

**Die Effekte des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten Repinotan  
auf den nozizeptiven Tail-Flick-Reflex**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

**Daniel Huse**

aus Bonn

2016

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. A. Hoeft
2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. R. Meyer

Tag der Mündlichen Prüfung: 07.12.2015

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin  
Direktor: Prof. Dr. med. A. Hoeft

**Für meine liebe Katharina und  
meine Kinder Moritz, Emil und Frida**



## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	7
1. Einleitung.....	8
1.1 Hintergrund und Ziel der Untersuchung.....	8
1.2 Generierung und Modulation der Spontanatmungsaktivität.....	8
1.2.1 Grundlage der respiratorischen Rhythmogenese.....	8
1.2.2 Netzwerkverschaltung und zelluläre Prozesse der Rhythmogenese.....	9
1.2.3 Rhythmogenese der Atmung.....	10
1.2.4 Klassifikation der respiratorischen Neurone.....	10
1.2.5 Steuerung der Inspirationsphase.....	10
1.2.6 Steuerung der Post-Inspirationsphase.....	10
1.2.7 Steuerung der Expirationsphase.....	11
1.3 Modulation des respiratorischen Netzwerkes.....	11
1.3.1 Serotonerge Wirkung auf die Spontanatmung.....	11
1.3.2 Opioid-vermittelte Wirkung auf die Spontanatmung.....	12
1.4 5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptoragonisten.....	12
1.4.1 8-OH-DPAT.....	12
1.4.2 Repinotan.....	13
1.5 Nozizeption.....	14
1.5.1 Nozizeptives System.....	14
1.5.2 Chemosensibilität von Nozizeptoren.....	14
1.5.3 Wirkung von 5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptoragonisten auf die Nozizeption.....	15
2. Zielsetzung.....	16
3. Material und Methoden.....	17
3.1 Versuchstiere.....	17
3.2 Atmung.....	17
3.3 Nozizeption.....	18

3.4	Prüfplan.....	19
3.4.1	Repinotan in aufsteigender Dosierung.....	19
3.4.2	Repinotan und kontinuierliche Applikation von Remifentanyl.....	20
3.5	Statistik.....	22
4.	Ergebnisse.....	23
4.1	Repinotan in aufsteigender Dosierung.....	23
4.1.1	Nozizeption (Tail-Flick Reflex Latency, TFL).....	24
4.1.2	Spontanatmung.....	24
4.1.3	Kardiovaskuläre Effekte.....	26
4.2	Repinotan in Kombination mit Remifentanyl.....	26
4.2.1	Nozizeption.....	26
4.2.2	Spontanatmung.....	28
4.2.3	Kardiovaskuläre Effekte.....	29
5.	Diskussion.....	31
5.1	Nozizeptive Effekte.....	31
5.1.1	Nozizeptive Effekte zentraler- und spinaler 5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptoren.....	31
5.1.2	Nozizeptive Effekte von 8-OH-DPAT und Repinotan.....	32
5.2	Die Effekte Repinotans auf die Spontanatmung.....	34
5.3	Hämodynamische Effekte von 8-OH-DPAT und Repinotan.....	35
5.4	Ausblick.....	35
6.	Zusammenfassung.....	36
7.	Literaturverzeichnis.....	37
8.	Danksagung.....	45
9.	Lebenslauf.....	46

## Abkürzungsverzeichnis

Abb	Abbildung
Appl	Applikation
AF	Atemfrequenz
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
ED <sub>50</sub>	mittlere Effektivdosis
g	Gramm
HF	Herzfrequenz
IQR	Interquartilitätsabstand
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KI	Konfidenzintervall
MAD	mittlerer arterieller Druck
min	Minuten
mm	Millimeter
MPE	maximum possible effect
MV	Minutenvolumen
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PBC	Prä-Bötzinger-Komplex
REP	Repinotan
s	Sekunde
Tab	Tabelle
TFR	Tail-Flick-Reflex
TFL	Tail-Flick-Latenz
Vol%	Volumenprozent
V <sub>t</sub>	Tidalvolumen
5-HT	Serotonin

## 1. Einleitung

### 1.1 Hintergrund und Ziel der Untersuchung

Die Opioid-induzierte Atemdepression ist eine potenziell tödliche Komplikation, sie ist deswegen seit vielen Jahren Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. Opiode sind allerdings ein unverzichtbarer Bestandteil einer modernen balancierten Anästhesie. Sie werden zur Schmerztherapie und während einer intensivmedizinischen Behandlung als hochpotente Analgetika eingesetzt. Ihre pharmakodynamischen Effekte vermitteln die Opiode durch Bindung an spezifischen Opioid-Rezeptoren ( $\mu$ ,  $\delta$  und  $\kappa$ -Rezeptoren, Trescot et al., 2008). Eine Bindung am  $\mu$ -Opioid-Rezeptor ruft neben einem ausgeprägten analgetischen Effekt auch eine Opioid-induzierte Atemdepression hervor. Oft werden somit Opiode unterdosiert oder gar nicht therapeutisch eingesetzt (Bhamp et al., 2006; Brennan et al., 2007; Fishman, 2007; Frantsve und Kerns, 2007; Glajchen, 2001; Green et al., 2003; Rich, 2000). Die Überwindung oder Abschwächung der Opioid-induzierten Atemdepression ohne die analgetische Wirkung negativ zu beeinflussen wird intensiv erforscht. Die große Gruppe der Serotonin-Rezeptoren (5-HT-Rezeptoren) sind ein vielversprechender Ansatz. In einem tierexperimentellen Modell konnte folgendes gezeigt werden: Wird der 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptor aktiviert, kommt es zu einer Antagonisierung der Opioid-induzierten Atemdepression. Die Analgesie wurde nicht beeinflusst. Jedoch können 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren fulminante tachykarde Arrhythmien auslösen. Somit kommen 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren klinisch nicht zum Einsatz. Interessanterweise stimulieren 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren im Tiermodell an der Ratte ebenfalls die Spontanatmung. Mit Repinotan steht ein Vertreter aus der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorengruppe zur Verfügung, dieser kann beim Menschen klinisch angewendet werden. Repinotan wurde in mehreren multizentrischen Studien untersucht, es wurde die Indikation als neuroprotektive Substanz beim ischämischen Schlaganfall und beim Schädel-Hirn-Trauma geprüft (Harkany et al., 2001; Kline et al. 2001; Mauler et al., 2001; Schaper et al., 2000; Lutsep et al., 1999; Lutsep et al. 2005; Ohman et al. 2001; Teal et al. 2005). Eine Aufhebung des atemdepressiven Effektes ohne eine Beeinträchtigung der analgetischen Qualität wäre daher ein Meilenstein in der Schmerztherapie.

## 1.2 Generierung und Modulation der Spontanatmungsaktivität

### 1.2.1 Grundlage der respiratorischen Rhythmogenese

Die pontine respiratorische Gruppe sowie die ventrale und dorsale Gruppe der Medulla oblongata bilden ein Netzwerk synaptisch verbundener Neuronen. Diese Neuronen beeinflussen sich hauptsächlich in wechselseitiger Hemmung. In diesem Neuronengeflecht wird bei Säugetieren der spontane Atemrhythmus generiert (Richter, 1982; Schwarzscher et al., 1995). Dieses neuronale Geflecht steuert sowohl die rhythmische Atemaktivität als auch das Atemmuster (Richter et al., 2003). In tierexperimentellen Untersuchungen konnte in der ventralen respiratorischen Gruppe ein Kerngebiet ausgemacht werden, welches als Prä-Bötzinger-Komplex (PBC) bezeichnet wird. Manche Autoren sehen den PBC als Taktgeber des respiratorischen Netzwerkes an (Onimaru und Homma, 2003; Smith et al., 1991). Das Zusammenspiel der Neurone der ventralen respiratorischen Gruppe ruft die respiratorische Rhythmogenese hervor. Die Neurone sind sowohl über erregende als auch hemmende Rückkopplungsschleifen untereinander synaptisch verbunden (Richter et al., 1982). Das respiratorische Netzwerk wird von einer Vielzahl von Neurotransmittern beeinflusst. Sowohl der  $\mu$ -Opioidrezeptor als auch der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor haben entscheidenden modulatorischen Einfluss auf dieses neuronale Netzwerk und können somit die respiratorische Rhythmogenese beeinflussen.

### 1.2.2 Netzwerkverschaltung und zelluläre Prozesse der Rhythmogenese

Das Nervengeflecht der respiratorischen Neurone wird von verschiedenen Zentren reguliert. Aktivierend auf dieses Neuronengeflecht wirken Chemorezeptoren, der Kortex und supraspinale Gebiete wie der Hypothalamus. Erregende und hemmende postsynaptische Potentiale zeigen eine zeitliche und räumliche Summation, sie sind verantwortlich für Oszillationen des Membranpotentials respiratorischer Neurone. Kommt es zu einer Depolarisation der respiratorischen Neurone, führt dies zu salvenartigen Entladungen von Aktionspotentialen. Sistiert die erregende Stimulierung von anderen Zentren wie des Kortex oder der *Formatio reticularis*, stabilisiert sich das Membranpotential, es kommt zu keiner weiteren Depolarisation. Somit resultiert eine Apnoe (Bianchi et al. 1995; Onimaru und Homma, 2003; Richter, 2005).

### 1.2.3 Rhythmogenese der Atmung

Die Rhythmogenese der Atmung stellt eine wechselseitige Entladung inspiratorischer und post-inspiratorischer Neurone dar. Die Neurone der Atmung weisen in vivo keine Schrittmacheraktivität auf, somit sind wechselseitige hemmende und erregende Interaktionen der ventralen respiratorischen Gruppe verantwortlich für die respiratorische Rhythmogenese (Richter, 2005).

### 1.2.4 Klassifikation der respiratorischen Neurone

Man unterscheidet hauptsächlich drei Neuronenklassen, die im gegenseitigen Wechselspiel die Inspiration und Expiration steuern. Inspiratorische Neurone sind während der Inspiration aktiv, expiratorische Neurone sind während der zweiten Ausatemungsphase aktiv. Nach der Inspiration gibt es eine Post-Inspirationsphase, während dieser Phase sind Post-Inspirationsneurone erregt (Richter, 2005).

### 1.2.5 Steuerung der Inspirationsphase

Sobald die hemmende Wirkung der expiratorischen Neurone erlischt, beginnt der Zyklus der Inspiration. Die hemmende Wirkung der expiratorischen Neurone führt zu einer Hyperpolarisation des Membranpotentials. Vermindert sich die Hyperpolarisation kommt es zu einer Aktivierung unterschiedlicher Ionenkanäle, diese werden spannungsabhängig aktiviert. Die Membran beginnt zu depolarisieren. Auf Grund einer positiven Rückkopplung, hervorgerufen durch erregende, glutamaterge Zuströme, nimmt die Aktivität des inspiratorischen Nervengeflechts langsam zu. Da zeitgleich hemmende Neurone aktiviert werden, kommt es nicht zu einem exponentiellen Anstieg, sondern zu einem linear, rampenförmigen Anstieg der Entladungsfrequenz (Richter, 2005).

