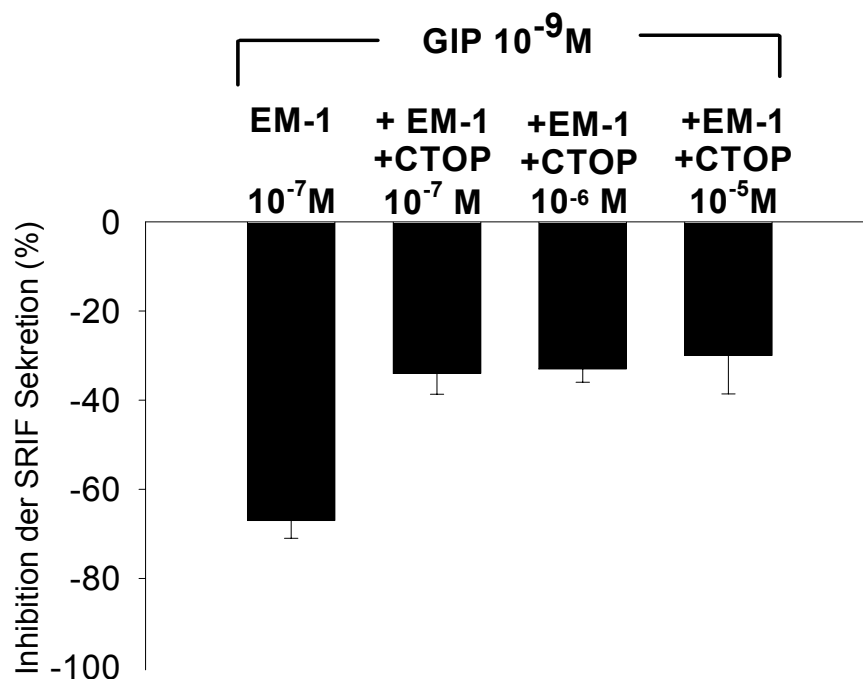


Abbildung 9: Effekt von CTOP 10^{-7} M, 10^{-6} M und 10^{-5} M auf die Endomorphin-1 10^{-7} M induzierte Hemmung der mit GIP 10^{-9} M prästimulierten Somatostatinsekretion

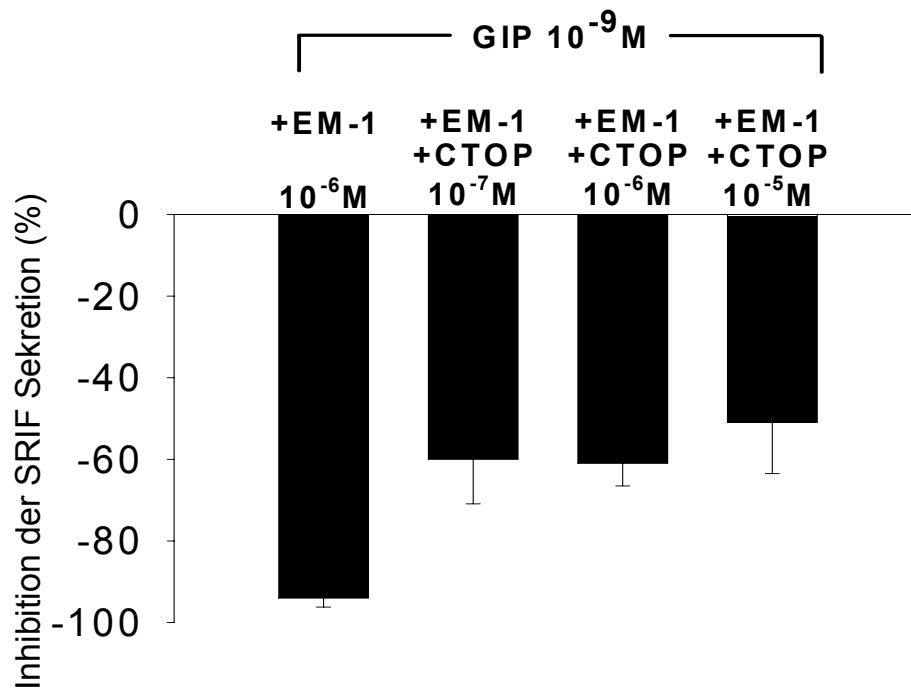


Abbildung 10: Effekt von CTOP 10⁻⁷ M, 10⁻⁶ M und 10⁻⁵ M auf die Endomorphin-1 10⁻⁶ M induzierte Hemmung der mit GIP 10⁻⁹ M prästimulierten Somatostatinsekretion

3.5 Effekt von N/OFQ auf die basale neuroendokrine Sekretion

Die Infusion von N/OFQ in den Konzentrationen 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M, und 10^{-6} M zeigt keine signifikante Wirkung auf die basale Freisetzung der Neuropeptide Bombesin, Gastrin, Substanz P und vasoactive intestinal polypeptide (VIP). Allerdings zeigt N/OFQ in der Konzentration 10^{-6} M eine inhibitorische Tendenz auf die basale Somatostatinfreisetzung, die von 60 ± 3 auf ein Minimum von 31 ± 6 pg/min ($n=4$) abfällt. Nach Beendigung der N/OFQ Infusion tritt ein Rebound auf, der den initialen Basalsomatostatinspiegel signifikant übersteigt (106 ± 2 pg/min, $p < 0.05$) (Abbildung 11).

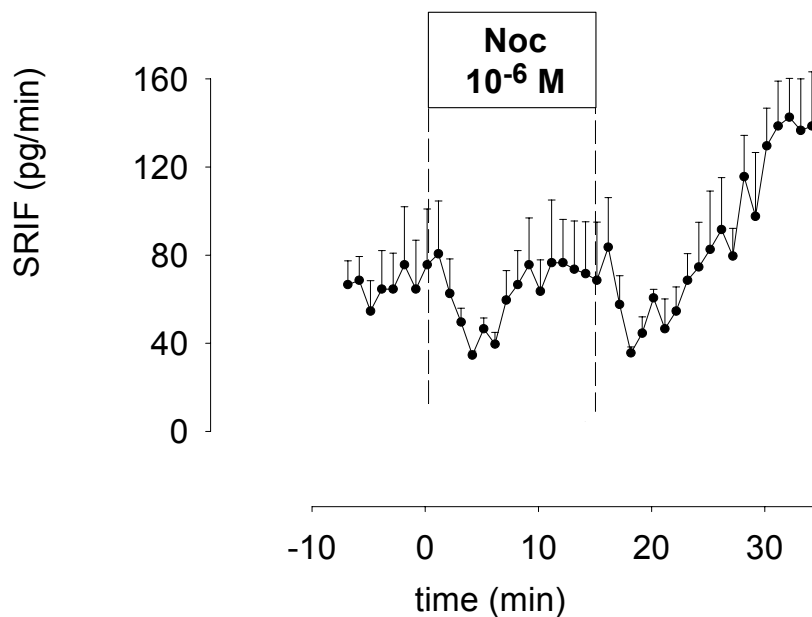


Abbildung 11: Effekt von N/OFQ auf die basale Somatostatinsekretion. Mittelwert \pm SEM

3.6 Effekt von N/OFQ auf die prästimulierte Somatostatinsekretion

Um den inhibitorischen Effekt von N/OFQ auf die Somatostatinfreisetzung näher zu untersuchen, wird die Somatostatinsekretion analog zu den Endomorphin Versuchen mit gastric inhibitory polypeptide (GIP) 10^{-9} M vorstimuliert. N/OFQ 10^{-8} M verursacht eine vorübergehende Inhibition der vorstimulierten Somatostatinsekretion. Es kommt innerhalb der ersten sieben Minuten zu einem Abfall der Werte von 241 ± 39 auf 162 ± 33 pg/min, danach steigen die Prästimulationswerte aber wieder auf 246 ± 21 pg/min an. Dies entspricht einem Abfall von $45 \pm 11\%$ ($n=4$; $p<0.05$ vs GIP). In der höheren Dosis von 10^{-6} M inhibiert N/OFQ die prästimulierte Somatostatinsekretion von 463 ± 51 auf 301 ± 40 pg/min ($n=6$; $p<0.05$ vs GIP). Dies entspricht einem Prozentwert von $58 \pm 6\%$ (Abbildung 12).

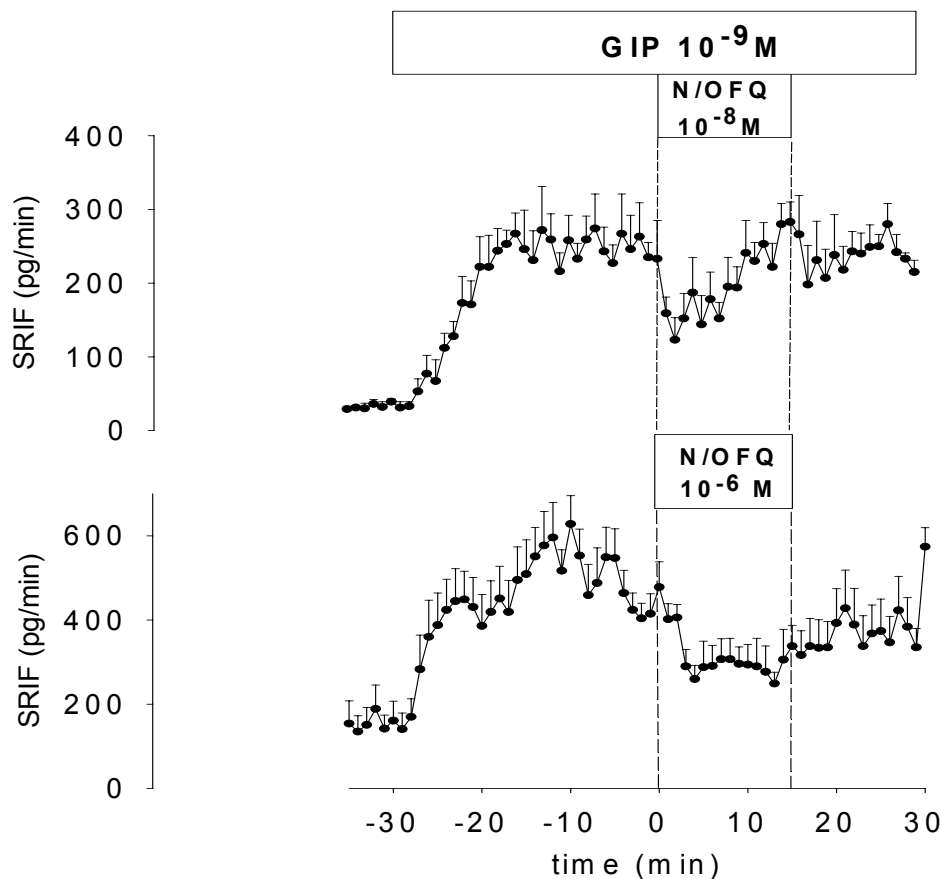


Abbildung 12: Effekt von N/OFQ 10^{-8} M ($n=4$) und 10^{-6} M ($n=6$) auf die mit GIP 10^{-9} M prästimulierte Somatostatinfreisetzung. Mittelwert \pm SEM

3.7 Effekt von [Nphe¹]N/OFQ(1-13)NH₂ bzw. Naloxon auf die durch N/OFQ induzierte Hemmung der prästimulierten Somatostatinsekretion

Der spezifisch kompetitive NOP Antagonist [Nphe¹]N/OFQ(1-13)NH₂ hemmt in einer Konzentration von 10⁻⁶ M die Wirkung von N/OFQ 10⁻⁸ M vollständig (6±11%, n=8, p<0.05 vs GIP und N/OFQ) (Abbildung 14). Dagegen wird der Effekt von N/OFQ in der Konzentration 10⁻⁶ M nicht durch [Nphe¹]N/OFQ(1-13)NH₂ 10⁻⁶ M beeinflusst (-49±9%; n=3, ns vs GIP und N/OFQ) (Abbildung 13). Auch unter Verwendung einer höheren Konzentration von [Nphe¹]N/OFQ(1-13)NH₂ (10⁻⁵ M) wird der inhibitorische Effekt von N/OFQ auf die vorstimulierte Somatostatinfreisetzung nicht beeinflusst (-69±10%, n=6, ns vs GIP und N/OFQ) (Abbildung 13). Der Opiatrezeptorantagonist Naloxon in der Konzentration 10⁻⁶ M vermag die durch Infusion von N/OFQ 10⁻⁸ M induzierte Hemmung der Somatostatinsekretion nicht signifikant zu beeinflussen (-32±9%, n=8, ns vs GIP und N/OFQ) (Abbildung 14). Unter begleitender Infusion von Naloxon 10⁻⁶ M kann der Effekt von N/OFQ 10⁻⁶ M auf die prästimulierte Somatostatinsekretion allerdings inhibiert werden (-21±6%, n=8, p<0.05 vs GIP and N/OFQ) (Abbildung 15).

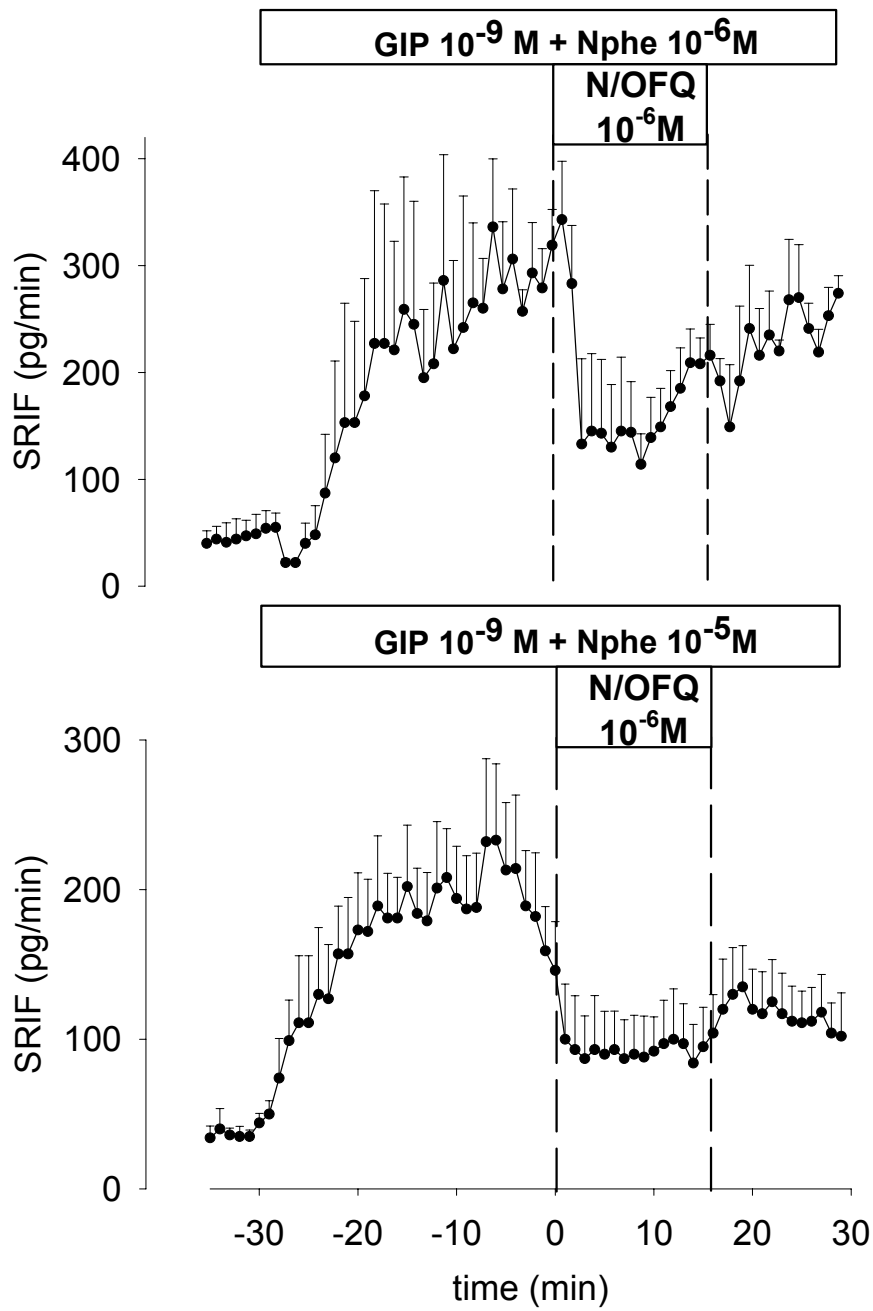


Abbildung 13: Effekt von [Nphe¹]Noc-(1-13)NH₂ 10⁻⁶ M (n=3) und 10⁻⁵ M (n=6) auf die N/OFQ 10⁻⁶ M induzierte Hemmung der mit GIP 10⁻⁹ M prästimulierten Somatostatinsekretion. Mittelwert ± SEM

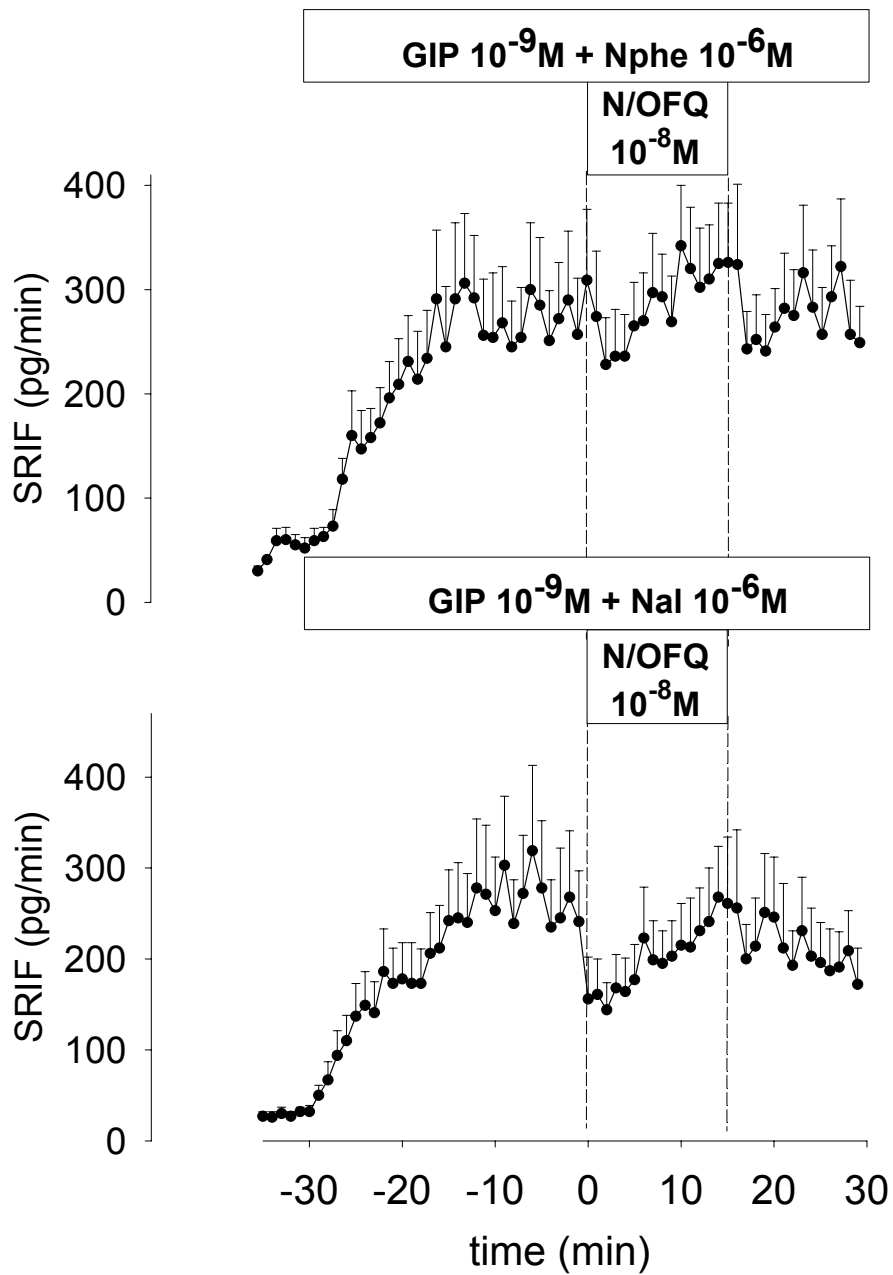


Abbildung 14: Effekt von Nphe¹]Noc-(1-13)NH₂ 10⁻⁶ M (n=8) und Naloxon 10⁻⁶ M (n=8) auf die durch N/OFQ 10⁻⁸ M induzierte Hemmung der mit GIP 10⁻⁹ M prästimulierten Somatostatinsekretion. Mittelwert ± SEM

