



Reflektionen zur Substanz P - Forschung
Reflections on Substance P Research

Von Peter Oehme und Karl Hecht

Berlin, 12. Oktober 2017
Überarbeitete Fassung vom 28. 3. 2020

Anschrift der Autoren:

Prof. Dr. Peter Oehme: Hubertusstr. 45, 16567 Mühlenbeck,
prof.peter.oehme@gmail.com

Prof. Dr. Karl Hecht, Müggelschloßchenweg 50/2E, 12559 Berlin,
hechtka@googlemail.com

Zusammenfassung

Reflexionen zur Substanz P-Forschung

Peter Oehme und Karl Hecht

Die Veröffentlichung basiert auf einem Vortrag zu dem Neuropeptid Substanz P auf dem Kolloquium der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften zu Berlin am 12. Oktober 2017 im Schloss Biesdorf (Berlin). Die Arbeit gibt eine Übersicht über ausgewählte Arbeiten der Gruppen beider Autoren und ihrer wichtigsten Kooperationspartner.

Die Übersichtsarbeit umfasst folgendes Spektrum: 1. Historischer Rückblick, 2. Wirkung von Substanz P (SP) auf die Schmerzschwelle und stressbedingte Störungen, 3. Wirkung von SP auf Mastzellen, 4. Interaktion von SP mit dem aminergen System und 5. dem Opioidpeptidsystem, 6. Weitere Wirkungen zu Substanz P und SP-Fragmenten, 7. Arbeiten zur Vorbereitung einer klinischen Nutzung von Substanz P, 8. Gedanken zum gegenwärtigen Stand der SP-Forschung und zu ihrer weiteren Entwicklung.

Die Zusammenstellung gibt einen historischen Überblick zur Rolle von Substanz P im Stressgeschehen und ihre Bedeutung für adaptive Prozesse.

Die Überarbeitung erfolgte zu einem Zeitpunkt, wo die Extremsituation der Corona-Pandemie in Verbindung mit den Wirkungen des Klimawandels die Notwendigkeit einer modernen Adaptationsforschung unterstreicht. Das Ziel dieser Zusammenstellung ist, diese Ergebnisse in prospektive Diskussionen einzubringen.

Abstract

Reflections on Substance P research

Peter Oehme and Karl Hecht

The publication is based on the plenary lecture on the neuropeptide Substance P delivered at the Colloquium of the Leibniz-Sozietät der Wissenschaften zu Berlin, held at Schloss Biesdorf, Berlin on October 12, 2017. The publication reviews a selection of works by the two authors and their research groups, and by their key partners.

The review covers the following areas: 1. Historical background, 2. The effect of Substance P (SP) on the pain threshold and on stress-related disorders, 3. The effect of SP on mast cells, 4. The interaction of SP with the aminergic system and 5. with the opioid peptide system, 6. Other effects of Substance P and SP fragments, 7. The work involved in preparing the clinical use of Substance P, 8. Thoughts on the present state of SP research and its further development.

The compilation provides a historical overview of the role of Substance P in the occurrence of stress and its significance for adaptive processes.

The review was conducted at a time when the extreme situation caused by the corona pandemic, coupled with the effects of climate change, stresses the need to conduct state-of-the-art adaptation research. This review seeks to ensure that the results are addressed in prospective discussions.

Reflektionen zur Substanz P-Forschung

Peter Oehme und Karl Hecht

Der Beginn der Substanz P-Forschung geht auf die Jahre 1930/1931 zurück. Ulf Svante von Euler war zu dieser Zeit „postgraduate student“ in Henry Dale’s Laboratorium in London. Dort beschäftigte man sich auch mit der Freisetzung von Azetylcholin aus dem Intestinum nach Stimulation des Nervus Vagus. Bei solchen Untersuchungen fand von Euler zusammen mit John Gaddum, dem damaligen „senior assistent“, eine Fraktion, die sich in den Eigenschaften deutlich von Azetylcholin unterschied (1). Sie reinigten diese Fraktion und gewannen daraus ein trockenes Puder (powder). Dieses nannten sie Präparation P. Daraus folgte dann der Name Substanz P (SP). Mit diesem Substanz P-powder wurden in der Folgezeit zahlreiche Untersuchungen durchgeführt.

1971 gab es einen zweiten Meilenstein in der Substanz P-Forschung. Die Gruppe von Susan E. Leeman von der Harvard Medical School in Boston publizierte die Aminosäuresequenz von Substanz P (2). SP erwies sich als ein Undekapeptid (Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-MetNH₂). Dieses Undekapeptid hatte im C-terminalen Pentapeptidbereich große Ähnlichkeit mit dem von Ersparmer in Moschuspolypen (*Eledona moschata*) entdeckten Peptid Eledoisin (3). SP zeigte auch ähnliche pharmakologische Eigenschaften wie dieses Kaltblüterpeptid¹. Mit Eledoisin und anderen Kaltblüterpeptiden wurde in der Chemie und in der Pharmakologie der beiden Jung’schen Institute seit Anfang der 1960er Jahre gearbeitet und dazu publiziert (4, 5).

1. Aufnahme in die internationale Substanz P-„Gemeinde“

1976, im Jahr der Gründung des Institutes für Wirkstoffforschung (IWF), erhielt der Erstautor eine Einladung vom o.g. Entdecker von Substanz P zu dem Nobel-Symposium 37 über Substanz P in Stockholm. Auf dem Symposium war alles vertreten, was auf diesem Gebiet Rang und Namen hatte. Die Vorträge umfassten Arbeiten zur Isolierung von Substanz P, zur Strukturaufklärung, zu Struktur und Konformation, zu Nachweismethoden, zur Lokalisierung

¹ Substanz P, Eledoisin und weitere Peptide wurden dann zur Gruppe der Tachykinine zusammengefasst. Der Name Tachykinine folgte aus der von allen Peptiden dieser Gruppe am glatten Muskel auslösbaren schnellen (tachos = schnell; griech.) Kontraktion.

im Nervensystem und anderen Geweben, zur Rolle in primär sensorischen Neuronen, zur Bedeutung für das Schmerzgeschehen u.a.