### 1.2.6 Steuerung der Post-Inspirationsphase

Zum Ende der Inspirationsphase kommt es zu einer kurzfristigen Abnahme der Aktivität der inspiratorischen Neurone. Dies führt zu einer Entladung post-inspiratorischer Neurone. Dieses Geflecht der post-inspiratorischen Neurone hemmt die Aktivität inspiratorisch wirksamer Neurone irreversibel, es beginnt die Phase der Post-Inspiration.

Sobald keine erregend wirksamen Zuströme anderer Neuronengruppen die Entladung der Post-Inspirationsneurone weiter verstärkt, wird die Post-Inspirationsphase beendet. Erregend wirksame Zuströme anderer Neuronengruppen wären beispielsweise kortikale Zentren, die das Sprechen steuern (Richter, 2005).

### 1.2.7 Steuerung der Expirationsphase

Kommt es zu einer Abnahme der Entladungsfrequenz der post-inspiratorischen Neurone, beginnt die Expirationsphase. Am Ende der Expirationsphase beginnen Prä-Inspirationsneurone sich zu entladen und wirken hemmend auf die Neurone der Expiration. Werden die Neuron der Expiration gehemmt, können diese nicht mehr inhibierend auf die inspiratorischen Neurone wirken. Ein neuer Atemzyklus kann beginnen (Richter, 2005).

## 1.3 Modulation des respiratorischen Netzwerkes

### 1.3.1 Serotonerge Wirkung auf die Spontanatmung

Der Neurotransmitter Serotonin greift über eine Vielzahl von Rezeptorsubtypen in die Modulation der respiratorischen Rhythmogenese ein. Folgende Rezeptorsubtypen (membranständiger 5-HT<sub>1A</sub>-, 5-HT<sub>4</sub>- und 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor) sind an der neuronalen Verarbeitung der Signale mitverantwortlich (Richter et al., 2003). Der 5-HT<sub>1a</sub>-Rezeptor ist durch heterotrimere G-Proteine der G<sub>i/o</sub>-Familie an eine Vielzahl von Effektoren gekoppelt. Er lässt sich sowohl auf der präsynaptischen Seite als auch auf der postsynaptischen Seite der Membran als Bestandteil nachweisen (Barnes und Sharp, 1999). Der 5-HT<sub>1A</sub> ist der meistexprimierte Serotonin-Rezeptorsubtyp innerhalb dieses Netzwerkes (Richter et al., 2003). Wird der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor stimuliert, führt dies über intrazelluläre Signalübertragungswege zu einer Verminderung der Erregbarkeit respiratorischer Neurone sowohl an der prä- als auch an der postsynaptischen Membran. Folglich kommt es zu einer Inhibition der neuronalen Übertragung. Der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor, der an der präsynaptischen Membran sitzt, wirkt an der terminalen Axonendigung als Autorezeptor. Dies bedeutet, dass er die weitere Freisetzung des Neurotransmitters Serotonin in den synaptischen Spalt hemmt. Es kommt zu einer Inhibition der neuro-

nenalen Übertragung (Koyama et al., 2002). Wird der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor, der an der postsynaptischen Membran sitzt, aktiviert, führt dies zu einem Kalium-Einstrom (Richter et al., 1997). Die Aktivierung des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors führt auch zu einer Inhibition membranständiger Kalzium-Kanäle, dies bewirkt eine Hyperpolarisation der neuronalen Zellmembran (McAllister-Williams und Kelly, 1995).

### 1.3.2 Opioid-vermittelte Wirkung auf die Spontanatmung

Auf den Neuronen der ventralen respiratorischen Gruppe beziehungsweise des Prä-Bötzinger-Komplexes werden  $\mu$ -Opioid-Rezeptoren exprimiert, diese beeinflussen das respiratorische System (Gray et al., 1999; Ballanyi et al., 1997). Werden die  $\mu$ -Opioid-Rezeptoren aktiviert, kommt es zu einer Erhöhung der Kalium-Leitfähigkeit. Dies führt zu einer Hyperpolarisation der Zellmembranen der Neurone, die im Prä-Bötzinger-Komplex lokalisiert sind. Dies führt zu einer Reduktion der Atemfrequenz (Gray et al., 1999; Greer et al., 1991; Takeda et al., 2001).

## 1.4 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten

### 1.4.1 8-OH-DPAT

Der Standard-5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonist 8-OH-DPAT (8-Hydroxy-N,N-dipropyl-2-amino-tetralin) wurde in unseren tierexperimentellen Untersuchungen als Vergleichs-Serotoninagonist in Bezug zu Repinotan eingesetzt.

8-OH-DPAT ist ein Agonist, der an den Serotonin-Rezeptor-Subtyp 5-HT<sub>1A</sub> bindet, 8-OH-DPAT stimuliert die Spontanatmungsaktivität der Ratte (Garner et al., 1989) und hob eine Morphin-induzierte Atemdepression bei Ratten auf (Sahibzada et al., 2000). Gleichfalls hob die Gabe des 5-HT<sub>1A</sub>-R-Agonisten 8-OH-DPAT die atemdepressive Wirkung des hochpotenten Opioids Fentanyl in der in situ brainstem spinal cord preparation komplett auf (Guenther et al., 2009). Die antinozizeptive Wirkungen von Fentanyl wurde gleichzeitig nicht beeinträchtigt (Guenther et al., 2009). Weiterhin wurde gezeigt, dass 8-OH-DPAT bei anästhesierten, spontanatmenden Ratten eine durch Morphin verursachte Atemdepression aufzuheben vermag (Guenther et al., 2009). Die antinozizeptive Wirkung von Morphin wurde hierdurch ebenfalls nicht beeinträchtigt (Guenther et al., 2009).

Hinsichtlich der Wirkungen von 8-OH-DPAT auf die Nozizeption fand sich ein dosisabhängiger Effekt. Sehr niedrige Dosierungen zeigten einen pronozizeptiven Effekt sowohl in der in situ preparation als auch bei den anästhesierten Ratten. Hohe Dosierungen verursachten einen antinozizeptiven Effekt (Guenther et al., 2009 und 2010). Unklar war, wie eine mittlere Dosis (zwischen 2 und 20 µg/kg) eines 5-HT<sub>1A</sub>-R-Agonisten auf die Nozizeption wirkt, und ob es nach einer einmaligen Gabe durch Metabolisierung von 8-OH-DPAT beim Erreichen niedriger Wirkkonzentrationen zu pronozizeptiven Effekten kommt. 8-OH-DPAT ist für die Anwendung bei Menschen nicht geeignet.

#### 1.4.2 Repinotan

Der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist Repinotan-Hydrochlorid (BAYx3702, Bayer Healthcare AG, Wuppertal, Deutschland) zeigte im Gegensatz zu 8-OH-DPAT eine gute klinische Verträglichkeit. Repinotan-Hydrochlorid (BAYx3702, Bayer Healthcare AG, Wuppertal, Deutschland) wurde ursprünglich als Antidepressivum entwickelt (Bortolozzi et al., 2003; Casanovas et al., 2000). Später fand sich, dass Repinotan sowohl beim Schädel-Hirn-Trauma als auch beim ischämischen apoplektischen Insult eine neuroprotektive Wirkung besitzt (Harkany et al., 2001; Kline et al., 2001; Mauler et al., 2001; Schaper et al., 2000). Anfängliche ermunternde Erfolge (Lutsep und Clark, 1999; Ohman et al., 2001) konnten in multizentrischen Studien nicht bestätigt werden (Lutsep, 2005; Teal et al., 2005). Immerhin war es hinsichtlich seiner Toxizität beim Einsatz von Menschen bekannt. Aus diesen Daten war klar, dass die hohen, sicher atemstimulierenden Effekte, die für die Ratte gefunden worden waren, beim Menschen wohl nicht erreicht würden.

In den Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass der 5-HT<sub>1A</sub> Rezeptor-Agonist 8-OH-DPAT für sehr niedrige Konzentrationen in einer in-situ Präparation (perfused brainstem-spinal cord preparation) pronozizeptive Effekte aufwies. Wohingegen sich für mittlere keine und für hohe Konzentrationen ein Trend zu antinozizeptiven Effekten fanden (Günther et al., 2009). Diese Befunde ließen sich in vivo bei spontanatmenden anästhesierten Ratten bestätigen (Günther et al., 2009). 8-OH-DPAT ist für die Anwendung bei Menschen nicht geeignet, daher ergab sich die Notwendigkeit, Repinotan - zunächst tierexperimentell - zu untersuchen. Auch für Repinotan fanden sich pronozizeptive Effekte in niedrigen Dosierungen und antinozizeptive Effekte in hohen Dosen (Guenther et al., 2010).

Dosis-Wirkungskurven für Repinotan zeigten, dass für eine Aufhebung der Opioid-induzierten Atemdepression Dosierungen von 2 bis 200 µg/kg notwendig sind (Guenther et al., 2012). Für die Antagonisierung einer Remifentanil-induzierten Atemdepression bei anästhesierten Ratten ergab sich eine mittlere Effektivdosis ( $ED_{50}$ ) von 3,6 µg/kg. Klinisch üblich sind Gaben der 2- bis 3-fachen Gaben einer  $ED_{50}$ , also ca. 10 µg/kg. Aus diesem Grunde wurde im zweiten Teil dieser Untersuchungen diese Dosierung einer genaueren Analyse zugeführt.

## 1.5 Nozizeption

Schmerz spiegelt das bewusst erlebte Gefühlereignis wieder, der Schmerz wird subjektiv empfunden. Unter Nozizeption versteht man, dass ein noxischer Reiz durch das Nervensystem registriert und verarbeitet wird. Alle Neurone, die an der Aufnahme und weiteren Verarbeitung noxischer Reize beteiligt sind, werden dem nozizeptiven System zugeordnet (Schaible und Schmidt, 2005).

### 1.5.1 Nozizeptives System

Die ersten Neurone im nozizeptiven System sind primär-afferente Neurone. Diese Neurone nehmen den noxischen Reiz in der Peripherie auf und leiten ihn an zentralnervöse nozizeptive Systeme weiter. Zu den zentralnervösen Systemen zählen unter anderem das thalamokortikale System, der Kortex, der Trigeminuskern und nozizeptive Neurone des Rückenmarkes. Das thalamokortikale System ist für das bewusste Empfinden des Schmerzes verantwortlich. Weiterhin verlaufen Schmerzfasern vom Hypothalamus und Kortex zum Hirnstamm. Von dort ziehen deszendierende Bahnen zum Rückenmark, diese können die nozizeptive Verarbeitung hemmen oder verstärken (Schaible und Schmidt, 2005).

### 1.5.2 Chemosensibilität von Nozizeptoren

Die Endigung des Nozizeptors besitzt Rezeptoren für diverse Mediatoren. Über diese Rezeptoren aktivieren oder hemmen Gewebsmediatoren, wie zum Beispiel die Entzündungsmediatoren aus der Familie der Bradykinine und Prostaglandine, das nozizeptive Neuron. Bei Bindung eines Mediators an einen Rezeptor kommt es zu einer G-Protein gekoppelten Aktivierung von Second Messenger Systemen im Neuron. Im Gegen-

satz dazu ist Serotonin in der Lage direkt einen Ionenkanal zu öffnen, wenn es an den entsprechenden Rezeptor des Nozizeptors bindet (Schaible und Schmidt, 2005).