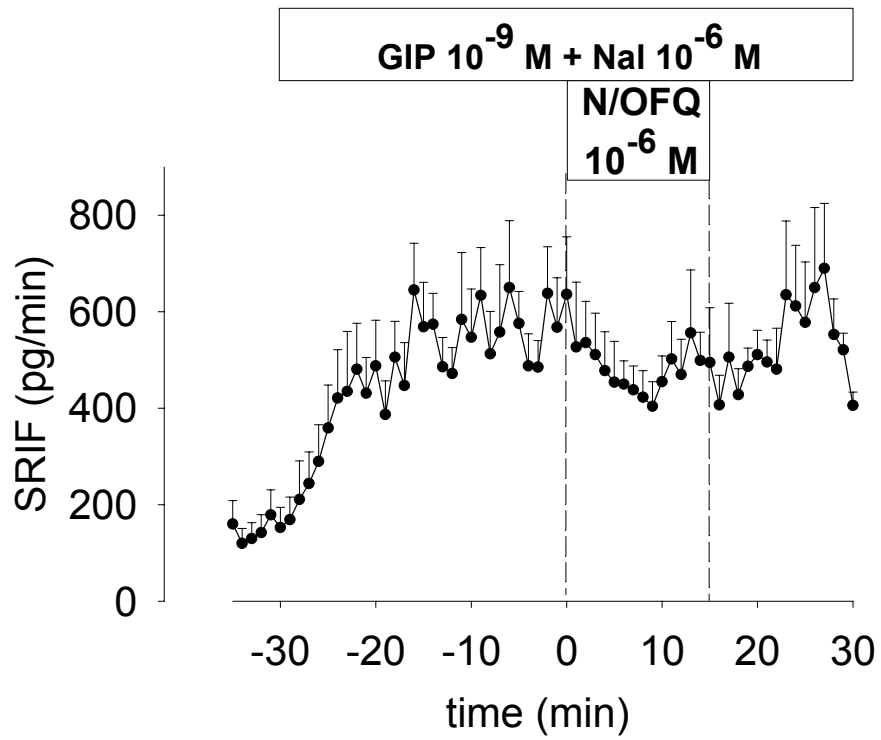


Abbildung 15: Effekt von Naloxon 10^{-6} M (n=8) auf die N/OFQ 10^{-6} M induzierte Hemmung der mit GIP 10^{-9} M prästimulierten Somatostatinsekretion. Mittelwert \pm SEM

4. Diskussion

4.1 Regulation der Somatostatinsekretion

4.1.1 Struktur

1968 wurde während Studien zur Verteilung des Wachstumshormon-Releasing-Faktors (GHRF) ein Peptid im Hypothalamus der Ratte entdeckt, das die Wachstumshormonsekretion hemmt (Krulich et al. 1968, S. 783-790). Guillemin beschrieb 1973 dieses zyklische Peptid, bestehend aus 14 Aminosäuren, erstmals als Somatostatin-14. Die für die biologische Wirkung verantwortliche Aminosäuresequenz liegt im Zentrum des Moleküls und besteht aus den Aminosäuren Phenylalanin, Tryptophan, Lysin und Threonin (Abbildung 17). Kurze Zeit später wurde deutlich, dass das native Somatostatin-14 nur ein Vertreter einer Gruppe von verwandten Peptiden darstellt, die u.a. das erweiterte Somatostatin-28, einige artspezifische Varianten und größere Prohormone umfasst. Heute weiß man, dass Somatostatin in drei Molekularformen existiert. Somatostatin-14 (SS 14), bestehend aus 14 Aminosäuren, wurde aus dem Hypothalamus Gewebe von Schafen isoliert (Brazeau et al. 1973, S. 77-79, Burgus et al. 1973, S. 684-688). Die zweite Molekularform, das Somatostatin-28 (SS 28), wurde dagegen aus Schweinedarm isoliert (Pradayrol et al. 1980, S. 55-58). Diese Molekularform von Somatostatin, die als Vorstufe des SS 14 angesehen werden kann und somit eine Funktion als Prohormon besitzt, setzt sich aus 28 Aminosäuren zusammen, wobei die ersten 14 Aminosäuren identisch mit denen von SS 14 sind, gefolgt von den Aminosäuren Ser-Ala-Asn-Ser-Asn-Pro-Ala-Met-Ala-Pro-Arg-Glu-Arg-Lys. SS 28 ist auch unter dem Namen somatotropin release-inhibiting factor (SRIF) bekannt. Eine dritte Molekularform wurde aus den Inselzellen des Pankreas des Katzenfisches isoliert. Dieses Peptid besteht aus 22 Aminosäureresten, wobei davon 7 identisch mit dem C-terminalen 14-Aminosäurerest des SS 14 sind (Oyama et al. 1980a, S. 2251-2254). Mittlerweile ist auch die Gensequenz des menschlichen Präprosomatostatin sowie die Lage des Gens auf der DNA bekannt (Shen und Rutter 1984, S. 168-171). Das menschliche Somatostatingen ist auf Chromosom 3 lokalisiert (NAYLOR et al. 1983, S. 2686-2689) und besteht aus 116 Aminosäuren. Dieses Präprosomatostatin kann durch Abspaltung von 24 Aminosäuren in das Prosomatostatin

übergehen, welches aus 92 Aminosäuren besteht. Von diesem Prohormon kann das oben genannte SS 28 abgespalten werden, was wiederum selbst ein Prohormon darstellt, da sich hiervon SS 14 abspaltet. Bei Ratten gibt es jedoch im Gegensatz zum Menschen zwei verschiedene Wege, wie SS 14 gebildet werden kann. Im Gehirn wird der oben beschriebene Weg gewählt. Im Pankreas jedoch wird das SS 14 direkt aus dem Prosomatostatin gebildet, ohne Bildung der Zwischenform SS 28 (Abbildung 16) (Walsh 1987, S. 213).

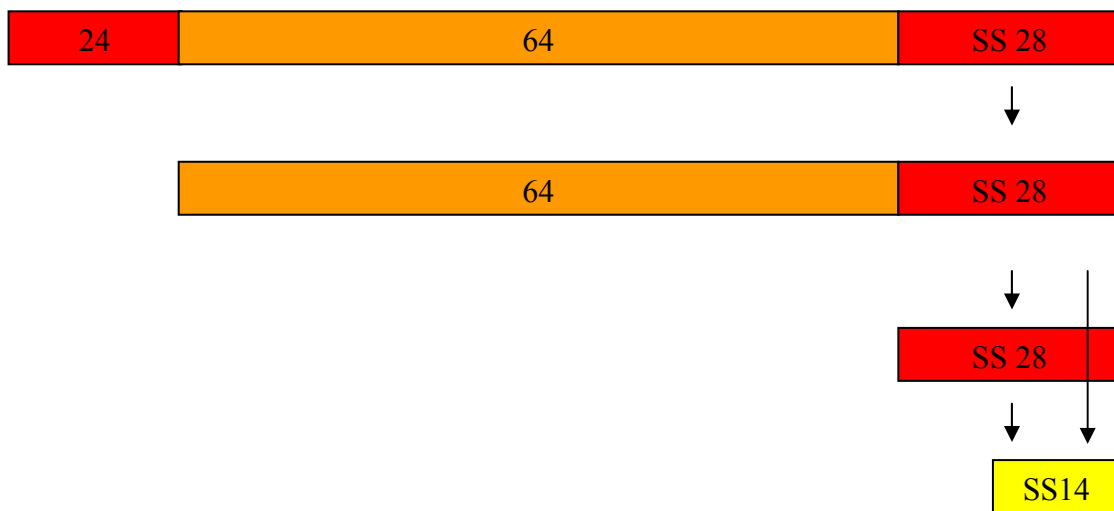


Abbildung 16: Darstellung des menschlichen Präprosomatostatins und seiner aktiven Molekularformen

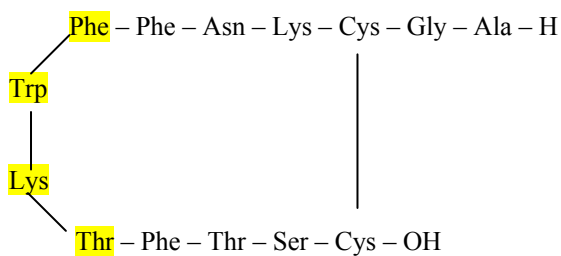


Abbildung 17: Chemische Struktur von Somatostatin, Aminosäuren von essentieller Bedeutung für die Rezeptorbindung

4.1.2 Vorkommen

Somatostatin kommt sowohl in Neuronen des Zentralnervensystems, des extrinsischen und intrinsischen Nervensystems als auch in endokrinen Zellen des Gastrointestinaltraktes und des Pankreas, den so genannten D-Zellen, vor. Außerdem wurde Somatostatin in zahlreichen anderen Organen wie z.B. Schilddrüse, Niere, Nebenniere, Prostata, Placenta und Unterkieferdrüse nachgewiesen. Die prozentuale Verteilung von Somatostatin im menschlichen Körper lautet wie folgt: Gastrointestinaltrakt 65%, Gehirn 25%, Pankreas 5%, andere Organe 5% (Patel 1980, S. 1297-1301, Reichlin 1983, S. 1495-1501, Patel et al. 1981, S. 1943-1949). Im Zentralnervensystem findet man die höchste Konzentration an Somatostatin vor allem in der anterioren periventriculären Region des Hypothalamus (Finley et al. 1981, S. 2173-2192, Johansson et al. 1984, S. 265-339, Krisch 1979, S. 1389-1390, Patel und Reichlin 1978, S. 523-530, Merchenthaler 1989, S. 2812-2821). Im peripheren Nervensystem sind Somatostatin enthaltende Neurone hauptsächlich im Plexus myentericus der Muskulatur des Magenantrums und des Darms nachgewiesen worden (Keast et al. 1984, S. 299-308). Versuche haben gezeigt, dass diese Neurone vor allem Somatostatin-14 enthalten (Penman et al. 1983, S. 53). Im endokrinen bzw. parakrinen Bereich wird Somatostatin in den sogenannten D-Zellen des Gastrointestinaltraktes und des Pankreas synthetisiert, welche im Magen in Nachbarschaft der Gastrin produzierenden und speichernden G-Zellen in der Lamina propria des Magenantrums lokalisiert sind. Außerdem kommen D-Zellen im Magenfundus vor, wo sie benachbart zu den Parietalzellen sind. Die D-Zellen des Magenantrums gehören histologisch zum „open-cell type“, im Gegensatz zu den D-Zellen des Fundus, die keinen Kontakt zum Magenlumen haben und daher dem „closed-cell type“ zugeordnet werden. Im Pankreas wird Somatostatin in den D-Zellen der Langerhans'schen Inseln gebildet (Löffler 1997, S. 788-811). Studien an Schweinen haben gezeigt, dass im Magen und im Pankreas vor allem Somatostatin-14 ausgeschüttet wird, während im Darm hauptsächlich Somatostatin-28 sezerniert wird (Baldissera et al. 1985, S. 251-262).

In hoher Dichte:	In geringer Dichte:
<ul style="list-style-type: none">• Im zentralen und peripheren Nervensystem (Zelltyp: Neuronen)	<ul style="list-style-type: none">• Schilddrüse (Zelltyp: Subpopulation der C-Zellen, in Koexistenz mit Calcitonin)
<ul style="list-style-type: none">• Im Pankreas (Zelltyp: D-Zellen)	<ul style="list-style-type: none">• Nebennieren (Zelltyp: meduläre Zellen)
<ul style="list-style-type: none">• Im Darm (Zelltyp: D-Zellen, Neuronen)	<ul style="list-style-type: none">• Unterkieferdrüse (Zelltyp: D-Zellen)
<ul style="list-style-type: none">• Im Magen (Zelltyp: D-Zellen, Neuronen)	<ul style="list-style-type: none">• Niere• Prostata• Placenta

Abbildung 18: Vorkommen von Somatostatin in verschiedenen Körperorganen

4.1.3 Somatostatinrezeptoren

An der Vermittlung des vorwiegend inhibitorischen Effekts von Somatostatin sind hochaffine Plasmamembranrezeptoren beteiligt. Es gelang die Charakterisierung von fünf Subtypen von humanen Somatostatin Rezeptoren, deren Aminosäuresequenz eine Homologie von 42 bis 60 Prozent aufweist. Die Gene für diese Subtypen sind auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert, was auf unterschiedliche Funktionen der Rezeptoren in verschiedenen Organen hinweist. Alle fünf Subtypen sind über einen G-Protein-abhängigen Kopplungsmechanismus funktionell an intrazelluläre Second-messenger Systeme gebunden. In den verschiedenen Organen sind distinkte, aber auch überlappende Muster der Rezeptorsubtypen nachweisbar.

So sind fünf rezeptorvermittelte membrangebundene Wirkungsmechanismen von Somatostatin bekannt:

1. Hemmung der Adenylatcyclase
2. Schließen von Calcium-Kanälen
3. Öffnen von Kalium-Kanälen
4. Aktivierung der Tyrosin-Phosphatase
5. Hemmung der vesikulären Exozytose

4.1.4 Wirkungsmechanismen

Somatostatin vermittelt seine Wirkung über parakrinem, neurokrinem und endokrinem Weg. Larsson et al. postulierten als erste den parakrinen Wirkungsmechanismus von Somatostatin. Sie zeigten, dass D-Zellen zytoplasmatische Ausläufer haben, über die sie mit den Parietalzellen des Fundus bzw. den G-Zellen des Antrums Kontakt herstellen (Larsson et al. 1979, S. 1393-1395). Jedoch kann nicht jede D-Zelle mit einer Parietalzelle über einen solchen Ausläufer verbunden sein, da die Anzahl der Parietalzellen viel höher als die der D-Zellen ist. Daher wird angenommen, dass Somatostatin über Regulationskanäle oder generalisierte Diffusion in die Parietalzellen gelangt (Tadataka 1987, S. 138). Die D-Zellen des Antrums und des Fundus beeinflussen aufgrund ihrer Lokalisation sowohl die Säure- als auch die Gastrinsekretion. Die Ausschüttung von Somatostatin in das Interstitium kann neben dem oben beschriebenen parakrinen Weg auch über den neurokrinen Weg erfolgen. Dabei erfolgt die Somatostatinausschüttung aus Nervenzellen des peripheren und zentralen Nervensystems. Somatostatin kann seine Wirkung auch endokrin über Ausschüttung in die Blutbahn entfalten. Dadurch kann Somatostatin eine größere Zellzahl innerhalb eines Organs beeinflussen und außerdem können verschiedene Organe erreicht werden. Von großer Bedeutung ist auch die Tatsache, dass ein Zusammenwirken von mehreren Somatostatin produzierenden Organen an einem Zielgewebe möglich ist (Schusdziarra 1996, S. 35-53). Bei Hunden und Menschen wird

Somatostatin überwiegend über den endokrinen und parakrinen Weg ausgeschüttet, während bei Ratten die Somatostatinausschüttung hauptsächlich über den parakrinen Weg erfolgt (Chayvialle et al. 1980, S. 844-852, Wass et al. 1980, S. 569-574, Berelowitz et al. 1978, S. 1410-1414).

4.1.5 Biologische Effekte

4.1.5.1 Inhibition der Magensäure- und Gastrinsekretion

Die zwei Hauptfunktionen von Somatostatin im Magen sind die Hemmung der Magensäure- und der Gastrinsekretion. Somatostatin inhibiert sowohl die basale Gastrinsekretion als auch die durch Nahrung und neuronale Einflüsse stimulierte Gastrinsekretion (Chiba et al. 1980a, S. 67-71).

Eine interessante Entdeckung machten Seal et al.. Sie untersuchten bei Hunden die Wirkung der Somatostatinsekretion auf die Magensäuresekretion nach einer Mahlzeit. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass die durch eine Mahlzeit stimulierte Magensäuresekretion sowohl durch geringe Konzentrationen an Somatostatin-14 als auch Somatostatin-28 gehemmt wird, während diese Konzentrationen auf die Hemmung der durch eine Mahlzeit stimulierten Gastrinsekretion keinen Effekt haben (Seal et al. 1982, G97-G102). Colturi et al. zeigten am Menschen, dass Somatostatin in physiologisch zirkulierenden Konzentrationen die Magensäuresekretion zu hemmen vermag, während die Inhibition der Gastrinsekretion davon jedoch unbeeinflusst bleibt (Colturi et al. 1984, S. 417-423). Die hemmende Wirkung von Somatostatin auf die Magensäuresekretion wurde in späteren Studien von Colturi et al., Loud et al. und Uvnas-Wallensten et al. erneut belegt. So führte die Infusion von physiologischen Somatostatinkonzentrationen, die einem postprandialen Plasmaspiegel entsprachen, zu einer deutlichen Reduktion der Magensäurekonzentration bei den untersuchten Hunden und beim Menschen, so dass man daraus den Schluss zog, dass Somatostatin ein wirksamer hormoneller Regulator der Parietalzellfunktion ist. (Colturi et al. 1983, S. 60-65, Loud et al. 1985, S. 445-449, Uvnas-Wallensten et al. 1981, S. 397-408).

Diesen oben genannten Studien von Colturi et al., die besagen, dass Somatostatin seine Wirkung über Zirkulation vermittelt, steht die Studie von Short et al. entgegen. In dieser Studie wurde Antisomatostatin-Antiserum in einen isolierten Rattenmagen infundiert

und es resultierte daraus ein starker Anstieg der Magensäuresekretion. Es wurde somit vermutet, dass Somatostatin auch eine direkte zelluläre Wirkung besitzt, welche wahrscheinlich durch parakrine Beeinflussung der Parietalzelle im Corpus vermittelt wird (Short et al. 1985, S. 984-988). Erwähnenswert ist die Tatsache, dass Unterschiede zwischen den für die Inhibition der Magensäuresekretion verantwortlichen Somatostatinrezeptoren und anderen Somatostatinrezeptoren bestehen. So vermögen synthetische Somatostatin Analoga die Magensäuresekretion nicht zu hemmen, während sie aber sehr wirksame Antagonisten bezüglich der Wachstumshormon-, Insulin- und Glukagonsekretion sind (Vale et al. 1978, S. 1391-1401).

Zu den Wirkungsmechanismen der Hemmung der Gastrinsekretion durch Somatostatin wurden auch zahlreiche Studien durchgeführt. Chiba et al. zeigten, dass die Infusion von Anti-Somatostatin-Antiserum sowohl bei anästhesierten Ratten als auch am isoliert perfundierten Magen den Gastrinspiegel nicht beeinflusst, so dass eine endokrine Wirkung unwahrscheinlich erscheint. Erst nachdem das Antiserum einem Medium zugefügt wurde, in dem antrale Magenmukosa inkubiert wurde, stieg die Gastrinfreisetzung signifikant an. Man nahm nun an, dass Somatostatin seine Wirkung auf die Gastrinsekretion auch über parakrinem Weg entfaltet (Chiba et al. 1981, S. 321-326).

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Experimenten von Saffouri et al. Sie infundierten isolierten und perfundierten Rattenmägen Somatostatin und beobachteten dabei, dass die Gastrinspiegel absanken, wogegen bei venöser Infusion von Antisomatostatin-Antiserum die Plasmagastrinspiegel anstiegen. Damit hatten sie die reziproke Sekretion von Gastrin und Somatostatin nachgewiesen (Saffouri et al. 1979, S. 1749-1754). Weitere Experimente bezüglich dieser Thematik wurden von DuVal et al. durchgeführt. Diese Arbeitsgruppe zeigte, dass sowohl die basale als auch die stimulierte Gastrinsekretion durch zirkulierendes Somatostatin supprimiert wird (DuVal et al. 1981, S. 242-247).