Von uns wurden in Stockholm Ergebnisse zu Struktur-Wirkungs-Betrachtungen an SP und anderen Tachykininen vorgetragen und zwei Hypothesen vertreten (6). Zum einen, dass im SP-Molekül unterschiedliche Informationen in verschiedenen Teilen des Moleküls verschlüsselt sind. Zum anderen, dass SP neben der direkten Wirkung am glatten Muskel auch indirekte Effekte über die Modulation anderer Transmittersubstanzen ausübt. Letzteres wurde von uns dem N-terminalen Bereich des SP-Moleküls zugeordnet. Diese Hypothesen wurden in den Folgejahren die „Führungsgrößen“ für unsere Arbeiten.



*Der Entdecker von Substanz P: Nobelpreisträger Ulf Svante von Euler
gemeinsam mit Peter Oehme 1976 auf dem Nobel-Symposium 37 zu Substanz P in Stockholm*

Die Ergebnisse wurden gut aufgenommen. Das hatte zur Folge, dass wir zu den folgenden Substanz P-Symposien eingeladen wurden und ich bald zu dem „Organizing Committee“ dieser bekannten internationalen „Substance P-Meetings“ gehörte.

2. Wirkung von Substanz P auf die Schmerzschwelle und auf stressbedingte Störungen

1975 lag der Beginn der Zusammenarbeit des IWF mit der Gruppe von Karl Hecht – eine wesentliche Grundlage für den späteren raschen Fortschritt. Karl Hecht arbeitete damals im Zentralinstitut für Herz-Kreislauf-Regulationsforschung der Akademie in Berlin-Buch.

Die ersten Ergebnisse unserer Zusammenarbeit waren enttäuschend. An intakten Versuchstieren zeigten die untersuchten Peptide keine Wirkung. Dann folgten Untersuchungen mit chronisch gestressten Versuchstieren. Hier zeigten sich interessante Effekte. Der durch Immobilisationsstress erhöhte Blutdruck und die durch chronischen Stress gestörten erlernten Vermeidungsreaktionen wurden weitgehend normalisiert (7).

Ausgehend hiervon wurde von Karl Hecht, der Gruppe von Michael Airapetanz aus dem Moskauer Akademieinstitut für höhere Nerventätigkeit und Neurophysiologie und dem IWF ein verkürztes Substanz P-Analogon (Lys-Phe-Ile-Gly-Leu-MetNH₂) auf das durch Immobilisationsstress gestörte Schlafverhalten untersucht. Ein überzeugendes Ergebnis: Die durch chronischen Stress gestörte Delta-Aktivität ebenso wie die gestörten paradoxen Schlafperioden wurden durch das SP-Analogon weitgehend normalisiert (8).

Im IWF, zusammen mit Evelyn Morgenstern in dem von Erhard Göres geleiteten Institut für pharmakologische Forschung (IPhF), liefen parallel Untersuchungen zur Wirkung von Substanz P auf die Schmerzschwelle von Mäusen. Dabei gab es das erstaunliche Ergebnis, dass die Wirkung des Peptides sowohl eine Analgesie wie eine Algesie auslösen konnte. Die Wirkung hing dabei von der individuellen Ausgangslage der Tiere ab; d.h. SP erhöhte die Schmerzschwelle (Analgesie) nur bei Mäusen mit niedriger Ausgangsschmerzschwelle und erniedrigte diese (Algesie) bei Mäusen mit hoher Ausgangsschmerzschwelle. Der SP-Effekt war demzufolge eine Modulation der Schmerzschwelle im Sinne einer „Normalisierung“. 1979 reichten wir die Ergebnisse zur Veröffentlichung in der bekannten Zeitschrift Science ein, wo sie 1980 erschien (9). In späteren Arbeiten konnten wir nachweisen, dass der N-Terminus des Peptids für die hyperalgetische Komponente und der C-Terminus für analgetische Wirkkomponente verantwortlich ist (10).

Gemeinsam mit Karl Hecht stellten wir die Gesamtheit dieser neuartigen Befunde zur Wirkung von Substanz P auf stressbedingte Störungen und auf die Schmerzschwelle 1979 auf dem IBRO²-Symposium über „Neuropeptide und Neural transmission“ in Jablonna, Polen vor

² IBRO = International Brain Research Organization.

und definierten Substanz P als ein regulatorisches Peptid = **Regulide**. Die Funktion eines solchen „Regulide“ sahen wir in der Adaptation an verschiedenartige stressbedingte Störungen und in der Wiederherstellung des Normalzustandes: d.h. im Sinne von *defense* und *repair* (11).

3. Wirkung von Substanz P auf Mastzellen

Da aus der Literatur bekannt war, dass SP aus Peritonealmastzellen Histamin freisetzen kann und dass bei antidromer Stimulation aus sensorischen Nerven SP freigesetzt wird, begannen wir hierzu Untersuchungen.

Für die Bearbeitung dieser Frage kooperierten wir mit dem pharmakologischen Institut des University College in London (UCL). Den Startschuss hierzu gab eine Einladung für den Erstautor Anfang der 80er Jahre. Gastgeber war das pharmakologische Institut am UCL. Begonnen wurde mit Selbstversuchen von John Foreman sowie Chris Jordan (beide UCL) und mir. Dafür injizierten wir Substanz P, SP-Fragmente und Analoga in unsere Unterarme. Später kamen freiwillige Probanden aus dem UCL dazu. Erwartungsgemäß kam es bei diesen Versuchen zu einer dosisabhängigen Rötung und Schwellung an den Unterarmen. Diese war durch Antihistaminika zu unterdrücken. N- und C-terminale SP-Fragmente waren unwirksam. Das bedeutete, dass für die Histamin-Freisetzung aus Mastzellen das gesamte SP-Molekül notwendig ist (12). An isolierten Peritonealmastzellen zeigten sich identische Struktur-Wirkungs-Beziehungen (13). Wir diskutierten diese Befunde als bedeutsam für das Verständnis der Rolle von Substanz P für die Pathophysiologie entzündlicher Prozesse in verschiedenen Geweben.