### 1.5.3 Wirkung von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten auf die Nozizeption

5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten sind bei der Verarbeitung von nozizeptiven Reizen beteiligt (Clark et al. 1996). Jedoch zeigten sich unterschiedliche Effekte auf die Nozizeption. Es wurden sowohl pronozizeptive Effekte (Clark et al., 1996; Millan et al. 1989) als auch antinozizeptive Effekte nachgewiesen (Galeotti et al., 1997; Bardin et al., 2001; Nadeson und Goodchild, 2002). Es wurde auch berichtet, dass 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten die Nozizeption nicht beeinflussen (Millan, 1994). Andere Arbeiten, die sich mit einer Antagonisierung der Opioid-induzierten Atemdepression auseinandergesetzt haben, befassten sich nicht mit der nozizeptiven Wirkung von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten (Sahibzada et al., 2000; Meyer et al., 2006).

## 2. Zielsetzung

Diese Arbeit wurde mit dem Ziel durchgeführt die Wirkung von Repinotan auf einen definierten, nozizeptiven Stimulus im Tiermodell an der Ratte zu untersuchen. Die Wirkung der 5-HT-Rezeptoragonisten auf die Nozizeption ist unklar. Es wurden sowohl pro- als auch antinozizeptive Effekte beschrieben.

Das Ziel der hier vorliegenden Untersuchung war folgende Fragestellungen zu prüfen:

- (1) Welche Effekte besitzt Repinotan auf die Nozizeption?
- (2) Sind die Effekte von Repinotan dosisabhängig?
- (3) Gibt es pharmakologische Interaktionen von Repinotan, wenn es mit dem ultrakurzwirksamen Opioid Remifentanil kombiniert wird?
- (4) Wie wirkt sich eine mittlere Dosis Repinotan auf die Nozizeption aus, wenn vorher das Opioid Remifentanil appliziert wurde?
- (5) Wie wirken sich unterschiedliche Dosen von Repinotan auf die Spontanatmung bei der Ratte aus?
- (6) Wie wirken sich unterschiedliche Dosen von Repinotan auf die Spontanatmung aus, wenn vorher das Opioid Remifentanil appliziert wurde?
- (7) Wie verhalten sich die Kreislaufparameter Blutdruck und Herzfrequenz bei alleiniger Repinotangabe oder bei Kombination von Repinotan und Remifentanil?

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Versuchstiere

Die Tierversuche wurden nach den Richtlinien des Tierschutzgesetzes durchgeführt und der Tierversuchsantrag von der Bezirksregierung Köln genehmigt. Die Versuchstiere, männliche Sprague-Dawley Ratten, wurden zu Standardlaborbedingungen in Käfigen gehalten. Sie hatten unbegrenzten Zugang zu Nahrung und Wasser, ein Tag-Nacht-Rhythmus von jeweils 12 Stunden wurde simuliert. Die Ratten wogen im Mittel 284 g (208 g - 370 g; Charles River GmbH, Sulzfeld, Deutschland). Die Versuchstiere wurden zur Einleitung durch eine intraperitoneale Applikation von Pentobarbital (60 mg/kg) anästhesiert. Anschließend wurden sie rücklings auf eine Wärmeplatte fixiert. Eine Temperatursonde wurde rektal eingeführt, somit konnte die Körpertemperatur konstant bei  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  gehalten werden.

#### 3.2 Atmung

Nach Narkoseeinleitung wurden die Versuchstiere chirurgisch tracheotomiert. Ein Tubus mit einem Innendurchmesser von 1,2 mm wurde intratracheal platziert. Die ausgeatmete Luft wurde durch den Flussmesser geleitet (MLT1L, ADInstruments GmbH, Spechbach, Deutschland), dieser war mit einem A/D-Interface (PowerLab 4/25R; ADInstruments<sup>®</sup>, Spechbach, Deutschland) verbunden. Nach Kalibrierung ermöglichte das System die Messung des Tidalvolumens ( $V_T$ ) und der Atemfrequenz sowie die Berechnung des Atemminutenvolumens (MV). Für eventuelle Apnoephasen stand ein spezielles Kleintier-Beatmungsgerät zur Verfügung (Small Animal Ventilator KTR-4, Hugo Sachs Elektronik, Deutschland).

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde Sevofluran inhalativ mittels eines Vapors über das Beatmungssystem zu geführt. Die endexpiratorische Narkosegaskonzentration wurde infrarotspektrometrisch mit einem Hewlett Packard 78356A Monitor gemessen. Eine inspiratorische Konzentration von ca. drei Volumenprozent (Vol%) Sevofluran zeigte eine gute narkotische Wirkung und keine spontanen Bewegungen bei stabiler Spontanatmung.

Die rechte Leiste wurde durch eine chirurgische Inzision freigelegt. Die rechte *Arteria femoralis* wurde mit einem Katheter kanüliert, dieser diente zur kontinuierlichen invasiven Blutdruckmessung und Entnahme arterieller Blutgasanalysen. Weiterhin wurde die rechte Vena femoralis mit einem Katheter zur Applikation der Studienmedikamente kanüliert.

### 3.3 Nozizeption

Die Nozizeption wurde mit Hilfe des Tail-Flick-Reflexes (TFR) gemessen. Dafür wurde ein Dehnungsmessstreifen am Schwanz der Ratte befestigt, der über einen Sensor mit dem PowerLab 4/25 verbunden war. Eine 100 Watt-Glühbirne wurde 15 mm über das Schwanzende der Ratte platziert. Die Zeitspanne zwischen Anschalten der Glühbirne bis zum Ausschlag des Dehnungsmeßstreifens, hervorgerufen durch das Wegziehen des Schwanzes, wurde als Tail-Flick-Latenz (TFL) definiert. Nimmt die Zeitspanne zwischen Einschalten der Glühbirne und Ausschlag des Schwanzes zu, ist die TFL erhöht. Dies bedeutet, dass eine Substanz einen antinozizeptiven Effekt besitzt. Wäre die Latenz des Tail-Flick-Reflexes vermindert, würde eine Substanz einen pronozizeptiven Effekt aufweisen. Es wurde mindestens 30 Minuten gewartet bis sich sowohl eine Auf-sättigung als auch ein Gleichgewicht mit Sevofluran eingestellt hatte.

Die TFL nach Gabe einer Substanz wurde als  $TFL_{\text{treatment}}$ , die TFL vor Gabe einer Substanz wurde somit als  $TFL_{\text{pretreatment}}$  definiert (Nadeson und Goodchild, 2002). Nach Einschalten der Glühbirne wurde bei Ausbleiben des TFR maximal 15 Sekunden gewartet und bei Ausbleiben des TFR manuell ausgeschaltet ( $T_{\text{offset}}$ ). Dies sollte eine thermisch bedingte Hautschädigung des Rattenschwanzes verhindern. Wir bezeichneten in diesem Falle die TFL als  $TFL_{\text{offset}}$ . In unserer Untersuchung würde sich nun ein maximaler antinozizeptiver Effekt zeigen, wenn der TFR nicht auszulösen wäre. Somit würde nach 15 Sekunden die Glühbirne ausgeschaltet, die TFL entspräche  $TFL_{\text{offset}}$ . Der maximal mögliche antinozizeptive Effekt wurde als MPE (*maximum possible effect*) bezeichnet. Die Ergebnisse der TFL werden als Prozent nach folgender Formel angegeben:

$$\text{MPE} = 100 * [ TFL_{\text{treatment}} - TFL_{\text{pretreatment}} ] * [ TFL_{\text{offset}} - TFL_{\text{pretreatment}} ]^{-1}$$

Nach dieser Formel bedeutet ein MPE von 100 %, dass die Nozizeption komplett unterdrückt ist. Es wurden jeweils drei Messungen aufgezeichnet, von diesen Messungen wurde der Mittelwert gebildet.

Die Latenzen des Tail-Flick-Reflexes sowie rektale Temperatur und arterieller Blutdruck wurden ebenso wie die Atmungsparameter digital aufgezeichnet (PowerLAB 4/25; ADInstruments GmbH, Spechbach, Deutschland).

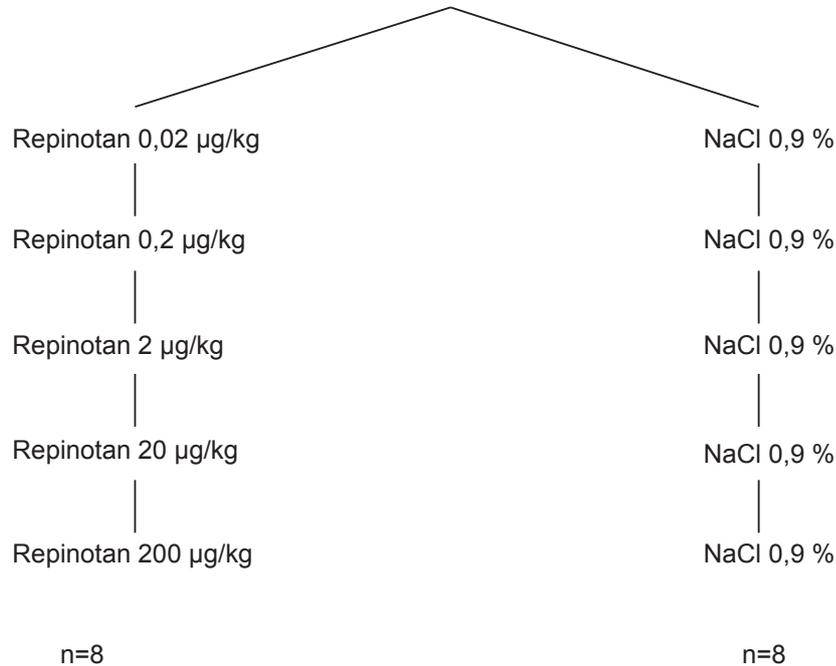
### 3.4 Prüfplan

#### 3.4.1 Repinotan in aufsteigender Dosierung

Die Dosis von Repinotan wurde alle 15 Minuten um den Faktor 10 erhöht. Begonnen wurde mit einer Dosis von 0,02 µg/kg, die höchste Dosis Repinotan betrug 200 µg/kg. Repinotan wurde intravenös appliziert. Der Standard Serotoninrezeptoragonist 8-OH-DPAT zeigte dosisabhängige Effekte auf die Nozizeption. Es wurde eine große Dosisbreite gewählt, um zu untersuchen, ob Repinotan in unterschiedlichen Dosierungen ebenfalls unterschiedliche Wirkungen auf die Nozizeption hat, so wie dies für 8-OH-DPAT berichtet wurde.

Vor der ersten Medikamentengabe wurde eine Messreihe von drei Reizen aufgezeichnet und der Mittelwert wurde bestimmt. Dies wurde dann als TFL<sub>pretreatment</sub> definiert. Weitere TFL wurden jeweils 10 Minuten nach Medikamentengabe aufgezeichnet. Als Kontrolle wurde in einer Gruppe jeweils alle 15 Minuten NaCl 0,9 % appliziert (Versuchstiere n=8).