In Untersuchungen an Patienten mit Gastrin produzierenden Tumoren zeigten Bloom et al., dass nach Infusion von Somatostatin die Magensäurekonzentration und auch die Serumgastrinsekretion abnahmen. Nachdem die Infusion von Somatostatin gestoppt wurde, konnte ein deutlicher Wiederanstieg der Serumgastrinsekretion verzeichnet werden (Bloom et al. 1974, S. 1106-1109).

Somatostatin beeinflusst die Gastrinsekretion über einen direkten Wirkungsmechanismus. Dies zeigten Ergebnisse aus einer Rezeptorbindungsstudie an

isolierten G-Zellen (Park et al. 1987, S. 14190-14196). Endogenes Somatostatin blockiert sowohl die Freisetzung von Gastrin aus den sekretorischen Granula der G-Zelle als auch die Gastrinsynthese, in dem es direkt auf das zuständige Gen Einfluss nimmt (Karnik et al. 1989, S. 3367-3372). Umgekehrt kann durch die Gabe von Somatostatinantikörpern die Gastrinsekretion gesteigert werden (Saffouri et al. 1979, S. 1749-1754). Die Applikation in vivo hat, wie oben schon erwähnt, keinen Einfluss auf die Gastrinsekretion (Chiba et al. 1981, S. 321-326).

4.1.5.2 Andere biologische Effekte

Neben der oben beschriebenen Wirkung auf die Magensäure- und Gastrinsekretion hat Somatostatin auch Wirkung auf das Zentralnervensystem, auf den Hypothalamus, die Hypophyse, Schilddrüse, Niere und Nebenniere sowie auf den gesamten Gastrointestinaltrakt und auf das Pankreas. Außerdem besitzt Somatostatin wirksame hämodynamische Effekte (Patel 1980, S. 1297-1301, Reichlin 1983, S. 1495-1501, 1556-1563, Patel et al. 1981, S. 1943-1949). In der Hypophyse hemmt Somatostatin unter anderem die Ausschüttung des Wachstumshormons (STH) und des thyreotropen Hormons (TSH) aus dem Vorderlappen (Patel und Srikant 1985, S. 551-567, Oyama et al. 1980, S. 993-1002). Erwähnenswert ist, dass gastrointestinales Somatostatin, das über den Blutweg in die Hypophyse gelangt, nicht in der Lage ist, STH zu inhibieren, da die gastrointestinalen Somatostatinkonzentrationen deutlich geringer sind als die hypophysären Somatostatinkonzentrationen (Chihara et al. 1981, S. 2279-2281, Daniels und Martin 1995, S. 2222-2223). Im Gastrointestinaltrakt inhibiert Somatostatin die Sekretion von Sekretin, CCK, VIP, GIP, Motilin, Enteroglukagon und Neurotensin sowie die Sekretion von Pepsin, Intrinsic Factor und Kolonflüssigkeit. Weiterhin hemmt Somatostatin die Magenentleerung, die Gallenblasenkontraktion und die Dünndarmsegmentierung. Außerdem ist Somatostatin für die Steigerung der Resorption von Elektrolyten und Wasser verantwortlich. Im endokrinen Pankreas hat Somatostatin eine hemmende Wirkung auf die Insulin- und Glukagonsekretion. Im exokrinen Bereich inhibiert es die Bikarbonat und Enzymsekretion. Diese Wirkungen werden über parakrinem Weg vermittelt. Über endokrinem Weg wird die hemmende Wirkung auf die Magensäure- und Gastrinsekretion vermittelt. Die neurokrin vermittelte Wirkung auf die Durchblutung äußert sich in einer Verminderung der Mesenterialdurchblutung und

Erhöhung des Gefäßwiderstandes. Im Blut ist sowohl Somatostatin-14 als auch Somatostatin-28 nachweisbar. Ihre biologischen Wirkungen sind qualitativ vergleichbar, allerdings scheint Somatostatin-28 bezüglich der Hemmung der GH-, TSH-, Insulin-, CRF- und Vasopressinsekretion potenter zu sein, während Somatostatin-14 effektiver die Glukagon- und Magensaftsekretion hemmt sowie die Splanchnikusdurchblutung und intestinale Motilität beeinflusst und auf zerebrokortikale Neurone wirkt. Im Pankreas dagegen können Somatostatin-28 und Somatostatin-14 in Bezug auf die Hemmung der exokrinen Sekretion als gleichwertig angesehen werden (Daniels und Martin 1995, S. 2222-2223, Walsh 1987, S. 181-253).

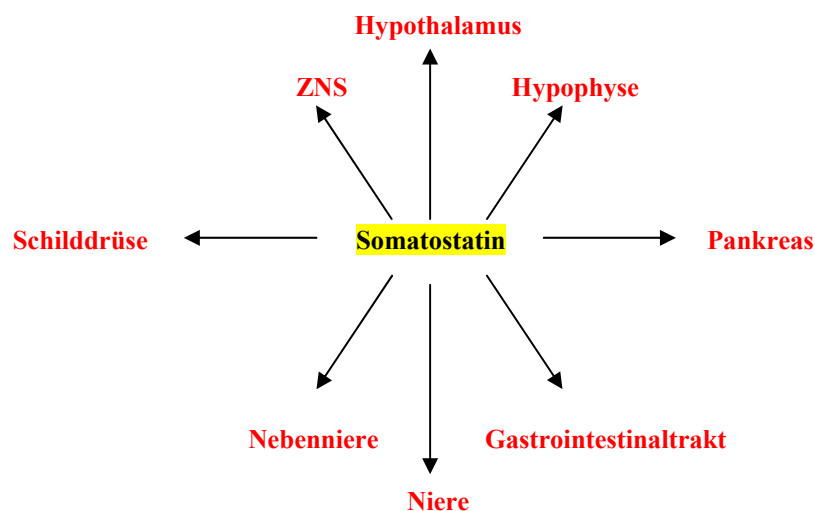


Abbildung 19: Zielorgane des physiologischen Somatostatins

4.1.6 Basale Somatostatinfreisetzung

Die basalen Somatostatinspiegel im Blut sind hauptsächlich durch die Freisetzung aus den vom N. splanchnicus versorgten Organen bedingt. Bezüglich der basalen Somatostatinsekretion wurden zahlreiche Studien an Hunden, Ratten und am Menschen durchgeführt, in denen man zu ähnlichen Ergebnissen kam. So fand man bei Hunden die höchsten Basalspiegel in den Magen- und Pankreasvenen. Geringere Konzentrationen ließen sich in der Pfortader, in den Leberarterien und in der V. cava inferior feststellen.

Vergleichbare Ergebnisse fanden sich bei Ratten und beim Menschen (Berelowitz et al. 1978, S. 1410-1414, Schusdziarra et al. 1978, S. 509-518). In weiteren Versuchen mit Hunden hat sich gezeigt, dass die basale Somatostatinsekretion durch adrenerge und cholinerge sowie hauptsächlich durch vagale Mechanismen beeinflusst wird. Eine wichtige stimulierende Rolle spielen außerdem Prostaglandine, wogegen histaminerge H_2 Rezeptoren keinen Einfluss auf den basalen Somatostatinspiegel haben (Schusdziarra 1983, 69-84).

4.1.7 Regulationsmechanismen

Der Weg einer Mahlzeit kann in drei verschiedene Stadien eingeteilt werden, die ineinander übergreifen. So unterscheidet man die cephale, gastrale und intestinale Phase. In der cephalen Phase wird sowohl durch Geschmacks- und Geruchsempfindungen als auch durch optische Reize Somatostatin ausgeschüttet. In der darauffolgenden gastralen Phase wird die Somatostatinsekretion durch die Magendehnung und durch die Anwesenheit bestimmter Substanzen gesteigert. In der intestinalen Phase kommt es zur Entleerung des Speisebreis in das Duodenum und durch den damit verbundenen intraduodenalen Reiz zu einer Somatostatinsekretion.

4.1.8 Cephale Phase

In der cephalen Phase werden durch den Geschmack der Nahrung, den Geruch und durch den Anblick der Mahlzeit Nervenzellen im periventriculären und medialen präoptischen Bereich des vorderen Hypothalamus und im Hirnstamm erregt, was wiederum zu einer Aktivierung von Vagusfasern im hinteren motorischen Kerngebiet und Nukleus ambiguus führt. Danach folgt eine Aktivierung von efferenten Vagusfasern, die den Gastrointestinaltrakt innervieren (Schusdziarra 1992, S. 43-54).

4.1.8.1 Somatostatinfreisetzung

Versuche an Hunden und am Menschen haben gezeigt, dass es nach einer Nahrungsaufnahme zu einem Anstieg der gastralen, intestinalen und pankreatischen

Somatostatinsekretion sowie zu einem Anstieg des Somatostatinspiegels im peripher venösen Plasma kommt (Schusdziarra et al. 1978, S. 509-518, Schusdziarra et al. 1980c, S. 1572-1576, Wass et al. 1980, S. 569-574, Polonsky et al. 1983, S. 1514-1518, Schusdziarra et al. 1984b, S. 65-71, Baldissera et al. 1983, S. 63-69, D'Alessio und Ensinnck 1990, S. 1198-1202, Ensinnck et al. 1989, S. 1580-1589, Ensinnck et al. 1990, S. 633-638, Schusdziarra et al. 1986, S. 595-601, Polonsky et al. 1983, S. 1514-1518, Penman et al. 1981, S. 692-699). Verantwortlich dafür sind parakrine und endokrine Mechanismen. In Versuchen mit Ratten hat sich gezeigt, dass sich bei diesen Tieren nur ein Anstieg des Somatostatinspiegels in der Pfortader und nicht in der peripheren Blutbahn findet. (Berelowitz et al. 1978, S. 1410-1414, Schusdziarra 1985, S. 425-445). Der Grund dafür ist, dass bei Ratten die Somatostatinausschüttung hauptsächlich, wie schon unter Punkt 4.3 aufgeführt, über parakrine und nicht über endokrine Mechanismen läuft. Eine Steigerung der Somatostatinsekretion tritt allerdings nicht nur postprandial auf, sondern auch nach „sham feeding“ (Scheinfütterung), was sowohl in Tierversuchen als auch an menschlichen Probanden gezeigt wurde (De Graef und Woussen-Colle 1985, S. G1-G7, Befrits et al. 1990, S. 9-18). Dabei wird der Anstieg der Somatostatinsekretion über cholinerge Mechanismen vermittelt (De Graef und Woussen-Colle 1985, S. G1-G7), im Gegensatz zur durch vagale Stimulation induzierten Steigerung der Somatostatinsekretion, die durch nikotinerge Mechanismen bedingt ist (Ahrén et al. 1986, S. E212-E217). Da die Fasern des N. Vagus und die intrinsischen Neurone des Gastrointestinaltraktes nicht ausschließlich über klassische Neurotransmitter wie Acetylcholin, Noradrenalin und Serotonin, sondern auch über peptiderge Transmitter verfügen, kann die durch Vagusreizung bedingte Wirkung auf exo- und endokrine Zellen über verschiedene Mechanismen vermittelt werden. So wird im Rattenmagen und im Menschen der inhibitorische Effekt der Vagusstimulation auf die Somatostatinsekretion über cholinerge muscarinerge Effekte vermittelt (Madaus et al. 1990, S. 179-192, McIntosh et al. 1981a, S. 468-472, Wass et al. 1983, S. 12). Im Schweinemagen sind die beiden Peptide GRP und Neuromedin C die Haupttransmitter und führen bei Vagusstimulation zur Steigerung der Somatostatinsekretion (Holst et al. 1983, S. G515-G522, Holst et al. 1987, S. G767-G774). Die Wirkung der cephalen Phase wird hauptsächlich durch vagale Mechanismen vermittelt. Die Stimulation der Splanchnikusnerven hat keinen Einfluss auf die cephale Somatostatinsekretion des Ratten- und Schweinemagens (McIntosh et al. 1981b, S. 1477-1483, Olesen et al. 1987, S. 24-35).

4.1.9 Gastrale Phase

Wesentliche physiologische Stimuli in der gastralen Phase sind zum einen die Magendehnung durch die aufgenommene Nahrung, wobei vagovagale und intramurale Reflexe ablaufen und zum anderen die chemische Zusammensetzung der Nahrung.

4.1.9.1 Somatostatinfreisetzung

Nahrungssubstanzen

Einfluss auf die Somatostatinfreisetzung hat auch die Zusammensetzung der aufgenommenen Nahrung. Zwar steigt die Somatostatinkonzentration im peripheren Blut beim Menschen bei Aufnahme aller drei Nahrungsbestandteile (Fette, Kohlenhydrate und Proteine) signifikant an, doch die höchsten Plasmasomatostatinkonzentrationen lassen sich bei der Aufnahme von protein- und fettreicher Nahrung feststellen (Penman et al. 1981, S. 692-699, Schusdziarra et al. 1978, S. 509-518, Schusdziarra et al. 1983b, S. 355-361, Elwin 1974, S. 239-247, Schusdziarra et al. 1984a, S. 189-198, Schusdziarra et al. 1980c, S. 1572-1567).

Im isolierten Magenfundus von Hunden führt die Aufnahme von Proteinen, Kohlenhydraten und Fetten zur Freisetzung von Somatostatin aus den D-Zellen, während jedoch im Magenantrum Fette keinen Einfluss auf die Somatostatinfreisetzung haben (Schusdziarra et al. 1978, S. 509-518, Schusdziarra et al. 1979b, S. 555-560).

Magensäure

Die Magensäure spielt eine große Rolle bei der Somatostatinfreisetzung aus dem Gastrointestinaltrakt von Hunden und Menschen. So kommt es nach Ansäuerung einer Mahlzeit zu einem signifikanten Anstieg der peripheren Somatostatinsekretion. Wird die Somatostatinsekretion aus dem Magenfundus durch inhibitorische cholinerge Mechanismen gehemmt, so ist der Anstieg der Somatostatinsekretion allein auf die Ausschüttung aus dem Magenantrum zurückzuführen (Schusdziarra et al. 1978, S. 509-518, Schusdziarra et al. 1979a, S. 658-663). In vivo und in vitro Versuche mit Ratten

haben gezeigt, dass die Ansäuerung des Mageninhalts im Gegensatz zu Hunden und Menschen keinen Einfluss auf die gastrale Somatostatinsekretion hat (Schusdziarra et al. 1984a, S. 189-198, Schusdziarra 1985, S. 425-445).

Prostaglandine

Der wichtige Einfluss der Prostaglandine auf die Somatostatinsekretion wurde durch Versuche an Hunden und Ratten nachgewiesen. So stimulieren Prostaglandine die basale Somatostatinsekretion, während bei Verwendung des Prostaglandinsyntheseantagonisten Indometacin die Somatostatinsekretion im Magen und Pankreas abgeschwächt wird (Alino et al. 1986, S. 1-8, Schusdziarra et al. 1980, S. 1620-1626). Versuche von Ligumsky et al. zeigten, dass Prostaglandine nicht nur Einfluss auf die Somatostatinsekretion haben, sondern auch auf seine Wirksamkeit, denn sobald die Prostaglandinsynthese unterbunden wird, besitzt Somatostatin keinen inhibierenden Effekt auf die Magensäuresekretion (Ligumsky et al. 1983, S. 301-303).

Peptide

Zahlreiche Studien zeigten, dass die Peptide Bombesin, Gastrin, GIP und Sekretin in der Lage sind, die Somatostatinsekretion des Magens zu stimulieren. Substanz P dagegen wirkt inhibierend auf die Somatostatinfreisetzung (Chiba et al. 1980a, S. 67-71, Chiba et al. 1980b, S. 145-149, DuVal et al. 1981, S. 242-247, McIntosh et al. 1981a, S. 1477-1483).

Histamin

In Versuchen mit Hunden wurde der Einfluss von Histamin H₂ Rezeptoren auf die Somatostatinsekretion untersucht. Der H₂-Rezeptoragonist Impromidin stimuliert die postprandiale Somatostatinsekretion (Schusdziarra et al. 1982, S. 111), während der H₂-Rezeptorantagonist Cimetidin unabhängig vom intragastralen pH-Wert eine Reduktion der gastralen und der pankreatischen postprandialen Somatostatinsekretion bewirkt.

Diese Tatsachen lassen den Schluss zu, dass an der postprandialen Stimulation der Somatostatinsekretion H_2 Rezeptoren beteiligt sind (Schusdziarra et al. 1981, S. 353-363). Am isoliert perfundierten Rattenmagen bewirkt Histamin dagegen eine Inhibierung der Somatostatinsekretion (McIntosh et al. 1987, S. 253-263).

Opiate

Versuche am Menschen und am isoliert perfundierten Rattenmagen haben gezeigt, dass Opiate und opiataktive Peptide wie Met- und Leu-Enkephalin und β -Endorphin inhibierend auf die Somatostatinsekretion wirken (Schusdziarra et al. 1983b, S. 355-361, Chiba et al. 1980b, S. 145-149).

Bei in vivo durchgeführten Versuchen an Hunden mit Morphin, Leu-Enkephalin und Casomorphin kommt es zu einer Reduktion der basalen Somatostatinsekretion (Schusdziarra et al. 1983d, S. 407-408). Die postprandiale Somatostatinfreisetzung wird dagegen durch Morphin nicht beeinflusst, durch Enkephalin inhibiert und durch Casomorphin stimuliert (Schusdziarra et al. 1983c, S. 1948-1951). Dies lässt sich damit erklären, dass die Wirkung von Morphin, Enkephalin und Casomorphin über verschiedene Opiatrezeptoren vermittelt wird.

4.1.10 Intestinale Phase

Die intestinale Phase beginnt mit dem Übertritt der Nahrung aus dem Magen in das Duodenum. Dort wird der Speisebrei durch Enzyme aus dem exokrinen Pankreas in seine Bestandteile wie Fette, Proteine und Glukose aufgelöst. In vivo Versuche haben gezeigt, dass intraduodenale Proteine die Somatostatinsekretion des Pankreas und Magenansatzes, aber nicht die des Magenfundus beeinflussen. Aminosäuren dagegen stimulieren die Somatostatinsekretion des Pankreas, jedoch haben sie keinen Effekt auf die gastrale Somatostatinausschüttung (Schusdziarra et al. 1979b, S. 555-560). Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass die D-Zellen des Magens nur durch intragastrale Nahrungsbestandteile zur Somatostatinsekretion angeregt werden, während die pankreatischen D-Zellen durch intraduodenale Nahrungsbestandteile stimuliert werden. Eine wichtige Rolle spielen auch neuronale Faktoren. So führt zum einen trunkale

Vagotomie und zum anderen die Infusion von Atropin zu einer Zunahme der Somatostatinsekretion während der Aufnahme einer proteinreichen Mahlzeit, was vermuten lässt, dass eine enge Beziehung zwischen den vagalen und muscarinerg cholinergen Mechanismen und den D-Zellen des Magens und des Pankreas besteht (Schusdziarra et al. 1979b, S. 555-560).