Aus dieser Kooperation zwischen dem IWF und den Pharmakologen aus dem UCL erwuchs im August 1984 die gemeinsame Durchführung eines Satellitensymposiums in Verbindung mit dem 9. Internationalen Pharmakologenkongress in London. Das Symposiumsthema war „Substance P – metabolism and biological actions“. Auf diesem Symposium wurde der rasante Fortschritt in der internationalen Substanz-Forschung deutlich. Das betraf die Aufklärung der Präkursoren für SP und der anderen Tachykinine, die Identifizierung verschiedener Tachykininrezeptoren, den SP-Metabolismus, ebenso wie die Entwicklung von empfindlichen Nachweismethoden und genauere Kenntnisse zur Lokalisierung. Um diese Fortschritte zu ordnen, wurde unter Vorsitz des Grazer Pharmakologen Fred Lembeck auf dem Symposium eine Nomenklatur-Kommission etabliert. Die Kommission erarbeitete Vorschläge für die Terminologie der verschiedenen Tachykinine und verwandter Peptide.

Diese Vorschläge sowie die Ergebnisse des Symposiums sind in der von Chris Jordan und Peter Oehme herausgegebenen Monografie mit dem Titel „Substanz P – metabolism and biological actions“ zusammengefasst (14).

Die darin enthaltenen Beiträge aus Instituten der DDR betrafen die Wirkungen von SP und SP-Fragmenten auf stressinduzierte Störungen des Verhaltens, des Blutdrucks und des Schlafes, sowie die Wirkung auf das Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) und die Beziehungen zwischen Substanz P, dem Stressgeschehen und dem Katecholaminmetabolismus (15-17).

Bei aller positiver Resonanz zu unseren Beiträgen auf dem SP-Symposium zeigte der internationale Vergleich deutlich, dass wir methodisch, insbesondere in der Molekularbiologie, in einen massiven Rückstand geraten waren. Das galt insbesondere für die Erforschung der Substanz P-Rezeptoren.

4. Interaktion von Substanz P mit dem aminergen System

Bereits 1976 auf dem Stockholmer Substanz P-Symposium hatte der Erstautor für die von ihm diskutierte modulierende SP-Wirkung das Katecholaminsystem als target favorisiert. Dafür sprachen auch die gefundenen SP-Effekte bei stressbedingten Störungen. Deshalb untersuchten wir die Interaktion von Substanz P mit dem „Stressorgan“ Nebenniere, genauer mit dem Nebennierenmark.

Mittels immunhistochemischer Technik konnte, zusammen mit dem Anatomischen Institut der Charité, „Substanz P-like immunoreactivity“ (SPLIR) in zellulären Elementen und in Fasern des Nebennierenmarks dargestellt werden (18). Ein erster Hinweis auf eine Funktion von SP in diesem Organ. Es folgten dann Untersuchungen von Karen Nieber zur Wirkung von SP auf die stimulierte Noradrenalinfreisetzung aus Nebennierenschnitten. Da in den Nebennierenschnitten neben den chromaffinen Zellen auch Endigungen des N- splanchnicus zu finden sind, aus denen Azylocholin freigesetzt wird, welches die Katecholaminausschüttung auslöst, wurde neben der Noradrenalinfreisetzung auch die elektrisch induzierte ³H-Azetylcholinfreisetzung untersucht. Dabei hemmte Substanz P sowohl die elektrisch induzierte Azetylcholinfreisetzung, wie die nikotinergerg induzierte Freisetzung von Noradrenalin (19). Das sprach für einen prae- und einen postsynaptischen Angriff von Substanz P. Für den postsynaptischen Angriff diskutierten wir eine Modulation des nikotinergergen Rezeptors, möglicherweise durch Eingriff in den Inositolphospholipidmetabolismus (20). Besonders interessant war, dass auch das N-terminale

SP-Fragment₁₋₄ diese Effekte zeigte. All das stimmte mit den Befunden überein, dass SP den durch Stress ausgelösten Anstieg des Plasmakatecholaminspiegels von Ratten verhindern kann (21).

Auf dem vorangehend erwähnten internationalen Pharmakologenkongress 1984 in London kam es auch zu einem persönlichen Kontakt mit dem Melbourn Biochemiker Bruce Livett. Bruce war einer der Pioniere in der Kultivierung und Untersuchung chromaffiner Zellen. Durch diesen Kontakt wurde der Grundstein für eine langjährige freundschaftliche Zusammenarbeit der Melbourn Gruppe mit dem IWF gelegt. Diese wurde auch nach Gründung des Leibniz-Forschungsinstitutes für Molekulare Pharmakologie (FMP) weitergeführt und mit wechselseitigen Arbeitsaufenthalten der Mitarbeiter ausgebaut.

In umfangreichen Untersuchungen mit N- und C-terminalen SP-Fragmenten an kultivierten chromaffinen Zellen der Rindernebeniere konnten wir, ausgehend von früheren Ergebnissen von Bruce (22) und uns, nachweisen, dass Substanz P postsynaptisch an den chromaffinen Zellen zwei Effekte hat. Zum einen hemmt es die cholinerg induzierte Katecholaminsekretion – moduliert also die Freisetzung. Zum anderen wirkt es der nikotininduzierten Desensibilisierung der Katecholaminfreisetzung entgegen – verhindert also eine Erschöpfung der Freisetzung (23). Dabei werden wahrscheinlich die Hemmwirkung auf die Freisetzung und der Schutz gegen die Desensibilisierung über unabhängige Mechanismen vermittelt.