# Repinotan

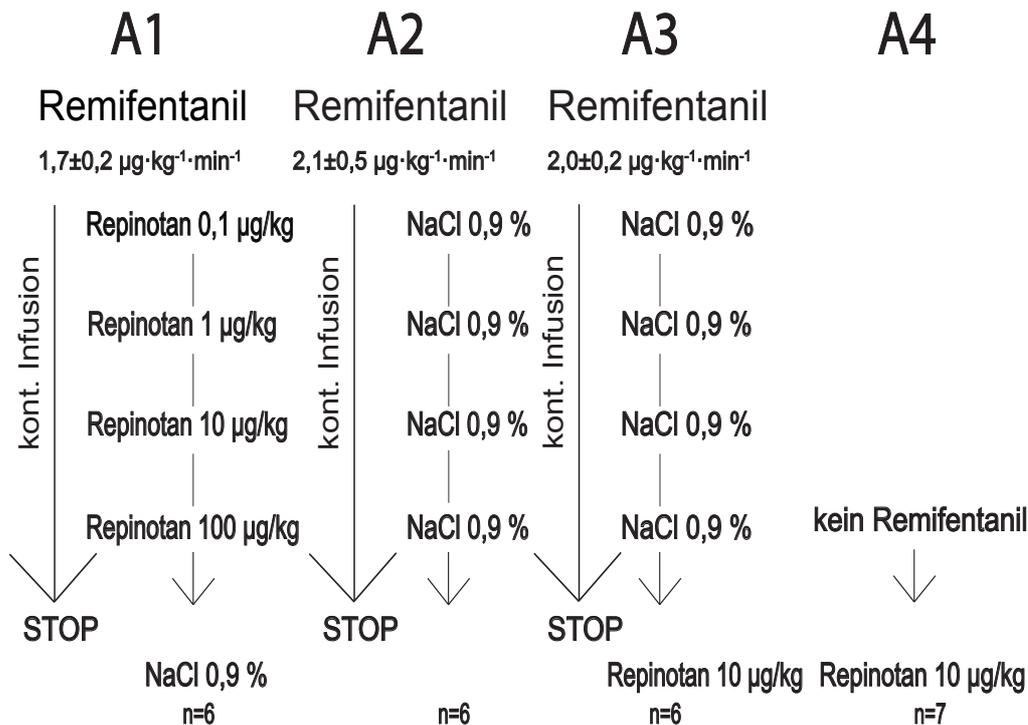


**Abb. 1:** Repinotanapplikation in aufsteigender Dosierung. Der Serotoninrezeptoragonist Repinotan wurde alle 15 Minuten in steigender Dosierung appliziert (n=8). In der Kontrollgruppe wurde alle 15 Minuten NaCl 0,9 % gegeben (n=8).

### 3.4.2 Repinotan und kontinuierliche Applikation von Remifentanyl

Die kontinuierliche Applikation von Remifentanyl wurde so gewählt, dass es zu einer Reduktion des Atemminutenvolumens um 50 % des Ausgangswertes kam. Anschließend wurde Repinotan alle 15 Minuten in steigender Dosierung appliziert. Es wurde mit einer Dosierung von 0,1 µg/kg begonnen und die höchste Dosis betrug 100 µg/kg, anschließend wurde ein Bolus mit NaCl 0,9 % gegeben (Versuchstiere n=6). In einer zweiten Versuchsreihe wurde anstatt aufsteigender Repinotandosens jeweils ein Bolus NaCl 0,9 % appliziert, zu Versuchsende wurde dann ein Repinotanolus mit einer Konzentration von 10 µg/kg gegeben (Versuchstieren=6). In einer abschließenden Versuchsreihe wurde kein Remifentanyl infundiert, sondern ausschließlich ein Bolus Repinotan in einer Konzentration von 10 µg/kg gegeben (Versuchstiere n=7).

## Remifentanil / kontinuierliche Infusion



**Abb. 2:** Remifentanil wurde kontinuierlich appliziert. Als Zielkonzentration wurde eine Dosierung gewählt, bei der es zu einer mehr als 50 %-igen Abnahme der Atemfrequenz im Vergleich zu Beginn der Versuchsreihe kam. Die Remifentanilkonzentration wurde angegeben als Mittelwert mit Interquartils-Abstand. Repinotan (n=6) wurde alle 15 Minuten in ansteigenden Dosen appliziert (A1). In Gruppe A2 und A3 wurde jeweils NaCl 0,9 % als Kontrolle gegeben. Am Ende des Versuches wurde ein Bolus Repinotan mit 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  oder NaCl 0,9 % appliziert und die TFR für eine 1 Stunde gemessen (jeweils n=6). In Gruppe A4 wurde Repinotan in einer Dosierung von 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  gegeben, Remifentanil wurde hier nicht appliziert (n=7).

### 3.5 Statistik

Atemminutenvolumen (MV), TFL, mittlerer arterielle Druck (MAD) und Herzfrequenz (HF), Sevoflurankonzentration und Remifentanildosis wurde mit Hilfe des Mann-Whitney- U- Testes verglichen. Atemminutenvolumen, MAD und HF wurde während der Versuchsreihen in Relation zu den Werten zu Beginn der Versuchsreihen nach folgender Formel (%-Änderungen) berechnet:  $\% \text{-Änderungen} = 100 \times ( MV_{\text{treatment}} / MV_{\text{pretreatment}} ) - 100$

Ergebnisse der TFL werden als % MPE nach folgender Formel angegeben (s. Kapitel 4.4),  $MPE = 100 * [ TFL_{\text{treatment}} - TFL_{\text{pretreatment}} ] * [ TFL_{\text{offset}} - TFL_{\text{pretreatment}} ]^{-1}$ .

Für die statistischen Tests wurden MV, TFL, MAD und HF jeweils mit den Ausgangswerten vor Medikamentengabe mit Hilfe von Friedman's ANOVA verglichen.

Alle Tests waren zweiseitig, ein  $p < 0,05$  wurde als signifikant gewertet. Alle Daten wurden aufgezeichnet und bearbeitet mit der Software Chart 4.0 und Scope 4.0 (ADInstruments GmbH, Spechbach, Deutschland). Statistische Analysen wurden mit Hilfe des Programmes Prism 4 für Macintosh (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) und IBM SPSS Statistics, Version 19 IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland). Die Poweranalysen wurde mit der Online-Software Simple Interactive Statistical Analysis (SISA) berechnet (Quantitative Skills, Hilversum, Niederlande).

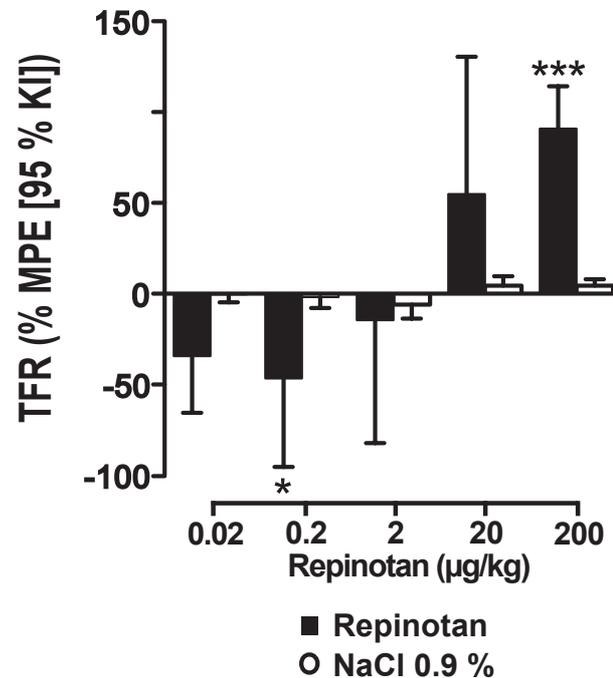
## 4. Ergebnisse

### 4.1 Repinotan in aufsteigender Dosierung

#### 4.1.1 Nozizeption (Tail-Flick Reflex Latency, TFL)

Die TFL war in beiden Versuchsgruppen im Mittel 7 Sekunden lang (5-9 s). Die Messwerte waren normal verteilt, zwischen den Gruppen bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede. Der Effekt von Repinotan auf die Nozizeption war dosisabhängig. In niedriger Konzentration (0,2 µg/kg) führte Repinotan zu einer Verkürzung der TFL, in höherer Dosierung (200 µg/kg) kam es zu einer Verlängerung der TFL (s. Abbildung 3). Die Nozizeption war demnach unter niedrigen Repinotandosens gesteigert, erst bei sehr hohen Repinotandosens kam es zu einer Abnahme der Nozizeption. In der Kontrollgruppe mit NaCl 0,9 % gab es keinen statistisch signifikanten Effekt auf die TFL und somit auf die Nozizeption.

Die Wirkung von mittleren Dosierungen (2–20 µg/kg) auf die Nozizeption war nicht signifikant, die Medianwerte lagen bei beiden Dosen nur geringfügig unter bzw. über dem Nullwert. Eine verlässliche Aussage, ob mittlere Dosisbereiche eher pro- oder antinozizeptiv wirken, ließ sich demnach aus diesen Daten nicht ableiten. Da der mittlere Dosisbereich allerdings der klinisch wahrscheinlich relevante ist, wurden für diesen Bereich weitere Messungen erforderlich (s. Kapitel 5.2).



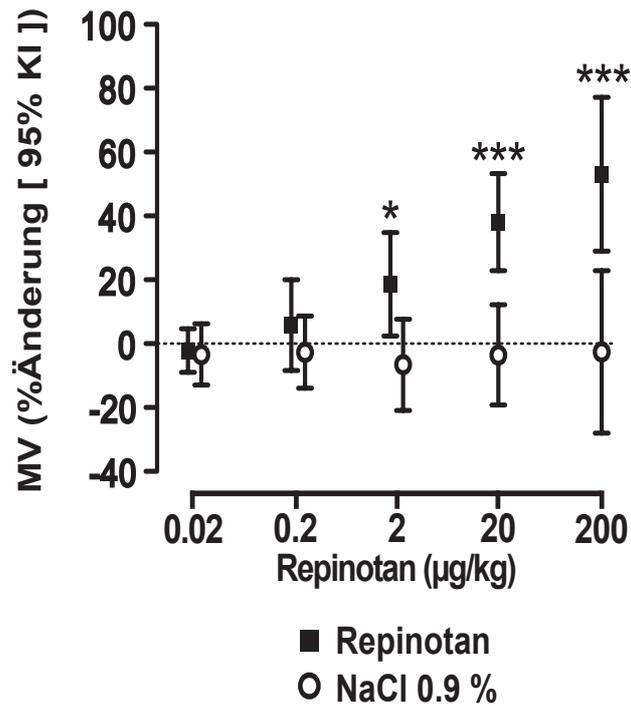
**Abb. 3:** Effekte des 5-HT<sub>1A</sub>-R-Agonisten Repinotan (n=8) auf den Tail-Flick-Reflex (TFR) und die Tail-Flick-Latenz (TFL). Als Kontrollgruppe diente eine Versuchsreihe mit NaCl 0,9 % (n=8). Der Effekt von Repinotan war dosisabhängig. Niedrige Dosen von Repinotan (0,2 µg/kg) hatten einen pronozizeptiven Effekt, angezeigt durch eine Verkürzung der TFL. Höhere Dosen von Repinotan (200 µg/kg) zeigten einen antinozizeptiven Effekt, die TFL war maximal verlängert (100 % MPE). (\* p<0,05; \*\*\*p<0,001)

#### 4.1.2 Spontanatmung

Die mittlere Atemfrequenz vor Beginn der Versuchsreihe betrug in der Repinotangruppe 58/min (95 % KI, 46-70/min). In der Kontrollgruppe mit NaCl 0,9 % betrug die mittlere Atemfrequenz 61/min (95 % KI, 54-69/min). Die Messwerte waren normal verteilt und es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Ab einer Konzentration von Repinotan 2 µg/kg kam es zu einer Zunahme des Atemminutenvolumens in der Repinotangruppe. Der maximale Effekt zeigte sich bei einer Dosis

von 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Repinotan, das MV war um 53 % (29 %-77 %) vom Ausgangswert gestiegen. In der Kontrollgruppe mit NaCl 0,9 % konnte kein statistisch signifikanter Effekt auf das Atemminutenvolumen nachgewiesen werden.