4.2 Opiate und Opioide

Opiate und Opioide sind stark wirkende Schmerz- und Betäubungsmittel mit einem hohen Sucht- und Abhängigkeitspotenzial. Als Opiate im engeren Sinne werden jene Mittel bezeichnet, die Opium oder Opiumalkaloide - insbesondere Morphin - enthalten. Opium ist ein seit Jahrtausenden bekanntes Alkaloidgemisch des Schlafmohns (*Papaver somniferum*), dessen Hauptwirkungen die Analgesie, Sedierung und Atemdepression sind. Das Hauptalkaloid des Opiums ist das Morphin, welches erstmals 1806 von dem deutschen Apotheker Friedrich Wilhelm Sertürner isoliert wurde. Die sedierende und analgetische Wirkung der Opiate machten sich bereits 4.000 v. Chr. Babylonier und Ägypter zunutze. Galen beschrieb ca. 100 v. Chr. die atemdepressive Wirkung der im Rom der Kaiserzeit verwendeten opiumhaltigen Arzneimittel, die bei missbräuchlicher Dosierung auftritt. In chinesischen Medizinalschriften wurde Opium erstmals um 100 n. Chr. zur Behandlung von Diarrhoe und Husten erwähnt. Im europäischen Mittelalter wurde Opium als Bestandteil des Allheilmittels „Theriak“, ein Gemisch aus über 60-80 Bestandteilen u.a. Drogen, Gewürze und Schlangenfleisch, verwendet. Nach Isolierung des Morphins durch Sertürner kam es im 19. Jhd. als stark wirkendes Schmerzmittel auf den Markt und wurde beispielsweise im deutsch-französischen Krieg 1870/71 in großem Umfang bei der Behandlung von Verwundeten eingesetzt. In Asien führte vor allem das Opiumrauchen zur Abhängigkeit und Sucht, so dass es 1840 verboten wurde. Mit dem Ziel, ein ähnlich schmerzstillendes, nicht aber abhängigkeiterzeugendes Mittel zu schaffen, wurde 1874 erstmals das so genannte Diamorphin (3,5-Diacetylmorphin) synthetisiert. Knapp 25 Jahre später wurde es von den Farbenfabriken Bayer in Elberfeld in großem Maßstab hergestellt und als Hustenmittel und Ersatzstoff für Morphin unter dem Namen Heroin auf den Markt gebracht. Es stellte sich jedoch schnell heraus, dass dieses Mittel nicht nur um ein Vielfaches stärker ist als Morphin, sondern auch ein noch wesentlich höheres Abhängigkeitspotenzial als dieses besitzt. Im Unterschied zu Großbritannien, wo Heroin gelegentlich noch zur Schmerzbehandlung krebserkrankter Patienten eingesetzt wird, wird es in Deutschland nicht mehr als Arzneimittel verwendet.

Angesichts der starken suchterzeugenden Wirkung des Morphins hat man immer wieder nach neuen Substanzen mit ähnlich schmerzstillender Wirkung geforscht, die jedoch keine euphorisierende und suchterzeugende Wirkung besitzen. Vor diesem Hintergrund

wurden im Laufe der Zeit zahlreiche voll- oder teilsynthetische Opioide entdeckt bzw. entwickelt. Dazu zählt auch das 1940 erstmals in Deutschland hergestellte Methadon bzw. Levomethadon, das beispielsweise unter dem Produktnamen L-Polamidon sowohl als starkes Schmerzmittel als auch seit 1987 in der Opiat- und Opioidentgiftung und in der Heroinsubstitution bei intravenös Abhängigen eingesetzt wird.

4.2.1 Wirkungen der Opiate

Opiate besitzen sowohl zentrale als auch periphere Effekte. Zu den zentralen gehören Analgesie, Sedierung, Atemdepression, Euphorie, Miosis, Übelkeit, Erbrechen und Hustensuppression. Peripher wirken Opiate an unterschiedlichen Organsystemen. Am Gastrointestinaltrakt wirken Opiate inhibierend auf die propulsive Aktivität, ausgelöst zum einen durch Hemmung der Acetylcholinfreisetzung und zum anderen durch Angriff an Opiatrezeptoren an der glatten Muskulatur (Zhang et al. 1992, S. G461-G469). Kardiovaskuläre Wirkungen sind Hypotension und periphere Gefäßdilatation sowie Erhöhung des Tonus im Gallengangsystem (Gefahr einer Gallenkolik) und Reduktion des Plasmaflusses in der Niere. Allergische Reaktionen, Asthmaanfälle durch Bronchokonstriktion und das Flush-Phänomen werden durch Ausschüttung von Histamin aus Mastzellen verursacht.

4.2.2 Opiatrezeptoren

Opiatrezeptoren finden sich beim Menschen und bei anderen Spezies sowohl im ZNS als auch in der Peripherie. Im ZNS sind die Rezeptoren vor allem im limbischen System, in der Medulla oblongata und im Hinterhorn des Rückenmarks lokalisiert (Hiller et al. 1973, S. 1052-1062, Lonergan et al. 2003, S. 165-178, Mennicken et al. 2003, S. 349-360, Besse et al. 1991, S. 1341-1352, Abbadie et al. 2002, S. 150-162, Ray und Wadhwa 1999, S. 11-18). In der Peripherie finden sich Rezeptoren u.a. in vegetativen Nerven, im Plexus myentericus und im Plexus submucosus der glatten Muskulatur des Gastrointestinaltraktes. Aufgrund der Ergebnisse von Rezeptorbindungsstudien mit dem Opiatrezeptorantagonisten Naloxon unterscheidet man drei Rezeptortypen. Die prä- und postsynaptisch lokalisierten und G-Protein

gekoppelten Opiatrezeptoren werden in OP₁ (früher δ), OP₂ (früher κ) und OP₃ (früher μ) Rezeptoren unterteilt. Versuche an Ratten und Meerschweinchen zeigten, dass im Vergleich zum Gehirn die Rezeptorenanzahl im Gastrointestinaltrakt deutlich geringer ist und dass im Plexus submucosus vor allem OP₁ Rezeptoren und im Plexus myentericus hauptsächlich OP₂ und OP₃ Rezeptoren vorhanden sind. Außerdem haben die im Magen und Kolon in großer Zahl vorhandenen OP₂ und OP₃ Rezeptoren Einfluss auf die neuronale Kommunikation aber nicht auf die glatten Muskelzellen, während dagegen die OP₁ Rezeptoren direkten Einfluss auf die gastrointestinale Motilität ausüben (Nishimura et al. 1984, S. 73-78, Nishimura et al. 1986, S. 1084-1094, Tonini et al. 1998, S. 686-689, Fickel et al. 1997, S. 1-8). Bemerkenswert ist die von Wittert et al. durchgeführte Studie. Sie versuchten mit Hilfe der Reversen Transkriptase Polymerasekettenreaktion und Southern Blot die Expression der Opiatrezeptoren in peripheren Geweben der Ratte darzustellen. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass die drei Opiatrezeptoren (OP₁, OP₂, OP₃) zwar in Lunge, Niere, Milz, Hoden und Ovargewebe zu finden waren, jedoch fanden sie im Gegensatz zu Fickel et al. im Magen keine OP₃ Rezeptoren, obgleich sie dieselbe Tierspezies untersucht hatten. Eine mögliche Erklärung könnten die unterschiedlichen Untersuchungstechniken sein (Wittert et al. 1996, S. 877-881). Die drei Rezeptoren sind auf unterschiedlichen Genen lokalisiert. So liegt der OP₁ Rezeptor auf Chromosom 1, der OP₂ Rezeptor auf Chromosom 8 und der OP₃ Rezeptor ist auf Chromosom 6 lokalisiert (Evans 1994, S. 1796). Die spezifischen Agonisten sind für den OP₁ Rezeptor N-Allylnormetazocin, für den OP₂ Rezeptor Ketocyclazocin und für den OP₃ Rezeptor Morphin (Martin et al. 1976, S. 517-532). Naloxon und Naltrexon wirken an den drei Opiatrezeptoren als spezifische Antagonisten. Pentazocin und Nalorphin sind dagegen nur am OP₃ Rezeptor als Antagonisten wirksam, an den anderen beiden Rezeptoren wirken sie als Agonisten bzw. partielle Agonisten.

1994 wurde von verschiedenen Forschungsgruppen ein zum Opioid-System gehörender Rezeptor gefunden, der zuerst ORL₁ (opioid receptor like) genannt wurde (Bunzow et al. 1994, S. 284-288, Fukuda et al. 1994, S. 42-46, Mollereau et al. 1994, S. 33-38, Nishi et al. 1994, S. 1353-1357, Wang et al. 1994, S. 75-79). Wegen seiner strukturellen Verwandtschaft zu den anderen drei Opiatrezeptoren wurde er, nachdem 1996 eine neue Nomenklatur für die Opiatrezeptoren eingeführt wurde, in OP₄ Rezeptor umbenannt (Dhawan et al. 1996, S. 567-592, Hamon 1998, SA 5.3). Der OP₄ Rezeptor zeigt nahezu

50% Identität mit den OP₁, OP₂, OP₃ Rezeptoren (Mollereau et al. 1994, S. 33-38). Der spezifische Agonist ist NC(1-13)NH₂. Der OP₄ Rezeptor unterscheidet sich jedoch funktionell deutlich von den drei klassischen Opiatrezeptoren. So wird er nicht durch Opioide aktiviert und seine Affinität zum Opiatrezeptorantagonisten Naloxon ist vernachlässigbar gering (Calo et al. 2000b S.1261-1283). Mittlerweile wird der OP₄ Rezeptor als ein Nicht-Opioide Zweig der OP Rezeptorfamilie definiert und wurde daher in NOP Rezeptor (Nocicpetin/Orphanin FQ Peptid) umbenannt. Dieser Rezeptor wurde in allen Regionen der untersuchten Rattenhirne gefunden. Höchste Konzentrationen ließen sich im paraventriculären und ventromedialen Kern des Hypothalamus, im piriformen Kortex und in den dorsalen Raphe Kernen sowie im Locus Coeruleus feststellen. Geringe Expression des NOP Rezeptors findet sich im Kortex, Thalamus, Hippocampus, periaqueductalem Grau und im Rückenmark (Fukuda et al. 1994, S. 42-46, Bunzow et al. 1994, S. 284-288, Lachowicz et al. 1995, S. 34-40, Wick et al. 1994, S. 37-44, Houtani et al. 2000, S. 489-508, Neal et al. 1999a, S. 563-605, Neal et al. 1999b, S. 503-547). Im Gegensatz zu den OP₁₋₃ Rezeptoren wurden im Striatum keine NOP Rezeptoren entdeckt (Bunzow et al. 1994, S. 284-288, Wang et al. 1994, S. 75-79, Lachowicz et al. 1995, S. 34-40, Wick et al. 1994, S. 37-44). Ähnliche Ergebnisse zeigten die Untersuchungen an Mäusehirnen (Mollereau et al. 1994, S. 33-38). Im peripheren Gewebe wurde der NOP Rezeptor im Darm, in der Leber und Milz sowie im Vas deferens gefunden (Wang et al. 1994, S. 75-79).

4.2.3 Struktur und Rezeptoraffinität der Opiatrezeptorliganden

Die ersten endogenen Liganden der Opiatrezeptoren wurden 1975 durch Hughes entdeckt. Er zeigte in seinen mit Schweinehirnextrakten durchgeführten Versuchen, dass bestimmte Substanzen in Rezeptorbindungsassays Aktivität an Opiatrezeptoren zeigen. Als erstes konnten die beiden Enkephaline Met- und Leu-Enkephalin nachgewiesen werden, welche sich nur in ihrem C-terminalen Aminosäurerest unterscheiden (Hughes et al. 1975, S. 577-580).

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH

Struktur von Met-Enkephalin

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH

Struktur von Leu-Enkephalin

Als weitere endogene Liganden wurden Dynorphin (OP₁) sowie β -Endorphin (OP₂) und Endomorphin-1 und Endomorphin-2 (OP₃) entdeckt (Chavkin et al. 1982, S. 413-415, Goldstein et al. 1980, S. 6207-6210, Goldstein et al. 1979, S. 6666-6670, Li und Chung 1976, S. 1145-1148, Zadina et al. 1997, S. 499-502, Wang et al. 2003, S. 107-110).

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln-OH

Struktur von Dynorphin

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lya-Asn-Ala-His-Lys-Lys-Gly-Gln-OHStruktur von β -Endorphin**H-Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂**

Struktur von Endomorphin-1

H-Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂

Struktur von Endomorphin-2

Die endogenen Liganden unterscheiden sich in ihrer Rezeptoraffinität. So haben die Enkephaline eine hohe Affinität zum OP₁ Rezeptor. Dynorphin dagegen besitzt eine

große OP_2 Rezeptoraffinität. β -Endorphine sind Agonisten an allen drei Rezeptoren, jedoch ist die Affinität zum OP_1 und OP_3 Rezeptor höher als zum OP_2 Rezeptor. Endomorphin-1 und -2 sind endogene Liganden des OP_3 Rezeptors, besitzen aber auch eine sehr geringe Affinität zum OP_1 und OP_2 Rezeptor (Zadina et al. 1997, S. 499-502, Goldberg et al. 1998, S. 1007-1013).

Neben endogenen Liganden der Opiatrezeptoren gibt es auch exogene Liganden. Diese sog. Exorphine kommen in Nahrungsmitteln vor. Zioudrou et al. beschrieben 1979 Peptide, die vom Weizengluten und Alpha-Casein der Milch abstammen und opioidähnliche Aktivität zeigen (Zioudrou et al. 1979, S. 2446-2449). In der Milch wurden Opiatrezeptorliganden gefunden, von denen einige als Agonisten und andere als Antagonisten fungieren. Agonistische Eigenschaften haben folgende Peptide: Alpha-Casein Exorphin, Casoxin D, Beta-Casomorphin, Beta-Casorphin, Casoxin A, B, C, Alpha-Lactorphin und Beta-Lactorphin. Antagonistische Aktivität zeigen Casoxin und Lactoferroxin (Teschemacher und Koch 1991, S. 147-150, Teschemacher et al. 1997, S. 99-117). Gluten Exorphin A5, A4, B5, B4 und C sind Fragmente des Weizengluten, die opiatagonistische Aktivität zeigen. Neben Milchproteinen und Weizengluten enthalten auch Reisalbumin, Rinderalbumin und -hämoglobin sowie Spinatproteine Fragmente, die als exogene Liganden der Opiatrezeptoren agieren (Teschemacher 2003, S. 1331-1344, Fukudome et al. 1993, S. 17-19, Fukudome und Yoshikawa 1992, S. 107-111, Fanciulli et al. 2003, S. 53-58).

4.2.4 Lokalisation endogener Opiode im Organismus

Das Vorkommen von endogenen Opioiden im Zentralnervensystem und im Gastrointestinaltrakt gilt als gesichert (Leander et al. 1984, S. 521-531, Sakamoto et al. 1983, S. 81-84, Schultzberg et al. 1980, S. 249-270, Tari et al. 1985, S. 670-674). So finden sich Enkephaline im ZNS in Kerngebieten des N. vagus und in sympathischen Ganglien (Lundberg et al. 1979, S. 468-471, Schultzberg et al. 1979, S. 249-270). Außerdem wurden sie in hohen Konzentrationen im Striatum, in der Substantia nigra und im Hypothalamus nachgewiesen (Pittius et al. 1984, S. 127-136). Auch Dynorphine zeigen eine weite Verbreitung im ZNS. Des Weiteren sind sie im Hypophysenhinterlappen zu finden (Cone et al. 1983, S. 2146-2152). β -Endorphine kommen dagegen hauptsächlich im Hypothalamus und in der Hypophyse vor. Die

Tetrapeptide Endomorphin-1 und Endomorphin-2, die vor einigen Jahren aus menschlichem Gehirn sowie aus dem Gehirn von Rindern als auch aus dem Rückenmark von Ratten isoliert wurden, kommen vor allem im Thalamus, Hypothalamus, Striatum, in der Medulla oblongata, im frontalen Kortex und im Hinterhorn des Rückenmarks vor (Hackler et al. 1997, S. 1635-1639, Martin-Schild et al. 1997, S. 1641-1649, Zadina et al. 1997, S. 499-502, Zadina et al. 1999, S. 136-144). Im Gastrointestinaltrakt sind endogene Opioide einerseits in endokrinen Zellen nachweisbar; sie finden sich in großer Menge in der Mucosa des Magenantrums und in Koexistenz mit Gastrin in G-Zellen und mit Somatostatin in D-Zellen (Forsmann et al. 1977, S. 488-499, Ito et al. 1979, S. 238-245, Larsson und Stengaard-Pederson 1981, S. 1088-1098). Andererseits finden sie sich in den Nervenplexus des Gastrointestinaltraktes. Enkephaline kommen in endokrinen Zellen der Mucosa des Gastrointestinaltraktes vor, die neben Enkephalinen auch Serotonin enthalten können. Des Weiteren finden sich Enkephaline im Plexus meyertericus (Miller und Pickel 1980, S. 903-917). Versuche an Schweinen haben gezeigt, dass Enkephaline auch in geringer Menge im Plexus submucosus vorkommen. In der zirkulären Muskelschicht sind sie im gesamten Verdauungstrakt zu finden, während sie in der longitudinalen Muskelschicht nur im Ösophagus, Magen, Rektum und Analsphinkter nachweisbar sind (Porcher et al. 2000, S. 333-344). Dynorphine wurden mit Hilfe von Radioimmunassays in hoher Konzentration im Magen nachgewiesen. Dort finden sie sich in gleicher Menge in der Mucosa, Submucosa und Muscularis, wogegen im Kolon die Konzentration in der Muscularis höher als in den anderen Schichten ist (Spampinato et al. 1988, S. 101-105). Hahn und Allescher sowie Tonini et al. zeigten durch ihre Studien, dass Endomorphine im Plexus myentericus des Dünndarms des Meerschweinchens und der Ratte vorkommen (Hahn und Allescher 1998, S. A759, Tonini et al. 1998, S. 686-689, Storr et al. 2002, S. 428-434, McConalogue et al. 1999, S. 1051-1059), wo sie eine Abschwächung der Acetylcholinausschüttung bewirken (Nishiwaki et al. 1998, S. 83-86).

4.2.5 Funktionelle Bedeutung der Opioide im Gastrointestinaltrakt

Wie schon mehrfach beschrieben sind endogene Opioide im extrinsischen und im intrinsischen Nervensystem sowie in endokrinen Zellen des Gastrointestinaltraktes lokalisiert und haben daher sowohl Einfluss auf die gastrale, pankreatische und intestinale Säuresekretion als auch auf die neuroendokrine Funktion des Magens. So sind Opioide in der Lage, in Abhängigkeit von der Konzentration, die Magensäuresekretion zu hemmen oder zu stimulieren (Konturek 1978, S. 257-261). Diese Ergebnisse wurden durch Versuche an Hunden und am Menschen bekräftigt. Morphin in hoher Dosis bewirkt beim Menschen eine Hemmung der Magensäuresekretion (Feldman et al. 1980, S. 294-298), während bei Hunden die Magensäuresekretion durch niedrige Morphindosen stimuliert werden kann. Enkephaline üben einen stimulierenden Effekt auf die basale und mit Pentagastrin stimulierte Magensäuresekretion bei Hunden aus (Konturek et al. 1980, S. 294-300). Beim Menschen dagegen inhibieren die Enkephaline und auch Naloxon die Freisetzung der Magensäure (Feldman et al. 1980, S. 294-298, Konturek et al. 1983, S. 740-745). Canfield et al. arbeiteten mit isoliert perfundierten Rattenmägen und kamen zu dem Schluss, dass die Ausschüttung der Magensäure über zentrale Mechanismen gesteuert werden muss, da weder Morphin noch Naloxon einen Effekt auf die Magensäuresekretion hat (Canfield und Spencer 1981, S. 135-138). Diese Ergebnisse wurden durch die Versuche von Schepp et al. widerlegt. Sie zeigten, dass endogene opiataktive Peptide an isolierten Parietalzellen der Ratte eine Steigerung der Säuresekretion durch direkte Wirkung an Rezeptoren bewirken (Schepp et al. 1986, S. 885-890).

Opioide beeinflussen nicht nur die Magensäuresekretion, sondern auch die Gastrin- und Somatostatinsekretion. So stimulieren Enkephaline sowohl beim Menschen als auch bei Hunden die Gastrinsekretion. Dagegen wird die durch Vagusstimulation induzierte Gastrinfreisetzung weder bei in vivo Versuchen am Menschen noch an Hunden und Ratten durch endogene Opioide beeinflusst (Allescher et al. 1987, S. 309-323, Feldman et al. 1980, S. 294-298, Kostitsky-Pereira et al. 1984, S. 167-173, Stapelfeldt et al. 1988, S. 13-20). Die Erklärung dafür ist, dass cholinerge Mechanismen die Aktivierung endogener Opioide während der Vagusstimulation verhindern.