In späteren Untersuchungen trennten wir die kultivierten chromaffinen Zellen aus Rindernebenierenmark in eine vorwiegend Adrenalin- und in eine vorwiegend Noradrenalinproduzierende Fraktion (24). Stimuliert wurde die Freisetzung der beiden Amine in beiden Fraktionen durch Nikotin und den Nikotinagonisten Epibatidin. Substanz P hemmte erwartungsgemäß die durch beide Stimuli freigesetzten Katecholamine. Dabei wurde die Noradrenalinfreisetzung stärker gehemmt als die Adrenalinfreisetzung. In vergleichenden Untersuchungen mit N- und C-terminalen SP-Fragmenten wurde gefunden, dass für den Hemmeffekt auf die stimulierte Katecholaminsekretion in beiden Fällen das gesamte SP-Molekül nötig ist. Als Angriffspunkt wurde eine Modulation des nikotineren Rezeptor über einen benachbarten Neurokinin 1-Rezeptor diskutiert.

Dass diese Effekte auch für die *in vivo*-Wirkung von SP auf Stressvorgänge bedeutsam sein könnte, dafür sprachen unsere Ergebnisse, dass unter Stressbedingungen die endogene „Substance-like immunoreactivity“ im Nebennierenmark erniedrigt ist (25) und das SP an Nebennierenschnitten gestresster Ratte – unter *in vivo*- (und *in vitro*-) Applikation – die durch

Stress induzierte Aktivierung der Noradrenalinsekretion normalisiert (26). Dadurch könnte Substanz P über eine Homöostasesicherung des aminergen Systems zur Bewältigung von Stresssituationen beitragen (27).

5. Interaktion von Substanz P mit dem Opioidpeptidsystem

Da neben dem aminergen System auch das endogene Opioidpeptidsystem am Stressverlauf beteiligt ist, führten wir im IWF seit Anfang der 1980er Jahre auch dazu Untersuchungen durch (28, 29). Diese Arbeiten mündeten in der Arbeitshypothese, dass Stress zu einer Art Abhängigkeit von den körpereigenen Opioidpeptiden führt und dass es sich dabei um einen fundamentalen Prozess in einer gestörten Adaptation handelt. Deren Relevanz wurde später für die stressbedingte Alkoholmotivation untersucht.

1990/91 nicht abgeschlossene Untersuchungen zeigten, dass eine Korrelation zwischen der Alkoholpräferenz von Ratten und ihrer SP-Konzentration im Hypothalamus und Nebennierenmark vorliegt und dass eine systemische SP-Applikation die durch Stress erhöhte Alkoholpräferenz bei Ratten reduziert. Es war geplant diese Richtung auszubauen und zu erweitern. Hierfür existierten molekular- und zellbiologische Vorarbeiten. Diese vorgesehenen Arbeiten waren eingebunden in ein Konzept für einen Berliner Suchtforschungsverbund, welches gemeinsam mit Helmut Coper, dem damaligen Direktor des Institutes für Neuropsychopharmakologie der Freien Universität, erarbeitet wurde (30). Diese Entwicklung konnte nach 1991 nicht fortgesetzt werden.

6. Weitere Wirkungen von Substanz P und SP-Fragmenten

In den vorangehenden Abschnitten wurde gezeigt, dass der N-terminale Teil des SP-Moleküls für den Antistresseffekt bedeutsam ist. Deshalb wurden mit N-terminalen SP-Sequenzen ergänzende Untersuchungen durchgeführt.

Das betraf zum einen die Wirkung auf die Nervenfaserverregeneration in der Gewebekultur – als Modell für „Repair“-prozesse nach einem Stressgeschehen. In Zusammenarbeit mit dem Anatomischen Institut der Charité hatten wir 1980 an Explantatkulturen des Ganglion trigeminale von Hühnerembryonen und des Hippocampus embryonaler Ratten gefunden, dass SP-Zugaben zum Erhaltungs- bzw. Wachstumsmedium konzentrationsabhängig den **Nervenfaserverwachstumsindex** erhöht (31).

Hiervon ausgehend untersuchten wir, ob dieser Effekt auch von N-terminalen SP-Fragmenten ausgelöst werden kann. Dabei konzentrierten wir uns auf solche Teilsequenzen, die durch

Enzyme aus dem SP-Molekül freigesetzt werden. Dazu gehörten die beiden N-terminalen Dipeptide Arg-Pro und Lys-Pro (32), welche durch das Enzym **Dipeptidylpeptidase IV** (DPP IV) konsekutiv aus dem SP-Molekül abgespalten werden (33).

Schwerpunkt der Arbeiten war dabei das N-terminale Dipeptid Lys-Pro . Das führte dann für dieses Dipeptid und seine Derivate zu dem Patent „Process für manufacturing preparations promoting **wound healing**, and such preparations” (EP 0165492 A2).

Interessant war, dass die untersuchten N-terminalen SP-Dipeptide zugleich kompetitive Inhibitoren der DPP IV waren. Diesen Effekt diskutierten wir als einen feed-back-Prozess (33).

Ausgehend von dem Hemmeffekt N-terminaler SP-Sequenzen auf die DP IV wurden von Wolf-Eckehard Siems/ IWF und Oleg Gomazkov, damals Institut für allgemeine Pathologie und pathologische Physiologie der medizinischen Akademie der UdSSR/Moskau, die Wechselwirkungen von Substanz P und SP-Teilsequenzen mit dem **Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE₂)** untersucht (34). Zusammengefasst wurde für die genannten Enzyme DPP IV (bzw. PPCE) und ACE₂ ein physiologisch sinnvolles **Wechselspiel** vermutet (33, 34). Beide Enzyme fungieren offensichtlich auch als funktionelle „Schlüssel“ für das Eindringen von Coronaviren in die Körperzellen. Die DPP IV für den SARS Coronavirus und ACE₂ für COVID 19. Für zukünftige Arbeiten hierzu könnten eventuell unsere Ergebnisse zu Substanz P interessant werden?