**Abb. 4:** Effekte des 5-HT<sub>1A</sub>-R-Agonisten Repinotan (n=8) auf die Spontanatmung. Als Kontrollgruppe diente eine Versuchsreihe mit NaCl 0,9 % (n=8). Der Effekt von Repinotan war dosisabhängig. Mit steigender Repinotandosis kam es zu einer Zunahme des Atemminutenvolumens. In der Kontrollgruppe mit NaCl 0,9% zeigte sich kein signifikanter Unterschied. ( \* p<0,05; \*\*\*p<0,001)

### 4.1.3 Kardiovaskuläre Effekte

Der mittlere arterielle Druck (MAD) betrug in der Repinotan-Gruppe 111 mmHg (100–122 mmHg), in der Kontrollgruppe betrug der MAD 110 mmHg (100–120 mmHg). Die Messwerte waren normal verteilt und es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied. In höheren Dosierungen von Repinotan führte dies zu einer Abnahme des MAD. Es kam zu keiner Zeit zu kardiovaskulären Komplikationen, die zu einem Abbruch des Versuches geführt hätten. Unter Gabe von NaCl 0,9 % blieb der mittlere arterielle Blutdruck konstant.

**Tab. 1:** Auswirkungen unterschiedlicher Repinotandosens auf den MAD. Der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) wird angegeben als prozentuale Änderung vom Ausgangswert (Mittelwert und 95% KI).

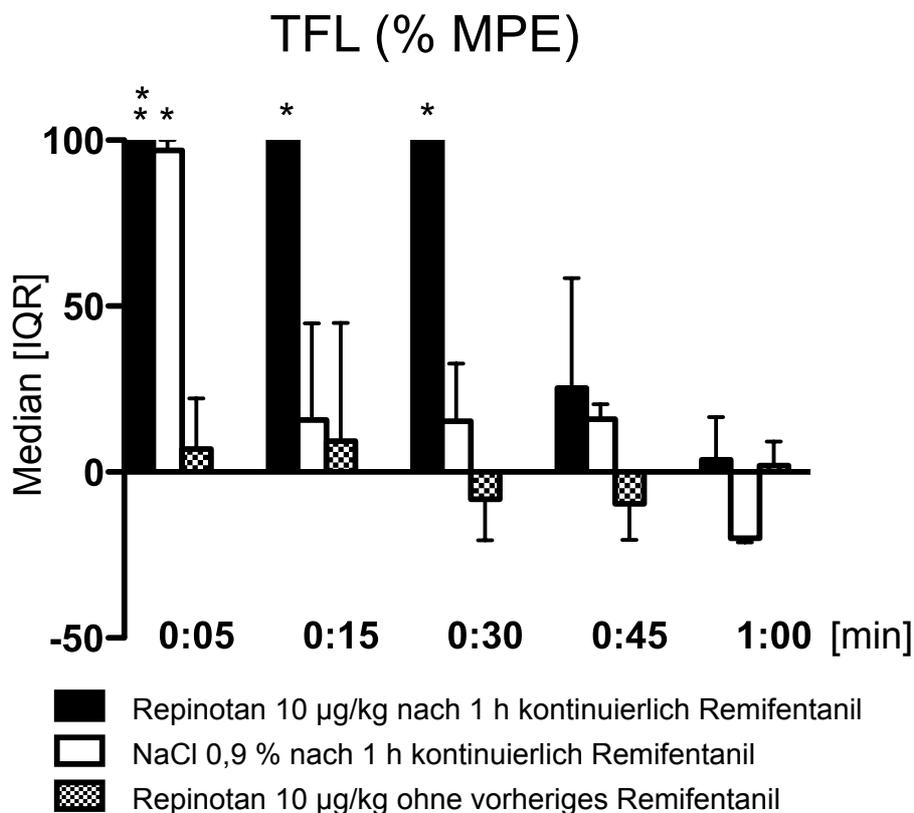
		Repinotan			NaCl 0,9%		
		Mittel	[95% KI]	P	Mittel	[95% KI]	P
Repinotan	0,02 µg/kg	10	[4 - 17]	<0,05	0	[-13 - 13]	n.s.
Repinotan	0,2 µg/kg	4	[-6 - 14]	n.s.	-3	[-21 - 16]	n.s.
Repinotan	2 µg/kg	1	[-7 - 8]	n.s.	-5	[-25 - 15]	n.s.
Repinotan	20 µg/kg	-17	[-29 - -4]	<0,001	-10	[-25 - 10]	n.s.
Repinotan	200 µg/kg	-19	[-29 - -9]	<0,001	-7	[-21 - 10]	n.s.

## 4.2 Repinotan in Kombination mit Remifentanil

### 4.2.1 Nozizeption

Die mittlere TFL vor Beginn der Versuchsreihe lag bei 7,5 s (IQR 6,6-9,1 s). Die Versuchsgruppen unterschieden sich statistisch nicht signifikant voneinander. 5 Minuten nach Beginn und während der Remifentanilinfusion war der Tail-Flick-Reflex (TFR) komplett unterdrückt, somit war die TFL auf 100 % MPE verlängert. Wurde am Ende ein Repinotanolus von 10 µg/kg appliziert, verlängerte dies die TFL für 30 Minuten. Erst

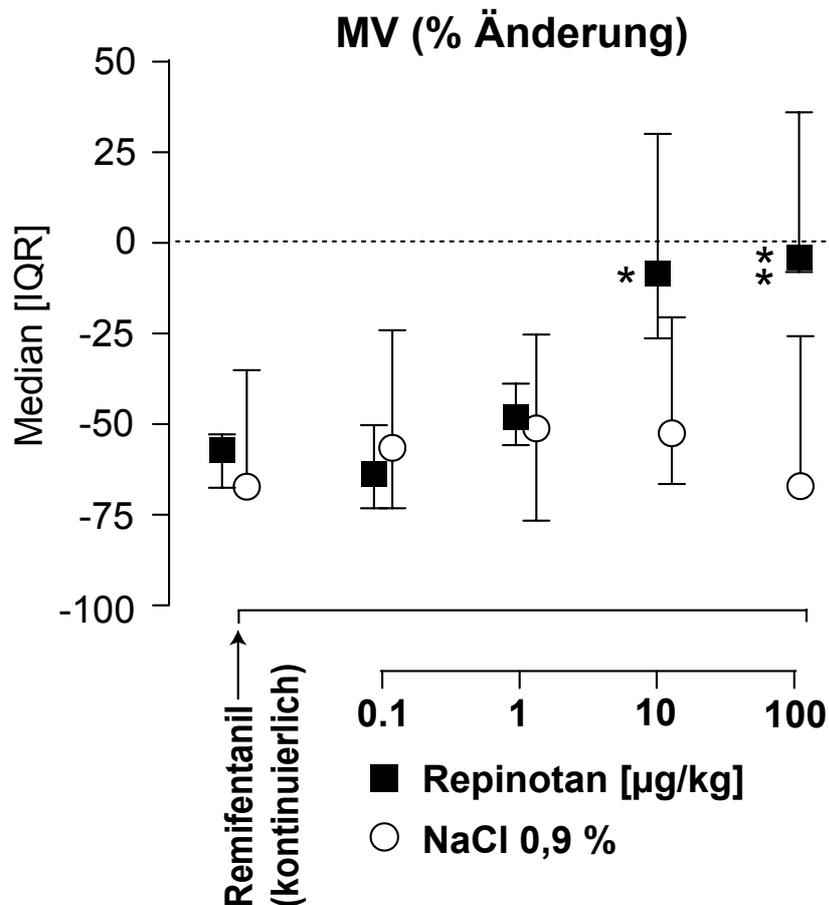
nach 45 Minuten kehrte die TFL auf den Ausgangswert vor Remifentanil-Infusion zurück. In der Versuchsgruppe mit NaCl 0,9 % kehrte die TFL 5 Minuten nach Pausieren der Remifentanilgabe auf den Ausgangswert vor Opiatgabe zurück. Eine einmalige Gabe von 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Repinotan zeigte keinen Effekt auf die TFL.



**Abb. 5** Der Effekt von Repinotan in einer Konzentration von 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  auf die TFL nach 80-minütiger Remifentanil-Infusion (schwarze Balken). Die schraffierten Balken zeigen den Effekt von Repinotan (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) ohne die Gabe von Remifentanil. Als Kontrollgruppe wurde nach Remifentanilgabe NaCl 0,9 % appliziert (weiße Balken). Die TFL blieb in der Repinotangruppe im Gegensatz zur NaCl 0,9%-Gruppe bis 30 Minuten nach Beenden der Remifentanilgabe verlängert, Repinotan verlängerte die Antinozizeption. Repinotan ohne Remifentanil zeigte keinen antinozizeptiven Effekt. Die TFL wurde 5, 15, 30, 45 und 60 Minuten nach Beenden der Remifentanilgabe gemessen, die TFL wird angegeben in Prozent in Relation zum maximal möglichen Effekt (% MPE). (\*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ).

#### 4.2.2 Spontanatmung

Das mittlere MV in der Repinotangruppe betrug vor Beginn der Versuchsreihe 173 ml/min ([IQR] 149-200 ml/min). In der Gruppe mit NaCl 0,9 % betrug das mittlere MV vor Beginn der Versuchsreihe 152 ml/min (IQR 105-201 ml/min). Die Konzentration von Sevofluran betrug sowohl in der Repinotangruppe 3,0 Vol% (IQR 3,0-3,1 Vol%) als auch in der NaCl 0,9%-Gruppe 3,0 Vol% (3,0-3,0 Vol%). Nach Gabe von Remifentanil kam es in der Repinotangruppe zu einer Abnahme des Atemminutenvolumens auf -57 % (-67 bis -52 %) des Ausgangswertes ( $p = 0,031$ ). Repinotan (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) führte zu einem Wiederanstieg des MV auf Werte im Bereich knapp unterhalb des Ausgangswertes (Median [IQR] -8 % [-26 bis 29 %]). Nach Repinotan (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) stieg das Atemminutenvolumen auf -4 % (-8 bis 35) vom Ausgangswert. Dies zeigt, dass Repinotan schon in mittlerer Dosierung die Opioid-induzierte Atemdepression fast vollständig antagonisiert. In der Kontrollgruppe blieb das MV während der NaCl 0,9%-Gaben auf dauerhaft niedrigem Niveau.