In in vitro Versuchen am isoliert perfundierten Rattenmagen haben die endogenen Opioide Met-Enkephalin und Met-Enkephalin Arg6Phe7 keine Wirkung auf die

Gastrinsekretion (Madaus et al. 1990, 201-203). Andere Studien zeigen jedoch eine Beeinflussung der Gastrinsekretion durch endogene Opioide (Nishi et al. 1987, S. 1787-1793, Rouiller et al. 1980, S. 524-529, Saffouri et al. 1981, S. 1267). Diese kontroversen Ergebnisse kommen durch die unterschiedlichen Versuchsbedingungen zustande. So untersuchten Nishi et al. im Gegensatz zu Madaus et al. den Einfluss endogener Opioide auf die durch Vagusstimulation induzierte Gastrinsekretion. Die durch Vagusstimulation induzierte Gastrinsekretion wird durch endogene Opioide dann beeinflusst, wenn der cholinerge Einfluss, der wie schon oben aufgeführt, die Aktivierung endogener Opioide verhindert, geblockt wird und adrenerge Mechanismen die endogenen Opioide stimulieren können (Allescher et al. 1987, S. 309-323).

Auch die Somatostatinsekretion wird durch Opioide in in vitro Versuchen an Ratten beeinflusst (Madaus et al. 1990, S. 201-203, Nishi et al. 1987, S. 1787-1793). Bei in vivo Versuchen am Menschen und an Hunden wird die basale Somatostatinsekretion durch Opioide gehemmt. Die postprandiale Somatostatinsekretion wird allerdings durch Opiate und Exorphine stimuliert (Schusdziarra et al. 1983b, S. 355-361, Schusdziarra et al. 1983c, S. 1948-1951).

4.2.6 Struktur und Rezeptoraffinität des NOP Rezeptorliganden

Der endogene Ligand des NOP Rezeptor ist das Heptadecapeptid N/OFQ. Es wurde 1995 gleichzeitig durch zwei Forschungsgruppen identifiziert. Die Französische Gruppe nannte den Liganden Nociceptin (Meunier et al. 1995, S. 532-535), während die Schweizer Gruppe ihn als Orphanin FQ betitelte (Reinscheid et al. 1995, S. 792-794). Dieser Name leitet sich von der chemischen Struktur ab. So besitzt Orphanin FQ am N-terminalen Ende die Aminosäure Phenylalanin (F) und am C-terminalen Ende Glutamin (Q). Heute wählt man für den endogenen Liganden die Bezeichnung Nociceptin/Orphanin FQ (N/OFQ), eine Kombination aus beiden existierenden Namen.

H-Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln-OH

Chemische Struktur von N/OFQ

Reinscheid et al. kamen zu dem Schluss, dass sich das Orphanin FQ System im Zuge der Evolution vom Opioid System abgespalten hat. Diese Schlussfolgerung zogen sie aus Versuchen, die sie mit CHO (Chinese hamster ovary) Zellen durchführten. Sie entdeckten, dass N/OFQ, obgleich seiner hohen Strukturidentität mit Opiaten, nicht in der Lage ist, Opiatrezeptoren zu aktivieren und dass auch Opiate keine Wirkung am NOP Rezeptor zeigen. Dies lässt sich mit der Entdeckung begründen, dass N/OFQ eine bestimmte Domäne besitzt, die die spezielle pharmakologische Selektivität bestimmt und somit die Aktivierung von Opiatrezeptoren verhindert (Reinscheid et al. 1998, S. 1490-1495). Dies ist hauptsächlich durch die unterschiedliche Aminosäure an Position 1 begründet. So besitzt N/OFQ an erster Stelle die Aminosäure Phenylalanin, während dagegen die Aminosäurereihenfolge der Opiate immer mit Tyrosin beginnt. Dieser Unterschied ist dafür verantwortlich, dass N/OFQ keine Opiatrezeptoren aktiviert und Opiate keine Wirkung am NOP Rezeptor haben (Salvadori et al. 1999, S. 810-825). Diesen Versuchen stehen die Versuche von Hawkonson et al. entgegen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass einige Opiatrezeptorantagonisten nicht nur an Opiatrezeptoren binden, sondern auch Affinität zum NOP Rezeptor zeigen, was durch die hohe Ähnlichkeit zwischen NOP Rezeptor und Opiatrezeptoren bedingt ist (Hawkinson et al. 2000, S. 107-114). Ursächlich für diese unterschiedlichen Ergebnisse sind wahrscheinlich die experimentellen Bedingungen.

4.2.7 Lokalisation von endogenem N/OFQ im Organismus

Das Vorkommen von N/OFQ im zentralen und peripheren Nervensystem sowie im peripheren Gewebe, besonders im Magen-Darm-Trakt, wurde durch zahlreiche in vivo und in vitro Versuche belegt (Schulz et al. 1997, S. 3021-3025, Schulidori et al. 1997, S. 136-138, Riedl et al. 1996, S. 1369-1372, Yazdani et al. 1997, S. A1201, Wang et al. 1994, S. 75-79, Lachowicz et al. 1995, S. 34-40, Bunzow et al. 1994, S. 284-288, Mollereau et al. 1994, S. 33-38). Im ZNS wurde N/OFQ vor allem im Hypothalamus, Claustrum, Hippocampus, Thalamus, ventralen Tegmentum, Locus coeruleus, zentralen Grau, Trigeminus Kern, in der Substantia nigra, im Bereich der Raphe Kerne, in der Formatio reticularis und im Vorder- und Hinterhorn des Rückenmarks gefunden (Houtani et al. 2000, S. 489-508, Neal et al. 1999b, S. 503-547, Riedl et al. 1996, S.

1369-1372). Im peripheren Nervensystem ist N/OFQ in den prevertebralen Ganglien des sympathischen Nervensystems zu finden (Kummer und Fischer 1997, S. 35-38). O'Donnell et al. zeigten mit immunhistochemischen Versuchen N/OFQ-immunoreaktive Neurone und Nervenfasern im Duodenum, Ileum, Caecum, distalen Kolon und im Sphinkter Oddi (O'Donnell et al. 2001, S. 1-11). Die Gruppe um Wei zeigte N/OFQ Vorläufer mRNA in der Aorta, A. pulmonalis, A. und V. renalis sowie in den Ovarien und Testes von Ratten. In der Leber, Lunge und Niere wurde dagegen keine N/OFQ Vorläufer mRNA nachgewiesen (Wei et al. 1999, S. 67-70).

4.2.8 Funktionelle Bedeutung von N/OFQ im Gastrointestinaltrakt

Die Wirkung von N/OFQ im Gastrointestinaltrakt wurde durch Experimente an verschiedenen Tierspezies untersucht.

So zeigt N/OFQ inhibitorische Effekte auf die elektrisch ausgelösten Kontraktionen des Magens und des Dünndarms von Meerschweinchen, Schweinen und Ratten, ähnlich der Wirkung der Opiate (Calo et al. 1996b, S. 713-718, Zhang et al. 1997, S. 102-106, Osinski et al. 1999b, S. 281-289, Yazdani et al. 1999, S. 108-117). Außerdem kann der inhibitorische Effekt von N/OFQ nicht durch den Opiatrezeptorantagonisten Naloxon abgeschwächt werden, was für den opiatunabhängigen Mechanismus des NOP Rezeptors spricht (Meunier 1997, S. 1-15).

In isolierten Muskelstücken des Kolons von Ratten vermag N/OFQ konzentrationsabhängig Kontraktionen auszulösen. Dies kann auf inhibitorische Mechanismen im Plexus myentericus zurückgeführt werden. Dagegen bleiben Magen und Dünndarm unbeeinflusst. Werden jedoch die Muskelkontraktionen durch EFS (electrical field stimulation) ausgelöst, so inhibiert N/OFQ diese im Rattenmagen und -dünndarm aber nicht im -kolon. Außerdem hemmt N/OFQ auch die elektrisch stimulierte Acetylcholinausschüttung (Osinski et al. 1999a, S. G125-G131, Yazdani et al. 1999, S. 108-117, Takahashi et al. 2000, S. 1054-1063). Ähnliche Ergebnisse wurden in Versuchen mit isoliertem Mäusekolon und mit narkotisierten Ratten erzielt, sofern N/OFQ intravenös oder subkutan appliziert wurde (Osinski et al. 1999a, S. G125-G131, Taniguchi et al. 1998, S. 265-271). Außerdem steigert N/OFQ bei intravenöser Verabreichung den Magendruck und die Kontraktionskraft des Magens

(Yazdani et al. 1999, S. 108-117). Weiterhin inhibiert N/OFQ den aktiven Ionentransport in der intestinalen Mukosa des Schweineileums (Osinski et al. 1999a, S. G125-G131). Diese Studien lassen die Tatsache vermuten, dass die Wirkungen von N/OFQ regionspezifisch sind. So beeinflusst N/OFQ die Muskelkontraktionen im Magen und Dünndarm über Hemmung cholinergischer Transmitter, im Kolon dagegen über die Hemmung neuronaler Mechanismen im Plexus myentericus (Yazdani et al. 1999, S. 108-117).

4.3 Diskussion eigener Ergebnisse

Die Bedeutung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 sowie von N/OFQ auf die neuroendokrine Sekretion des Magens ist bisher noch nicht hinreichend geklärt. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die Wirkung der beiden Endomorphine und die Wirkung von N/OFQ auf die neuroendokrine Sekretion am isoliert perfundierten Rattenmagen untersucht. Die Versuche wurden mit einem konstanten pH-Wert von 2 durchgeführt, um den intraluminalen pH-Wert während der interdigestiven Phase zu imitieren.

4.3.1 Bedeutung von exogenem Endomorphin-1 und Endomorphin-2 auf die Sekretion von Somatostatin

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, dass Endomorphin-1 sowohl die basale als auch die mit GIP vorstimulierte Somatostatinsekretion hemmt, was die These stützt, dass diese Wirkung über OP_3 Opiatrezeptoren vermittelt wird. Dass OP_3 Opiatrezeptoren eine wichtige Rolle für Regulationsprozesse im Magen spielen, wurde durch die Studien von Nishimura et al. 1984 und 1986 gezeigt (Nishimura et al. 1984, S. 73-78, Nishimura et al. 1986, S. 1084-1094). Sie entdeckten mit Hilfe audioradiographischer Methoden, dass OP_3 Opiatrezeptoren sowohl in der Submukosa, im muskulären Plexus als auch in der Mukosa vorkommen, was die Vermutung zulässt, dass die endogenen Opiatpeptide, die an diese Rezeptoren binden, an der Kontrolle der gastrointestinalen Motilität, an endokrinen und exokrinen Sekretionsvorgängen und auch an Flüssigkeits- und Elektrolyttransporten beteiligt sein könnten.

McIntosh et al. führten Versuche an perfundierten Rattenmägen mit den OP_3 selektiven Agonisten DAMGO und Metorphamid (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Arg-Arg-Val-NH₂) durch, wobei sich ebenfalls eine Inhibition der Somatostatinsekretion zeigte. Dagegen hatten die OP_1 Opiatrezeptoragonisten Metenkephalin Arg₆ Gly₇ Leu₈, DADLE und DPDPE keinen bzw. nur einen geringen Einfluss auf die Somatostatinsekretion. Daraus zogen sie die Schlussfolgerung, dass die Inhibition der Somatostatinsekretion des Magens über OP_3 Opiatrezeptoren vermittelt wird und dass weder OP_1 noch OP_2 Rezeptoren eine Rolle spielen (McIntosh et al. 1990, S. G922-G927). Diese These

wurde durch Untersuchungen der Forschungsgruppe um Madaus bestätigt. Sie führte Versuche mit den OP₁ Opiatrezeptoragonisten Metenkephalin und Metenkephalin Arg6 Phe7 durch, in denen sie die Wirkung dieser oben genannten Opiate auf die Somatostatinsekretion untersuchte. Dabei konnte sie keinen signifikanten Effekt auf die Inhibition der Somatostatinsekretion feststellen, außer bei einer Konzentration von 10⁻⁸ M (Madaus et al. 1990, S. 201-203). Versuche von Green et al. und McIntosh et al. zeigten, dass der OP₂ Opiatrezeptorligand Dynorphin keinen Einfluss auf die Somatostatinsekretion in Rattenmägen hat (Green et al. 1983, S. 685-690, McIntosh et al. 1990, S. G922-G927).

Der inhibitorische Effekt von Endomorphin-1 und -2 auf die Somatostatinsekretion des Magens wird zum Teil über OP₃ Opiatrezeptoren vermittelt, was sowohl durch die vorliegende Arbeit als auch durch die oben genannten Studien bekräftigt wird. Diese Entdeckung könnte eine Rolle in Bezug auf physiologische Regulationsvorgänge spielen, obgleich man anmerken muss, dass es bisher keinen Beweis für das Vorhandensein von Endomorphin im Magen gibt.

Für die antagonistischen Experimente wurde das cyclische Oktapeptid CTOP verwendet.

H-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH₂

Struktur von CTOP

Durch den selektiven OP₃ Antagonisten CTOP (Goldstein et al. 1989, S. 265-272, Gulya et al. 1986, S. 2221-2229) konnte gezeigt werden, dass die Blockade von OP₃ Rezeptoren eine deutliche Abschwächung des inhibitorischen Effekts von Endomorphin-1 bewirkt. Es konnte noch ein geringer inhibitorischer Effekt trotz hoher Konzentrationen des Antagonisten festgestellt werden, was die Vermutung zulässt, dass Endomorphin-1 seine Wirkung nicht ausschließlich über OP₃ Rezeptoren vermittelt. Deshalb wurden Versuche mit dem unselektiven Opiatantagonisten Naloxon

durchgeführt. Diese zeigten eine komplette Inhibition der Wirkung von Endomorphin auf die Somatostatinsekretion.

Daraus folgt der Schluss, dass nicht nur OP_3 Opiatrezeptoren an der Inhibition der Somatostatinsekretion beteiligt sind, sondern auch andere Opiatrezeptoren aktiv sind. Die Tatsache, dass Naloxon nicht in der Lage ist, Endomorphin-1 und Endomorphin-2 in der Konzentration 10^{-6} M zu antagonisieren, mag daran liegen, dass Nichtopiatrezeptormechanismen eine Rolle spielen. Die Frage, ob die Wirkung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 10^{-6} M durch Verwendung von Naloxon in höherer Konzentration inhibiert werden könnte, ist nicht endgültig zu beantworten, da höhere Konzentrationen von Naloxon toxisch wirken (Schepp et al. 1986, S. 885-890).

4.3.2 Bedeutung von exogenem N/OFQ auf die Freisetzung von Somatostatin

Neben Endomorphin-1 und -2 wurde auch die Wirkung von N/OFQ auf die Somatostatinsekretion des isoliert perfundierten Rattenmagens untersucht. Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Versuche zeigen, dass N/OFQ dosisabhängig die mit GIP vorstimulierte Somatostatinsekretion hemmt. Die basale Somatostatinsekretion wird dagegen nicht wesentlich abgeschwächt. Auch hat N/OFQ keinen Einfluss auf die basale Sekretion von Gastrin, Bombesin, VIP und Substanz P. Daher wurde die Ausschüttung dieser Peptide im Magen unter vorstimulierten Bedingungen nicht untersucht. N/OFQ vermindert die Ausschüttung von Substanz P aus isolierter Trachea als Reaktion auf elektrische Stimulation (Helyes et al. 1997, S. 613-615, Inoue et al. 1998, S. 10949-10953).

Für die antagonistischen Versuche wurde der vor kurzem entdeckte spezifische und kompetitive N/OFQ Antagonist [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ verwendet.

H-Nphe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-NH₂

Struktur von [Nphe¹]N/OFQ(1-13)NH₂

Die N/OFQ antagonistische Wirkung von [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ wurde durch Experimente von Pheng et al. beschrieben. Diese Forschungsgruppe führte Versuche mit isoliertem Kaninchenileum durch und entdeckte dabei, dass die durch N/OFQ ausgelöste Inhibition der Spontanaktivität des Kaninchenileums mit [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ antagonisiert werden kann. [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ ist außerdem in der Lage, weitere NOP Liganden zu antagonisieren. Daraus zogen Pheng et al. die Schlussfolgerung, dass [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ ein NOP Rezeptorantagonist ist. Diese Wirkung wurde nicht nur am Kaninchenileum festgestellt, sondern auch am Mäuse und Ratten Vas deferens und Mäusekolon (Rizzi et al. 1999, S. R3-R5, Pheng et al. 2001, S. 383-388, Calo et al. 2000a, S. 1183-1193).

In in vivo Versuchen zeigte [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ ebenfalls antagonistische Wirkung. So verhinderte es die pronociceptiven Aktionen von intrazerebral appliziertem N/OFQ (Calo et al. 2000a, S. 1183-1193). Außerdem inhibiert es die durch N/OFQ induzierte Nahrungsaufnahme bei Ratten (Polidori et al. 2000, S. 430-437). In der vorliegenden Studie wurde dieser Antagonist zur Klärung der Frage, ob der inhibitorische Effekt von N/OFQ über NOP Rezeptoren vermittelt wird, verwendet. Der kompetitive Antagonist [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ ist in niedriger Konzentration in der Lage, den inhibitorischen Effekt von N/OFQ zu antagonisieren, wogegen der Opiatrezeptorantagonist Naloxon keinen signifikanten Einfluss besitzt. Im Gegensatz dazu steht die Tatsache, dass [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ in höherer Konzentration (10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M) nicht in der Lage ist, den inhibitorischen Effekt von N/OFQ aufzuheben, wogegen Naloxon sehr wohl eine antagonistische Wirkung zeigt. Wie schon oben erwähnt, ist [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ ein selektiver Rezeptorantagonist mit geringer Potenz (Calo et al. 2000a, S. 1183-1193). Es ist daher erstens möglich, dass der fehlende Effekt des spezifischen Antagonisten auf die niedrige Potenz zurückzuführen ist, im Gegensatz zum starken Agonisten N/OFQ (Calo et al. 2000a, S. 1183-1193, Pheng et al. 2001, S. 383-388, Sbrenna et al. 2000, S. 425-433). Zweitens besteht die Möglichkeit, dass N/OFQ in höheren Dosen seinen inhibitorischen Effekt auf die Somatostatinsekretion über Opiatrezeptoren vermittelt. Diese Vermutung liegt nahe, da eine strukturelle Ähnlichkeit zwischen den Opiatrezeptoren und dem NOP Rezeptor besteht. Diese These wird dadurch bekräftigt, dass Naloxon am NOP Rezeptor keine Wirkung besitzt und seine Wirkung ausschließlich über Opiatrezeptoren vermittelt. Gintzler et al. zeigten, dass N/OFQ und das Tyr¹⁴ Analog eine geringe Affinität zu den Opiatrezeptorsubtypen besitzen, besonders zu den OP₂ und OP₃ Rezeptoren. Diese

Interaktion von N/OFQ mit Opiatrezeptoren hängt von der lokalen Konzentration ab. So wird die exzitatorische Aktivität von N/OFQ in den Konzentrationen 10^{-7} M und 10^{-6} M auf die elektrisch stimulierte Encephalinalausschüttung im Plexus myentericus des Meerschweinchenileums durch Naloxon 10^{-6} M signifikant inhibiert, während bei Verwendung von N/OFQ 10^{-9} M Naloxon keine Wirkung zeigt (Gintzler et al. 1997, S. 29-34). In vivo Experimente zeigten denselben Effekt. So wurden Versuche mit Ratten durchgeführt, bei denen sich gezeigt hat, dass die Stimulation der Nahrungsaufnahme durch i.c.v. Injektion von N/OFQ durch s.c. Injektion von Naloxon verhindert werden kann. Dabei wird auch ein Opiatrezeptor vermittelter Übertragungsweg vermutet (Pomonis et al. 1996 S396-371).

Die Daten aus der vorliegenden Arbeit zeigen, dass N/OFQ die vorstimulierte Somatostatinsekretion am isoliert perfundierten Rattenmagen zu inhibieren vermag. Dabei vermittelt N/OFQ seine Wirkung in niedriger Konzentration über NOP Rezeptoren, dagegen bei Verwendung höherer Konzentrationen über Opiatrezeptoren.

