

Aus dem
Institut für Rechtsmedizin
Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Matthias Graw

**Immunhistochemische Untersuchung des ZO-1 Proteins an
Gehirnen von Drogentoten**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ronald Franz Rampeltshammer

aus
München

Jahr
2025

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Randolph Penning

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Jochen Herms

Prof. Dr. Christoph Schmitz

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. Andreas Büttner

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.02.2025

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung	1
1.1 Definitionen	1
1.2 Epidemiologie	2
1.3 Opiate, Opioide und Substitutionsmittel	6
1.3.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik	6
1.3.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten	10
1.3.3 Todesfälle	14
1.4 Kokain	15
1.4.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik	16
1.4.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten	17
1.4.3 Todesfälle	21
1.5 Cannabis	21
1.5.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik	22
1.5.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten	23
1.6 Amphetamine	25
1.6.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik	26
1.6.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten	28
1.6.3 Todesfälle	32
1.7 ZO-1: Morphologie und Funktion, Reaktionsmuster bei ausgewählten Krankheitsbildern, immunhistochemische Marker	33
1.8 Fragestellung	38

2 Material und Methoden	39
2.1 Untersuchungsmaterial	39
2.2 Neurohistopathologische Untersuchungen	41
2.3 Immunhistochemische Untersuchung des ZO-1 Proteins	41
2.4 Morphometrische Auswertung in grauer und weißer Substanz	44
2.5 Statistische Auswertung	46
3 Ergebnisse	47
3.1 Allgemeine Daten	47
3.2 Chemisch-toxikologische Untersuchungen	48
3.3 Neurohistopathologische Untersuchungen	49
3.4 Immunhistochemische Untersuchung des ZO-1 Proteins	50
4 Diskussion	54
4.1 Methode	54
4.2 Chemisch-toxikologische Untersuchungen	57
4.3 Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke	58
5 Zusammenfassung	66

6 Literaturverzeichnis	68
7 Anhang	91
7.1 Daten der Drogengruppe	91
7.2 Daten der Kontrollgruppe	92
7.3 Daten der HIV-1-positiven Gruppe	93
7.4 ZO-1-Nachweis in der Blut-Hirn-Schranke, Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse	94
7.5 ZO-1-Nachweis in der Blut-Hirn-Schranke, Ergebnisse der multivariaten Regressionsanalyse	95
7.6 Chemikalien	98
7.7 Abkürzungsverzeichnis	100
8 Danksagung	102

1 Einleitung

Der Konsum psychotroper Substanzen ist ein Phänomen, das weltweit in nahezu jeder Kultur auftritt. Daraus ist ersichtlich, dass die Folgen - sowohl für Kultur als auch für Gesellschaft und Gesundheitspolitik - immens sind und deshalb auch einen großen Themenbereich in der Kriminologie darstellen.

Dies zeigen auch die Zahlen der polizeilichen Kriminalstatistiken: Im Jahre 2021 wurden 361.048 Rauschgiftdelikte nach dem Betäubungsmittelgesetz verzeichnet. Diese lassen sich in konsumnahe Delikte, Handelsdelikte und sonstige Verstöße aufgliedern [Bundeskriminalamt 2014 bis 2021].

1.1 Definitionen wichtiger Begriffe

Für das Verständnis dieser Arbeit ist die Kenntnis folgender Begriffe wichtig:

Polytoxikomanie: Dieser Begriff wird in der Rechtsmedizin und Psychiatrie unterschiedlich gebraucht. Im Bereich der Rechtsmedizin besteht vor allem das Problem fehlender Längsschnitterhebungen, weshalb hier nach Penning (2006) Polytoxikomanie als gleichzeitiger, unsystematischer Missbrauch sämtlicher, gerade zur Verfügung stehender psychotroper Substanzen inklusive Alkohol verstanden wird. In der Psychiatrie spricht man nach den Kriterien der DSM-IV (Nr. 304.80) dann von Polytoxikomanie, „... wenn über einen Zeitraum von 12 Monaten die Person wiederholt psychotrope Substanzen aus wenigstens drei Substanzgruppen konsumiert hat (nicht eingeschlossen sind Nikotin und Coffein), aber keine Substanz für sich alleine dominierte. Während dieses Zeitabschnittes wurden die Kriterien für eine Abhängigkeit von psychotropen Substanzen als Gruppe erfüllt, nicht jedoch für eine spezifische Substanz...“.

Abhängigkeitssyndrom: Für die Diagnose einer Abhängigkeit legt die WHO im Diagnosesystem ICD-10 sechs Kriterien fest, von denen mindestens drei aktuell oder zu einem Zeitpunkt im Laufe des letzten Jahres gleichzeitig vorliegen müssen [Möller, Laux und Kapfhammer 2011]:

- Ein starker Wunsch oder Zwang, psychotrope Substanzen zu konsumieren
- Verminderte Kontrollfähigkeit bezüglich Beginn, Beendigung und Menge des Konsums
- Körperliches Entzugssyndrom
- Toleranzentwicklung, Dosissteigerung
- Vernachlässigung anderer Vergnügungen und Interessen zugunsten des Substanzkonsums
- Anhaltender Substanzkonsum trotz Folgeschäden

Drogentodesfall: Alle Todesfälle, in denen ein kausaler Zusammenhang mit dem Konsum von Betäubungsmitteln ersichtlich ist, werden vom Bundeskriminalamt in der „Falldatei Rauschgift“ dokumentiert. Die Ursachen für Drogentodesfälle sind demnach Intoxikationen im Zusammenhang mit Drogenkonsum, Langzeitfolgeerkrankungen des Drogenkonsums, Suizide und Unfälle, die im Zusammenhang mit Drogenkonsum stehen [Die Drogenbeauftragte der Bundesregierung 2017].

1.2 Epidemiologie

Im Jahr 2021 wurden in Deutschland 1.826 Todesfälle verzeichnet, welche auf den Konsum illegaler Drogen zurückzuführen sind [Bundeskriminalamt 2021]. Erfasst wurden dabei:

- 1.662 Todesfälle durch Vergiftungen insgesamt,
- 698 Todesfälle durch Langzeitschädigungen des Drogenkonsums,

- 83 Suizide (durch andere Mittel als Intoxikation),
- 46 tödliche Unfälle unter Drogeneinfluss [Bundeskriminalamt 2021].

Gegenüber dem Vorjahr ergibt sich ein Anstieg der Rauschgifttodesfälle um 15,5 %. Seit dem Jahr 2017 nimmt die Zahl der Drogentoten stetig zu [Bundeskriminalamt 2014 bis 2021] und ist mittlerweile seit 2007 auf einem Höchststand.

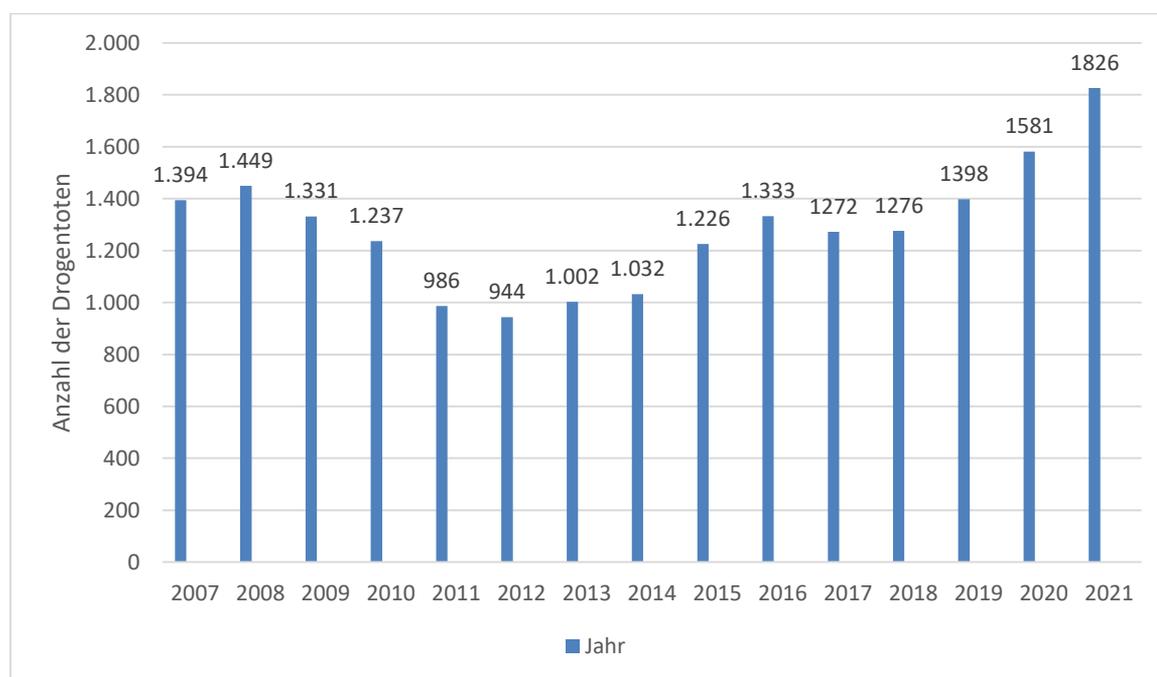


Abbildung 1.1 Entwicklung der Anzahl der Drogentoten in der Bundesrepublik Deutschland von 2007 bis 2021 [Bundeskriminalamt 2014 bis 2021].

Aktuell ist wie bereits in den Vorjahren der größte Anteil der Drogentoten auf den Konsum von Opioiden/Opiaten allein oder in Verbindung mit anderen Rauschgiftarten/Substanzen zurückzuführen. Die deutlichsten Anstiege betrafen monovalente Vergiftungen durch Opiat-Substitutionsmittel (+167 %) sowie monovalente Vergiftungen durch Amphetamin (+149 %) oder Amphetaminderivate (+117 %) [Bundeskriminalamt 2014 bis 2021].

Bereits seit Jahrzehnten stellt die Überdosis von Opiaten/Opioiden die häufigste Ursache des Drogentodes dar. Dabei spielt einerseits die reine Morphin- oder Heroinintoxikation eine Rolle [Kaa et al. 1992, Kaa et al. 1993, Kringsholm et al. 1994, Oehmichen et al. 1996, Penning et al. 1993, Preti et al. 2002, Püschel 1993a, Steentoft et al. 2001, White et al. 1999], andererseits lässt sich eine steigende Fallzahl von Mono- oder Mischintoxikationen mit Substitutionsmitteln wie Methadon verzeichnen [Bentley et al. 1996, Büttner und Weis 2006, Kaa et al. 1993, Heinemann et al. 2000, Kringsholm et al. 1994, Milroy und Forrest 2000, White et al. 1999].

Im Jahr 2021 starben 53 Drogenkonsumenten an einer „Vergiftung in Verbindung mit neuen psychoaktiven Stoffen“ (NPS). Unter diesem Begriff werden synthetisch hergestellte Substanzen subsumiert, die hauptsächlich die Wirkung etablierter Drogen imitieren. Sie werden meistens als sogenannte Kräuter- oder Räuchermischungen zum Rauchen angeboten, bei denen Pflanzenmaterial mit synthetischen Cannabinoiden versetzt wird, oder auch in Form von chemischen Reinsubstanzen als Kristalle, Tabletten und Flüssigkeiten. Neben synthetischen Cannabinoiden werden auf dem Drogenmarkt noch synthetische Cathinone („bath salts“), Tryptamine, Phenethylamine, Piperazine und dissoziative Anästhetika gehandelt. Zusätzlich treten mittlerweile auch neuartige Substanzen, die keiner bisher bekannten Stoffgruppe zugeordnet werden können, zum Vorschein. Da die Wirkmechanismen und Langzeitrisiken dieser Stoffe nur wenig bekannt sind, resultiert aus deren Konsum ein erhebliches Risiko für Intoxikationen und andere unerwünschte Nebenwirkungen [Büttner 2021, Gomes de Matos et al. 2018, Wodarz et al. 2019].

Seit einigen Jahren lässt sich eine Erhöhung des Durchschnittsalters der polizeilich registrierten Drogentoten feststellen, das im Jahre 2017 auf 39 Jahre anstieg und 2021

bei 40,8 Jahren lag. Die Geschlechterverteilung der Drogentoten hingegen ist seit Jahren relativ konstant: 83 % der Drogentoten sind Männer, lediglich 17 % Frauen. In den Jahren 2018 bis 2020 waren aufgrund der Umstellung des polizeilichen Datensystems und der geänderten Erfassung rauschgiftbezogener Sachverhalte keine Angaben zur Altersstruktur und zum Geschlecht möglich [Bundeskriminalamt 2017, 2019 und 2021].

Auch wurde 2016 das Erfassungsverhalten der erstauffälligen Konsumenten harter Drogen neu gestaltet, weshalb Informationen zu deren Anzahl seitdem nicht mehr vorliegen. [Die Drogenbeauftragte der Bundesregierung 2017, Bundeskriminalamt 2018].