**Abb. 6:** Der Beginn der Infusion mit Remifentanyl ist mit einem Pfeil gekennzeichnet. Nach Remifentanylapplikation kam es zu einer Abnahme des MV. Nach Gabe von Repinotan kam es zu einer Zunahme der Spontanatmung der anästhesierten Ratten ( $n=6$ ), bei einer Repinotandosis von  $100 \mu\text{g}/\text{kg}$  kam es zu Zunahme der Spontanatmung bis auf das Niveau vor Remifentanylgabe. In der Kontrollgruppe mit NaCl 0,9 % ( $n=6$ ) blieb das MV auf niedrigem Niveau konstant. (\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ )

#### 4.2.3 Kardiovaskuläre Effekte

Die kontinuierliche Infusion von Remifentanyl führte zu einer Abnahme von MAD und HF, welche nie interventionsbedürftig war. Repinotan führte weder zu einer Verstärkung noch zu einer relevanten Abmilderung dieses Effektes. Wurde Repinotan ohne Remifentanyl appliziert, kam es zu keiner Veränderung des mittleren arteriellen Druckes oder

der Herzfrequenz. Kardiovaskuläre Komplikationen wurden unter Repinotan und in der Kombination mit Remifentanil nicht beobachtet.

**Tab. 2:** Hämodynamische Effekte von Repinotan und NaCl 0,9% während kontinuierlicher Remifentanilgabe. Nach Start der Remifentanilinfusion kam es in beiden Gruppen zu einer Abnahme des MAD und der HF. Moderate (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) und hohe Dosen (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) von Repinotan führten zu einer Rückkehr der beiden Vitalparameter zum Ausgangswert. MAD und HF wurden angegeben als Prozent (%Veränderung) in Relation zum Ausgangswert mit Interquartilitätsabstand (IQR).

	MAD (% Veränderung)			HF (% Veränderung)		
	Mittel [IQR]		P	Mittel [IQR]		P
Remifentanil (kontinuierlich)	-26	[-33; -21]	<0,0001	-20	[-33; -19]	0,001
REP 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	-24	[-31; -10]	0,005	-24	[-31; -13]	0,006
REP 1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	-15	[-29; -10]	0,006	-19	[-28; -9]	0,003
REP 10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	-17	[-29; -10]	0,005	-13	[-23; -1]	0,098
REP 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	-18	[-28; -11]	0,004	-16	[-43; 19]	0,419
Remifentanil (kontinuierlich)	-22	[-31; -10]	0,013	-26	[-31; -21]	0,003
NaCl 0,9 % 1 <sup>st</sup> Appl.	-16	[-26; -7]	0,013	-28	[-36; -18]	0,011
NaCl 0,9 % 2 <sup>nd</sup> Appl.	-12	[-23; -6]	0,013	-19	[-32; -14]	0,023
NaCl 0,9 % 3 <sup>rd</sup> Appl.	-18	[-21; -5]	0,008	-21	[-29; -16]	0,007
NaCl 0,9 % 4 <sup>th</sup> Appl.	-17	[-24; -8]	0,004	-17	[-25; -16]	0,006

## 5. Diskussion

Diese Arbeit wurde durchgeführt mit dem Ziel, die Wirkung von Repinotan auf einen nozizeptiven Reflex zu untersuchen, und ob es pharmakologische Interaktionen in Kombination mit dem kurzwirksamen Opioid Remifentanil gibt. Günther et al. konnten zeigen, dass die Wirkung von Repinotan auf die Nozizeption dosisabhängig war. In niedriger Dosierung (0,2 µg/kg) verstärkte Repinotan den nozizeptiven TFR, in hoher Dosierung (200 µg/kg) kam es zu einer Unterdrückung der Nozizeption. Die genauere Untersuchung einer mittleren Dosierung Repinotan (10 µg/kg) ergab, dass bei dieser Dosierung kein intrinsischer antinozizeptiver Effekt besteht, aber die antinozizeptive Wirkung des ultrakurzwirksamen Opioids Remifentanil um mindestens 25 Minuten verlängert wird. Ein mäßiges Absinken des arteriellen Blutdrucks durch Repinotan ging ohne vitale Bedrohung einher (Guenther et al., 2012).

### 5.1 Nozizeptive Effekte

#### 5.1.1 Nozizeptive Effekte zentraler- und spinaler 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren

Vorangegangene Untersuchungen lieferten ein uneinheitliches Bild der Wirkung von 5-HT<sub>1A</sub>-R-Agonisten auf die Nozizeption. Sowohl pro- als auch antinozizeptive Wirkungen sowie keine Wirkung auf die Nozizeption wurden berichtet. Dies erklärt sich teils durch die unterschiedliche anatomische Lokalisation von 5-HT<sub>1A</sub>-R, die durch unterschiedliche Applikationswege verschiedene physiologische Effekte verursachen können. 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren befinden sich sowohl im Gehirn als auch auf Rückenmarksebene, sie werden sowohl prä- als auch postsynaptisch exprimiert. In einem Modell am isolierten Rückenmark von Hasen konnte gezeigt werden, dass die beiden 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Antagonisten (S)WAY-100135 und WAY-100635 die Reflexantwort des Musculus gastrocnemius, wenn der Nervus suralis elektrisch gereizt wurde, verstärkten. Somit können spinale 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren spinale Reflexe hemmen (Clarke et al., 1996). Werden jedoch zentral gelegene 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren aktiviert, übertrifft dies die Wirkung des spinalen 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten und es resultiert eine pronozizeptive Wirkung (Clarke et al., 1996). Es ist demnach wahrscheinlich, dass es bei intravenöser Aktivierung niedrig dosierten Repinotans durch Stimulation spinaler 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren zu antinozizeptiven Effekten kommt. Bei höheren Dosierungen könnte durch Übertritt der

Bluthirnschranke die pronozizeptive Wirkung zentraler 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten überwiegen.

Hierfür sprechen noch weitere Befunde: Im Formalin-Test wurde Formaldehyd in die Pfote von Versuchstieren injiziert. Hier zeigte sich eine antinozizeptive Wirkung des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten 8-OH-DPAT, wenn dieser intrathekal appliziert wurde. Es wurde in diesem Model beobachtet, ob und wie oft das Versuchstier seine Pfote hob oder sich an der Pfote leckte (Bardin und Colpaert, 2004).

Der Paw-Pressure-Test ist ein weiterer gängiger Test um die Nozizeption zu untersuchen. Die Pfote des Versuchstieres wurde durch einen definierten, taktilen Schmerz gereizt (Randall und Selitto, 1957). Anschließend wurde die Zeit gemessen bis das Versuchstier quiekt. In diesem Test zeigten sich jedoch widersprüchliche Ergebnisse. Wurde der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist 8-OH-DPAT intrathekal appliziert und besetzte somit spinale 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren, führte dies zu pronozizeptiven Effekten, angezeigt durch eine Verkürzung der Vokalisationslatenz im Paw-Pressure-Test (Bardin und Colpaert, 2004).

Der hoch selektive 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist F13640 zeigte zu Beginn vergleichbarer Versuche ebenfalls eine pronozizeptive Wirkung, angezeigt durch eine Abnahme der Vokalisationslatenz im Paw-Pressure-Test. Vier Stunden später zeigte sich dann ein antinozizeptiver Effekt. Im Formalin-Test zeigte sich jedoch eine antinozizeptive Wirkung von F13640 von Versuchsbeginn an (Bardin et al., 2005). Diese Befunde bestätigen einen dualen, pro- und antinozizeptiven Effekt. Die Autoren führten dies auf eine Zeitabhängigkeit, nicht auf eine Dosisabhängigkeit zurück.

In einer aktuellen Untersuchung aus dem Jahre 2015 antagonisierte der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist Befiradol eine Fentanyl-induzierte Atemdepression. Unter Befiradol in Kombination mit Fentanyl kam es zu einer Verlängerung der Analgesie, somit zeigte sich ein antinozizeptiver Effekt. Interessanterweise kam es zu einer Hyperalgesie und Hyperventilation, wenn der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist Befiradol ohne vorherige Opioid-Gabe appliziert wurde. Es zeigte sich somit ein pronozizeptiver Effekt (Ren et al., 2015).

### 5.1.2 Nozizeptive Effekte von 8-OH-DPAT und Repinotan

Pronozizeptive Effekte fanden sich nur in niedrigen Dosisbereichen von 0,2 µg/kg Repinotan (Guenther et al., 2010). Im mittleren untersuchten Dosisbereich 2 bis 20 µg/kg

wies Repinotan keinen pronozizeptiven Effekt auf. Im Hochdosisbereich 200 µg/kg Repinotan zeigte sich ein antinozeptiver Effekt, also insgesamt eine Bestätigung der schon für 8-OH-DPAT gefundenen dosisabhängigen pro- und antinozeptiven Wirkungen.

Der mittlere Dosisbereich von 2 bis 20 µg/kg war von besonderem Interesse, denn dieser ist der klinisch relevante Bereich. Lag die ED<sub>50</sub> zur Antagonisierung einer Atemdepression wie oben ausgeführt bei 3,6 µg/kg, so wäre eine klinische übliche Dosis beim 2- bis 3-fachen der ED<sub>50</sub>, also etwa 7 bis 10 µg/kg. Aus diesem Grund wurde für die Untersuchung einer einzelnen Gabe die Dosis 10 µg/kg Repinotan gewählt. Es bestätigte sich, dass eine einzelne mittlere Dosis 10 µg/kg Repinotan keinen intrinsischen Effekt auf den nozizeptiven TFR hatte, aber die Antinozeption von Remifentanil verlängert. Remifentanil selbst ist sonst nur sehr kurz antinozeptiv wirksam. Dies wurde bestätigt durch die Messungen in der vorliegenden Arbeit (s. Abbildung 4, weiße Balken). Abbildung 4 zeigt, dass die antinozeptive Wirkung von Remifentanil nur 5 Minuten nach Abstellen der Infusion nachweisbar war. Wurde mit Abstellen der Infusion 10 µg/kg Repinotan injiziert, so verlängerte sich die Antinozeption, angezeigt durch Unterdrückung des TFR. Wohingegen die gleiche Dosis Repinotan keine intrinsische antinozeptive Wirkung besitzt.

Synergistische Wirkungen von 5-HT<sub>1A</sub>-R-Agonisten mit Opioiden wurden bereits durch frühere experimentelle Untersuchungen mit 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten gezeigt. So konnten sowohl eine Verlängerung der Opioid-induzierten Analgesie sowie die Entstehung einer Opioid-induzierten Allodynie verhindert werden (Colpaert et al. 2004; Colpaert et al., 2006).

Durch Metabolisierung des Repinotans hätten Plasmaspiegel im niedrigen Dosisbereich einen pronozizeptiven Effekt durchaus aufweisen können. Dies war jedoch nicht der Fall. Bardin et al. postulierten eine zeitliche Abhängigkeit der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren (Bardin et al., 2005).