5. Zusammenfassung

Die Bedeutung opioider Peptide als peptiderge Neurotransmitter und Modulatoren für die Regulation der exokrinen und endokrinen Funktion des Gastrointestinaltraktes wurde in verschiedenen Studien nachgewiesen. Die Grundlagen über dieses System wurden allerdings erheblich erweitert. Zum einen wurden kürzlich die endogenen Agonisten des OP_3 Rezeptors entdeckt: Endomorphin-1 und Endomorphin-2. Außerdem wurde ein weiteres Rezeptorsystem nachgewiesen, welches strukturell eng verwandt mit den Opiatrezeptoren ist und deshalb in Anlehnung an die Opiatrezeptorklassifikation NOP (Nociceptin/Orphanin FQ Peptid) genannt wird. Dessen endogener Ligand N/OFQ (Nociceptin/Orphanin FQ) wurde ebenfalls erst kürzlich isoliert. Sein Einfluss auf einige Funktionen des Gastrointestinaltraktes wurde bereits in mehreren Studien dargestellt. Charakteristisch für den Effekt von N/OFQ ist, dass er nicht durch den klassischen Opiatrezeptorantagonisten Naloxon inhibiert werden kann. Da bekannt ist, dass exogene und endogene Opioide auch Wirkung auf die Magenfunktion haben, war es deshalb von Interesse zum einen den Effekt von Endomorphin-1 und -2 sowie zum anderen des strukturverwandten N/OFQ auf den isoliert perfundierten Rattenmagen zu untersuchen, zumal die Wirkung auf die neuroendokrine Funktion des Magens noch unbekannt war.

Die vorliegende Arbeit zeigt nun zum ersten Mal die Bedeutung von Endomorphin-1 und -2 sowie N/OFQ für die Regulation der Somatostatinsekretion am isoliert perfundierten Rattenmagen.

Die Ergebnisse unserer Versuche haben gezeigt, dass alle drei Peptide Inhibitoren der gastralen Somatostatinsekretion am isoliert perfundierten Rattenmagen sind, jedoch wird dieser Effekt substanz- beziehungsweise konzentrationsabhängig über verschiedene Rezeptoren vermittelt.

Die endogenen OP_3 Rezeptoragonisten Endomorphin-1 und Endomorphin-2 hemmen die basale und mit GIP prästimulierte Somatostatinsekretion. Dieser inhibierende Effekt konnte durch den OP_3 Rezeptorantagonisten CTOP signifikant abgeschwächt werden. Dennoch resultierte noch ein signifikanter inhibitorischer Effekt, der darauf schließen

lässt, dass die Wirkung von Endomorphin-1 nicht ausschließlich über OP_3 Rezeptoren vermittelt wird. Die komplette Inhibition der niedrigeren Konzentration von Endomorphin-1 durch Naloxon lässt darauf schließen, dass Endomorphin-1 auch andere Opiatrezeptoren aktiviert. Endomorphin-1 und Endomorphin-2 in höheren Konzentrationen werden dagegen durch Naloxon nicht komplett antagonisiert. Dafür kann es verschiedene Gründe geben. Zum einen können über Nichtopiatrezeptoren vermittelte Effekte eine Rolle spielen, zum anderen könnte eine zu geringe Wirkungspotenz von Naloxon die Ursache sein. Die Frage, ob die Wirkung von Endomorphin-1 und Endomorphin-2 in der Konzentration 10^{-6} M durch Verwendung von Naloxon in höherer Konzentration inhibiert werden könnte, ist jedoch schwer zu beantworten, da höhere Konzentrationen von Naloxon toxisch wirken. Der exakte Mechanismus bedarf noch weiterer Klärung.

Der endogene NOP Agonist N/OFQ inhibiert ebenfalls die mit GIP prästimulierte Somatostatinsekretion. Der Mechanismus ist allerdings offensichtlich ein anderer. In der niedrigeren Konzentration konnte der inhibitorische Effekt von N/OFQ durch den kompetitiven Antagonisten [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ erwartungsgemäß geblockt werden. Der Opiatrezeptorantagonist Naloxon hingegen zeigte keinen Effekt. Im Gegensatz dazu, konnte der inhibitorische Effekt der höheren Konzentration von N/OFQ durch [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ nicht antagonisiert werden, während Naloxon einen hemmenden Effekt zeigte. Das könnte zum einen an der niedrigen Potenz des Antagonisten [Nphe1]N/OFQ(1-13)NH₂ liegen. Zum anderen wäre es allerdings auch möglich, dass der Effekt in höheren Konzentrationen von N/OFQ zumindest teilweise über Opiatrezeptoren vermittelt wird.

6. Literaturverzeichnis

1. ABBADIE C, LOMBARD MC, BESSON JM, TRAFTON JA, BASBAUM AI: Mu and delta opioid receptor-like immunoreactivity in the cervical spinal cord of the rat after dorsal rhizotomy or neonatal capsaicin: an analysis of pre- and postsynaptic receptor distributions. *Brain Res.* 930 (1-2) (2002) 150-162
2. AHRÉN B, PAQUETTE L, TABORSKY GJ JR: Effects and mechanism of vagal nerve stimulation on somatostatin secretion in dogs. *Am J Physiol* 250 (1986) E212-E217
3. ALINO SF, GARCIA D, UVNÄS-MOBERG K: Effect of intragastric pH, prostaglandins and prostaglandin synthesis inhibitors on the release of gastrin and somatostatin into the gastric lumen of anaesthetized rats. *Acta Physiol Scand* 126 (1986) 1-8
4. ALLESCHER HD, SCHUSDZIARRA V, WEIGERT N, CLASSEN M: Interaction between endogenous opioids, cholinergic and adrenergic mechanism during vagal induced gastrin release in rats. *Neuropeptides* 9 (1987) 309-323
5. 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* 81 (1997): 579-591
6. BALDISSERA FGA, MUNOZ-PEREZ MA, HOLST JJ: Somatostatin 1-28 circulates in human plasma. *Regul. Pept.* 6 (1983) 63-69
7. BALDISSERA FGA, NIELSEN OV, HOLST JJ: The intestinal mucosa preferentially releases Somatostatin-28 in pigs. *Regul Pept* 11 (1985) 251-262
8. BEFRITS R. UVNÄS-MOBERG K. JOHANSSON C: Interactions between antral peptides and prostaglandin biosynthesis in gastric acid regulation in man. *Digestion* 45 (1990) 9-18
9. BERELOWITZ M, KRONHEIM S, PIMSTONE B, SHAPIRO B: Somatostatin-like-immunoreactivity in rat blood. *J Clin Invest* 61 (1978) 1410-1414
10. BERZETEI-GURSKE I, SCHWARTZ RW, TOLL L: Determination of activity for nociceptin in the mouse vas deferens. *Eur.J.Pharmacol.* 302 (1996) R1-R2
11. BESSE D, LOMBARD MC, BESSON JM: The Distribution of μ and δ Opioid Binding Sites Belonging to a Single Cervical Dorsal Root in the Superficial Dorsal Horn of the Rat Spinal Cord: A Quantitative Autoradiographic Study. *Eur J Neurosci.* 3 (1991) 1343-1352
12. BLOOM, SR, MORTIMER, CH, THORNER, MO, BESSER, GM, HALL, R, GOMEZ-PAN, A, ROY, VM, RUSSELL, RCG, COY, DH, KASTIN, AJ,

- SCHALLY, AV: Inhibition of gastrin and gastric-acid secretion by growth-hormone release inhibiting hormone. *Lacet* 2 (1974) 1106-1109
13. BRAZEAU, P, VALC, W, BURGUS, R, LING, N, BUTCHER, M, RIVIER, J, GUILLEMIN, R: Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 179 (1973) 77-79
 14. BUENO L, FIORAMONTI J: Action of opiates on gastrointestinal function. *Baillieres.Clin.Gastroenterol.* 2 (1988) 123-139.
 15. BUNZOW JR, SAEZ C, MORTRUD M, BOUVIER C, WILLIAMS JT, LOW M, GRANDY DK.: Molecular cloning and tissue distribution of a putative member of the rat opioid receptor gene family that is not a μ , d , or k opioid receptor type. *FEBS Lett.* 347 (1994) 284-288
 16. BURGUS, R, LING, N, BUTCHER, M, GUILLEMIN, R: Primary structure of somatostatin, a hypothalamic peptide that inhibits the secretion of pituitary growth hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70 (1973) 684-688
 17. BURKS TF, FOX DA, HIRNING LD, SHOOK JE, PORRECA F: Regulation of gastrointestinal function by multiple opioid receptors. *Life Sci.* 43 (1988) 2177-2181
 18. CALO G, GUERRINI R, BIGONI R, RIZZI A, MARZOLA, G., OKAWA H, BIANCHI C, LAMBERT DG, SALVADORI S, REGOLI D. Characterization of (N¹Phe¹)nociceptin(1-13)NH₂, a new selective nociceptin receptor antagonist. *Br.J.Pharmacol.* 129 (2000a) 1183-1193
 19. CALO G, GUERRINI R, RIZZI A, SALVADORI S, REGOLI D: Pharmacology of nociceptin and its receptor: a novel therapeutic target, *Brit. J. Pharm.* 129 (2000b) 1261-1283
 20. CALO G, RIZZI A, BOGONI G, NEUGEBAUER W, SALVADORI S, GUERRINI R, BIANCHI C, REGOLI D: The mouse vas deferens: a pharmacological preparation sensitive to nociceptin. *Eur.J.Pharmacol.* 311 (1996a) R3-R5
 21. CALO G, RIZZI A, BODIN M, NEUGEBAUER W, SALVADORI S, GUERRINI R, BIANCHI C, REGOLI D: Pharmacological characterization of nociceptin receptor: an in vitro study. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 75 (1996b) 713-718
 22. CANFIELD SJ, SPENCER J: The action of morphine and naloxone on acid secretion by the rat isolated stomach. *Eur. J. Pharmacol.* 71 (1981) 135-138
 23. CHAVKIN C, JAMES LF, GOLDSTEIN A: Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor. *Science* 215 (1982) 413-415
 24. CHAYVIALLE JA, MIYATA M, RAYFORD PL, THOMPSON JC: Effects of a test meal, intragastric nutrients, and intraduodenal bile on plasma

- concentrations of immunoreactive somatostatin and vasoactive intestinal peptide in dogs. *Gastroenterology* 79 (1980) 844-852
25. CHIBA, T, KADOWAKI, S, TAMINATO, T, CHIHARA, K, SEINO, Y, MATSUKURA, S, FUJITA, T: Effekt of antisomatostatin γ -globulin on gastrin release in rats. *Gastroenterology* 81 (1981) 321-326
 26. CHIBA, T, TAMINATO, T, KADOWAKI, S, ABE, H, CHIHARA, K, GOTO, Y, SEINO, Y., FUJITA, T: Effects of glucagon, secretin and vasoactive intestinal polypeptide on gastric somatostatin and gastrin release from isolated perfused rat stomach. *Gastroenterology* 79 (1980a) 67-71
 27. CHIBA T., TAMINATO T., KADOWAKI S., INOUE Y., MORI K., SEINO Y., ABE H., CHIHARA K., MATSUKURA S., FUJITA T., GOTO Y.: Effects of various gastrointestinal peptides on gastric somatostatin release. *Endocrinology* 106 (1980b) 145-149.
 28. CHIHARA K, MINAMITANI N, KAJI H, ARIMURA A, FUJITA T: Intraventriculy injected growth hormone stimulates somatostatin release into rat hypophysial portal blood. *Endocrinology* 109 (1981) 2279-2281
 29. COLTURI, TJ, UNGER, RH, FELDMAN, M: Role of circulating somatostatin in regulation of gastric acid secretion, gastrin release, and islet cell function. *J. Clin. Invest.* 74 (1984) 417-423
 30. COLTURI TJ, UNGER RH, PETERS M, FELDMAN M: Physiologic role for circulating somatostatin in gastric secretion in man. *Gastroenterology* 84 (1983) 60-65
 31. Cone RI, Weber E, Barchas JD, Goldstein A: Regional distribution of dynorphin and neo-endorphin peptides in rat brain, spinal cord, and pituitary. *J. of Neuroscience* Vol 3 (1983) 2146-2152
 32. D'ALESSIO DA, ENSINCK JW: Fasting and postprandial concentrations of somatostatin-28 and somatostatin-14 in type II diabetes in men. *Diabetes* 39 (1990) 1198-1202
 33. DANIELS GH, MARTIN JB: Neuroendokrine Regulation und Erkrankungen des Hypophysenvorderlappens und Hypothalamus. In: *Harrisons Innere Medizin* Band 2, Deutsche Ausgabe, Kurt J.G. Schmailzl (Hrsg.), Blackwell-Wissenschafts-Verlag Berlin, Wien 1995, 13. Auflage, 2214-2244
 34. DARLAND T, HEINRICHER M, GRANDY DK.: Orphanin FQ/ nociceptin: a role in pain and analgesia, but so much more. *Trends Neurosci.* 21 (1998) 215-221
 35. DE GRAEF J, WOUSSEN-COLLE MC: Effects of sham feeding, bethanechol and bombesin on somatostatin release in dogs. *Am J Physiol* 248 (1985) G1-G7

36. DHAWAN BN, CESSÉLIN F, RAGHUBIR R, REISINE T, BRADLEY PB, PORTOGHESE PS, HAMON M: International Union of pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacol. Rev.* 48 (1996) 567-592
37. DU VAL, JW, SAFFOURI, B, WEIR, GC, WALSH, JH, ARIMURA, A, MAKHLOUF, GM: Stimulation of gastrin and somatostatin secretion from the isolated rat stomach by bombesin. *Am. J. Physiol.* 241 (1981) 242-247
38. ELWIN CE: Gastric acid response to antral application of some amino acids, peptides and isolated fractions of a protein hydrolysate. *Scand. J. Gastroenterol.* 9 (1974) 239-247
39. ENSINCK JW, LASCHANSKY EC, VOGEL RE, SIMONOWITZ DA, ROOS BA, FRANCIS BH: Circulating prosomatostatin-derived peptides. *J Clin Invest* 83 (1989) 1580-1589
40. ENSINCK JW, VOGEL RE, LASCHANSKY EC, FRANCIS BH: Effect of ingested carbohydrate, fat and protein on release of somatostatin-28 in humans *Gastroenterology* 98 (1990) 633-638
41. ESPLUGUES JV, BARRACHINA MD, ESPLUGUES J: Modulation by peripheral opioids of basal and distension-stimulated gastric acid secretion in the rat. *Br.J.Pharmacol.* 106 (1992) 33-38.
42. EVANS C: The emerging family of opioid receptors and their genes. *Dig. Dis. Sci.* 39 (1994) 1796 (Abstract)
43. FANCIULLI G, DETTORI A, FENUDE E, DEMONTIS MP, ALBERICO E, DELITALA G, ANANIA V: Intravenous administration of the food-derived opioid peptide gluten exorphin B5 stimulates prolactin secretion in rats. *Pharmacol Res.* 47 (2003) 53-8
44. FELDMAN M, WALSH JH, TAYLOR IL: Effect of naloxone and morphine on gastric acid secretion and on serum gastrin and pancreatic polypeptide concentrations in humans. *Gastroenterology* 79 (1980) 294-298
45. FICKEL J, BAGNOL D, WATSON SJ, AKIL H: Opioid receptor expression in the rat gastrointestinal tract: a quantitative study with comparison to the brain. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 46 (1997) 1-8
46. FINLEY JCW, MADERDRUT JL, ROGER LJ, PETRUSZ P: The immunocytochemical localization of somatostatin-containing neurons in the rat central nervous system. *Neuroscience* 6 (1981) 2173-2192
47. FIORAMONTI J, FARGEAS MJ, BUENO L: Involvement of endogenous opiates in regulation of gastric emptying of fat test meals in mice. *Am.J.Physiol.* 255 (1988) G158-G161

48. FORSMANN WG, HELSTAEDTER V, FEUERLE G: Relationship of enkephalin and endomorphin immunoreactivity with D-cells and G-cells of the stomach: *Hepato-gastroenterol.* 24 (1977) 488-499
49. 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.* 343 (1994) 42-46
50. FUKUDOME S, YOSHIKAWA M: Gluten exorphin C. A novel peptide derived from wheat gluten. *FEBS Lett.* 316 (1993) 17-9
51. FUKUDOME S, YOSHIKAWA M: Opioid peptides derived from wheat gluten: their isolation and characterization. *FEBS Lett* 296 (1992) 107-11
52. GINTZLER A, ADAPA I, TOLL L, MEDINA V, WANG L: Modulation of enkephalin release by nociceptin (orphanin FQ). *Eur.J.Pharmacol.* 325 (1997) 29-34
53. GIULIANI S, MAGGI CA: Inhibition of tachykinin release from peripheral nerve endings of sensory nerves by nociceptin, a novel opioid peptide. *Br.J.Pharmacol.* 118 (1996) 1567-1569
54. GOLDBERG IE, ROSSI G, LETCHWORTH SR, MATHIS JP, RYAN-MORO J, LEVENTHAL L, SU W, EMMEL D, BOLAN EA AND PASTERNAK GE: Pharmacological characterization of Endomorphin-1 and Endomorphin-2 in Mouse Brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286 (2) (1998) 1007-1013
55. GOLDSTEIN A, GHAZAROSSIAN VE: Immunoreactive dynorphin in pituitary and brain. *Proc. Natl. Acad. Sci* 77 (1980) 6207-6210
56. GOLDSTEIN A, NAIDU A: Multiple opioid receptors: ligand selectivity profiles and binding site signatures. *Mol. Pharmacol* 36 (1989) 265-272
57. GOLDSTEIN A, TACHIBANA S, LOWNEY LI, HUNKAPILLER M, HOOD L: Dynorphin (1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76 (1979) 6666-6670
58. GREEN IC, PERRIN D, PENMAN E, YASEEN A, RAY K, HOWELL SL: Effect of dynorphin on insulin and somatostatin secretion, calcium uptake, and c-AMP levels in isolated rat islets of Langerhans. *Diabetes* 32 (1983) 685-690
59. GREGER R: Die Zelle als Grundbaustein. In: *Lehrbuch der Physiologie*, Kliner R., Silbernagl S. (Hrsg.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York 1996, 2. Auflage, 13-37
60. GUERRINI R, CALO G, RIZZI A, BIANCHI C, LAZARUS LH, SALVADORI S, TEMUSSI A, REGOLI D. Address and message sequences for the N/OFQ receptor: a structure-activity study of N/OFQ-(1-13)-peptide amide. *J.Med.Chem.* 1997; 40:1789-1793