In der deutschen Drogenszene werden vor allem die Substanzen Heroin, Kokain und Cannabis sowie synthetische Betäubungsmittel wie Amphetamine, Methamphetamin und „Ecstasy“ gehandelt. Bei Heroin, Kokain, Crystal Meth und Cannabis war ein Anstieg der Handelsdelikte festzustellen. Die in Deutschland am weitesten verbreitete Droge ist Cannabis, gefolgt von Amphetaminen. Zunehmend in den Vordergrund treten die NPS, die in Deutschland inzwischen nach Cannabis die am zweithäufigsten konsumierten illegalen Substanzen sind [Bundeskriminalamt 2021, Wodarz et al. 2019].

In den folgenden Abschnitten werden die Suchtmittel kurz dargestellt, welche bei den in dieser Arbeit untersuchten Drogentoten nachgewiesen wurden. Keine Erwähnung finden in dieser Darstellung die legalen Drogen Alkohol und Nikotin. Auch NPS spielten im untersuchten Kollektiv noch keine Rolle. Daneben wird von polytoxikomanen Personen eine Vielzahl von Arzneimitteln missbräuchlich verwendet, vor allem aus den

Gruppen der Analgetika, Sedativa und Hypnotika, Antidepressiva, Anxiolytika und Neuroleptika. Auf die Darstellung dieser Arzneimittel wird ebenfalls verzichtet und auf entsprechende Lehrbücher der Pharmakologie verwiesen.

1.3 Opiate, Opioide und Substitutionsmittel

Als Opiate werden die Alkaloide des Schlafmohns (*Papaver somniferum*) sowie deren Abkömmlinge bezeichnet. In den Fruchtkapseln des Schlafmohns ist der Milchsaft enthalten, aus dem durch Trocknung Rohopium hergestellt wird. Gegenwärtig sind 25 Inhaltsstoffe des Opiums identifiziert [Haen und Wodarz 1999]. Wichtigstes Alkaloid ist das Morphin mit einem Anteil von 8 - 14 % [Iten 1994]. Ausgehend von Morphin kann halbsynthetisch durch doppelte Acetylierung Heroin (Diacetylmorphin) hergestellt werden. Codein kann ebenfalls halbsynthetisch aus Morphin durch Methylierung gewonnen werden, pharmazeutische Verwendung findet außerdem das hydrierte Derivat Dihydrocodein. Andere Derivate sind noch Oxycodon, Hydrocodon und Hydromorphin.

Opioide sind synthetisch hergestellte Substanzen mit morphinartiger Wirkung. Zu dieser Gruppe zählen z.B. Methadon, Buprenorphin, Pethidin und Fentanyl [Karch 2009, Kraus et al. 2019].

1.3.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik

Opiate und Opioide entfalten ihre Wirkung durch Bindung an die endogenen Opioidrezeptoren. Physiologische Liganden an diesen Rezeptoren sind körpereigene Peptide aus der Gruppe der Endorphine, Enkephaline und Dynorphine. Im menschlichen Körper sind bisher drei unterschiedliche Opioidrezeptoren bekannt, welche als μ -, Kappa- und Delta-Rezeptoren bezeichnet werden [Forth 1992], wobei

die meisten Opiate und Opioide an μ -Rezeptoren binden [Haen und Wodarz 1999]. Opioidrezeptoren finden sich sowohl im ZNS als auch in den peripheren Organen. Im ZNS entfalten sie eine analgetische, antitussive, sedierende und hypnotische Wirkung, führen zu einer Miosis und Euphorie aber auch zu einer Atemdepression. Kardiovaskuläre Wirkungen sind eine Bradykardie und ein Abfall des Blutdrucks mit konsekutivem orthostatischem Kollaps, vermittelt über eine Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur. Außerdem können Opiate und Opioide zu einer Histaminfreisetzung führen [Forth 1992].

Opiate und Opioide besitzen ein hohes Abhängigkeitspotential, bei wiederholtem Konsum stellt sich eine ausgeprägte physische und psychische Abhängigkeit mit Toleranzentwicklung ein, welche dann bei ausbleibender Opiatzufuhr zu einer Entzugssymptomatik führt. Symptome eines Opiatentzuges sind Unruhe, Zittern, Angst, Schweißausbrüche, Mydriasis, Abdominalschmerzen und Diarrhoe, Übelkeit und Erbrechen, Hyperthermie, Muskel- und Gliederschmerzen, Tachykardien und Blutdruckkrisen mit Kreislaufversagen [Iten 1994, Kraus et al. 2019].

Bei einer Intoxikation mit Opiaten zeigen sich als Leitsymptome eine quantitative Bewusstseinsstörung (Somnolenz bis Koma), Miosis sowie eine Atemdepression mit der Gefahr eines Atemstillstandes [Forth 1992, Karch 2009]. Durch die emetische Wirkung der Opiate kann es bei der gleichzeitig vorliegenden Dämpfung des Hustenreizes zu einer Aspiration von Mageninhalt kommen [Warner-Smith et al. 2001].

Heroin wird vorwiegend intravenös, nasal oder durch Rauchen konsumiert. Auch eine subkutane Applikation ist möglich [Karch 2009, Kraus et al. 2019, Quinn 1997]. Durch seine hohe Lipophilie wird Heroin nach der Aufnahme schnell absorbiert und tritt

wesentlich rascher über die Blut-Hirn-Schranke in das ZNS über als andere Opiate. Bei intravenöser Applikation zeigen sich im Serum die Konzentrationsspitzen innerhalb einer Minute, was durch die Anflutung zu dem sogenannten „Kick“ führt [Iten 1994, Forth 1992, Karch 2009, Sporer 1999, Wolf et al 1996]. Nach dem Übertritt in das ZNS wird Heroin (i. e. Diacetylmorphin) in die aktiven Metaboliten 6-Monoacetylmorphin (Plasmahalbwertszeit ca. 2 - 9 Minuten) und im Anschluss Morphin (Plasmahalbwertszeit 1,9 - 3,1 Stunden) verstoffwechselt. Der Abbau des Morphins erfolgt in der Leber, wodurch ca. 55% des Morphins zu dem pharmakologisch inaktiven Metaboliten Morphin-3-Glucuronid sowie ca. 10% zu dem pharmakologisch aktiven Metaboliten Morphin-6-Glucuronid konjugiert werden. Die Wirkdauer des Heroins beträgt ca. 3 Stunden [Quinn et al. 1997]. Die Ausscheidung erfolgt in freier und konjugierter Form über die Niere und – in weitaus geringerem Anteil - hepatisch über die Gallenflüssigkeit. Die analgetische Potenz ist ca. dreimal so hoch wie die des Morphins [Forth 1992, Karch 2009, Sporer 1999].

Codein kann oral konsumiert werden und wird dabei rasch absorbiert. Die Bioverfügbarkeit beträgt wie beim Derivat Dihydrocodein 40 bis 70 %. 80 % des Codeins wird in der Leber durch Glucuronidierung zu inaktiven Metaboliten verstoffwechselt und dann in freier und konjugierter Form über die Niere ausgeschieden. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 1,9 - 3,9 Stunden [Iten 1994].

Dihydrocodein als Derivat des Codeins besitzt eine deutlich höhere Wirkungsstärke als dieses und wird sowohl oral als auch intravenös konsumiert. Die Ausscheidung erfolgt ebenso in freier und konjugierter Form. Dihydrocodein besitzt eine Plasmahalbwertszeit von 3,3 bis 4,5 Stunden [Forth 1992].

Als Mittel in einer Substitutionsbehandlung Opiatabhängiger dürfen Codein oder Dihydrocodein gemäß § 5 der Betäubungsmittel-Verschreibungsverordnung nur „in begründeten Ausnahmefällen“ verwendet werden und „nicht zur intravenösen Anwendung bestimmt sein“. Beide Substanzen weisen ein eher geringes Abhängigkeitspotential auf [Iten 1994].

Methadon ist in Deutschland seit 1988 als Substitutionsmittel in der Behandlung Opiatabhängiger zugelassen [Krausz et al. 1999]. Daneben findet es Verwendung in der Therapie schwerer Schmerzen [Iten 1994]. Methadon hat als Substitut die Vorteile, dass es oral eingenommen werden kann und eine Wirkdauer von 24 - 36 Stunden besitzt, so dass eine Einnahme pro Tag ausreicht [Milroy und Forrest 2000]. Chemisch gesehen stellt Methadon ein Racemat dar, wobei nur die L-Form, das Levomethadon, eine pharmakologische Wirkung aufweist. Bei den meisten Personen zeigt sich nach der Einnahme eine fast vollständige Bioverfügbarkeit von ca. 90 % [Haen und Wodarz 1999]. Methadon tritt durch seine hohe Lipidlöslichkeit rasch in das ZNS über [Inturrisi 1976], wo es eine viermal höhere Wirkungsstärke als die des Morphins besitzt [Karch 2009]. Der Abbau erfolgt in der Leber zu mehreren inaktiven Metaboliten, welche im Anschluss über die Niere und Galle ausgeschieden werden [Karch 2009]. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 48 Stunden [Kreek 1992].

Nach § 5 der Betäubungsmittel-Verschreibungsverordnung wird neben Methadon auch noch *Buprenorphin* als Mittel zur Substitution Opiatabhängiger aufgeführt. Da im in dieser Arbeit untersuchten Kollektiv dieses jedoch noch nicht zur Anwendung kam, wird auf eine nähere Darstellung verzichtet und auf entsprechende Lehrbücher der Pharmakologie verwiesen.

1.3.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten

Neuroradiologische Befunde

Einige Untersuchungen chronischer Heroinkonsumenten mittels Computertomographie (CT) detektierten zerebrale Atrophien [Büttner 2011, 2021, Cala und Mastaglia 1980, Pezawas et al. 1988, Strang und Gurling 1989], jedoch konnten andere Untersuchungen in der CT keine morphologischen Veränderungen feststellen [Büttner 2011, 2021, Rose et al. 1996].

In der Magnetresonanztomographie (MRT) war in manchen Untersuchungen eine Demyelinisierung bei Personen mit Opioidabusus sichtbar [Büttner 2011, 2021, Lyoo et al. 2004, Volkow et al. 1988], aber auch hier gibt es Untersuchungen, welche keine Veränderungen zwischen der Drogengruppe gegenüber der Kontrollgruppe zeigen [Aasly et al. 1993, Amass et al. 1992, Büttner 2011, 2021, Rose et al. 1996].

Bei chronischen Opioidkonsumenten lassen sich in der Single-Photonen-Emissionscomputertomographie (SPECT) und in der Positronen-Emissionstomographie (PET) Perfusionsstörungen und Auffälligkeiten im zerebralen Glukosemetabolismus feststellen [Büttner 2011, 2021, Danos et al. 1998, Galynker et al. 2000, Gerra et al. 1998, Rose et al. 1996]. Auch zeigte sich bei Langzeitkonsumenten in der Magnetresonanzspektroskopie (MRS) Anzeichen einer Schädigung von Neuronen im frontalen Kortex [Büttner 2011, 2021].

Infektionen

Bei Opiat-/Opioidabhängigen finden sich gehäuft Hirnabszesse, Meningitiden und Ventrikulitiden, welche vor allem durch verschiedene Bakterien [Amine 1977, Büttner und Weis 2004,] oder Pilze [Büttner und Weis 2004, Gosztonyi et al. 1991, Hershewe

et al. 1988, Kasantikul et al. 1987, Kasantikul et al. 1988] verursacht werden. Die Infektion erfolgt hierbei durch die meist unsterilen Bedingungen bei der Injektion, zusätzlich besteht häufig auch eine Immunsuppression bei Personen mit chronischem Opioidgebrauch [Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021, Gosztonyi et al. 1991, Karch 2009, Kraus et al. 2019]. Im Zusammenhang mit Endokarditiden können sich durch Streuung intrakranielle septische Herde oder mykotische Aneurysmen bilden, welche rupturieren und zu subarachnoidalen Blutungen führen können [Amine 1977, Adelman und Aronson 1969, Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021]. Das Auftreten einer lymphozytären Meningitis ist ein Anzeichen eines Frühstadiums einer HIV-1-Infektion [Büttner und Weis 2004].

Hypoxisch-ischämische Veränderungen

In bis zu 90 % der Todesfälle durch eine Opiat-/Opioidintoxikation zeigen sich bei der Obduktion Hirnödeme mit erhöhtem Hirngewicht und ausgeprägten Hirndruckzeichen sowie eine vaskuläre Stase [Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021, Gosztonyi et al. 1993, Oehmichen et al. 1996, Richter et al. 1973]. Bei Drogentoten infolge einer Heroinintoxikation mit einer Überlebenszeit von 5 Stunden oder länger sind in fast allen Fällen ischämisch-hypoxische Nervenzellschädigungen nachzuweisen [Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021, Oehmichen et al. 1996]. Im Bereich des Globus pallidus wurde ein Neuronenverlust beschrieben, ebenso treten dort bei 5 - 10 % der Heroinkonsumenten bilateral symmetrische, ischämische Läsionen oder Nekrosen auf; diese werden vermutlich eher durch wiederholte hypoxische Episoden während der Opiatintoxikation verursacht als durch einen direkten neurotoxischen Effekt der Opiate [Andersen und Skullerud 1999, Ginsberg et al. 1976].

Einige Untersuchungen konnten eine hypoxisch-ischämische Leukenzephalopathie detektieren, wohl verursacht durch die Hypoxie im Rahmen der Atemdepression bei Opiatintoxikation [Ginsberg et al. 1976, Protass 1971].