Geringe und somit pronozizeptive Dosen von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten schwächen eine Opioid-induzierte Antinozeption **nicht** ab, 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten nehmen eine modulierende Funktion ein. Die alleinige, zentrale Gabe eines 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten erhöht die Reflexbereitschaft, in Kombination mit einem Opioid verstärken die 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten die opioiderge deszendierende Hemmung bulbospinaler

Bahnen (Clarke et al., 2000). Werden zentrale 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren gehemmt, führt dies jedoch **nicht** zu einer Abschwächung der opioidergen Wirkung der deszendierenden Hemmung (Clarke et al., 1998).

## 5.2 Die Effekte Repinotans auf die Spontanatmung

Opioide beeinflussen die respiratorischen Neurone über eine Aktivierung des  $\mu$ -Opioid-Rezeptors, die in der ventralen respiratorischen Gruppe beziehungsweise im Bereich des Prä-Bötzinger-Komplexes liegen (Gray et al., 1999; Manzke et al., 2003). Werden membranständige  $\mu$ -Opioid-Rezeptoren aktiviert, die sich auf rhythmusgenerierenden, respiratorischen Neuronen des Prä-Bötzinger-Komplexes befinden, führt dies zu einer Zunahme der Kaliumleitfähigkeit. Dadurch kommt es zu einer Hyperpolarisation der Zellmembran, und es resultiert eine Reduktion der Atemfrequenz (Montandon et al., 2011; Gray et al., 1999; Greer et al., 1995).

Es wurden verschiedene Serotonin-Rezeptor-Agonisten auf ihre pharmakodynamischen Effekte bezüglich ihrer Wirkung auf die Spontanatmungsaktivität untersucht. In tierexperimentellen Modellen an der Ratte konnte gezeigt werden, dass eine Opioid-induzierte Atemdepression durch eine Aktivierung des 5-HT<sub>4A</sub>-Rezeptors antagonisiert werden kann. Die analgetische Qualität bleibt unbeeinträchtigt (Manzke et al., 2003). 5-HT<sub>4A</sub>-Rezeptor-Agonisten können jedoch schwerwiegende tachykarde Episoden bis zu Arrhythmien auslösen. Aus diesem Grunde können sie klinisch nicht eingesetzt werden. Agonisten, die den Serotonin-Subtyp-Rezeptor 5-HT<sub>1A</sub> binden, stimulieren ebenso die Spontanatmungsaktivität im Tierexperiment an der Ratte (Garner et al., 1989; Sahibzada et al., 2000). Die antinozizeptive Wirkung des Opioids wurde jedoch nicht beeinträchtigt (Guenther et al., 2009). Zurzeit wird folgender Wirkmechanismus diskutiert. Sobald es zu einer Aktivierung der präsynaptischen 5-HT<sub>1A</sub>-Autorezeptoren kommt, die auf Neuronen der Nuclei raphe liegen, wird die Opioid-bedingte Atemdepression aufgehoben (Sahibzada et al., 2000). Die Aktivierung der Neurone führt zu einer verminderten Freisetzung des Neurotransmitters Serotonin in den synaptischen Spalt (Koyama et al., 2002), dies führt nun zu einer verminderten Entladung innerhalb der Nuclei raphe lokalisierter respiratorischer Neurone (Trulson und Arasteh, 1986). Die Axone dieser serotonergen Neurone projizieren unter anderem in respiratorische Zentren (Lindsey et al., 1998). Bei Stimulation dieser Kerngebiete kommt es zu einer Atemdepression (Lalley et al., 1997). Somit könnten 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonisten zu einer Hemmung der Atem-

depression führen, da sie die neuronale Aktivität im Bereich der Raphekerne hemmen (Sahibzada et al., 2000).

Der partielle 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist Buspirone zeigte beim Menschen keinen Effekt auf eine Morphin-induzierte Atemdepression. Auch auf die Nozizeption zeigte der partielle 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist Buspirone keinerlei Wirkung (Oertel et al., 2007). Buspirone ist jedoch nur ein partieller Agonist am 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor, 8-OH-DPAT und Repinotan sind hochselektive Agonisten am 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor. Dies könnte die fehlende Wirkung auf die Nozizeption und die Opioid-induzierte Atemdepression erklären.

### 5.3 Hämodynamische Effekte von 8-OH-DPAT und Repinotan

Während der Untersuchungen kam es bei Repinotan nur zu einem geringen Abfall des MAD und der HF. Hingegen waren die Versuche mit 8-OH-DPAT durch die Kreislaufwirkungen limitiert. Die kardiodepressive Wirkung von 8-OH-DPAT verhinderte die Untersuchungen von Dosierungen größer 100 µg/kg, da es bei dieser Dosierung mehrfach zu schwerer Hypotension und mykokardialem Pumpversagen gekommen war (Guenther et al., 2009). In der vorliegenden Arbeit waren die Kreislaufwirkungen nie interventionsbedürftig. Repinotan zeigte im Gegensatz zu 8-OH-DPAT eine ausgeprägte Stabilität im Bezug auf hämodynamische Parameter.

### 5.4 Ausblick

Die Effekte der 5-HT<sub>1A</sub>-R-Agonisten auf die Nozizeption und Respiration zeigen, dass diese Wirkstoffgruppe ein großes Potential und vielfältige Einsatzmöglichkeiten in der Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie bieten könnten.

Es ist jedoch schwierig unter experimentellen Bedingungen eine stabile Opioid-induzierte Atemdepression bei gesunden Probanden unter gleichzeitiger Schmerzstimulation hervorzurufen (Karan et al., 2005). Vor der Testung an Patienten wäre jedoch eine Probandenstudie zu fordern.

Der einzig klinisch einsetzbare 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist, Buspirone, ist ein partieller Agonist sowie nur in oraler Applikation verfügbar. Ein idealer 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Agonist sollte intravenös applizierbar sein, einen schnellen Wirkeintritt aufweisen, eine volle intrinsische Aktivität zeigen und eine vorhersehbare Pharmakokinetik aufweisen.

## 6. Zusammenfassung

Der Effekt des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten Repinotan auf die Nozizeption ist dosisabhängig. In einer niedriger Dosis im Bereich von 0,02 µg/kg führte Repinotan zu einer Verkürzung der TFL, somit zeigte sich ein pronozizeptiver Effekt. Erst bei sehr hohen Dosen im Bereich von 200 µg/kg wurde die TFL verlängert, es zeigte sich eine antinozizeptive Wirkung von Repinotan. Im mittleren Dosisbereich von 2-20 µg/kg blieb die TFL unverändert, Repinotan zeigte in diesem Bereich keinen pro- oder antinozizeptiven Effekt auf die Nozizeption. Repinotan stimulierte die Spontanatmung, mit steigenden Repinotandosen kam es zu einer proportionalen Zunahme des Atemminutenvolumens. Repinotan zeichnete sich durch eine ausgesprochen gute kardiovaskuläre Verträglichkeit aus, lediglich hohe Repinotandosen zeigten eine geringfügige Senkung des mittleren arteriellen Blutdruckes.

Eine einmalige Gabe von Repinotan in einer mittleren Dosierung von 10 µg/kg ohne Opioidgabe beeinflusste die TFL nicht, es zeigte sich somit kein Effekt auf die Nozizeption. Interessanterweise verlängerte die Gabe einer mittleren Dosis Repinotan in einer Konzentration von 10 µg/kg die Wirksamkeit des kurzwirksamen Opioids Remifentanil um mehr als 30 Minuten. Nach Beginn der kontinuierlichen Infusion des Opioids Remifentanil kam es zu einer deutlichen Abnahme der Ventilation. Mit steigenden Repinotandosen nahm auch die Ventilation zu. Bei einer Dosierung von 100 µg/kg Repinotan erreichte die Ventilation wieder ihren Ausgangswert. Bei einem Repinotanbolus von 10 µg/kg kam es zu einer deutlichen Steigerung der Ventilation, es wurde fast das Ausgangsniveau wieder erreicht. Dies ist besonders interessant, da eine Dosis von 10 µg/kg Repinotan, wie oben beschrieben, zu einer Verlängerung der TFL führte. Somit antagonisierte Repinotan in diesem Dosisbereich von 10 µg/kg eine Opioid-induzierte Atemdepression und zeigte zusätzlich einen additiven antinozizeptiven Effekt. Dies macht die 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten zu einer Substanzklasse, deren Eigenschaften hinsichtlich der additiven Effekte bei Opioidgaben weiter untersucht werden sollte.

## 7. Literaturverzeichnis

- (1) Ballanyi K, Lalley PM, Hoch B, Richter DW. cAMP-dependent reversal of opioid- and prostaglandin-mediated depression of the isolated respiratory network in newborn rats. *J Physiol* 1997; 1: 127-134
- (2) Bardin L, Tarayre JP, Koek W and Colpaert FC. In the formalin model of tonic nociceptive pain, 8-OH-DPAT produces 5-HT<sub>1A</sub> receptor-mediated, behaviorally specific analgesia. *Eur J Pharmacol* 2001; 421: 109-114
- (3) Bardin L, Colpaert FC. Role of spinal 5-HT-1A receptors in morphine analgesia and tolerance in rats. *Eur J Pain* 2004; 8: 253-261
- (4) Bardin L, Assie MB, Pelissou M, Royer-Urios I, Newman-Tancredi A, Ribet JP, Sautel F, Koek W, Colpaert FC. Dual, hyperalgesic, and analgesic effects of the high-efficacy 5-hydroxytryptamine 1A (5-HT<sub>1A</sub>) agonist F 13640 [(3-chloro-4-fluoro-phenyl)-[4-fluoro-4-[(5-methyl-pyridin-2-ylmethyl)-amino]-methyl]piperidin-1-yl]methanone, fumaric acid salt]: relationship with 5-HT<sub>1A</sub> receptor occupancy and kinetic parameters. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312: 1034-1042
- (5) Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 1999; 38: 1083-1152
- (6) Bhamb B, Brown D, Hariharan J, Anderson J, Balousek S, Fleming MF. Survey of select practice behaviors by primary care physicians on the use of opioids for chronic pain. *Curr Med Res Opin* 2006; 22: 1859-1865
- (7) Bianchi AL, Denavit-Saubie M, Champagnat J. Control of breathing in mammals: neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiol Rev* 75: 1-45