61. GULYA K, PELTON JT, HRUBY VJ, YAMAMURA HI: Cyclic somatostatin octapeptide analogues with high affinity and selectivity toward μ opioid receptors. *Life Sci.* 38 (1986) 2221-2229
62. GUTNIAK M, GRILL V, WIECHEL KL: Basal and meal-induced somatostatin-like immunoreactivity in healthy subjects and in IDDM and totally pancreatectomized patients. *Diabetes* 36 (1987) 802-808
63. HAHN A, ALLESCHER HD: Effect of endomorphin-1 and endomorphin-2 on the ascending and descending reflex pathway in rat intestine. *Gastroenterology* 114 (1998) A759
64. HAMON M: The new approach to opioid receptors. *NS Arch. Pharmacol.* 358 (1998) SA 5.3
65. HAWKINSON JE, ACOSTA-BURRUEL M, ESPITIA SA: Opioid activity profiles indicate similarities between the nociceptin/ orphanin FQ and opioid receptors. *Eur.J.Pharmacol.* 389 (2000) 107-114
66. HACKLER L, ZADINA JE, GE LJ, KASTIN AJ: Isolation of relatively large amounts of endomorphin-1 and endomorphin-2 from human brain cortex. *Peptides* 18 (1997) 1635-1639
67. HARRIS V, CONLON JM, SRIKANT CB, MCCORCLE K, SCHUSDZIARRA V, IPP E, UNGER RH: Measurements of somatostatin-like immunoreactivity in plasma. *Clin. Chim. Acta* 87 (1978) 275-283
68. HELYES Z, NEMETH J, PINTER E, SZOLCSANYI J: Inhibition by nociceptin of neurogenic inflammation and the release of SP and CGRP from sensory nerve terminals. *Br.J.Pharmacol.* 121 (1997) 613-615
69. HILLER JM, PEARSON J, SIMON EJ: Distribution of stereospecific binding of the potent narcotic analgesic etorphine in the human brain: predominance in the limbic system. *Res. Commun. Chem. Path. Pharmacol.* 6 (1973) 1052-1062
70. HOLST JJ, JENSEN SL, KNUHTSEN S, NIELSEN OV, REHFELD JF: Effect of vagus, gastric inhibitory polypeptide and HCl on gastrin and somatostatin release from perfused pig antrum. *Am J. Physiol.* 244 (1983) G515-G522
71. HOLST JJ, KNUHTSEN S, ORSKOV C, SKAK-NIELSEN T, POULSEN SS, NIELSEN VV: GRP-producing nerves control antral somatostatin and gastrin secretion in pigs. *Am J Physiol.* 253 (1987) G767-G774
72. HOUTANI T, NISHI M, TAKESHIMA H, SATO K, SAKUMA S, KAKIMOTO S, UHEYAMA T, NODA T, SUGIMOTO T: Distribution of nociceptin/orphanin FQ precursor protein and receptor in brain and spinal cord: a study using in situ hybridization and X-gal histochemistry in receptor deficient mice. *J. Comp. Neurol.* 424 (2000) 489-508

73. HUGHES J, SMITH TW, KOSTERLITZ HW, FOTHERGILL LA, MORGAN BA, MORRIS HR: Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 258 (1975) 577-580
74. INOUE M, KOBAYASHI M, KOZAKI S, ZIMMER A, UEDA H: Nociceptin/orphanin FQ-induced nociceptive responses through substance P release from peripheral nerve endings in mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 95 (1998) 10949-10953
75. ITO S, TAKAI K, SHIBATA A, MATSABARA Y, YANAIHARA N: Met-enkephalin immunoreactive and gastrin-immunoreactive cells in the human and canine pyloric antrum. *Gen. Comp. Endocrinol.* 38 (1979) 238-245
76. JIMENEZ M, MARTINEZ V, GONALONS E, VERGARA P: In vivo modulation of gastrointestinal motor activity by Met-enkephalin, morphine and enkephalin analogs in chickens. *Regul.Pept.* 44 (1993) 71-83
77. JOHANSSON O, HÖKFELT T, ELDE RP: Immunohistochemical distribution of somatostatin-like-immunoreactivity in the central nervous system of the adult rat. *Neuroscience* 13 (1984) 265-339
78. KARNIK, PS, MONAHAN, SJ, WOLFE, MM: Inhibition of gastrin gene expression by somatostatin. *J. Clin. Invest.* 83 (1989) 3367-372
79. KEAST J, FURNESS J, COSTA M: Somatostatin in human enteric nerves. Distribution and characterization. *Cell Tissue Res.* 237 (1984) 299-308
80. KONTUREK SJ: Endogenous opiates and the digestive system. *Scand. J. Gastroenterol.* 13 (1978) 257-261
81. KONTUREK SJ, KWIECIEN N, OBTULOWOCZ W, SWIERCZEK J, BIELANSKI W, OLESKY J, COG DH: Effect of enkephalin and naloxone on gastric acid secretion and serum gastrin and pancreatic polypeptide concentrations in humans. *Gut* 24 (1983) 740-745
82. KONTUREK SJ, TASLER J, CIESZKOWSKI ME, COY DH, SCHALLY AV: Comparison of methionine enkephalin and morphine in the stimulation of gastric acid secretion in the dog. *Gastroenterology* 78 (1980) 294-300
83. KOSTRITSKY-PEREIRA A, WOUSSEN-COLLE MC, DE GRAEF J: Effects of met-enkephalin on acid secretion from gastric fistulas and heidenhain pouches in dogs stimulated by pentagastrin, pentagastrin and bethanechol or a meal. *Int. J. Tiss. Res.* 6 (1984) 167-173
84. KRISCH B: Immunohistochemical results on the distribution of somatostatin in the hypothalamus and in limbic structures of the rat. *J Histochem Cytochem* 27 (1979) 1389-1390

85. KRULICH L, DHAIRWAL APS, MC CANN SM: Stimulatory and inhibitory effects of purified hypothalamic extracts on growth hormone release factor from rat pituitary in vitro *Endocrinology* 83 (1968) 783-790
86. KUMMER W, FISCHER A: Nociceptin and its receptors in guinea pig sympathetic ganglia. *Neurosci Lett.* 234 (1997) 35-38
87. LACHOWICZ JE, SHEN Y, MONSMA FJ, SIBLEY DR.: Molecular cloning of a novel G protein-coupled receptor related to the opiate receptor family. *J. Neurochem.* 64 (1995) 34-40
88. LARSSON LI, GOLTERMANN N, DE MAGISTRIS L, REHFELD JF, SCHWARTZ TW: Somatostatin cell processes as pathways for paracrine secretion. *Science Wash. DC* 205 (1979) 1393-1395
89. LARSSON LI, STENGAARD-PEDERSON K: Enkephalin/-endorphin-related peptides in antropyloric gastrin cells. *J. Histochem.* 29 (1981) 1088-1098
90. LEANDER S, EKMAN R, UDDMAN R, SUNDLER F, HAKANSON R: Neuronal cholecystochinin, gastrin-releasing peptide, neurotensin, and β -endorphin in the intestine of the guinea-pig. Distribution and possible motor functions. *Cell Tissue Res.* 235 (1984) 521-531
91. LI CH, CHUNG D: Isolation and structure of an untriakontapeptide with opiate activity from camel pituitary glands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73 (1976) 1145-1148
92. LIGUMSKY M, GOTO Y, DEBAS H, YAMADA T: Prostaglandins mediate inhibition of gastric acid secretion by somatostatin in the rat. *Science* 219 (1983) 301-303
93. LOUD FB, HOLST JJ, EGENSE E, PETERSEN B, CHRISTIANSEN J: Is somatostatin a humoral regulator of the endocrine pancreas and gastric acid secretion in man? *Gut* 26 (1985) 445-449
94. LONERGAN T, GOODCHILD AK, CHRISTIE MJ, PILOWSKY PM: Mu opioid receptors in rat ventral medulla: effects of endomorphin-1 on phrenic nerve activity *Respir. Physiol. Neurobiol.* 138(2-3) (2003) 165-178
95. LÖFFLER, G: Endokrine Gewebe II: Die schnelle Stoffwechselregulation. In: „Biochemie und Pathobiochemie“, Löffler, G, Petrides. PE, (Hrsg.), Springer Verlag Berlin, Heidelberg 1997, 5. Auflage, 788-811
96. LUNDBERG JM, HÖKFELD T, KEWENTER J, PETERSON G, AHLMAN H, EDEN R, DAHLSTRÖM A, NILSSON G, TERENIUS L, UVNÄS-WALLENSTEN K, SAID S: Substance P, VIP and enkephalin-like immunoreactivity in the human vagus nerve. *Gastroenterol* 77 (1979) 468-471
97. MADAUS S, SCHUSDZIARRA V, KEHE K, MUNZERT G, WEBER G, CLASSEN M: Vagally induced release of gastrin, somatostatin and bombesin

- like immunoreactivity from perfused rat stomach. Effect of stimulation frequency and cholinergic mechanisms. *Regul Pept* 30 (1990) 179-192
98. MARTIN-SCHILD S, GERALL A, KASTIN AJ, ZADINA J: Differential distribution of endomorphin-1 and endomorphin-2-like immunoreactivities in the CNS of the rodent. *The Journal of Comparative Neurology* 405 (1999) 450-471
99. MARTIN-SCHILD S, ZADINA JE, GERALL AA, VIGH S, KASTIN AJ: Localization of endomorphin-2-like immunoreactivity in the rat medulla and spinal cord. *Peptides* 18 (1997) 1641-1649
100. MADAUS S, SCHUSDZIARRA V, ERBERL T, SEUFFERLEIN T, CLASSEN M: Effect of met-enkephalin and met-enkephalin-Arg6-Phe7 on bombesin-like immunoreactivity (BLI), somatostatin and gastrin secretion from the perfused rat stomach. *Hepatogastroenterology* 37 (1990) 201-203
101. MARTIN WR, EADES CG, THOMPSON JA, HUPPLER RE, GILBERT PE: The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 197 (1976) 517-32
102. McCONALOGUE K, GRADY EF, MINNIS J, BALESTRA B, TONINI M, BRECHA NC, BUNNETT NW, STERNINI C: Activation and internalization of the mu-opioid receptor by the newly discovered endogenous agonists, endomorphin-1 and endomorphin-2. *Neuroscience*. 90 (1999) 1051-9
103. McINTOSH CHS, BAKICH V, KWOK YN, WONG J, BROWN JC: The effects of substance P, histamine and histamine antagonists on somatostatin and gastrin release from the isolated perfused rat stomach. *Regul. Peptides* 19 (1987) 253-263
104. McINTOSH CHS, JIA X, KOWK YN: Characterization of the opioid receptor type mediating inhibition of rat gastric somatostatin secretion. *Am.J.Physiol.* 259 (1990) G922-G927
105. McINTOSH CHS, PEDERSON RA, KOOP H, BROWN JC: Gastric inhibitory polypeptide stimulated secretion of somatostatin-like immunoreactivity from the stomach: inhibition of acetylcholin or vagal stimulation. *Cand. J. physiolog Pharmacol* 59 (1981a) 468-472
106. McINTOSH CHS, PEDERSON RA, MULLER M, BROWN J: Autonomic nervous controls of the gastric somatostatin secretion from the perfused rat stomach *Life Sci* 29 (1981b) 1477-1483
107. MEIS S: Nociceptin/orphanin FQ: actions within the brain. *Neuroscientist* 9 (2003) 158-168
108. MENNICKEN F, ZHANG J, HOFFERT C, AHMAD S, BEAUDET A, O'DONNELL D: Phylogenetic changes in the expression of delta opioid

- receptors in spinal cord and dorsal root ganglia. *J Comp Neurol.* 465 (2003) 349-60
109. MERCHENTHALER I, SETALO G, CSONTOS C, PETRUSZ P, FLERKO B, NEGRO-VILAR A.: Combined retrograde tracing and immunocytochemical identification of luteinizing hormone-releasing hormone- and somatostatin-containing neurons projecting to the median eminence of the rat. *Endocrinology* 125 (1989) 2812-21
 110. MEUNIER JC: Nociceptin/ orphanin FQ and the opioid receptor-like ORL1 receptor. *Eur.J.Pharmacol.* 340 (1997) 1-15
 111. MEUNIER JC, MOLLEREAU C, TOLL L, SUAUDEAU C, MOISAND C, ALVINERIE P, BUTOUR JL, GUILLEMOT JC, FERRARA P, MONSARRAT B, ET AL.: Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor *Nature* 377 (1995) 532-535
 112. MILLER RJ, PICKEL VM: The distribution and functions of the enkephalins. *J. Histochem Cytochem* 28(8) (1980) 903-17
 113. MITTAL RK, FRANK EB, LANGE RC, MCCALLUM RW: Effects of morphine and naloxone on esophageal motility and gastric emptying in man. *Dig.Dis.Sci.* 31 (1986) 936-942
 114. MOLLEREAU C, MOULEDOUS L: Tissue distribution of the opioid receptor like (ORL1) receptor. *Peptides* 21 (2000) 907-917
 115. MOLLEREAU C, PARMENTIER M, MAILLEUX P, BUTOUR JL, MOISAND C, CHALON P, CAPUT D, VASSART G, MEUNIER JC.: ORL 1, a novel member of the opioid receptor family: Cloning, functional expression and localization. *FEBS Lett.* 341 (1994) 33-38
 116. NAYLOR, S, SAKGUCHI, A, SHEN, L-P, BELL, G, RUTTER, W, SHOWS, T.: Polymorphic human somatostatin gene is located on chromosome 3. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80 (1983) 2686-2689
 117. NEAL CR Jr, MANSOUR A, REINSCHIED R, NOTHACKER HP, CIVELLI O, AKIL H, WATSON SJ Jr: Opioid receptor like (ORL1) receptor distribution in the rat central nervous system: comparison of ORL1 receptor mRNA expression with (125)-I-[(14)Tyr]-orphanin FQ binding. *J. Comp. Neurol.* 412 (1999a) 563-605
 118. NEAL CR Jr, MANSOUR A, REINSCHIED R, NOTHACKER HP, CIVELLI O, WATSON SJ Jr: Localization of orphanin FQ (nociceptin) peptide and messenger RNA in the central nervous system of the rat. *J. Comp. Neurol.* 406 (1999b) 503-547
 119. NISHIMURA E, BUCHAN AM, MCINTOSH CH: Autoradiographic localization of opioid receptors in the rat stomach. *Neurosci.Lett.* 50 (1984) 73-78

120. NISHIMURA E, BUCHAN AM, MCINTOSH CH: Autoradiographic localization of mu- and delta-type opioid receptors in the gastrointestinal tract of the rat and guinea pig. *Gastroenterology* 91(1986) 1084-1094
121. NISHI M, TAKESHIMA H, MORI M, NAKAGAWARA K, TAKEUCHI T: Structure and chromosomal mapping of genes for the mouse kappa opioid receptor and an opioid receptor homologue (MORC). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205 (1994) 1353-1357
122. NISHI S, SEINO Y, KITANO N, SENO M, TSUJI K, KUROSE T, TAMINATO T, TSUDA K, YANAIHARA C, YANAIHARA N, et al.: Effects of naloxone on basal and vagus nerve-induced secretions of GRP, gastrin and somatostatin from the isolated perfused rat stomach. *Life Sci* 41 (1987) 1787-1793
123. NISHIWAKI H, SAITOH N, NISHIO H, TAKEUCHI T, HATA F: Inhibitory effect of endomorphin-1 and -2 on acetylcholine release from myenteric plexus of guinea pig ileum. *Jpn J Pharmacol.* 78 (1998) 83-86
124. 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.* 430 (2001) 1-11
125. OLESEN M, HOLST JJ, SOTTIMANO C, NIELSEN OV: Autonomic nervous control of fundic secretion of somatostatin and antral secretion of gastrin and somatostatin in pigs. *Digestion* 36 (1987) 24-35
126. OSINSKI MA, BASS P, GAUMNITZ EA.: Peripheral and central actions of orphanin FQ (nociceptin) on murine colon. *Am. J. Physiol.* 276 (1999a) G125-G131
127. OSINSKI MA, PAMPUSCH MS, MURTAUGH MP, BROWN DR: Cloning, expression and functional role of a nociceptin/ orphanin FQ receptor in the porcine gastrointestinal tract. *Eur. J. Pharmacol.* 365 (1999b) 281-289
128. OYAMA H, BRADSHAW RA, BATES OJ, PERMUTT A: Amino sequence of catfish pancreatic somatostatin I. *J. Biol. Chem* 255 (1980a) 2251-2254
129. OYAMA H, HIRSCH HJ, GABBAY KH, PERMUTT A: Isolation and characterization of immunoreactive somatostatin from fish pancreatic islets. *J. Clin. Invest.* 65 (1980b) 993-1002
130. PARK J, CHIBA T, YAMADA T: Mechanismus for direct inhibition of canine gastric parietal cells by somatostatin. *J. Biol. Chem.* 262 (1987) 14190-14196
131. PATEL YC: Somatostatin. In: Becker K (ed): *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*. Philadelphia, Lippincott (1980) 1297-1301
132. PATEL YC, REICHLIN S: Somatostatin in hypothalamus, extrahypothalamic brain and peripheral tissues of the rat. *Endocrinology* 102 (1978) 523-530

133. PATEL YC, SRIKANT CB: Somatostatin mediation of adrenohypophysial secretion. *Annu Rev Physiol* 48 (1985) 551-567
134. PATEL YC, WEATHLEY T, NING C: Multiple forms of immunoreactive somatostatin: Comparison of distribution in neutral and non neutral tissues and portal plasma of the rat. *Endocrinology* 109 (1981) 1943-1949
135. PENMAN E, WASS J, BUTLER M, PENNY E, PRICE J, WU P, REES L: Distribution and characterization of immunoreactive somatostatin in human gastrointestinal tract. *Regul. Pept.* 7 (1983) 53
136. PENMAN E, WASS JA, MEDBAK S, MORGAN L, LEWIS JM, BESSER GM, REES LH: Response of circulating immunoreactive somatostatin to nutritional stimuli in normal subjects. *Gastroenterology* 81 (1981) 692-699
137. PHENG LH, CALO G, GUERRINI R, REGOLI D: (Nphe¹)nociceptin-(1-13)NH₂ selectively antagonizes nociceptin effects in the rabbit isolated ileum. *Eur.J.Pharmacol.* 397 (2001) 383-388
138. POLAK JM, SULLIVAN SN, BLOOM SR, FACER P, PEARSE AGE: Enkephalin-like immunoreactivity in the human gastrointestinal tract. *Lancet* 1 (1977) 972-974
139. POLIDORI C, CALO G, CICCOCIOPPO R, GUERRINI R, REGOLI D, MASSI M: Pharmacological characterization of the nociceptin receptor mediating hyperphagia: identification of a selective antagonist. *Psychopharmacology* 148 (2000) 430-437
140. POLONSKY KS, SHOELSON SE, DOCHERTY HM: Plasma somatostatin 28 increases in response to feeding in man. *J Clin Invest* 71 (1983) 1514-1518
141. POMONIS J, BILLINGTON C, LEVINE A: Orphanin FQ, agonist of orphan opioid receptor ORL1, stimulates feeding in rats. *Neuroreport.* 8 (1996) 396-371
142. PORCHER C, JULE Y, HENRY M: A qualitative and quantitative study on the enkephalinergic innervation of the pig gastrointestinal tract. *J. Histochem Cytochem.* 48 (2000) 333-44
143. PRADAYROL, L, JORNVAL, H, MUTT, V, RIBET, A: N-terminally extended somatostatin: the primary structure of somatostatin-28. *FEBS Lett* 109 (1980) 55-58
144. RAY SB, WADHWA S: Mu opioid receptors in developing human spinal cord. *J Anat.* 195 (Pt 1) (1999) 11-18
145. REICHLIN S: Somatostatin *N Engl J Med* 309 (1983) 1495-1501, 1556-1563

146. REINSCHIED RK, HIGELIN J, HENNINGSEN RA, MONSMA-FJ J, CIVELLI O: Structures that delineate orphanin FQ and dynorphin A pharmacological selectivities. *J.Biol.Chem.* 273 (1998) 1490-1495
147. REINSCHIED RK, NOTHACKER HP, BOURSON A, ARDATI A, HENNINGSEN RA, BUNZOW JR, GRANDY DK, LANGEN H, MONSMA-FJ J, CIVELLI O.: Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science* 270 (1995) 792-794
148. RIEDL M, SHUSTER S, VULCHANOVA L, WANG J, LOH HH, ELDE RP.: Orphanin FQ/ nociceptin immunoreactive nerve fibers parallel those containing endogenous opioids in rat spinal cord. *Neuroreport.* 7 (1996) 1369-1372
149. RIZZI A, BIGONI R, CALO G, GUERRINI R, SALVADORI S, REGOLI D: (Nphe¹)nociceptin-(1-13)-NH₂ antagonizes nociceptin effects in the mouse colon. *Eur.J.Pharmacol.* 385 (1999) R3-R5
150. ROUILLER D, SCHUSDZIARRA V, HARRIS V, UNGER RH: Release of pancreatic and gastric somatostatin-like immunoreactivity in response to the octapeptide of cholecystokinin, secretin, gastric inhibitory polypeptide and gastrin-17 in dogs. *Endocrinology* 107 (1980) 524-529
151. SAFFOURI B, DuVAL JW, MAKHLOUF GM: Effect of opiate peptides on gastrin and somatostatin secretion in vitro. *Gastroenterol.* 80 (1981) 1267 (Abstract)
152. SAFFOURI B, WEIR G, BITAR K, MAKHLOUF G: Stimulation of gastrin secretion from the perfused rat stomach by somatostatin antiserum. *Life Sci.* 25 (1979) 1749-1754
153. SAKAMOTO M, NAKAO K, YOSHIMASA T, IKEDA Y, SUDA M, YANAIHARA N, IMURA H: Met-enkephalin-Arg6-Gly7-Leu8 exists together with Met-enkephalin-Arg6-Phe7, Met-enkephalin and Leu-enkephalin in human stomach. *Life Sci.* 33 Suppl 1 (1983) 81-84
154. SALVADORI S, GUERRINI R, CALO G, REGOLI D: Structure-activity studies on nociceptin/orphanin FQ: from agonist, to partial agonist, to pure antagonist. *Farmaco* 54 (1999) 810-825
155. SASAKI H, NAGULESPARA M, DUBOIS A, VASQUES B, STRAUS E, SIEVERS ML, UNGER RH: Inhibitory effect of intragastric glucoes on gastric acid secretion and gastric emptying of liquids in man. *Dig. Dis. Sci.* 28 (1983) 502-506
156. SBRENNNA S, MART M, MORARI M, CALO G, GUERRINI R, BEANI L, et al.: Modulation of 5-hydroxytryptamine efflux from rat cortical synaptosomes by opioids and nociceptin. *Br J Pharmacol* 130 (2000) 425-33