Manchmal finden sich perivaskulär gelegene, pigmenthaltige Makrophagen und gelblich-bräunliche, PAS („Periodic Acid Schiff“)- und Eisen-negative Pigmentablagerungen, die mit wiederholten Injektionen von unreinem Heroin oder einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke (BHS) in Verbindung gebracht werden [Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021, Moretti et al. 2019]. Diese Störung der BHS wird direkt mit Neuroinflammation in Verbindung gebracht, charakterisiert durch die abnorme Anwesenheit von Leukozyten und Lymphozyten im ZNS.

Folgende durch Opiate verursachte Mechanismen werden hierbei diskutiert: Apoptose von Endothelzellen; Induktion pro-inflammatorischer Zytokine und der endothelialen Expression von Adhäsionsmolekülen für Leukozyten (ICAM-1, VCAM-1), die deren Migration aktivieren und fördern und nur unter pathologischen Bedingungen exprimiert sind; erhöhte Permeabilität des Endothels; perivaskuläre Aktivierung von Gliazellen. Morphin selbst erhöht *in vitro* jedoch nicht die Permeabilität der BHS, sondern eher die Expression der Adhäsionsmoleküle. Einige Studien zeigten in Gehirnen von an einer Heroinintoxikation Verstorbenen in den Astrozyten eine erhöhte Expression des sauren Gliafaserproteins GFAP (glial fibrillary acidic protein), andere Untersuchungen konnten dies jedoch nicht bestätigen. Eine Erklärung für diese Diskrepanz ist, dass die einzelne akute Intoxikation zwar zu einer erhöhten Expression von GFAP führt, der chronische Konsum im Sinne einer Abhängigkeit jedoch zu einer veränderten glialen Antwort mit Produktion von abnormen und nicht funktionalen Proteinen, die nicht durch den entsprechenden Antikörper erkannt werden [Büttner 2011, 2021]. Z.B. können Opiate

die Phosphorylierung von GFAP verändern. Bei an einer Heroinintoxikation Verstorbenen konnten im Gehirn GFAP-positive Astrozyten auch im Kortex nachgewiesen werden im Gegensatz zur Kontrollgruppe, in der lediglich die Faserastrozyten der weißen Substanz eine Reaktion auf GFAP zeigten [Moretti et al. 2019].

Zerebrovaskuläre Ereignisse

Fokal neurologische Defizite können bei Konsum von Heroin direkt nach der Injektion oder auch über 24 Stunden später auftreten [Caplan et al. 1982, Kelly et al. 1992]. Außerdem wurden bei Heroinabhängigen Hirninfarkte beschrieben [Ade-Biassette et al. 1996, Brust 1993, Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021, Gosztonyi et al. 1991, Niehaus und Meyer 1998]. Infolge von plötzlichen fokalen Hypotensionen können Nekrosen in den arteriellen Grenzzonen entstehen [Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021]. Ätiologisch für die Hirninfarkte werden auch eine globale zerebrale Hypoxie infolge einer Atemdepression oder embolische Gefäßverschlüsse durch Thromben aus Strecksubstanzen diskutiert. Zusätzlich existieren Hinweise auf eine vaskuläre Hypersensitivitätsreaktion auf Heroin oder diverse Streckmittel [Büttner und Weis 2004, Büttner 2011, 2021].

Spongiose Leukenzephalopathie

Dieses Krankheitsbild wurde im Jahre 1982 von Wolters und seinen Mitarbeitern zum ersten Mal beschrieben. Bemerkenswert ist hierbei, dass wohl fast nur Personen betroffen sind, die Heroin auf Alufolie erhitzen und dann inhalieren (sogenanntes „chasing the dragon“) [Gosztonyi et al. 1991, Hill et al. 2000, Kriegstein et al. 1997, Kriegstein et al. 1999, Rizzuto et al. 1997, Wolters et al. 1982]. Bisherige Untersuchungen konnten ätiologisch einen Prozess durch lipophile Toxine, welche sich

als Verunreinigungen im Heroin finden, detektieren, der entweder durch die zerebrale Hypoxie entsteht oder von ihr verstärkt wird. Versuche, bestimmte dafür verantwortliche Toxine zu finden, liefen jedoch bislang in die Leere [Stoltenburg-Didinger et al. 1995]. In bildgebenden Verfahren (CT und MRT) wurden symmetrische, hypodense bzw. hyperintense Areale in der weißen Substanz nachgewiesen. Die histologischen Untersuchungen dieser Areale zeigen diffuse Entmarkungen mit spongiformer Degeneration, Vakuolisierung der Myelinscheiden, Verlust von Oligodendrozyten, Axonreduktion und Astrogliose; die graue Substanz zeigt wiederum keine außergewöhnlichen Veränderungen, der Hirnstamm, das Rückenmark und die peripheren Nerven sind nicht befallen [Gosztanyi et al. 1991, Hill et al. 2000, Kriegstein et al. 1997, Kriegstein et al. 1999, Rizzuto et al. 1997, Wolters et al. 1982].

1.3.3 Todesfälle

Der größte Anteil der Drogentoten ist an einer „Überdosis“ von Opiaten/Opioiden verstorben. Die Ursachen der durch Heroinkonsum bedingten Todesfälle sind mannigfaltig. Auch lassen sich die Betroffenen keiner festen Personengruppe zuordnen, vielmehr erscheint diese ausgesprochen heterogen [Sporer 1999].

Verschiedene Untersuchungen zeigten, dass die meisten durch Heroinkonsum Verstorbenen sich zum Zeitpunkt ihres Todes in der dritten Lebensdekade befanden und seit ca. 5 bis 10 Jahren Drogen konsumierten [Darke und Zador 1996, Darke et al. 2000, Kaa et al. 1993, Preti et al. 2002, Sporer 1999, Steentoft et al. 2001].

Meist geschieht die Überdosierung unbeabsichtigt [Bentley et al. 1996, Steentoft et al. 1996]. Ursächlich hierfür sind u. a. der wechselnde Wirkstoffgehalt des erhältlichen Heroins, bei einem Drogenrückfall eine Reduktion der Opiattoleranz nach einer

Abstinenzphase und eine Polytoxikomanie [Büttner und Weis 2006, Preti et al. 2002, Püschel et al. 1993b]. Gerade bei einem polytoxikomanen Konsummuster ergeben sich v. a. bei zusätzlichem Konsum von sedierenden Substanzen wie Alkohol und Benzodiazepinen synergistische Effekte. Dies erklärt z. B. auch die Tatsache, dass bei manchen Drogentoten infolge Heroinkonsum teils Morphinkonzentrationen in Bereichen gemessen werden, die auch bei Lebenden nachweisbar sind [Darke und Zador 1996, Darke et al. 2000, Kaa et al. 1993, Koch et al. 2002, Penning et al. 1993, Preti et al. 2002, Püschel 1993a, Steentoft et al. 2001, Warner-Smith et al. 2001]. Insofern ist der Begriff „Überdosierung“ manchmal problematisch, da in diesen Fällen dem Heroin alleine nicht die Ursache für den Todeseintritt zugeordnet werden kann.

1.4 Kokain

In den Blättern des Strauches *Erythroxylon coca* ist das Alkaloid Kokain enthalten [Cregler und Mark 1986, Karch 2009, Lalouschek et al. 1995]. Diese Blätter werden oral durch langsames Kauen konsumiert, eventuell wird dabei noch ein alkalisches Pulver beigemischt. Aus den Blättern kann auch Kokapaste extrahiert werden, die geraucht wird. Das in Deutschland auf dem Drogenmarkt gehandelte Kokain ist das Salz Kokainhydrochlorid, welches wasserlöslich und hitzelabil ist. Durch unterschiedliche Verfahren können aus Kokainhydrochlorid zwei weitere, hitzestabile Alkaloidformen synthetisiert werden, „Freebase“ und „Crack“: Free Base ist die freie Alkaloidform, die durch flüchtige Lösungsmittel extrahiert wird; bei der Herstellung von Crack wird zunächst das Kokainhydrochlorid in Wasser aufgelöst, dann mit Backpulver vermischt und erhitzt [Karch 2009, Lalouschek et al. 1995, Quinn et al. 1997].

1.4.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik

Kokainhydrochlorid stellt die häufigste Zubereitungsform dar und wird vorzugsweise als Kristalle, Granulat oder weißem Pulver intranasal oder intravenös konsumiert, „Freebase“ und „Crack“ hingegen geraucht oder inhaliert [Iten 1994, Karch 2009, Lalouschek et al. 1995]. Alle Formen besitzen ein hohes Missbrauchs- und Abhängigkeitspotential [Forth 1992, Lalouschek et al. 1995]; bei wiederholtem Konsum stellt sich schnell eine Toleranz ein [Karch 2009, Quinn et al. 1997].

Da das Kokainmolekül ausgesprochen lipophil ist, kann es frei die BHS passieren [Karch 2009, Lalouschek et al. 1995, Oyesiku et al. 1993]. So tritt die Wirkung bei intranasaler Applikation nach wenigen Minuten ein, bei intravenöser Injektion oder geraucht bereits innerhalb von Sekunden, und hält dann ca. 15 bis 60 min an. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 30 bis 90 min [Iten 1994, Lalouschek et al. 1995, Quinn et al. 1997]. Kokain und seine Metaboliten verteilen sich im gesamten Gehirn und in allen Regionen finden sich entsprechende Rezeptoren mit unterschiedlichen Affinitäten. Deren Dichte ist im Striatum am höchsten, auch besitzen die dortigen Rezeptoren die größte Affinität. An den Nervenzellen bindet Kokain an präsynaptische Rezeptoren und bewirkt eine Hemmung der Wiederaufnahme einer Reihe von Transmittern in das präsynaptische Neuron, vor allem von Dopamin, aber auch von Serotonin, Noradrenalin, Acetylcholin und Gammaaminobuttersäure (GABA), zusätzlich erhöht es deren Freisetzung in den synaptischen Spalt. Zudem verstärkt Kokain die dopaminerge Neurotransmission, indem es mit dem Dopamintransporter interagiert, den Abbau von Dopamin hemmt und dessen Synthese stimuliert [Haen und Wodarz 1999, Karch 2009, Lalouschek et al. 1995, Quinn et al. 1997]. Hierdurch entfaltet es sowohl eine lokalanästhetische als auch eine sympathomimetische und psychotrope Wirkung [Forth 1992, Lalouschek et al. 1995].

Der klinische Eindruck bei Konsumenten ist geprägt durch ein subjektives Wohlfühl, ein Gefühl der Wachheit, eine Euphorie, ein gesteigertes Selbstvertrauen, eine Ausgelassenheit und Enthemmung sowie eine Libidosteigerung, im weiteren Verlauf treten aber auch Erschöpfung, Angst, Dysphorie, innere Unruhe und Getriebenheit, Neigung zu aggressivem Verhalten, Psychosen, Halluzinationen und Depressionen hinzu [Forth 1992, Karch 2009, Lalouschek et al. 1995, Strang et al. 1993]. Der in seiner Aktivität gesteigerte Sympathikus führt unter anderem zu einer Mydriasis, einem Anstieg des Blutdrucks, zu Tachyarrhythmien und Vasospasmen [Cregler und Mark 1986, Forth 1992, Karch 2009, Lalouschek et al. 1995].

Über Cholinesterasen erfolgt im Blut und in der Leber der Abbau des Kokains. Die Abbauege sind davon abhängig, ob zusätzlich Alkohol konsumiert wird oder nicht. Ohne Alkohol entstehen aus Kokain die hydrophilen Metaboliten Benzoyllecgonin und Methylecgonin mit einer Plasmahalbwertszeit von 6 bzw. 4 Stunden. Sie sind pharmakologisch inaktiv und werden über die Niere ausgeschieden. Im Harn bleiben sie 24 - 72 Stunden lang nachweisbar. [Karch 2009, Lalouschek et al. 1995]. Bei zusätzlicher Anwesenheit von Alkohol bei der Verstoffwechslung erfolgt teils zusätzlich eine Transmethylierung zu Cocaethylen, welches pharmakologisch dem Kokain ähnelt [Karch 2009, Quinn et al. 1997].

1.4.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten

Neuroradiologische Befunde

In einigen Untersuchungen mittels CT wurde bei chronischen Kokainkonsumenten eine diffuse Hirnatrophie nachgewiesen, deren Ausmaß mit der Dauer des Konsums korrelierte [Pascual-Leone et al. 1991].

Studien mittels MRT fanden bei Personen mit Kokainabusus signifikant häufiger fokale, hyperintense Bereiche in der weißen Substanz als in der Kontrollgruppe, welche als ischämische Läsionen gewertet wurden [Bartzokis et al. 1999, Lyoo et al. 2004, Volkow et al. 1988a]. Im Gegensatz hierzu ergaben andere neuroradiologische Untersuchungen keine signifikanten Unterschiede bezüglich Hirnvolumen und Anzahl der Läsionen in der weißen Hirnsubstanz zwischen Kokainkonsumenten und der Kontrollgruppe [Chang et al. 1997, Jacobsen et al. 2001].