Da auch das **Post-Proilin-Cleaving-Enzyme** (PPCE) das N-terminale Tetrapeptid Arg-Pro-Lys-Pro abspaltet (X) wurde auch dieses untersucht. Hierfür wählten wir das Modell der stressinduzierten Thymusinvolution bei Ratten. Ebenso wie SP₁₋₁₁ verhindert SP₁₋₄ die durch 4-tägigen Immobilisationsstress bei Ratten ausgelöste Thymusrückbildung (35). Eine interessante Brücke der Antistresswirkung von Substanz P zum **Immunsystem**.

7. Vorbereitung einer klinischen Nutzung der Substanz P-Ergebnisse

Unsere chemischen, physikochemischen, pharmakologischen, pathophysiologischen und biochemischen Arbeiten zu Substanz P und anderen Peptiden zielten auch auf eine klinische Nutzung. Für diese Zielrichtung war Karl Hecht mit seiner Abteilung für Neuropathophysiologie (später Institut für pathologische Physiologie) mit dem angeschlossenen Schlaflabor in der Charité der Dreh- und Angelpunkt.

Schwerpunkt dieser Arbeiten war die **Wirkung von Substanz P auf Patienten mit stressbedingten Schlafstörungen.**

Als Vorarbeiten hierfür gab es die bereits erwähnten umfangreichen tierexperimentellen Befunde. Hinzu kamen vergleichende Untersuchungen von SP mit dem bekannten Delta-Schlaf-Induzierenden-Peptid (DSIP). Dabei zeigte SP bei stressinduzierten chronischen Schlafstörungen der Ratte auf äquimolarer Basis eine stärkere Wirksamkeit als DSIP (35). Das betraf sowohl die Schlafdauer, den prozentualen Anteil der Schlafphasen, die Rhythmik des Schlafprofils und die Periodenlängen der Schlafzyklen.). Die für Untersuchungen an Probanden nötigen präklinischen pharmakologisch-toxikologischen Untersuchungen wurden im Partnerinstitut des AIK „Arzneimittelforschung“ dem Institut für pharmakologische Forschungen im Kombinat Germed (IPhF) durchgeführt. Umfangreiche chemische und biopharmazeutische Arbeiten stammten aus dem IWF.

Untersuchungen an Patienten mittels RIA hatten gezeigt, dass bei Patienten mit Schlafstörungen deutlich niedrigere SPLIR-Werte in der Schlafperiode vorliegen (36). Die im Schlaflabor von Karl Hecht durchgeführten klinischen Untersuchungen mit nasaler SP-Applikation ergaben positive Ergebnisse und konnten erfolgreich bis zur Stufe II geführt werden. Der Abbruch erfolgte 1990/91.

Ein weiteres mögliches klinisches Einsatzfeld war die **Hypertonie.**

Dafür sprachen die erwähnten tierexperimentellen Untersuchungen zur Wirkung von SP und Fragmenten auf den stressbedingten von Hochdruck und tierexperimentelle Arbeiten mit Ratten mit genetisch fixierter spontaner Hypertonie sog. SHR. Bei diesen Arbeiten hatte sich gezeigt, dass die SPLIR im Plasma und in der Nebenniere bei SHR signifikant niedriger ist als bei WKY-Kontrollratten und bei den SHR unter zusätzlicher Stressbelastung weiter absinkt (37-40). In Zusammenarbeit mit dem Zentralinstitut für Herz-Kreislauf-Regulationsforschung der AdW wurde außerdem gefunden, dass SP bei der stressinduzierten Hypertonie von Primaten eine hypotensive Langzeitwirkung hat (41).

Von Hans-Dieter Faulhaber vom o. g. Institut wurde im Plasma von Hypertonikern die Substanz-P-like-immunoreactivity (SPLIR) untersucht und gezeigt, dass diese deutlich erniedrigt ist (42). Geplante klinische Untersuchungen mit SP konnten jedoch nach 1990/91 nicht mehr begonnen werden.

Als drittes mögliches klinisches Nutzungsfeld für SP interessierte die **bronchiale Hyperreaktivität und das Asthma bronchiale.** Aus der Literatur war bekannt, dass

Substanz P ein potenter Bronchokonstriktor ist, Schleimhautödeme induziert und die tracheobronchialen Drüsen stimuliert. Deshalb wurde unter Verantwortung von Karen Nieber in den 1980er Jahren eine Zusammenarbeit des IWF mit dem Forschungsinstitut für Lungenkrankheiten und Tuberkulose (FLT) in Berlin-Buch, unter der damaligen Leitung von Walter Schilling, aufgebaut. Diese mündete in der Bildung einer gemeinsamen Forschungsgruppe FLT-IWF. Aus der Zusammenarbeit resultierten eine Reihe von Veröffentlichungen (43-45), welche die Rolle von Substanz P im Bronchialbaum und eine proasthmatische Funktion wahrscheinlich machten. Für das N-terminale Fragment SP₁₋₄ wurde nachgewiesen, dass es die Reagibilität der isolierten Meerschweincentrachea auf exogen appliziertes Azetylcholin inhibiert. Die experimentelle bronchoalveoläre Lavage von Meerschweinchen wurde als geeignet gefunden, um die intrabroncheale Freisetzung von Substanz P zu untersuchen (46). Auch diese Zusammenarbeit mit dem FLT konnte nach 1990/91 nicht weitergeführt werden.

Eine interessante Kooperationslinie wurde von Karl Hecht zu dem Moskauer Institut für mediko-biologische Probleme der **Raumfahrt** aufgebaut. Das betraf vor allem die Untersuchungen zum Einsatz von Substanz P in der Vorbereitungsphase für **Flüge von Primaten in Biosatelliten**.