157. SCHEPP W, SCHNEIDER J, SCHUSDZIARRA V, CLASSEN M: Naturally occurring opioid peptides modulate H⁺ production by isolated rat parietal cells. *Peptides* 7 (1986) 885-890
158. SCHULIGOI R, AMANN R, ANGELBERGER P, PESKAR BA.: Determination of nociceptin-like immunoreactivity in the rat dorsal spinal cord. *Neurosci.Lett.* 224 (1997) 136-138
159. SCHULZ S, SCHREFF M, NÜß D, GRAMSCH C, HÖLLT V.: Nociceptin/orphanin FQ and opioid peptides show overlapping distribution but no co-localization in pain-modulatory brain regions. *Neuroreport* 7 (1996) 3021-3025
160. SCHULTZBERG M, HÖKFELD T, TERENIUS L, ELFVIN LG, LUNDBERG JM, BRANDT J, ELDE RP, GOLDSTEIN M: Enkephalin immunoreactive nerve terminals and cell bodies in sympathetic ganglia of guinea pig and rat. *Neuroscience* 4 (1979) 249-270
161. SCHULTZBERG M, HÖKFELT T, NILSSON G, TERENIUS L, REHFELD JF, BROWN M, ELDE RP, GOLDSTEIN M, SAID S: Distribution of peptidergic and catecholamin-containing neurons in the gastrointestinal tract of rat and guinea pig. *Neuroscience* 5 (1980) 689-744
162. SCHUSDZIARRA V: Role of somatostatin in nutrient regulation. *Adv Exp Biol Med* 188 (1985) 425-445
163. SCHUSDZIARRA V: Somatostatin-physiological and pathophysiological aspects. *Scand J Gastroenterol [Suppl 82]* 18 (1983) 69-84
164. SCHUSDZIARRA V: Somatostatin: Biological Actions and Pathophysiology. From Basic Science to Clinical Medicine. *Prog. Basic Clin Pharmacol.* Basel, Karger (1996) Vol 10, pp 35-53
165. SCHUSDZIARRA V: The physiological role of somatostatin in the regulation of nutrient homeostasis. In: *Somatostatin: Basic and clinical aspects of neuroscience.* Weil C, Müller EE, Thorner MO (Hrsg.) Springer Berlin (1992) vol. 4, 43-54
166. SCHUSDZIARRA V, BENDER H, PFEFFER A, PFEIFFER EF: Modulation of acetylcholin-induced secretion of gastric bombesin-like immunoreactivity by cholinergic and histamine H₂ receptors, somatostatin and intragastric pH. *Reg. Peptides* 8 (1984a) 189-198
167. SCHUSDZIARRA V, BENDER H, PFEIFFER E.F.: Release of bombesin-like immunoreactivity from the isolated perfused rat stomach. *Regul. Pept.* 7 (1983a) 21-29
168. SCHUSDZIARRA V, HARRIS V, CONLON JM, ARIMURA A, UNGER RH: Pancreatic and gastric somatostatin release in response to intragastric and intraduodenal nutrients and HCl in the dog. *J Clin Invest* 62 (1978) 509-518

169. SCHUSDZIARRA V, HOLLAND A, MAIER V, PFEIFFER EF: Effect of naloxone on pancreatic and gastric exocrine function in response of carbohydrate and fatrich test meals. *Peptides* 5 (1984b) 65-71
170. SCHUSDZIARRA V, LAWECKI J, DITSCHUNEIT HH, LUKAS B, MAIER V, PFEIFFER EF: Effect of low-dose somatostatin infusion on pancreatic and gastric endocrine function in lean and obese nondiabetic humans. *Diabetes* 34 (1986) 595-601
171. SCHUSDZIARRA V, REWES B, LENZ N, MAIER V, PFEIFFER E.F.: Evidence for a role of endogenous opiates in postprandial somatostatin release. *Reg. Peptides* 6 (1983b) 355-361
172. SCHUSDZIARRA V, ROUILLER D, HARRIS V, DEY R, UNGER RH: Plasma somatostatin-like immunoreactivity in chemically sympathectomized dogs. *Horm. Metab. Res.* 12 (1980a) 656-660
173. SCHUSDZIARRA V, ROUILLER D, HARRIS V, UNGER RH: Gastric and pancreatic release of somatostatin-like immunoreactivity during the gastric phase of a meal. Effects of truncal vagotomy and atropine in the anaesthetized dog. *Diabetes* 28 (1979a) 658-663
174. SCHUSDZIARRA V, ROUILLER D, HARRIS V, UNGER RH: Role of histamine H₂ receptor in gastric and pancreatic release of somatostatin-like immunoreactivity during the gastric phase of a meal. *Reg. Pept.* 2 (1981) 353-363
175. SCHUSDZIARRA V, ROUILLER D, JAFFE BM, HARRIS V, UNGER RH: Effects of endogenous and exogenous prostaglandin E upon gastric functions in dogs. *Endocrinology* 106 (1980b) 1620-1626
176. SCHUSDZIARRA V, ROUILLER D, PIETRI A, HARRIS V, ZYNAR E, CONLON JM, UNGER RH: Pancreatic and gastric release of somatostatin-like-immunoreactivity during the intestinal phase of a meal. *Am J Physiol* 273 (1979b) 555-560
177. SCHUSDZIARRA V, SCHICK R, DE LA FUENTE A, HOLLAND A, BRANTI V, PFEIFFER EF: Effect of β -casomorphin on somatostatin release in dogs. *Endocrinology* 112 (1983c) 1948-1951
178. SCHUSDZIARRA V, SPECHT J, SCHICK R, DE LA FUENTE A, HOLLAND A, PFEIFFER EF: Effect of morphin, leu-enkephalin and β -casomorphins on basal somatostatin release in dogs. *Horm. Metab. Res.* 15 (1983d) 407-408
179. SCHUSDZIARRA V, STAPELFELDT W, KLIER M, MAIER V: Role of histamine H₂ receptors in modulation of pancreatic and gastric endocrine funktion. *Acta Endocrinol.* 99 Suppl 246 (1982) 111
180. SCHUSDZIARRA V, ZYZNAR E, ROUILLER D, HARRIS V, UNGER RH: Free somatostatin in the circulation: Amounts and molecular sizes of

- somatostatin-like immunoreactivity in portal, aortic and vena caval plasma of fasting and meal stimulated dogs. *Endocrinology* 107 (1980c) 1572-1567
181. SEAL A, YAMADA T, DEBAS H, HOLLINSHEAD J, OSADCHEY B, APONTE G, WALSH J: Somatostatin-14 and -28 clearance and potency on gastric function in dogs. *Am. J. Physiol.* 243 (1982) G97-G102
 182. SHEA DP, ADAMS N, ARNOLD J, DUBOIS A: Effects of Met-enkephalin and naloxone on gastric emptying and secretion in rhesus monkeys. *Am.J.Physiol.* 245 (1983) G196-G200
 183. SHEN L-P, RUTTER W: Sequence of the human somatostatin I Gene. *Science* 224 (1984) 168-171
 184. SHORT GM, DOYLE JM, WOLFE MM: Effect of antibodies to somatostatin on acid secretion and gastrin release by the isolated perfused rat stomach. *Gastroenterology* 88 (1985) 984-988
 185. SPAMPINATO S, FERRI GL, CANDELETTI S, ROMUALDI P, CAVICCHINI E, SOIMERO L, LABO G, FERRI S: Regional distribution of immunoreactive dynorphin A in the human gastrointestinal tract. *Neuropeptides* 11 (1988) 101-5
 186. STAPELFELDT W, SCHUSDZIARRA V, ALLESCHER HD, WEIGERT N, CLASSEN M: Effect of naloxone on vagally-induced gastric acid secretion in rats. *Neuropeptides* 12 (1988) 13-20
 187. STORR M, HAHN A, GAFFAL E, SAUR D, ALLESCHER HD: Effects of endomorphin-1 and -2 on mu-opioid receptors in myenteric neurons and in the peristaltic reflex in rat small intestine. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 29 (2002) 428-34
 188. SULLIVAN SN, LAMKI L, CORCORAN P: Inhibition of gastric emptying by enkephalin analogue [letter]. *Lancet* 2 (1981) 86-87
 189. TADATAKA Y: Local Regulatory Actions of the Gastrointestinal Peptides. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, Johnson L. (Hrsg.), Raven Press, New York 1987, Second Edition, Chapter 5 131-142
 190. TAKAHASHI T, BAGNOL D, SCHNEIDER D, MIZUTA Y, ISHIGUCHI T et al.: Orphanin FQ causes contractions via inhibiting purinergic pathway in the rat colon. *Gastroenterology* 119 (2000) 1054-63
 191. TANIGUCHI H, YOMOTA E, NOGI K, ONODA Y, IKEZAWA K: The effect of nociceptin, an endogenous ligand for the ORL₁ receptor, on rat colonic contraction and transit. *Eur J Pharmacol* 353 (1998) 265-71
 192. TARI A, MIYACHI Y, HIDE M: β -endorphin-like immunoreactivity and somatostatin-like immunoreactivity in normal gastric mucosa, muscle layer, and adenocarcinoma. *Gastroenterology* 88 (1985) 670-674

193. TESCHEMACHER H: Opioid receptor ligands derived from food proteins. *Curr Pharm Des.* 9 (2003) 1331-44
194. TESCHEMACHER H, KOCH G: Opioids in the milk. *Endocr. Regul.* 25 (1991) 147-50
195. TESCHEMACHER H, KOCH G, BRANTL V: Milk protein-derived opioid receptor ligands. *Biopolymer.* 43 (1997) 99-117
196. TONINI M, FIORI E, BALESTRA B, SPELTA V, D'AGOSTINO G, DI NA, BRECHA NC, STERNINI C: Endomorphin-1 and endomorphin-2 activate mu-opioid receptors in myenteric neurons of the guinea-pig small intestine. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 358 (1998) 686-689
197. UVNAS-WALLENSTEN K, EFENDIC S, JOHANSSON C, SJODIN L, CRANWELL PD: Effect of intra-antral and intrabulbar pH on somatostatin-like immunoreactivity in peripheral venous blood of conscious dogs. The possible function of somatostatin as an inhibitory hormone of gastric acid secretion and its possible identity with bulbogastrone and antral chalone. *Acta Physiol Scand* 111 (1981) 397-408
198. WALSH JH: Gastrointestinal Hormones. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, Johnson L. (Hrsg.), Raven Press, New York 1987, Second Edition, Chapter 7 181-253
199. WANG JB, JOHNSON PS, IMAI Y, PERSICO AM, OZENBERGER BA, EPPLER CM, UHL GR.: cDNA cloning of an orphan opiate receptor gene family member and its splice variant. *FEBS Lett.* 348 (1994) 75-79
200. WANG QP, ZADINA JE, GUAN JL, SHIODA S: Morphological evidence of endomorphin as an agonist for the mu opioid receptor in the rat spinal cord. *Neurosci Lett* 341 (2003) 107-110
201. WASS JAH, PENMAN E, DRYBURGH JR, TSIOLAKIS D, GOLDBERG PL, DAW AM, BESSER GM, REES LH: Circulating somatostatin after food and glucose in man *Clin endocrinol (Oxf)* 12 (1980) 569-574
202. WASS JAH, PENMAN E, WEBB S, LUCCY M, BARROW I, REES L.H., BESSER G.M.: The pharmacology of postprandial somatostatin release in man. *Regul. Pept Suppl* 2 (1983) 12
203. WEI Y, OUYANG D, LIU Y, CHANG Z, TANG J, DING J: Peripheral tissue distribution of orphanin FQ precursor mRNA in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Chin. Med. Sci.* 14 (1999) 67-70
204. WICK MJ, MINNERATH SR, LIN X, ELDE R, LAW PY, LOH HH: Isolation of a novel cDNA encoding a putative membrane receptor with high homology to the cloned mu, delta, and kappa opioid receptors. *Brain Res Mol Brain Res.* 27 (1994) 37-44

205. WILLIS S, ALLESCHER HD, WEIGERT N, SCHUSDZIARRA V, SCHUMPELICK V: influence of the L-arginine-nitric oxide pathway on vasoactive intestinal polypeptide release and motility in the rat stomach in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* 315 (1996) 59-64
206. WITTERT G, HOPE P, PYLE D: Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 218 (1996) 877-881
207. VALE, W, RIVIER J, LING, N, BROWN, M: Biologic and immunologic activities and applications of somatostatin analogs. *Metabolism* 27 (1978) 1391-1401
208. YAZDANI A, TAKAHASHI T, BAGNOL D, AKIL H, WATSON SJ, OWYANG C: A newly discovered neuropeptide, orphanin FQ; its distribution and action in rat gastrointestinal tract (abstr). *Gastroenterology.* 112 (1997) A1201
209. YAZDANI A, TAKAHASHI T, BAGNOL D, WATSON SJ, OWYANG C: Functional significance of a newly discovered neuropeptide, orphanin FQ, in rat gastrointestinal motility. *Gastroenterology* 116 (1999) 108-117
210. YALOW RS, BERSON SA: Radioimmunoassay of gastrin. *Gastroenterology* 58 (1970) 1-14
211. ZADINA JE, HACKLER L, GE LJ, KASTIN AJ: A potent and selective endogenous agonist for the μ -opiate receptor. *Nature* 386 (1997) 499-502.
212. ZADINA JE, MARTIN-SCHILD S, GERALL AA, KASTIN AJ, HACKLER L, GE LJ, ZHANG X: Endomorphins: novel endogenous μ -opiate receptor agonists in regions of high μ -opiate receptor density *Ann NY Acad Sci* 897 (1999) 136-44
213. ZHANG L, GU ZF., PRADHAN T, JENSEN RT., MATSON PN: Characterization of opioid receptors on smooth muscle cells from guinea pig stomach. *Am J. Physiol.* 262 (1992) G461-G469
214. ZHANG G, MURRAY TF, GRANDY DK: Orphanin FQ has an inhibitory effect on the guinea pig ileum and the mouse vas deferens. *Brain Res.* 772 (1997) 102-106.
215. ZIOUDROU C, STREATY RA, KLEE WA: Opioid peptides derived from food proteins. The exorphins. *J Biol Chem.* 254 (1979) 2446-9

7. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Versuchsschema der unstimulierten Endomorphin-1 Versuche
- Abbildung 2:** Versuchsschema der unstimulierten N/OFQ Versuche
- Abbildung 3:** Versuchsschema der prästimulierten Endomorphin-1 und -2 Versuche
- Abbildung 4:** Versuchsschema der prästimulierten N/OFQ Versuche
- Abbildung 5:** Versuchsschema der Kontrollversuche mit $\text{GIP } 10^{-9} \text{ M}$ bzw. $\text{CTOP } 10^{-7} \text{ M}, 10^{-6} \text{ M}$
- Abbildung 6:** Inhibitorischer Effekt von Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-8} M ($n=5$) und 10^{-6} M ($n=5$) auf die basale Somatostatinsekretion aus dem isoliert perfundierten Rattenmagen. Mittelwert \pm SEM
- Abbildung 7:** Inhibitorischer Effekt von Endomorphin-1 in den Konzentrationen 10^{-7} M ($n=6$) und 10^{-6} M ($n=6$) und Endomorphin-2 in der Konzentration 10^{-6} M ($n=6$) auf die mit $\text{GIP } 10^{-9} \text{ M}$ vorstimulierte Somatostatinsekretion aus dem isoliert perfundierten Rattenmagen. Mittelwert \pm SEM
- Abbildung 8:** Effekt von Naloxon 10^{-6} M auf die Endomorphin-1 10^{-7} M ($n=6$) und 10^{-6} M ($n=4$), sowie Endomorphin-2 10^{-6} M ($n=13$) induzierte Hemmung der mit $\text{GIP } 10^{-9} \text{ M}$ prästimulierten Somatostatinsekretion. Mittelwert \pm SEM
- Abbildung 9:** Effekt von $\text{CTOP } 10^{-7} \text{ M}, 10^{-6} \text{ M}$ und 10^{-5} M auf die Endomorphin-1 10^{-7} M induzierte Hemmung der mit $\text{GIP } 10^{-9} \text{ M}$ prästimulierten Somatostatinsekretion

Abbildung 10: Effekt von CTOP 10^{-7} M, 10^{-6} M und 10^{-5} M auf die Endomorphin-1 10^{-6} M induzierte Hemmung der mit GIP 10^{-9} M prästimulierten Somatostatinsekretion

Abbildung 11: Effekt von N/OFQ auf die basale Somatostatinsekretion

Abbildung 12: Effekt von N/OFQ 10^{-8} M (n=4) und 10^{-6} M (n=6) auf die mit GIP 10^{-9} M prästimulierte Somatostatin-Freisetzung. Mittelwert \pm SEM

Abbildung 13: Effekt von [Nphe¹]Noc-(1-13)NH₂ 10^{-6} M (n=3) und 10^{-5} M (n=6) auf die N/OFQ 10^{-6} M induzierte Hemmung der mit GIP 10^{-9} M prästimulierten Somatostatinsekretion. Mittelwert \pm SEM

Abbildung 14: Effekt von Nphe¹]Noc-(1-13)NH₂ 10^{-6} M (n=8) und Naloxon 10^{-6} M (n=8) auf die durch N/OFQ 10^{-8} M induzierte Hemmung der mit GIP 10^{-9} M prästimulierten Somatostatinsekretion. Mittelwert \pm SEM

Abbildung 15: Effekt von Naloxon 10^{-6} M (n=8) auf die N/OFQ 10^{-6} M induzierte Hemmung der mit GIP 10^{-9} M prästimulierten Somatostatinsekretion. Mittelwert \pm SEM

Abbildung 16: Darstellung des menschlichen Präprosomatostatin und seiner aktiven Molekularformen

Abbildung 17: Chemische Struktur von Somatostatin, Aminosäuren von essentieller Bedeutung für die Rezeptorbindung

Abbildung 18: Vorkommen von Somatostatin in verschiedenen Körperorganen

Abbildung 19: Zielorgane des physiologischen Somatostatins

8. Danksagung

Herrn Prof. Dr. V. Schusdziarra danke ich für die Überlassung des Themas und dafür, dass er mir ermöglichte, in seiner Forschungsgruppe mitzuarbeiten.

Mein ganz besonderer Dank gebührt Herrn Dr. Florian Lippl sowohl für den engagierten Einsatz und die fachliche Betreuung während der Planung, Durchführung und Auswertung der vorliegenden Arbeit als auch für die vielen nützlichen Ratschläge bei der Erstellung des theoretischen Teils der Dissertation.

Insbesondere danke ich Frau Christine Herda für die Durchführung der Radioimmunassays sowie Herrn Jens Peter Zimmermann für die Hilfe und Unterstützung bei der Versuchsdurchführung.