In der MR-Angiographie zeigt sich dosisabhängig eine zerebrale Vasokonstriktion [Kaufman et al. 1998].

Studien mittels PET und SPECT wiesen bei Personen mit Kokainabusus einen global reduzierten zerebralen Glukosemetabolismus und ein zerebrales Perfusionsdefizit nach [Ernst et al. 2000, Gottschalk und Kosten 2002, Lalouschek et al. 1995, London et al. 1990, Strickland et al. 1993, Tumeh et al. 1990, Volkow 1988b, Volkow et al. 1991].

Zerebrovaskuläre Ereignisse

Von allen Drogen wird Kokain am häufigsten mit zerebrovaskulären Ereignissen in Verbindung gebracht [Kaku und Lowenstein 1990, Lalouschek et al. 1995, Levine et al. 1991, Scheid et al. 1999]. Die Studienlage ist hier jedoch nicht eindeutig. Während einige Untersuchungen keinen Zusammenhang zwischen Kokainkonsum und dem Auftreten von Hirninfarkten sahen [Qureshi et al. 2001], konnten etliche andere Autoren jedoch intrazerebrale und subarachnoidale Blutungen sowie ischämische und hämorrhagische Hirninfarkte nachweisen, welche sich Minuten bis Stunden nach der Aufnahme von Kokain ereigneten [Brown et al. 1992, Brust 1993, Cregler und Mark

1986, Karch 2009, Lalouschek et al. 1995, Oyesiku et al. 1993]. Zum Teil wurden bei den betroffenen Personen auch vorbestehende Aneurysmen oder arteriovenöse Malformationen nachgewiesen, die im Vergleich jedoch früher und in kleinerem Zustand rupturierten als bei Personen ohne Kokainkonsum [Karch 2009, Lalouschek et al. 1995, Oyesiku et al. 1993, Scheid et al. 1999]. Die ischämischen Hirninfarkte können sich in allen Hirnregionen ereignen. Ätiologisch sind hierbei zerebrale Vasospasmen durch den Einfluss des Kokains selbst als auch durch dessen Metaboliten [Lalouschek et al. 1995, Levine et al. 1991, Strickland et al. 1993] und kardiale Arrhythmien mit konsekutiven embolischen oder hämodynamischen Hirninfarkten [Lalouschek et al. 1995, Levine et al. 1991] in Betracht zu ziehen. Manche Autoren diskutieren noch als Ätiologien eine durch Kokain gestörte Hämostase, eine Thrombozytendysfunktion mit erhöhter Aggregation und eine endothelabhängige Vasorelaxation [Jennings et al. 1993]. Ein prädisponierender Faktor bei der Entwicklung von Hirninfarkten und der Ruptur von Aneurysmen oder arteriovenösen Malformationen scheint ein akuter Anstieg des arteriellen Blutdrucks und der Herzfrequenz durch die sympathomimetischen Eigenschaften des Kokains zu sein [Cregler und Mark 1986, Kibayashi et al. 1995, Lalouschek et al. 1995]. Im Gegensatz zu Hirninfarkten, die nicht auf Kokainkonsum zurückzuführen sind, finden sich die kokaininduzierten Hirninfarkte vor allem bei eher jüngeren Personen in der vierten Lebensdekade [Karch 2009].

Aufgrund von angiographisch nachweisbaren segmentalen Stenosen und Ektasien wird auch eine kokaininduzierte zerebrale Vaskulitis als Ätiologie der ischämischen und hämorrhagischen Läsionen in Erwägung gezogen [Büttner 2021]. Zwar wurde bei Obduktionen und Biopsien nur in seltenen Fällen eine Vaskulitis beschrieben, experimentell verstärkt Kokain jedoch die Migration von Leukozyten über die

Gefäßwände in das Hirnparenchym durch eine Induktion proinflammatorischer Zytokine und Chemokine sowie der Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle (ICAM-1, VCAM-1). Die prinzipiellen Mechanismen der durch Kokain verursachten Neuroinflammation gleichen denen, die bei Opiaten beschrieben wurden (s. Kapitel 1.3.2). Kokain verursacht jedoch eine signifikant stärkere Neuroinflammation als Heroin. Einerseits erhöht Kokain im Gegensatz zu Heroin in Zellkulturen direkt die Permeabilität des Endothels, andererseits führt beim Menschen wiederholter Kokainkonsum auch zu einer direkten Verletzung des Endothels durch die Metaboliten, weshalb Kokain über mehrere Mechanismen verfügt, die BHS zu beeinträchtigen [Büttner 2021, Moretti et al. 2019].

Zerebrale Krampfanfälle

Krampfanfälle finden sich bei Kokainkonsumenten mit einer Inzidenz von 2 - 10 % [Derlet und Albertson 1989a, Dhuna et al. 1991, Lowenstein et al. 1987]. Meist handelt es sich hierbei um einmalige, generalisierte, tonisch-klonische Anfälle [Dhuna et al. 1991, Pascual-Leone et al. 1990], jedoch wurden auch letale Anfälle beschrieben [Lathers et al. 1988]. Ätiologisch scheinen diese eine Folge zerebrovaskulärer Komplikationen zu sein, oder sie stellen eine Manifestation einer bereits vorhandenen erhöhten Krampfbereitschaft dar, welche dann durch den Einfluss des Kokains exazerbiert [Dhuna et al. 1991, Karch 2009]. Kokaininduzierte Krampfanfälle sind auch im Rahmen eines gewohnheitsmäßigen Konsums beschrieben [Scheid et al. 1999]. Pathophysiologisch werden ein dosisabhängiger, direkter konvulsiver Effekt des Kokains, eine durch Kokain hervorgerufene Senkung der Krampfschwelle oder die Induktion kardialer Arrhythmien diskutiert [Dhuna et al. 1991, Lathers et al. 1988].

1.4.3 Todesfälle

Für kokaininduzierte Todesfälle sind mehrere Ursachen bekannt. Neben den bereits erwähnten zerebrovaskulären Komplikationen, welche zum Teil einen letalen Ausgang nehmen [Lundberg et al. 1977, Mittleman und Wetli 1987], können durch Kokain direkt nach der Aufnahme Myokardinfarkte durch Koronarspasmen hervorgerufen werden, die mitunter zum Tode führen [Rogers et al. 1986, Tardiff et al. 1989]. Andere Studien konnten bei chronischen Kokainkonsumenten strukturelle Herzveränderungen, welche auf den Kokainkonsum zurückzuführen waren, als Todesursache detektieren. Diese Veränderungen begünstigen dabei das Auftreten von tödlichen Arrhythmien [Karch und Stephens 1991, Karch 2009].

1.5 Cannabis

Unter dem Oberbegriff „Cannabis“ werden alle psychoaktiven Zubereitungsformen der Hanfpflanze *Cannabis sativa* subsumiert [Iten 1994, Karch 2009]. Bisher sind ca. 60 Alkaloide bekannt, die als „Cannabinoide“ bezeichnet werden. Die psychotrope Wirkung ist zum größten Teil auf das Cannabinoid delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC) zurückzuführen [Ashton 2001, Forth 1992, Karch 2009, Wodarz et al. 2019]. Dessen Gehalt schwankt stark je nach den Umweltbedingungen beim Anbau und der Lagerung und Aufbereitung [Iten 1994, Karch 2009]. In Deutschland ist Cannabis die am weitesten verbreitete illegale Droge [Bundeskriminalamt 2014-2021]. Es wird in folgenden Zubereitungsformen konsumiert: als Marihuana in Form von getrockneten Blüten, Blättern und Stengelanteilen (THC-Gehalt ca. 0,5 - 7 %), als Haschisch in Form des getrockneten Blütenharzes (THC-Gehalt ca. 2 - 10 %) und als Haschischöl, welches durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln gewonnen wird und einen THC-Gehalt von ca. 10 - 60 % besitzt [Ashton 2001, Iten 1994, Karch 2009].

1.5.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik

Die Zubereitungsformen des Cannabis werden meist mit Tabak vermischt und geraucht. Eine weitere Möglichkeit des Konsums ist die orale Aufnahme in Form von mit Cannabis versetztem Gebäck oder Tee. Für die intravenöse Applikation ist Cannabis wegen seiner Wasserunlöslichkeit nicht geeignet [Ashton 2001, Iten 1994, Karch 2009]. Durch Rauchen wird THC rasch absorbiert, der Eintritt der Wirkung erfolgt bereits nach Minuten. Ca. 20 bis 30 min nach der Aufnahme erreicht die Wirkung ihr Maximum und hält ca. zwei bis vier Stunden an. Oral konsumiert beginnt Cannabis, bedingt durch die geringe Bioverfügbarkeit, erst nach 0,5 bis 2,5 Stunden zu wirken. Auch ist die Wirkung schwächer ausgeprägt. Bereits direkt nach der Aufnahme diffundiert THC aus dem Blut in unterschiedliche Gewebe. Da das Molekül ausgesprochen lipophil ist, lagert es sich bevorzugt im Fettgewebe ab und wird aus diesem nur langsam wieder freigesetzt, was zu einer Eliminationshalbwertszeit von 7 Tagen führt [Ashton 2001]. In der Leber wird THC in unterschiedliche Metaboliten umgewandelt, für pharmakologische Wirkung ist dabei das 11-Hydroxy-THC von größter Bedeutung. Die Eliminierung dieser Metaboliten erfolgt über die Niere und den Darm [Ashton 2001, Iten 1994].

Die pharmakologische Wirkung entfaltet das THC über eine Interaktion mit G-Proteingekoppelten, endogenen Cannabinoidrezeptoren und führt hierdurch zu einer Hemmung der Adenylatzyklase, einer Aktivierung der MAP-Kinase und ist an der Regulierung von Calcium- und Kaliumkanälen und anderen Signaltransduktionswegen beteiligt [Ameri 1999, Ashton 2001]. Im ZNS wirkt THC psychotrop, anxiolytisch, dosisabhängig sedierend oder anregend, analgetisch, antikonvulsiv und antiemetisch [Ashton 2001]. In der Peripherie kann THC-Konsum dosisabhängig zu einer Vasodilatation mit Reflextachykardie und orthostatischer Dysregulation, aber auch zu

einer Hypertonie führen. Außerdem besitzt THC eine immunsuppressive Wirkung [Ameri 1999]. Die toxischen Effekte von Cannabis sind äußerst gering [Ashton 2001]. Bei regelmäßigem Konsum kann sich eine Toleranz und Abhängigkeit entwickeln, mutmaßlich aufgrund einer Zunahme der Aktivität dopaminerger Neurone im mesolimbischen dopaminergen System [Ameri 1999].

1.5.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten

Nach Eintritt in das Gehirn verteilt sich das THC dort ausgesprochen heterogen. In den neokortikalen, limbischen und sensomotorischen Arealen können hierbei die höchsten Konzentrationen nachgewiesen werden [Ashton 2001, Iversen 2003]. Aktuell sind zwei verschiedene Cannabinoid (CB)-Rezeptoren bekannt, welche als CB1- und CB2-Rezeptoren bezeichnet werden. Natürliche Liganden sind die Endocannabinoide, welche bei einer Vielzahl physiologischer Funktionen mitwirken wie Schmerzreduktion, motorische Regulation, Lernen, Gedächtnis, Appetitstimulation und Belohnungsgefühl [Pertwee 1997, Wodarz et al. 2019].

Die Verteilung dieser Rezeptoren unterscheidet sich erheblich. Im zentralen und peripheren Nervensystem kommt primär der CB1-Rezeptor vor, der sich dort in vielen Bereichen findet und zu einer präsynaptischen Hemmung der Freisetzung von Neurotransmittern beiträgt. Am höchsten ist dessen Dichte in der Substantia nigra, den Basalganglien, im Hippocampus und im Cerebellum. Im Neokortex findet sich der CB1-Rezeptor vor allem frontal, im Gyrus dentatus, im mesolimbischen dopaminergen System und temporal [Ameri 1999, Breivogel und Childers 1998, Herkenham 1992, Wodarz et al. 2019], während im Hirnstamm nur eine geringe Dichte vorherrscht. Die Wirkung des THC findet damit ein morphologisches Korrelat: Die Areale mit der höchsten Rezeptordichte erklären die durch Cannabiskonsum hervorgerufenen

kognitiven und motorischen Störungen [Ameri 1999], die geringe Dichte im Hirnstamm und in der Medulla oblongata die fehlende akute Toxizität und Letalität des Cannabis [Abood und Martin 1992].

Der CB2-Rezeptor befindet sich überwiegend nur peripher in lymphatischen Geweben und ist dort in die Freisetzung von Zytokinen involviert [Ameri 1999, Wodarz et al. 2019]. Chronischer Cannabiskonsum kann deshalb eine Immunsuppression verursachen [Pertwee 1997].

Neben kardiovaskulären Komplikationen treten bei einer akuten Cannabisintoxikation vor allem neuropsychiatrische Störungen wie Panikattacken, Angst, Depression oder psychotische Zustandsbilder auf. Ebenso kann THC dosisabhängig kognitive, psychomotorische sowie Sprach- und Gedächtnisleistungen beeinträchtigen [Karch 2009].