- (8) Bortolozzi A, margos-Bosch M, Adell A, az-Mataix L, Serrats J, Pons S, Artigas F. In vivo modulation of 5-hydroxytryptamine release in mouse prefrontal cortex by local 5-HT-2A receptors: effect of antipsychotic drugs. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 1235-1246
- (9) Brennan F, Carr DB, Cousins M. Pain management: a fundamental human right. *Anesth Analg* 2007; 105: 205-221
- (10) Casanovas JM, Berton O, Celada P, Artigas F. In vivo actions of the selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist BAY x 3702 on serotonergic cell firing and release. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000; 362: 248-254
- (11) Clarke RW, Harris J, Houghton AK. Spinal 5-HT-receptors and tonic modulation of transmission through a withdrawal reflex pathway in the decerebrated rabbit. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1167-1176
- (12) Clark RW, Parry-Baggott C, Houghton AK, Ogilvie J. The involvement of bulbospinal pathways in fentanyl-induced inhibition of spinal withdrawal reflexes in the decerebrated rabbit. *Pain* 1998; 78: 197-207
- (13) Clarke RW, Ward RE. The role of 5-HT-1A-receptors in fentanyl-induced bulbospinal inhibition of a spinal withdrawal reflex in the rabbit. *Pain* 2000; 85: 239-245
- (14) Colpaert FC, Wu WP, Hao JX, Royer I, Sautel F, Wiesenfeld-Hallin Z, Xu XJ. High-efficacy 5-HT<sub>1A</sub> receptor activation causes a curative-like action on allodynia in rats with spinal cord injury. *Eur J Pharmacol* 2004; 497: 29-33
- (15) Colpaert FC, Deseure K, Stinus L, Adriaensen H. High-efficacy 5-hydroxytryptamine 1A receptor activation counteracts opioid hyperalldodynia and affective conditioning. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 892-899

- (16) Fishman SM. Recognizing pain management as a human right: a first step. *Anesth Analg* 2007; 105: 8-9
- (17) Frantsve LM, Kerns RD. Patient-provider interactions in the management of chronic pain: current findings within the context of shared medical decision making. *Pain Med* 2007; 8: 25-35
- (18) Galeotti N, Ghelardini C and Bartolini A. 5-HT<sub>1A</sub> agonists induce central cholinergic antinociception. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 57: 835-841
- (19) Garner SJ, Eldridge FL, Wagner PG, Dowell RT. Buspirone, an anxiolytic drug that stimulates respiration. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 946-950
- (20) Glajchen M. Chronic pain: treatment barriers and strategies for clinical practice. *J Am Board Fam Pract* 2001; 14: 211-218
- (21) Gray PA, Rekling JC, Bocchiaro CM, Feldman JL. Modulation of respiratory frequency by peptidergic input to rhythmogenic neurons in the preBotzinger complex. *Science* 1999; 286: 1566-1568
- (22) Green CR, Wheeler JR, LaPorte F. Clinical decision making in pain management: Contributions of physician and patient characteristics to variations in practice. *J Pain* 2003; 4: 29-39
- (23) Greer JJ, Smith JC, Feldman JL. Role of excitatory amino acids in the generation and transmission of respiratory drive in neonatal rat. *J Physiol* 1991; 437: 727-749
- (24) Greer JJ, Carter JE, al-Zubaidy Z. Opioid depression of respiration in neonatal rats. *J Physiol* 1995; 485: 845-855

- (25) Guenther U, Manzke T, Wrigge H, Dutschmann M, Zinserling J, Putensen C, Hoeft A. The counteraction of opioid-induced ventilatory depression by the serotonin 1A-agonist 8-OH-DPAT does not antagonize antinociception in rats in situ and in vivo. *Anesth Analg* 2009; 108: 1169-1176
- (26) Guenther U, Wrigge H, Theuerkauf N, Boettcher MF, Wensing G, Zinserling J, Putensen C, Hoeft A. Repinotan, a selective 5-HT<sub>1A</sub>-R-agonist, antagonizes morphine-induced ventilatory depression in anesthetized rats. *Anesth Analg* 2010; 111: 901-907
- (27) Guenther U, Theuerkauf NU, Huse D, Boettcher MF, Wensing G, Putensen C, Hoeft A. Selective 5-HT<sub>1A</sub>-R-agonist Repinotan Prevents Remifentanil-induced Ventilatory Depression and Prolongs Antinociception. *Anesthesiology* 2012; 116: 56-64
- (28) Harkany T, Mulder J, Horvath KM, Keijser J, van der Meeberg EK, Nyakas C, Luiten PG. Oral post-lesion administration of 5-HT(1A) receptor agonist repinotan hydrochloride (BAY x 3702) attenuates NMDA-induced delayed neuronal death in rat magnocellular nucleus basalis. *Neuroscience* 2001; 108: 629-642
- (29) Karan S, Voter W, Palmer L, Ward DS. Effects of pain and audiovisual stimulation on the opioid-induced depression of the hypoxic ventilator response. *Anesthesiology* 2005; 103: 384-390
- (30) Kline AE, Yu J, Horvath E, Marion DW, Dixon CE. The selective 5-HT(1A) receptor agonist repinotan HCl attenuates histopathology and spatial learning deficits following traumatic brain injury in rats. *Neuroscience* 2001; 106: 547-555
- (31) Koyama S, Matsumoto N, Murakami N, Kubo C, Nabekura J, Akaike N. Role of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors in modulation of synaptic GABA transmission in dissociated rat basolateral amygdala neurons. *Life Sci* 2002; 72: 375-387

- (32) Lalley PM, Benacka R, Bischoff AM, Richter DW. Nucleus raphe obscurus evokes 5-HT-1A receptor-mediated modulation of respiratory neurons. *Brain Res* 1997; 747: 156-159
- (33) Lindsey BG, Arata A, Morris KF, Hernandez YM, Shannon R. Medullary raphe neurones and baroreceptor modulation of the respiratory motor pattern in the cat. *J Physiol* 1998; 512: 863-882
- (34) Lutsep HL, Clark WM. Neuroprotection in acute ischaemic stroke. Current status and future potential. *Drugs R D* 1999; 1: 3-8
- (35) Lutsep HL. Repinotan, A 5-HT1A agonist, in the treatment of acute ischemic stroke. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2005; 4: 119-120
- (36) Manzke T, Guenther U, Ponimaskin EG, Haller M, Dutschmann M, Schwarzacher S, Richter DW. 5-HT4(a) receptors avert opioid-induced breathing depression without loss of analgesia. *Science* 2003; 301: 226-229
- (37) Mauler F, Fahrig T, Horvath E, Jork R. Inhibition of evoked glutamate release by the neuroprotective 5-HT-1A receptor agonist BAY x 3702 in vitro and in vivo. *Brain Res* 2001; 888: 150-157
- (38) McAllister-Williams, RH, Kelly JS The modulation of calcium channel currents recorded from adult rat dorsal raphe neurones by 5-HT-1A receptor or direct G-protein activation. *Neuropharmacology* 1995, 34: 1491-1506
- (39) Meyer LC, Fuller A and Mitchell D. Zacopride and 8-OH-DPAT reverse opioid-induced respiratory depression and hypoxia but not catatonic immobilization in goats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R405-413
- (40) Millan MJ, Bervoets K and Colpaert FC. Apparent hyperalgesic action of the 5-

HT1A agonist, 8-OH-DPAT, in the rat reflects induction of spontaneous tail-flicks. *Neurosci Lett* 1989; 107: 227-232

- (41) Millan MJ. Serotonin and pain: evidence that activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors does not elicit antinociception against noxious thermal, mechanical and chemical stimuli in mice. *Pain* 1994; 58: 45-61
- (42) Montandon G, Qin W, Liu H, Ren J, Greer JJ, Horner RL, PreBötzing Complex Neurokinin-1 Receptor-Expressing Neurons Mediate Opioid-Induced Respiratory Depression. *J Neurosci* 2011; 31: 1292-1301
- (43) Nadeson R, Goodchild CS. Antinociceptive role of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in rat spinal cord. *Br J Anaesth* 2002 ; 88: 679-684
- (44) Ohman J, Braakman R, Legout V. Repinotan (BAY x 3702): a 5HT<sub>1A</sub> agonist in traumatically brain injured patients. *J Neurotrauma* 2001; 18: 1313-1321
- (38) Onimaru H, Homma I. A novel functional neuron group for respiratory rhythm generation in the ventral medulla. *J Neurosci* 2003; 23: 1478-1486
- (45) Oertel BG, Schneider A, Rohrbacher M, Schmidt H, Tegeder I, Geisslinger G, Lotsch J. The partial 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor agonist buspirone does not antagonize morphine-induced respiratory depression in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81: 59-68
- (46) Ramirez JM, Richter DW. The neuronal mechanisms of respiratory rhythm generation. *Curr Opin Neurobiol* 1996; 6: 817-825
- (47) Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn* 1957; 61: 409–417
- (48) Ren J, Ding X, Greer JJ 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist Befiradol reduces fentanyl-induced respiratory depression, analgesia, and sedation in rats. *Anesthesiology* 2015; 122: 424-434

- (49) Rich BA. An ethical analysis of the barriers to effective pain management. *Camb Q Healthc Ethics* 2000; 9: 54-70
- (50) Richter DW. Generation and maintenance of the respiratory rhythm. *J Exp Biol* 1982; 100: 93-107
- (51) Richter DW, Lalley PM, Pierrefiche O, Haji A, Bischoff AM, Wilken B, Hanefeld F. Intracellular signal pathways controlling respiratory neurons. *Respir Physiol* 1997; 110: 113-123
- (52) Richter DW, Manzke T, Wilken B, Ponimaskin E. Serotonin receptors: guardians of stable breathing. *Trends Mol Med* 2003; 9: 542-548
- (53) Richter DW. Atemregulation. In: Schmidt FS, Lang F, Thews G, Hrsg. *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. 29. Aufl. Heidelberg: Springer; 2005: 767-774
- (54) Sahibzada N, Ferreira M, Wasserman AM, Taveira-DaSilva AM, Gillis RA. Reversal of morphine-induced apnea in the anesthetized rat by drugs that activate 5-hydroxytryptamine(1A) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 704-713
- (55) Schaible H-G, Schmidt RF. Nozizeption und Schmerz. In: Schmidt FS, Lang F, Thews G, Hrsg. *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. 29. Aufl. Heidelberg: Springer; 2005: 318-327
- (56) Schaper C, Zhu Y, Kouklei M, Culmsee C, Krieglstein J. Stimulation of 5-HT(1A) receptors reduces apoptosis after transient forebrain ischemia in the rat. *Brain Res* 2000; 883: 41-50

- (57) Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DW, Feldman JL. Pre-Botzinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science* 1991; 254: 726-729
- (58) Schwarzacher SW, Smith JC, Richter DW. Pre-Botzinger complex in the cat. *J Neurophysiol* 1995; 73: 1452-1461
- (59) Teal P, Silver FL, Simard D. The BRAINS study: safety, tolerability, and dose-finding of repinotan in acute stroke. *Can J Neurol Sci* 2005; 32: 61-67
- (60) Trescot AM, Datta S, Lee M, Hansen H. Opioid pharmacology. *Pain Physician* 2008; 11: 133-153
- (61) Trulson ME, Arasteh K. Buspirone decreases the activity of 5-hydroxytryptamine-containing dorsal raphe neurons in-vitro. *J Pharm Pharmacol* 1986; 38: 380-383

## **8. Danksagung**

Mein herzlicher Dank gilt an erster Stelle meinem Betreuer Herrn PD Dr. med Ulf Günther. Er stand mir während des gesamten Entstehungsprozesses der Promotion mit Rat und Tat zur Seite. Ohne seine Anleitung und unermüdliche Geduld wäre die Fertigstellung dieser Arbeit kaum vorstellbar gewesen.

Natürlich gilt auch meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. A. Hoefft ein besonderer Dank für die Bereitstellung des Themas und die tatkräftige Unterstützung während der Planung und Durchführung meiner Dissertation.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Mama.