Gemeinsam mit dem Moskauer Kooperationspartner untersuchte die Gruppe von Karl Hecht – unter Beteiligung des IWF – die Wirkung von 4-wöchiger nasaler Substanz P-Gabe an Rhesusaffen in der Vorbereitungsphase der Biosatelliten Kosmos 1514 (1983), Kosmos 1667 (1985) und Kosmos 2229 (1992). Auch in diesem Einsatzfeld war Substanz P in der Lage die Stressresistenz zu erhöhen und Symptome der „Raumfahrerkrankheit“ zu unterdrücken. Eine mögliche Anwendung von SP für Kosmonauten wurde diskutiert, aber nicht realisiert.

8. Zum Stand der Substanz P Forschung und einige Gedanken zur weiteren Entwicklung

Seit dem Ausscheiden der beiden Autoren aus der aktiven Forschungsarbeit sind mehr als zwei Jahrzehnte vergangen. Das Bild zu Substanz P hat sich in dieser Zeit weiter vertieft und abgerundet. Für die Grundlagenforschung lässt sich zusammenfassend sagen, dass die Substanz P-Rezeptoren und deren Effektuierungsmechanismen weitgehend aufgeklärt sind. Auch die Lokalisierung von Substanz P ist im Detail bekannt. Zur Funktion von Substanz P existieren umfangreiche Untersuchungen.

Die von uns bearbeitete Rolle von Substanz P im Stressgeschehen ist weiterhin ein wichtiges Arbeitsfeld (48). Zur Rolle von **Substanz P im Stressgeschehen** heißt es in „Wikipedia“ mit Stand vom 28. März 2020 (49):

„Substance P is a key first responder to most noxious extreme stimuli (stressors), i.e. those with a potential to compromise biological integrity. SP is regarded as an immediate defense, stress, repair, survival system“. Weiter heißt es: *„The failure of clinical proof of concept studies, designed to confirm various preclinical predictions of efficacy, is currently a source of frustration and confusion among biomedical researchers.“*

Der dort skizzierte gegenwärtige Stand ist in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen. Das betrifft sowohl die Aussage, dass SP ein erster „responder“ auf die meisten toxischen/extremen Stimuli (Stressoren) ist. Das gilt gleichermaßen für die weitere Aussage in Wikipedia, dass es das Ziel dieser SP-responder-Funktion ist, die biologische Integrität durch „defense“ und „repair“ zu sichern. Das entspricht unseren Vorstellungen, dass es die Aufgabe der SP-Funktion ist, die Homöostase des biologischen Systems zu gewährleisten. Hieraus folgte ja unsere Definition von SP als ein „regulide“ – also ein regulatory peptide. Weitere Aussagen in Wikipedia, dass SP unter Stress einmalig oder wiederholt freigesetzt wird und dann entweder abgebaut oder aktiviert, deckt sich mit unseren Ergebnissen, dass nicht nur das SP-Gesamtmolekül, sondern auch SP-Teilsequenzen für das Wirkungsbild verantwortlich sind.

Darauf basierten auch unsere Modellvorstellung von einem dualen Effekt von Substanz P. Ähnlich wie der befreundete Peptidchemiker John Stewart aus Denver/Colorado (50) hatten wir deshalb auch eine Brücke zu dem chinesischen Yin-Yang-Prinzip in der chinesischen Medizin (und Philosophie) hergestellt. Ein solcher dualer oder Mehrfacheffekt von SP war nur zu erklären, wenn im SP-Molekül unterschiedliche Funktionen gespeichert sind, die jeweils nach Erfordernis zugänglich gemacht (freigesetzt) werden können. Dabei ist offensichtlich der N-terminale Bereich besonders bedeutsam für die die Interaktion mit anderen Regulationssystemen, während der C-terminale Bereich direkte Effekte (z. B. die charakteristische glattemuskuläre Wirkung) auslöst.

Die Aussage in „Wikipedia“, dass die **klinische Nutzung der SP-Ergebnisse** weiterhin *„a source of frustration and confusion“* ist, kann vielleicht dadurch erklärt werden, dass zu sehr nur das ganze SP-Molekül als eine Information gesehen wird und keine differenzierte

Betrachtung des Gesamtmoleküls vorgenommen wird. Für eine Veränderung könnten vielleicht unsere Ergebnisse nützlich sein.

International werden zur Zeit Substanz P und SP-Antagonisten in verschiedenen medizinischen Richtungen untersucht. Ein SP-Antagonist ist bereits in Anwendung bei akutem und verzögertem Erbrechen. Arbeiten für ein Einsatzfeld Depression und Krebs sind unterschiedlich weit gediehen. SP-Antagonisten sind auch bereits bei verschiedenen viralen Infektionen in Anwendung, ohne dass ein abschließendes Urteil gefällt werden kann (51).

Für die gegenwärtig laufende Diskussion zu möglichen Forschungsansätzen für eine Therapie der **Cornoviruserkrankung** könnte die Brücke zur Substanz P-Forschung interessant werden. Das betrifft: (a.) die Rolle von SP im Stressgeschehen, (b.) die Interaktion von N-terminalen SP-Fragmenten (und Derivaten) mit ACE₂ und DPP IV; wegen ihrer Funktion als „Türöffner“ für Coronaviren, (c.) die Wirkung von SP auf Mastzellen; da wichtige Targetzelle für COVID 19 und (d) die Hemmung der Reagibilität des Bronchialtraktes auf Azetylcholin durch das N-terminale SP₁₋₄-Fragment. Siehe hierzu die Kapitel Nr. 2, 3, 6 und 7.

Abschließend möchten wir ausdrücklich betonen, dass die in der Broschüre vorgestellten Ergebnisse ohne die interdisziplinäre Zusammenarbeit im IWF nicht möglich gewesen wären. Gleiches gilt für die zahlreichen Kooperationen mit Partnern in Ost und West. Ihnen allen sei an dieser Stelle dafür herzlich gedankt.