Neuroradiologische Befunde

MRT-Untersuchungen bei Personen mit langjährigem Cannabiskonsum konnten keine auffälligen Befunde detektieren [Block et al. 2000]. SPECT und PET-Untersuchungen hingegen zeigen, dass akuter Konsum zu einer transienten zerebralen Vasodilatation führt, wodurch es zu einer Erhöhung der zerebralen Durchblutung und des zerebralen Glukosemetabolismus kommt [Mathew et al. 1997, Volkow et al. 1996], chronischer Konsum hingegen zu einer verringerten zerebralen Durchblutung und einem verringerten zerebralen Glukosemetabolismus, dies v. a. im frontalen Kortex und im Cerebellum [Amen und Waugh 1998, Block et al. 2000, Lundqvist et al. 2001, Volkow et al. 1996].

Zerebrovaskuläre Ereignisse

Durch Cannabiskonsum verursachte Störungen der Hirndurchblutung sind ausgesprochen selten. Einige Autoren berichten über transitorisch ischämische Attacken [Mouzak et al. 2000] und Hirninfarkte [Barnes et al. 1992, Zachariah 1991] in Zusammenhang mit Cannabiskonsum. Eine Gemeinsamkeit dieser Untersuchungen ist, dass die betroffenen Personen Cannabis jahrelang in hohen Dosen konsumierten und den Konsum weiterer Drogen verneinten bzw. keine Nachweise auf deren Konsum vorlagen. Ätiologisch wird hierbei von den Autoren ein Cannabis-induzierter Vasospasmus bzw. eine Cannabis-induzierte Hypotension in Betracht gezogen. In Anbetracht der Tatsache, dass Cannabis weltweit die am häufigsten konsumierte Droge ist, erscheint diese Assoziation jedoch fraglich [Büttner 2011, 2021].

1.6 Amphetamine

Die Substanzgruppe der Amphetamine bezeichnet Derivate des Phenylethylamins und wird zu den Psychostimulanzien gezählt [Felgenhauer und Zilker 1999, Karch 2009, Quinn et al. 1997]. Als Hauptvertreter dieser Gruppe gelten das Amphetamin („Speed“) und das Methamphetamin. Der größte Anteil der synthetisch hergestellten Designerdrogen besteht aus den Methylendioxyderivaten dieser beiden Substanzen (sogenannte amphetaminerge Designerdrogen) [Christophersen 2000]. Mit dem Begriff „Ecstasy“ werden unterschiedliche halluzinogene Amphetaminderivate mit den Hauptwirkstoffen MDMA (3,4-Methylendioxymethamphetamin) und MDE (3,4-Methylendioxy-N-ethylamphetamin) bezeichnet [Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, Obrocki et al. 2001]. „Ecstasy“ zählt in Deutschland bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen zu den am häufigsten konsumierten synthetischen Drogen [Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, Obrocki et al. 2001, Thomasius 2000, Tretter

und Federmann 2000]. Aktuell ist in Deutschland Amphetamin nach Cannabis das am weitesten verbreitete Betäubungsmittel [Bundeskriminalamt 2021].

1.6.1 Pharmakologie und Pharmakokinetik

Amphetamine und Methamphetamin werden in Form von Pulver, Tabletten, Kapseln oder Flüssigkeiten angeboten und entweder oral, intranasal, intravenös oder durch Rauchen bzw. durch Inhalation konsumiert. Bei oraler Aufnahme erfolgt eine fast vollständige gastrointestinale Resorption [Karch 2009]. Aufgrund der lipophilen Eigenschaften passieren sie rasch die Blut-Hirn-Schranke und verteilen sich heterogen im gesamten Gehirn. Nach ca. 30 min tritt dann die Wirkung ein und hält etwa 4 bis 8 Stunden an. Die Plasmahalbwertszeiten variieren abhängig vom pH-Wert des Urins bei Amphetaminen zwischen 10 und 30 Stunden und bei Methamphetamin zwischen 8 und 17 Stunden [Martins et al. 2011, Quinn et al. 1997]. Beide Substanzen werden im Körper zu pharmakologisch aktiven und inaktiven Metaboliten umgewandelt und über den Urin entweder in der ursprünglichen Form oder in Form der Metaboliten wieder ausgeschieden. Die Form der Ausscheidung ist dabei abhängig vom pH-Wert des Urins [Iten 1994]. Amphetamine und Methamphetamin entfalten im ZNS vor allem eine indirekt dopaminerge, aber auch indirekt noradrenerge und serotonerge Wirkung, indem sie sowohl die Freisetzung von Dopamin, Serotonin und Noradrenalin steigern als auch deren präsynaptische Wiederaufnahme hemmen [Karch 2009, White und Kalivas 1998]. Hierdurch kommt es zu einer ausgeprägten stimulierenden und sympathomimetischen Wirkung auf das ZNS und das kardiovaskuläre System. Der Konsum von Amphetaminen oder Methamphetamin führt zu einer Antriebssteigerung, einer Reduktion des Hungergefühls und einem Gefühl der Wachheit. Im Bereich des kardiovaskulären Systems treten über die sympathomimetische Wirkung Erhöhungen des Blutdrucks und Tachyarrhythmien auf. Die euphorisierende und psychotrope

Wirkung entsteht durch die Freisetzung von Dopamin im mesolimbischen dopaminergen System und von Acetylcholin im zerebralen Kortex [Felgenhauer und Zilker 1999, Iten 1994, Martins et al. 2011]. Bei regelmäßigem Konsum stellt sich eine Toleranzentwicklung und Abhängigkeit ein [Forth 1992, Iten 1994, Martins et al. 2011].

„Ecstasy“ wird meist in Tablettenform in einer Dosierung von 50 bis 200 mg eingenommen, im Anschluss erfolgt eine rasche Absorption des Wirkstoffes MDMA [Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, Karch 2009]. Dieser zeichnet sich ebenfalls durch eine hohe Lipophilie aus, was ihm eine rasche Passage der Blut-Hirn-Schranke und Anflutung im ZNS ermöglicht [Rochester und Kirchner 1999]. Die psychotrope Wirkung setzt ca. 20 bis 60 Minuten nach der Aufnahme ein und hält ca. 3 bis 5 Stunden an. Auch MDMA wird in psychoaktive und inaktive Metaboliten umgewandelt, der aktive Hauptmetabolit ist hierbei das 3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDA). MDMA wird ebenfalls entweder in der ursprünglichen Form oder in Form der Metaboliten über den Urin ausgeschieden. Die Plasmahalbwertszeit liegt bei ca. 8 Stunden [Green et al. 2003, Karch 2009]. Die dopaminerge und noradrenerge Wirkung von MDMA ist etwas geringer als die des Amphetamins oder Methamphetamins, die hauptsächliche Wirkung bezieht sich auf das serotonerge System mit Steigerung der präsynaptischen Freisetzung bei gleichzeitiger Hemmung der Wiederaufnahme und auch der Neusynthese von Serotonin. Es existieren auch Hinweise auf eine hemmende Wirkung von MDMA auf die Aktivität der Monoaminoxidase, welche für sich ebenfalls zu einem Anstieg der Serotoninkonzentrationen im synaptischen Spalt führt. MDMA besitzt damit sowohl Eigenschaften der Stimulanzien als auch der Halluzinogene [Dinse 1997, Felgenhauer und Zilker 1999, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002]. Die halluzinatorische Wirkung führt zu einer zentralen Stimulation mit Antriebssteigerung, euphorischer Stimmungslage, Ekstase, seelischer Ausgeglichenheit, einer

Verminderung des Angstgefühls, einem Gefühl von Nähe und Intimität zu anderen, einem gesteigerten Kommunikationsbedürfnis, einem Wärme- und Glücksgefühl und einem Empfinden unerschöpflicher Energie, sowie zum subjektiven Gefühl, die Umwelt intensiver wahrzunehmen in Bezug auf Zeit, Farben, Formen, Atmosphäre und akustische Eindrücke. Diese psychische Wirkung wird auch als „entaktogen“ bezeichnet. Die Effekte des MDMA variieren jedoch je nach Dosis, Häufigkeit und Dauer des Konsums [Ameri 1999, Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002]. Die Wirkung entfaltet sich in allen Hirnarealen, wobei dem mesokortiko-limbischen System und den serotoninhaltigen Nervenfasern des Hirnstamms besondere Bedeutung zukommt. Weitere Wirkungen des MDMA sind unter anderem Mundtrockenheit, Hyperaktivität, Agitiertheit, Schlaflosigkeit, Angst und Panikattacken, Trismus oder Bruxismus, ein Anstieg der Körpertemperatur, Konzentrationsstörungen, Delirien, Muskelschmerzen oder -steife und Ataxie. Im Bereich des kardiovaskulären Systems kommt es sowohl zu Hyper- als auch zu Hypotonien. Es existieren Berichte über supraventrikuläre und ventrikuläre Tachykardien (Torsade de pointes), letztere bedingt durch eine QT-Intervall-Verlängerung, sowie über Myokardinfarkte, Kammerflimmern und Asystolie. Spasmen in der Interkostalmuskulatur können Angina pectoris-ähnliche Symptome hervorrufen. Im Bereich der Leber kann der Konsum von MDMA zu einer akuten toxischen Hepatitis mit Leberzellnekrosen und zu akutem Leberversagen führen [Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002]. Auch bei MDMA führt der regelmäßige Konsum zu einer Toleranzentwicklung und Abhängigkeit [Ameri 1999].

1.6.2 ZNS-Befunde bei Konsumenten

Im Rahmen eines *Amphetamin- oder Methamphetaminkonsums* können zerebrale Krampfanfälle auftreten. Ebenso kommt es zu einer Schlaflosigkeit, gesteigerten Erregbarkeit, Panikattacken, mitunter auch zu Psychosen und Depressionen.

Aggressives Verhalten und Suizidalität können aus diesen Symptomen resultieren [Derlet et al. 1989b, Gomes de Matos et al. 2018, Hart und Wallace 1975, Logan et al. 1998, Martins et al. 2011, Zhu et al. 2000].

Nach Kokain sind Amphetamine die zweithäufigste Ursache für zerebrovaskuläre Ereignisse bei Menschen unter 45 Jahren. Mehrere Untersuchungen beschreiben ischämische Hirninfarkte, subarachnoidale und intrazerebrale Blutungen in Zusammenhang mit einem Amphetamin- oder Methamphetaminkonsum [Bostwick 1981, Caplan et al. 1982, Heye und Hankey 1996, Karch et al. 1999, Lukes 1983, Martins et al. 2011, Selmi et al. 1995, Yen et al. 1994, Zhu et al. 2000]. In wenigen Fällen bestand hierbei bereits vorher eine arteriovenöse Malformation [Lukes 1983, Selmi et al. 1995, Yen et al. 1994], bei den meisten Betroffenen fanden sich jedoch keine entsprechenden Läsionen. Ätiologisch werden eine akute drogeninduzierte Hypertonie [Heye und Hankey 1996, Logan et al. 1998] oder eine zerebrale Vaskulitis diskutiert [Bostwick 1981, Brust 1997, Zhu et al. 2000]. Die vasokonstriktorische Wirkung von Amphetaminen und Methamphetamin kann neben einer zerebralen Vaskulitis ebenso für das Entstehen ischämischer Hirninfarkte verantwortlich sein [Perez et al. 1999].

Zusätzlich besteht aufgrund von neuroradiologischen und Autopsiestudien der Verdacht einer direkten neurotoxischen Wirkung von Amphetaminen und Methamphetamin mit irreversiblen neuronalen Schäden, wobei hier v. a. die Substantia nigra betroffen zu sein scheint. Als Ursache werden mehrere Mechanismen diskutiert, u. a. die Produktion von freien Radikalen und Stickoxid. Eine zusätzliche Hyperthermie könnte ebenfalls an der Entstehung beteiligt sein [Davidson et al. 2001, Frost und Cadet 2000, Guilarte 2001, Lyles und Cadet 2003, Martins et al. 2011].

Studien bei chronischen Konsumenten von Methamphetamin zeigten strukturelle Veränderungen im Gehirn wie einen Neuronenverlust, eine Hypertrophie der weißen Substanz und einen veränderten Glukosemetabolismus im Hippocampus, präfrontalen Kortex, Gyrus cinguli und der Amygdala. In der weißen Substanz des präfrontalen Kortex, im Genu corporis callosi und im Hippocampus können mikrostrukturelle Veränderungen nachgewiesen werden. Die Konsumenten weisen ein im Durchschnitt kleineres Volumen des Hippocampus auf. Diese Ergebnisse sind assoziiert mit den Symptomen der Konsumenten, so wie Verhaltensauffälligkeiten, Merkfähigkeits- und Gedächtnisstörungen und Störungen der Exekutivfunktionen. Erklärungen für diese Schädigungen sind eine Reduktion des Neuopils, ein Zelltod und eine Gliose. Ein neuronaler Zelltod konnte nach Behandlung mit Methamphetamin in verschiedenen Hirnregionen einschließlich frontaler Kortex, Striatum und Hippocampus nachgewiesen werden. Die meisten Studien fokussierten sich bei der Aufklärung der molekularen und zellulären Mechanismen auf die Produktion von freien Radikalen und oxidativem Stress, Excitotoxizität, Entzündungen und mitochondriale Dysfunktionen. Nach neueren Ergebnissen kann die Neurotoxizität auch aus der Fähigkeit von Methamphetamin, die Funktion der BHS zu schädigen, resultieren. In Tierversuchen wurde gezeigt, dass Mäuse nach Verabreichung von Methamphetamin einen Anstieg der Permeabilität der BHS im zerebralen Kortex, in der medialen und ventralen Amygdala, im Hippocampus, Ncl. caudatus und Putamen aufweisen, der mit schwerer Hyperthermie und ausgeprägter zerebraler Krampfaktivität korrelierte. Bei Ratten wurde nach Injektion von Methamphetamin eine Schrankenstörung im Ncl. accumbens durch eine Hyperthermie im Gehirn verstärkt. Martins et al. konnten belegen, dass bei Mäusen die Permeabilitätssteigerung der BHS im Hippocampus nach Verabreichung von Methamphetamin nur ein vorübergehender Effekt ist. Methamphetamin zerstört striatale dopaminerge Nervenendigungen. Diesem Prozess gehen eine Aktivierung der

Mikroglia sowie ein signifikanter Anstieg der Reaktivität der Astrozyten im Striatum, Kortex und Hippocampus voran. Zudem induziert Methamphetamin im Hippocampus eine Astrogliose, eine Aktivierung der Mikroglia und Veränderungen im TNF-System, was zu einer neuronalen Dysfunktion führt. Bei Mäusen lassen sich signifikante Veränderungen im glutamatergen System des Hippocampus nachweisen. Diese Ereignisse scheinen mit dem Anstieg der Permeabilität der BHS im Hippocampus in Zusammenhang zu stehen. Durch die erhöhte Permeabilität ergibt sich auch ein erhöhtes Risiko für Hirninfektionen durch HIV-1, da infizierte Leukozyten unter diesen Bedingungen leichter in das Gehirn gelangen können [Martins et al. 2011].

Bei *MDMA* zeigen etliche Tierexperimente in Langzeituntersuchungen nur zum Teil reversible Schädigungen serotonerger und dopaminerger Neurone [Ameri 1999, Battaglia et al. 1988, Commins et al. 1987, Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, Green et al. 2003, Insel et al. 1989, Ricaurte et al. 1988, 1992, 2000, Sprague et al. 1998]. Der dafür verantwortliche Wirkmechanismus ist noch nicht hinreichend geklärt, es scheinen jedoch hierbei toxische MDMA-Metabolite sowie die Neurotransmitter Serotonin und Dopamin selbst oder ihre Intermediärspezies eine wichtige Rolle zu spielen [Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002]. Auch beim Menschen kann eine neurotoxische Wirkung angenommen werden. Neben den erwähnten Tierversuchen existieren hierzu auch neuere Untersuchungen am Menschen [Bolla et al. 1998, Curran 2000, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, Kish 2002, Lyles und Cadet 2003, McCann et al. 1998, 2000, Obrocki et al. 2001, Ricaurte et al. 2000, Verbaten 2003]. Untersuchungen mittels PET und SPECT wiesen eine reduzierte Anzahl von Serotonintransportern und -rezeptoren im Gehirn nach [Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, McCann et al. 1998, Reneman et al. 2000, Ricaurte et al. 2000]. In einer Untersuchung mittels SPECT zeigte sich direkt nach dem Konsum

von MDMA eine zerebrale Vasokonstriktion [Reneman et al. 2000], eine weitere SPECT-Untersuchung belegt bei Konsumenten eine Beeinflussung des regionalen zerebralen Blutflusses [Chang et al. 2000]. In der PET sind Veränderungen im zerebralen Glukosemetabolismus erkennbar [Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, Obrocki et al. 1999]. Die MRT zeigte bei MDMA-Konsumenten bilaterale hyperintense Läsionen im Globus pallidus, in Autopsien können hier Nekrosen, eine diffuse Astroglieose und spongiforme Veränderungen der weißen Hirnsubstanz nachgewiesen werden [Spatt et al. 1997, Squier et al. 1995]. Vereinzelt finden sich Berichte über ischämische und hämorrhagische Hirninfarkte sowie über subarachnoidale und intrazerebrale Hämorrhagien nach Konsum von „Ecstasy“ [Dinse 1997, Gledhill et al. 1993, Hanyu et al. 1995, Hughes et al. 1993, Manchanda und Connolly 1993, Schlaeppli et al. 1999].

1.6.3 Todesfälle

Die subarachnoidalen und intrazerebralen Blutungen in Zusammenhang mit einem *Amphetamin- oder Methamphetaminkonsum* können letal enden. Kardiale Komplikationen können ebenso zum Tode führen [Karch et al. 1999, Logan et al. 1998, Zhu et al. 2000].

„Ecstasy“ weist zwar im Hinblick auf die Anzahl der Konsumenten im Vergleich eher niedrige Todesfallzahlen auf, trotzdem existieren weltweit Berichte über Todesfälle in Zusammenhang mit einem Konsum von MDMA [Büttner 2011, 2021]. Besondere Bedeutung kommt hierbei dem malignen Hyperthermie-Syndrom zu, welches pathophysiologisch wohl aus einer Imbalance des serotonergen und dopaminergen Systems resultiert [Dinse 1997, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002]. Durch die Beeinflussung der zentralen Thermoregulation, der körperlichen Hyperaktivität und mangelnder Flüssigkeitsaufnahme kommt es zu einer Überhitzung des Körpers,

welche durch die meist überhitzten Räume, in denen „Ecstasy“ häufig konsumiert wird, noch verstärkt wird. Als Folge hiervon treten eine Dehydrierung und ein Elektrolytverlust auf. Zum Tod führen dann kardiovaskuläre Komplikationen, eine disseminierte intravasale Koagulation mit fokalen Blutungen, eine Rhabdomyolyse sowie ein akutes Leber- und Nierenversagen [Byard et al. 1998, Dinse 1997, Dowling et al. 1987, Fineschi et al. 1999, Gill et al. 2002, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2002, Henry et al. 1992, Jones 1998, Kalant 2001, Karch 2009, Milroy et al. 1996, Thomasius et al. 1997]. Milroy et al. wiesen 1996 in ihrer neuropathologischen Untersuchung fokale Blutungen, Hirnödeme und Nervenzelldegenerationen (v. a. im Locus coeruleus) nach. Die Hirnödeme entstehen auf dem Boden von Hyponatriämien infolge einer erhöhten Vasopressin-Sekretion und unkontrollierter Wassereinfuhr. In Obduktionsbefunden von Ecstasy-Toten wurden neben den bereits erwähnten Leberzellnekrosen auch massive hepatische Nekrosen und auch Myokardnekrosen beschrieben [Dinse 1997].

1.7 ZO-1: Morphologie und Funktion, Reaktionsmuster bei ausgewählten Krankheitsbildern, immunhistochemische Marker

Die Blut-Hirn-Schranke (BHS) wird von den Endothelzellen der Blutgefäße des Gehirns gebildet und dient der Beschränkung des Übertritts von Ionen, Wasser, Blutzellen und beinahe allen nicht lipophilen Molekülen vom Blut in das Hirnparenchym. Diese Barriere dient dem Schutz des ZNS vor toxischen Substanzen und dem Erhalt der für eine ordnungsgemäße neuronale Funktion notwendigen Homöostase im Parenchym durch Verhinderung von pH-Schwankungen und strikte Regulation der Konzentrationen von Glukose, Elektrolyten, Aminosäuren, Eisen, Insulin und anderen Metaboliten im Extrazellulärraum. Der Austausch wichtiger Nährstoffe wie Glukose und Aminosäuren über die BHS erfolgt durch zahlreiche Transportsysteme. Weitgehend ungehindert können jedoch hydrophobe Substanzen wie z. B. Heroin durch die

Endothelzellschicht diffundieren. Im Gegensatz zum Endothel im peripheren Gewebe weist das Endothel der Hirngefäße eine hohe Dichte auf, die aus der streng limitierten Transzytose der Endothelzellen und deren fehlenden Fenestrierung resultiert. Die parazelluläre Diffusion wird verhindert durch spezielle impermeable Zell-Zell-Verbindungen, die einen festen Komplex bilden und den Interzellulärspalt dicht verschließen. Den am weitesten apikal gelegenen Teil dieses Komplexes bildet die Zonula occludens oder Tight Junction (TJ), ein Netz aus miteinander verbundenen intramembranösen fibrillären Strängen zwischen den äußeren Schichten der Membranen benachbarter Zellen, das diese so eng miteinander verbindet, als wären sie fusioniert [Abbruscato 2004, Bazzoni und Dejana 2004, González-Mariscal et. al 2003, Hawkins et al. 2004, Kniesel und Wolburg 2000, Mark und Davis 2002, Mitic und Anderson 1998, Moretti et al. 2019, Rubin und Staddon 1999, Sawada 2013, Stamatovic et al. 2016, Wolf et al 1996]. TJ bestehen aus Transmembranproteinen, die durch zytoplasmatische Proteine mit dem Aktin-Zytoskelett verbunden sind und einer Vielzahl regulatorischer Mechanismen unterworfen sind. Neben der beschriebenen Funktion als Diffusionsbarriere erfüllt die TJ auch eine wichtige Aufgabe in der Erzeugung der Zellpolarität, indem sie die Zellmembran in eine apikale und basolaterale Region einteilt und die Migration von Proteinen und Lipiden innerhalb der Membran in die jeweils andere Region verhindert. Auch in der intrazellulären Signaltransduktion zur Steuerung des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung sind TJ involviert [Bazzoni und Dejana 2004, González-Mariscal et. al 2003, Hawkins et al. 2004, Mark und Davis 2002, Mitic und Anderson 1998, Sawada 2013, Stamatovic et al. 2016].

Basolateral der TJ gelegen ist der zweite Teil des Verbindungskomplexes, die Zonula adhaerens oder Adherens Junction (AJ), die mit den TJ eine funktionale Einheit bildet.

Zudem finden sich in dem Komplex noch Nexus oder Gap Junctions, die der Kommunikation zwischen angrenzenden Zellen dienen. Damit Endothelzellen diese komplexen, für die BHS typischen Zell-Zell-Verbindungen ausbilden, ist ein induzierendes Signal von Seiten der perivaskulären Astrozyten und Perizyten notwendig, was über die Sezernierung sogenannter neurotrophischer Faktoren erfolgt [Bazzoni und Dejana 2004, Kniesel und Wolburg 2000, Mark und Davis 2002, Mitic und Anderson 1998, Rubin und Staddon 1999, Sawada 2013, Stamatovic et al. 2016].

Das Zonula occludens-1-Protein (ZO-1) ist ein zytoplasmatisches Protein der TJ von der Größe 220–225 kDa und gehört zur Familie der Membran-assoziierten Guanylatkinasen (MAGUK). Diese Enzyme katalysieren üblicherweise die Umwandlung von GMP zu GDP, ZO-1 zeigt jedoch keine enzymatische Aktivität, sondern weist an seiner Guanylatkinase-Domäne proteinbindende Eigenschaften auf. In seiner chemischen Struktur besitzt ZO-1 noch drei sogenannte PDZ-Domänen, eine SH3-Domäne sowie carboxy-terminal eine saure Region und eine Prolin-reiche Domäne. Von ZO-1 sind zwei Isoformen bekannt, die α^+ und α^- Varianten. α^+ Formen des ZO-1 prägen zwischen der sauren Region und Prolin-reichen Domäne ein α -Motiv aus und finden sich in den TJ zwischen Epithelzellen, während die α^- Formen in Endothelzellen vorhanden sind [Bazzoni und Dejana 2004, González-Mariscal et. al 2003].

Während der Formierung des Zell-Zell-Verbindungskomplexes lässt sich ZO-1 zuerst im Bereich der AJ nachweisen, wo es vorübergehend an die dortigen zytoplasmatischen Proteine α -Catenin und β -Catenin bindet, bevor es sich an den TJ konzentriert [Bazzoni und Dejana 2004, Mark und Davis 2002]. Dort dient ZO-1 der Verankerung von Transmembranproteinen wie Occludin, Claudinen und des Junctional

Adhesion Molecule JAM-A mit dem Aktin-Zytoskelett, indem es Claudine an der PDZ1-Domäne, JAM-A an der PDZ3-Domäne, Occludin an der Guanylatkinase-Domäne und F-Aktin über die Prolin-reiche Domäne seines C-Terminus bindet. Die PDZ2-Domäne dient der Dimerisation mit anderen ZO-1-Molekülen, der Interaktion von ZO-1 mit seinen verwandten zytoplasmatischen Molekülen ZO-2 und ZO-3 (wobei die Expression von ZO-3 im Endothel des Gehirns unklar ist) und der Verbindung mit den Gap junctions über deren Protein Connexin 43. ZO-1 bindet noch an weitere zytoplasmatische Proteine der TJ wie Cingulin und das Signalprotein AF-6, über welches es der Regulation von G-Proteinen wie Ras unterliegt, was die Zell-Zell-Adhäsion und Permeabilität beeinflusst. Über die SH3-Domäne erfolgt die Bindung von weiteren zytoskelettalen Elementen und Signalproteinen wie die heterotrimeren G-Proteine, die bei der Formierung der TJ und der Kontrolle des Wachstums und der Differenzierung der Zellen eine wichtige Rolle spielen [Bazzoni und Dejana 2004, Fanning et al. 1998, González-Mariscal et. al 2003, Harhaj und Antonetti 2004, Mark und Davis 2002, Stamatovic et al. 2016].