Verzeichnis der Literatur

1. Euler, U. S. v. and J. H. Gaddum (1931): An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J. Physiol. (London)*. 72, 74-87.
2. Chang, M. M. and S. E. Leeman (1970): Isolation of a sialogic peptide from bovine hypothalamic tissue and its characterization as Substance P. *J. Biol. Chem.* 245, 4784-4790.
3. Erspamer, V. and A. Anastasi (1962): Structure and biological actions of Eledoisin the active endecapeptide of the posterior salivary gland of Eledone. *Experientia*, 18, 58-59.
4. Ackermann, E., P. Oehme und P. Lange (1963): Über einige zentralnervöse Eigenschaften der Hydrazinopeptide. *Acta biol. med. germ. Suppl.* II, 52-53.
5. Oehme, P., H. Rex und E. Ackermann (1964): Biochemische Untersuchungen zur Wirkungsweise einiger Hydrazinverbindungen. *Acta biol. med. germ.* 12, 234-252.
6. Oehme, P., J. Bergmann, M., Bienert, H., Hilse, L., Piesche, P., Minh Thu and E. Scheer (1977): Biological action of Substance P – its differentiation by affinity and intrinsic efficacy. In: *Substance P. Nobel Symposium 37*. Euler, U. S. v., B. Pernow (eds). 327-335. Raven Press New York.
7. Hecht, K., P. Oehme and M. Poppei (1979): Action of Substance P on neurotic-hypertensive rats. *Pharmazie* 34, 654-657.
8. Hecht, K., P. Oehme, I. A. Kolometsewa, I. Ljowschina, M. Poppei and M. G. Airapetanz (1980): Effect of a Substance P-analogue on chronic deprivation of sleep of wistar rat under stress. In: *Neuropeptides and neural transmission. International brain research organization (IBRO) monograph series*. C. A. Marsan und W. Z. Traczyk (eds.). 159-164. Raven Press New York.
9. Oehme, P., H. Hilse, E. Morgenstern and E. Göres (1980): Does Substance P produce analgesia or hyperalgesia? *Science*. 208, 305-307.
10. Görne, R. C., E. Morgenstern, P. Oehme, M. Bienert und K. Neubert (1982): Wirkung von Substanz P und Substanz P-Fragmenten auf die Schmerzschwelle von Mäusen. *Pharmazie* 37, 299-300.
11. Oehme, P., K. Hecht, L. Piesche, H. Hilse, E. Morgenstern and M. Poppei (1980): Substance P as a modulator of physiological and pathological processes. In: *wie 8*. 73-84.
12. Foreman, J. C., C. C. Jordan, P. Oehme and H. Renner (1983): Structure-activity relationships for some Substance P-related peptides that cause wheale and flare reactions in human skin. *J. Physiol.* 335, 449-465.

13. Renner, H. und P. Oehme (1983): Histaminfreisetzung aus Mastzellen durch Substanz P. *Zbl. Pharm.* 122, 143.
14. C. C. Jordan and P. Oehme(eds.) (1985): Substance P – metabolism and biological actions. Taylor and Francis. London.
15. Oehme, P., K. Hecht, R. Rathsack, K. Nieber, R. C. Görne, I. Roske and H. Hilse (1985): Relationship between Substance P, stress and catecholamine metabolism. In: wie 14. 245.
16. Jentsch, K. D., P. Oehme, K. Hecht, I. Roske, W.-E. Siems, G. Heder, E. Wachtel and J. Drescher (1985): Biological actions of N-terminal Substance P (SP) sequences. In: wie 14. 246.
17. Hüller, H., E. Koplik, E. Wachtel, K. Hecht and P. Oehme (1985): The influence of delta-sleep-inducing peptide (DSIP) and Substance P (SP) on disturbed sleep in rats. In: wie 14. 250.
18. Görne, R. C., C. Pfister, R. Rathsack und P. Oehme (1984): Zur zellulären Verteilung von Substanz P im Nebennierenmark der Ratte. *Biomed. Biochim. Acta* 43, 135-137.
19. Nieber, K. and P. Oehme (1987): Effect of Substance P and the N-terminal analogue SP₁₋₄ on the pre- and postsynaptic transmitter release in rat adrenal gland slices. *Biomed. Biochim. Acta* 46, 103-109.
20. Minenko, A. and P. Oehme (1987): Substance P action on inositol phospholipide in rat adrenal medulla slices. *Biomed. Biochim. Acta* 46, 461-467.
21. Oehme, P., K. Hecht, H. D. Faulhaber, K. Nieber, I. Roske and R. Rathsack (1987): Relationship of Substance P to catecholamines, stress and hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10 (Suppl. 12), 109-111.
22. Livett, B. G., V. Kozousek, F. Mizobe und D. M. Dean (1979): Substance P inhibits nicotinic activation of chromaffine cells. *Nature* 278, 256-257.
23. Cheung, N. S., P. Karlsson, J.-X. Wang, M. Bienert, P. Oehme and B. C. Livett (1994): Functional studies with Substance P analogues: effects of N-terminal, C-terminal and C-terminus extended analogues of Substance P on nicotine-induced secretion and desensitization in cultured bovine adrenal chromaffine cells. *J. Neurochemistry.* 62, 2246-2263.
24. Krause, W. N. Michael, C. Lübke, B. C. Livett and P. Oehme (1997): Substance P and Epibatidine-evoked catecholamine release from fractionated chromaffine cells. *Europ. J. Pharmacol.* 328, 249-254.