Unter gewissen Bedingungen lässt sich ZO-1 auch im Nucleus nachweisen. Dies ist bei noch unreifen Zell-Zell-Kontakten oder auch bei Zellen mit lockeren bzw. beschädigten Kontakten der Fall. Im Nucleus vermag ZO-1 über seine SH3-Domäne an den Transkriptionsfaktor ZONAB (ZO-1 associated nucleic acid-binding protein) zu binden und damit die parazelluläre Permeabilität und Genexpression zu modulieren. Über ein Zirkulieren zwischen der Plasmamembran und dem Nucleus erschafft ZO-1 einen Informationsaustausch zwischen Nucleus und den TJ, der ebenfalls die Zelldifferenzierung und das Wachstum kontrolliert. ZO-1 wird in diesem Zusammenhang auch als Tumorsuppressor betrachtet [González-Mariscal et. al 2003, Gottardi et al. 1996, Harhaj und Antonetti 2004, Hawkins et al. 2004].

Einen weiteren wichtigen Mechanismus für die Regulierung der TJ und der transendothelialen Permeabilität stellt die Phosphorylierung dar. ZO-1 ist ein Phosphoprotein, es kann an seiner SH3-Domäne sowohl an Serin/Threonin- als auch an Tyrosin-Resten phosphoryliert werden und dissoziiert in der Folge weg vom TJ-Komplex, was zu einem Anstieg der Permeabilität führt. Die Phosphorylierungen erfolgen durch Interaktionen mit diversen Kinasen wie die ZAK (ZO-1-associated kinase), die Proteinkinase C, die Rho-Kinase und MAP-Kinasen. Verursacht werden diese Vorgänge durch den Einfluss verschiedener Interleukine, Chemokine, vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktoren und des TNF- α während einer Hypoxie, Ischämien und inflammatorischer Prozesse [Bazzoni und Dejana 2004, González-Mariscal et. al 2003, Stamatovic et al. 2016].

ZO-1 ist deshalb ein immunhistochemischer Marker für die Bewertung der Permeabilität der BHS. Störungen der Schrankenfunktion werden hierbei durch irreguläre, fragmentierte oder fehlende Immunoreaktivität sichtbar [Abbruscato 2004, Boven et al. 2000, Dallasta et al. 1999, Martins et al. 2011, Moretti et al. 2019].

ZNS-Erkrankungen, die mit Veränderungen des ZO-1 in Verbindung stehen, sind die HIV-1-assozierte Enzephalopathie, bei der ein Verlust von ZO-1 nachgewiesen werden kann [Boven et al. 2000, Dallasta et al. 1999], der Morbus Parkinson, die Alzheimer-Erkrankung, ischämische Hirninfarkte und die Multiple Sklerose [Martins et al. 2011]. Auch im Zusammenhang mit Drogenkonsum lassen sich Veränderungen des ZO-1 in der BHS nachweisen [Moretti et al. 2019]. Durch Einfluss von Nikotin kann in vitro eine verminderte Expression von ZO-1 an den Zellrändern nachgewiesen werden [Hawkins et al. 2004]. Bei Mäusen führte eine Injektion von Methamphetamin zu einer Abnahme des Gehalts von ZO-1 im Hippocampus in Zusammenhang mit einer

verstärkten proteolytischen Aktivität der Matrix-Metalloproteasen [Martins et al. 2011]. In Zellkulturen der BHS und in Tierexperimenten wurde eine erniedrigte ZO-1-Expression nach Exposition mit Kokain beschrieben, die sich jedoch beim Menschen noch nicht bestätigen ließ. In einer Post-mortem Studie am Menschen zeigte sich bei Heroinkonsumenten im frontalen Kortex eine signifikant niedrigere Immunopositivität für ZO-1, nicht aber bei Kokainkonsumenten [Moretti et al. 2019].

1.8 Fragestellung

In einigen Arbeiten konnten bereits eine gesteigerte Permeabilität der BHS und eine Reduktion der Expression von ZO-1 im Zusammenhang mit Drogenkonsum nachgewiesen werden. Auf dieser Basis stellt sich nun die Frage nach dem Ausmaß dieser morphologischen Veränderungen in den einzelnen Hirnregionen beim Menschen. Diese Frage soll in der vorliegenden Arbeit näher beleuchtet werden. Zu diesem Zweck wurde eine Gruppe an Drogen verstorbenen Personen mit einer Kontrollgruppe verglichen. Histologische Schnitte aus unterschiedlichen Hirnregionen beider Gruppen wurden mit einer immunhistochemischen Methode gefärbt, wobei zur gezielten Untersuchung der Blutgefäße ein Antikörper gegen das ZO-1 verwendet wurde. Ausgewertet wurden die Schnitte unter einem Lichtmikroskop. Zusätzlich wurde noch eine Gruppe HIV-1-infizierter, verstorbenen Personen in diese Arbeit einbezogen, um einen Vergleich zu einer Infektionskrankheit ziehen zu können, die ebenfalls mit einer Schädigung der Blut-Hirn-Schranke einhergeht.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

In dieser Arbeit wurden Gehirne von 26 Drogentodesfällen aus dem Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München untersucht. Als Auswahlkriterien dienten die postmortale Liegezeit und das Ergebnis des Drogenschnelltests bei der Obduktion. In allen Fällen bis auf eine Ausnahme wurde eine chemisch-toxikologische Zusatzuntersuchung (auf Heroin, Codein, Methadon, THC, Benzodiazepine, Barbiturate, Kokain, Amphetamine, tricyclische Antidepressiva) durchgeführt. In dem einen Fall wurde auf diese Untersuchung verzichtet, da der Betroffene bis zu seinem Tod über einen längeren Zeitraum im Krankenhaus behandelt wurde, nachdem er unter anderem MDMA konsumierte. In allen Fällen erfolgte bei der Obduktion ein HIV-Schnelltest. Je nach Verfügbarkeit wurden die Ermittlungsunterlagen der Polizei und Staatsanwaltschaft sowie die Daten des Bayerischen Landeskriminalamts mit einbezogen.

Als Kontrollfälle wurden Gehirne von 15 Verstorbenen ohne Hinweise auf Drogen- oder Medikamentenmissbrauch herangezogen. Abgesehen von einem Fall, der an einer Alkoholintoxikation verstarb, gab es in den untersuchten Kontrollen keinen Anhalt für einen Alkoholmissbrauch. In keinem der Kontrollfälle lag eine Erkrankung des ZNS vor.

Außerdem wurden noch die Gehirne von 7 HIV-1-infizierten Verstorbenen untersucht.

In keinem der in dieser Arbeit untersuchten Fälle gab es Anhaltspunkte für ein erlittenes Schädelhirntrauma. Ein Votum der Ethikkommission der Universität München war zum Zeitpunkt der Themenvergabe nicht erforderlich.

Die asservierten Gehirne wurden nach der Entnahme bei der Obduktion in 4 %igem gepufferten Formalin fixiert. Die Dauer der Fixation betrug 4 bis 22 Tage. Das Großhirn wurde danach in 0,5 bis 1 cm dicke koronare Scheiben und der Hirnstamm in transversale Scheiben gleicher Dicke geschnitten; das Kleinhirn wurde sagittal am Wurm durchtrennt und die einzelnen Hemisphären wurden sodann in tortenähnliche Stücke geschnitten. Aus nachfolgenden Hirnregionen wurden histologische Proben entnommen und untersucht:

1. Frontoorbitalregion - Kortex (froorbco), weiße Substanz (froorbwm)
2. Frontalregion - Kortex (froco), weiße Substanz (frowm)
3. Parietalregion - Kortex (parco), weiße Substanz (parwm)
4. Temporalregion - Kortex (temco), weiße Substanz (temwm)
5. Okzipitalregion - Kortex (occo), weiße Substanz (occwm)
6. Basalganglien - Nucleus caudatus (bagnc), Putamen (bagpu), Pallidum (bagpa), Capsula interna (bagci)
7. Thalamus (tha)
8. Mesencephalon - Kerngebiete (meskg), Substantia nigra (messn)
9. Pons - Kerngebiete (ponkg), Pyramidenbahn (ponpy)
10. Medulla oblongata - Kerngebiete (medkg), Nucleus olivaris (medno)
11. Kleinhirn - Stratum moleculare des Kortex (cblco), weiße Substanz (cblwm), Nucleus dentatus (cblnd)

2.2 Neurohistopathologische Untersuchungen

Die histologischen Proben wurden nach Wässern unter fließendem Wasser und Dehydratation in Paraffin eingebettet, im Anschluss wurden von den Paraffinblöcken 5 µm dicke Schnittpräparate generiert. In jeder der oben genannten Regionen wurde jeweils eine Färbung mit Hämatoxylin-Eosin, eine kombinierte Nervenzell- und Markscheidenfärbung mit Luxol-Fast Blue (Klüver-Barrera) und eine Bindegewebsfärbung nach van Gieson-Elastika angefertigt sowie eine PAS (Periodic-acid-Schiff)- und eine Eisenreaktion durchgeführt. Die systematische mikroskopische Untersuchung dieser Präparate erfolgte durch Prof. Dr. Andreas Büttner, ehemals Institut für Rechtsmedizin München.

2.3 Immunhistochemische Untersuchung des ZO-1 Proteins

Mit den Methoden der Immunhistochemie können zelluläre Antigene mit Hilfe von Antikörpern, die spezifisch gegen diese gerichtet sind, identifiziert und lokalisiert werden [Böcker et al. 2004]. Sichtbar werden die Antigen-Antikörper-Reaktionen dann durch farbgebende Enzymmarker. Diese Methode ist bereits etabliert, reliabel anwendbar und ermöglicht eine sichere Identifizierung der zu untersuchenden Zellen beziehungsweise der Zell- und Gewebsbestandteile. Aus diesen Gründen wurde sie für diese Arbeit ausgewählt.

Die Färbung der unter 2.1 aufgelisteten histologischen Schnitte erfolgte durch die modifizierte Avidin-Biotin-Complex (ABC)-Methode [Boenisch 2003, Hsu et al. 1982]. Dieses Verfahren stellt ein sogenanntes indirektes immunhistochemisches Nachweisverfahren dar. Die einzelnen Schritte dieser Methode sind wie folgt:

- Ein spezifisch gegen das zu untersuchende Antigen gerichteter Primärantikörper erzeugt eine Antigen-Antikörper-Bindung.

- An den Primärantikörper bindet in einem zweiten Schritt ein Biotin-konjugierter (biotinierter) Sekundärantikörper.
- An das Biotin des Sekundärantikörpers bindet zuletzt ein Komplex aus Peroxidase-konjugiertem Streptavidin und erzeugt die Farbreaktion.

Zunächst wurde in einer Verdünnungsreihe die optimale Antikörperkonzentration ermittelt. Um die Spezifität der Immunreaktivität zu überwachen, wurde während jedes Färbeporgangs eine Positiv- und Negativkontrolle mitgeführt. Die Antigen-Antikörper-Bindungen wurden mittels Diaminobenzidin (DAB)-Chromogen visualisiert, welches lichtmikroskopisch als braunes Präzipitat sichtbar ist [Boenisch 2003].

Zur Untersuchung eventueller Schäden der Blut-Hirn-Schranke kam als Primärantikörper ein Antikörper gegen das ZO-1 zur Anwendung. Die immunhistochemische Färbung erfolgte an den histologischen Schnitten der Drogen-, Kontroll- und HIV-1-infizierten Fälle jeweils bei Raumtemperatur. Detaillierte Angaben zu den einzelnen Chemikalien finden sich im Anhang in der Tabelle 7.7.

Die einzelnen Schritte der immunhistochemischen Färbung sind wie folgt:

1. *Entparaffinierung* in Xylol für 2 x 10 min.
2. *Rehydratation* in absteigender Ethanolreihe: 2 x 100 %ig, 2 x 90 %ig, 2 x 80 %ig, 1 x 70 %ig für jeweils 1 min.
3. Spülen in Aqua destillata.
4. Spülen in Phosphate buffered saline (PBS)-Puffer für 10 min.
5. Vorbehandlung des Gewebes für den Primärantikörper durch Inkubation in Protease (0,025 g auf 250 ml Aqua destillata) für 10 min.