25. Roske, I., R. Rathsack, P. Oehme and H. Hilse (1983): Influence of chronic immobilization on blood pressure and Substance P-like immunoreactivity in plasma and adrenals of wistar rats. *Pharmazie*. 38, 491.
26. Nieber, K., I. Roske and P. Oehme (1989): Stress-induced changes of the noradrenergic transmitter release in adrenals and the influence of Substance P. *Biomed. Biochim. Acta*. 48, 557-559.
27. Oehme, P. and W. A. Krivoy (1983): Substance P: a peptide with unusual features. *TIPS*, 4, 521-523.
28. Nieber, K. und P. Oehme (1981): "Gut dependence" auf Opiate bei Ratten mit spontaner Hypertonie. *Pharmazie*. 36, 515-516.
29. Nieber, K. und P. Oehme (1982): Wirkungsunterschiede zwischen Substanz P und Substanz P-Heptapeptid, untersucht am Phänomen der „gut dependence“ bei Ratten. *Pharmazie*. 37, 368-369.
30. Coper, H. und P. Oehme (1991): Neue Chancen für einen Berliner Suchtforschungsverbund. *Materialien zur Gesundheitsforschung, Schriftenreihe zum Programm der Bundesregierung Forschung und Entwicklung im Dienste der Gesundheit*. 19, 175-182.
31. Lindner, G., G. Grosse, P. Oehme und K. D. Jentsch (1980): Beitrag zur Wirkung von Substanz P auf die Nervenfaserverregeneration in der Gewebekultur. *Z. mikrosk.-anatom. Forsch.* 94, 661-668.
32. Lindner, G., G. Grosse, P. Oehme und K. D. Jentsch (1982): Über die Wirkung von Substanz P (SP) und SP-Teilsequenzen auf das Nervenfaserverwachstum in der Gewebekultur. *Z. mikrosk.-anatom. Forsch.* 96, 643-655.
33. Küllertz, G., P. Oehme und A. Barth (1981): Dipeptidyl-Peptidase IV – Chemie, Biochemie und physiologische Aspekte. In: *Beiträge zur Wirkstoffforschung*, Heft 11. Oehme, P., Löwe, H. und E. Göres (Hg.). Eigenverlag.
34. Siems, W.-E., N. W. Kommissarowa, O. A. Gomazkov, P. Oehme, K. D. Jentsch und A. M. Chernukh (1983): Untersuchungen zum Einfluss von Substanz P und Teilsequenzen der Verbindung auf die Angiotensin I-Converting-Enzym-Aktivität. *Pharmazie*. 38, 256-257.
35. Oehme, P., K. Hecht, J. Juatow, H. Repke, H. Hilse and A. Cordova (1987): Prevention of stress-induced involution of the thymus in rats by Substance P (SP₁₋₁₁) and its N-terminal fragment SP₁₋₄. *Pharmazie*. 42, 34-36.

36. Wachtel, E., E. Koplik, I. A. Kolometseva, H.-U. Balzer, K. Hecht, P. Oehme und V. A. Ivanow (1987). Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von DSIP und SP₁₋₁₁ auf stressinduzierte chronische Schlafstörungen der Ratte. *Pharmazie*. 42, 188-190.
37. Rathsack, R., A. M. Wein, K. Hecht und P. Oehme (1982): Das Verhalten der Substanz P-ähnlichen Immunreaktivität (SPLIR) im Plasma schlafgestörter Patienten. *Dt. Gesundh.-Wesen*. 37, 563-565.
38. Rathsack, R., P. Oehme, I. Roske and H. Hilse (1983): Substance P-like immunoreactivity in plasma and adrenal medulla of rats with spontaneous hypertension and WKY rats under acute stress. *Biomed. Biochim. Acta*. 42, 955-958.
39. Roske, I., R. Rathsack, P. Oehme, H. Hilse und K. Hecht (1983): Blutdruckverhalten und "Substanz P-like immunoreactivity" (SPLIR) im Nebennierenmark und Plasma von normotonen Wistar Kyoto-Ratten (WKY) und spontan hypertensiven Ratten unterschiedlichen Alters unter akutem Stress. *Pharmazie*. 38, 885-888.
40. Roske, I. and P. Oehme (1983): Action of Substance P on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats in dependence of age. *Pharmazie*. 38, 626-627.
41. Hilse, H., I. Roske, H. Buske, K. Hecht and P. Oehme (1987): Prenatal influence of Substance P on blood pressure and stress sensitivity of spontaneously rats. *Pharmazie*. 45, 533-534.
42. Stechmesser, J. G., V. G. Starzev, P. Oehme, St. Nitschkoff und A. Brattström (1988): Hypotensive Langzeitwirkung von Substanz P auf eine stressinduzierte Hypertonie bei Primaten. *Biomed. Biochim. Acta*. 47, 445-447.
43. Faulhaber, H. D., P. Oehme, R. Baumann, J. Enderlein, R. Rathsack, G. Rostock and E. Naumann (1987): Substance P in human essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10 (Suppl. 12), 172-176.
44. Schreiber, J. G., G. Becher, J. Slapke, C. Engelmann, D. Liedtke, K. Nieber und P. Oehme (1987): Einfluss von Substanz P auf Denervierungseffekte beim allergischen Meerschweinchenasthma. *Pharmazie*. 42, 556-557.
45. Schreiber, J., G. Becher, J. Slapke, K. Nieber and P. Oehme (1988): Influence of Substance P on the bronchial reactivity of sensitized and nonsensitized guinea pigs in vivo. *Biomed. Biochim. Acta*. 47, 93-94.
46. Schreiber, J., J. Slapke, K. Nieber and P. Oehme (1988): Long-term effects of Substance P on the isolated guinea pig trachea. *Biomed. Biochim. Acta*. 47, 799-803.

47. Schreiber, G., G. Becher, J. Slapke, R. Rathsack and P. Oehme (1988): Experimental bronchoalveolar lavage in guinea pigs – a usefull tool to investigate the intrabronchial release of Substance P: *Biomed. Biochim. Acta.* 47, 445-447.
48. Ebner, K., Muigg, P., Singewald, G. and N. Singewald (2008): Substance P in stress and anxiety: NK 1-receptor antagonism interacts with key brain areas of the stress circuitry. *Ann. N. Y. Acad.*, 1144, 61-73.
49. „Wikipedia“ zu „Substance P“. Stand: 28. März 2020.
50. Stewart, J. and E. Hall (1983): The Ying-Yang of behaviour? *Peptides (New York)* 512-516.
51. Xu, W., Wang, T. and H. Zhou (2018): Substance P and its role in viral infection. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 11(12), 12946-12955.