6. Spülen in PBS-Puffer für 10 min.
7. *Hintergrundreduktion* durch Gewebebehandlung mit Ethanol/H₂O₂-Lösung 3 %ig für 10 min zur Unterdrückung der endogenen Peroxidaseaktivität.
8. Spülen in PBS-Puffer für 10 min.
9. *Blockierung unspezifischer Bindungen* durch 10 %iges nicht-immun Serum (Ziege) [Histostain®-Plus Kit/Gebrauchsfertiges Reagens A] für 8 min in der Feuchtkammer.
10. Abkippen des Reagens A.
11. Inkubation mit dem *Primärantikörper* anti-ZO-1 (Klon Z-R1, polyklonal; Verdünnung 1:100 in Dako® Antibody Diluent) für eine Stunde in der Feuchtkammer.
12. Spülen in PBS-Puffer für 2 x 2 min.
13. Inkubation mit dem *biotinilierten Sekundärantikörper* [Histostain®-Plus Kit/Gebrauchsfertiges Reagens B] für 15 min in der Feuchtkammer.
14. Spülen in PBS-Puffer für 2 x 2 min.
15. Inkubation mit dem *Streptavidin-Peroxidase-Konjugat* [Histostain®-Plus Kit/Gebrauchsfertiges Reagens C] für 15 min in der Feuchtkammer.
16. Spülen in PBS-Puffer für 2 x 2 min.
17. Inkubation mit der *DAB-Lösung* (3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochlorid Substrate Kit) für 5 min bei offener Feuchtkammer.
18. 10 min in Aqua destillata.
19. *Gegenfärbung* mit Mayer's Hämalaun für 5 min.
20. Bläuen unter fließendem Leitungswasser für 10 min.
21. *Dehydratation* in aufsteigender Ethanolreihe: 2 x 70 %ig, 2 x 80 %ig, 2 x 90 %ig, 2 x 100 %ig für jeweils 1 min.
22. Einlegen in Xylol: 2 x für je 5 min.

23. Eindeckeln der Gewebeschnitte in Histofluid.

2.4 Morphometrische Auswertung in grauer und weißer Substanz

Die Gewebeschnitte wurden unter einem Leitz Laborlux S Mikroskop bei 400-facher Vergrößerung (40x Objektiv, 10x Okular) ausgewertet. In das Okular war ein quadratisches Gitternetz mit einer Kantenlänge von 315 µm eingelassen, welches das Messfeld darstellte.

Der Kortex wurde nach dem „systematic row sampling“ ausgewertet [Weis 1991]. Hierbei wurde ein Gebiet mit geradem Verlauf der Rindenoberfläche ausgewählt. Sodann wurde das erste Messfeld an der pialen Oberfläche positioniert. Nun wurden alle immunpositiven Blutgefäße in diesem Messfeld gezählt, einschließlich derer, die den linken bzw. oberen Rand des Messfeldes berühren, nicht jedoch diejenigen, die den rechten bzw. unteren Rand berühren (Regel der verbotenen Linien) [Gundersen 1977 und 1978]. Danach wurde das Messfeld nach unten verschoben, so dass es genau anschließend an das erste Messfeld zu liegen kam. Auf diese Weise wurde bis zum Erreichen der weißen Substanz fortgefahren, wodurch eine vertikale Reihe entstand. Danach wurde das Messfeld wieder zur pialen Oberfläche geführt und seitlich anschließend an das erste Messfeld der ersten Reihe platziert, um eine zweite vertikale Reihe auszuzählen.

In den übrigen oben aufgeführten Regionen erfolgte die Auswertung nach dem „random systematic sampling“ [Weis 1991]. Hierbei wird die Position des ersten Messfeldes rein zufällig gewählt. Die weiteren Felder wurden vom ersten Messfeld ausgehend mäanderförmig ausgewählt. Insgesamt kamen jeweils 10 Gesichtsfelder pro Region zur Auswertung.

Zum Nachweis von Schädigungen der Blut-Hirn-Schranke mittels der immunhistochemischen Markierung von ZO-1 wurde dann folgende Kategorisierung vorgenommen:

1 = kein Nachweis ZO-1-positiver Anfärbungen in den Gefäßwänden,

2 = vereinzelte sichtbare Foci ZO-1-positiver Anfärbungen beziehungsweise lediglich geringgradige ZO-1-positive Anfärbung von Gefäßwänden,

3 = deutlich sichtbare, kontinuierliche Anfärbungen über weite Anteile der Gefäßwand bis hin zu kompletten Auskleidungen eines Blutgefäßes.

Gemäß diesen Kriterien wurden in jeder Region die Gefäßanschnitte je nach Färbeintensität kategorisiert und somit drei Gruppen zugeordnet. Ebenso wurde die Gesamtanzahl der gewerteten Gefäßanschnitte erfasst (Totalwert), die sich demnach aus den Anzahlen der Gefäßanschnitte der jeweiligen drei Gruppen zusammensetzt und deshalb von diesen Werten abhängig ist.

Mittels oben genannter Verfahren erfolgte die Datenerhebung für die Hirnregionen in Drogen-, Kontroll- und HIV-1-positiven Personen.

In einem zweiten Arbeitsschritt erfolgte die Berechnung der Dichte der Gefäßanschnitte, wobei die Dichte der jeweiligen Kategorisierungen einzeln und der Totalwert berechnet wurden. Hierbei wurde folgende Formel angewandt:

$$\text{Dichte der Gefäßanschnitte} = \frac{\text{Anzahl der jeweiligen Blutgefäße}}{\text{Anzahl der Gesichtsfelder} \times \text{Messfeldfläche}}$$

Die einzelne Messfeldfläche betrug 0,099225 mm².

2.5 Statistische Auswertung

Die am histologischen Schnitt erhobenen Daten wurden in eine Datenmatrix eingegeben. Zur statistischen Auswertung wurde das SPSS-Programm (Statistical Package for the Social Sciences) verwendet. Hierbei wurden eine univariate Varianzanalyse für die jeweiligen Totalwerte und eine multivariate Regressionsanalyse für die einzelnen Kategorisierungen durchgeführt. Als statistisch signifikant gelten in diesen Tests p-Werte unter 0,05.

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeine Daten

Die in dieser Arbeit untersuchte Gruppe der Drogentoten besteht aus 17 männlichen Personen im Alter von 16 bis 44 Jahren (Mittelwert 28 Jahre) und 9 weiblichen Personen im Alter von 18 bis 38 Jahren (Mittelwert 24 Jahre). Die postmortem-Zeiten lagen zwischen 3 bis 78 Stunden (Mittelwert 29 Stunden). Die Dauer des polizeilich bekannten Drogenkonsums betrug 4 bis 264 Monate (Mittelwert 82 Monate). In 5 Fällen lagen keine Erkenntnisse über die Dauer des Drogenkonsums vor. Die Fixationsdauer betrug 6 bis 22 Tage mit einem Mittelwert von 10 Tagen (siehe Anhang Tabelle 7.1).

Die Kontrollgruppe umfasst 10 männliche Personen im Alter von 27 bis 47 Jahren (Mittelwert 37 Jahre) und 5 weibliche Personen im Alter von 12 bis 59 Jahren (Mittelwert 32 Jahre). Die postmortem-Zeiten betragen 3 bis 64 Stunden (Mittelwert 21 Stunden) und die Fixationsdauer 4 bis 14 Tage (Mittelwert 8 Tage). In keinem der Fälle waren in der Vorgeschichte neurologische und psychiatrische Erkrankungen bekannt. Auch gab es bei der Obduktion und histopathologischen Untersuchung in keinem Fall Hinweise auf eine ZNS-Erkrankung (siehe Anhang Tabelle 7.2). Der HIV-Schnelltest war in allen Fällen der Drogen- und Kontrollgruppe negativ.

In der Gruppe der durch HIV-1 infizierten Personen befinden sich 7 männliche Personen im Alter von 26 bis 48 Jahren (Mittelwert 34 Jahre). Die postmortem-Zeiten lagen zwischen 16 bis 78 Stunden mit einem Mittelwert von 42 Stunden und die Fixationsdauer 6 bis 13 Tage mit einem Mittelwert von 10 Tagen (siehe Anhang Tabelle 7.3).

3.2 Chemisch-toxikologische Untersuchungen

Die chemisch-toxikologischen Zusatzuntersuchungen konnten in insgesamt 9 Fällen nur eine Drogensubstanz nachweisen. In 7 Fällen waren dies Opiate und in jeweils einem Fall Kokain und Amphetamine. In den übrigen Fällen wurden neben der todesursächlichen Substanz noch weitere Substanzen nachgewiesen.

Die todesursächlichen Substanzen lassen sich dabei in folgende Gruppen untergliedern:

Substanz	Anzahl	% der Fälle
Opiate	20	77
Substitutionsmittel	3	12
Amphetamine/MDMA	2	8
Kokain	1	4

Die chemisch-toxikologischen Untersuchungen konnten somit belegen, dass 89 % der untersuchten Drogentoten an einer Opioidintoxikation verstarben. Bezüglich der Opioiden waren in diesen Fällen entweder nur Heroin oder Methadon alleine oder Kombinationen aus mehreren Opioiden nachzuweisen.

Die Anteile der einzelnen Substanzgruppen der Opioiden und der Kombinationen lassen sich wie folgt aufgliedern:

Opioid	Anzahl	% der Fälle
Heroin	15	65
Heroin + Dihydrocodein	2	9
Methadon	2	9

Heroin + Methadon	2	9
Methadon + Dihydrocodein	1	4
Heroin + Dihydrocodein + Methadon	1	4

In 13 Fällen der an einer Opioidintoxikation Verstorbenen konnte ein Beikonsum zusätzlicher Substanzen nachgewiesen werden, wie die folgende Tabelle verdeutlicht.

Drogensubstanz	Anzahl	% der Fälle
Kokain	3	13
Cannabis	5	22
Benzodiazepine/Barbiturate	11	48

3.3 Neurohistopathologische Untersuchungen

Die wesentlichen histopathologischen Ergebnisse der untersuchten Gruppen sind bei Büttner und Weis (2006) ausführlich dargestellt.

In bis zu 90 % der Todesfälle durch eine Opiat-/Opioidintoxikation zeigen sich bei der Obduktion Hirnödeme mit erhöhtem Hirngewicht und ausgeprägten Hirndruckzeichen sowie eine vaskuläre Stase. Auch bei MDMA-Konsumenten sind Hirnödeme häufig nachweisbar [Büttner und Weis 2006, Büttner 2011, 2021].

Die Gefäßwände Polytoxikomaner weisen histologisch einen Verlust des Kollagens Typ IV an der Basalmembran auf [Büttner et al. 2005]. Ebenso zeigen sich dort konzentrische Wandverdickungen und Mineralisationen [Büttner und Weis 2006, Büttner 2011, 2021]. Das Endothel weist Schwellungen, Hyperplasien und Zeichen einer reaktiven Proliferation auf [Büttner und Weis 2006].

Histologische Zeichen einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke (BHS) bei Polytoxikomanen sind Erweiterungen des perivaskulären Raums, perivaskuläre Lymphozytenaggregate und pigmenttragende Makrophagen sowie gelblich-bräunliche, PAS („Periodic Acid Schiff“)- und Eisen-negative Pigmentablagerungen [Büttner und Weis 2006, Büttner 2011, 2021].

3.4 Immunhistochemische Untersuchung des ZO-1 Proteins

Die mit einem Antikörper gegen ZO-1 erzielten Nachweise reichten von vereinzelt ZO-1-positiven Anfärbungen an den Endothelzellen (Abbildung 3.1) über diskontinuierliche Anfärbung (Abbildung 3.2) bis hin zu vollständigen Auskleidungen der Gefäßwände (Abbildung 3.3).

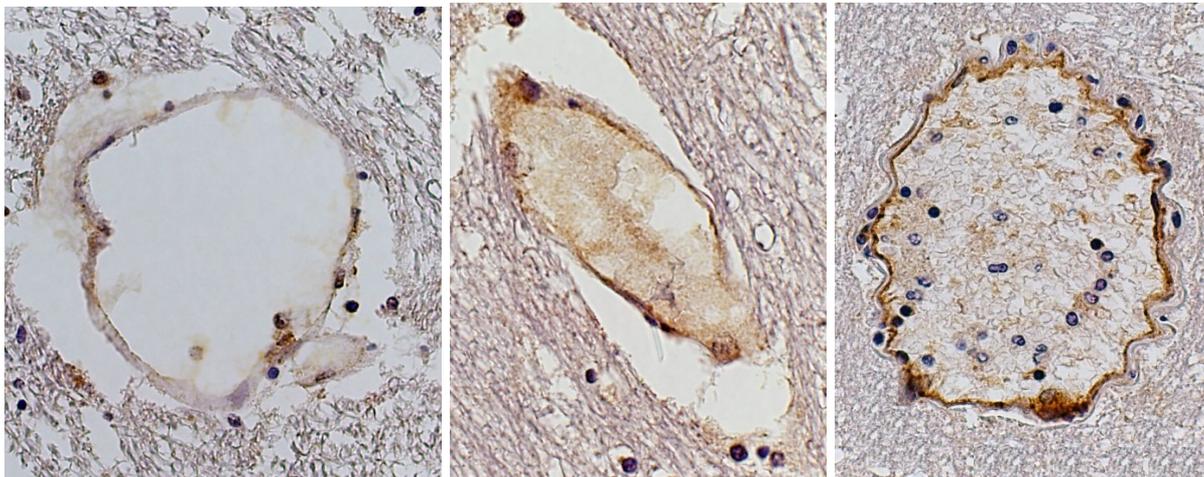


Abbildung 3.1 bis 3.3. Spektrum der ZO-1-Anfärbungen in den Blutgefäßwänden (Originalvergrößerung jeweils 600x, Gegenfärbung mit Hämalaun. Die Bilder wurden mit einem Olympus BX51 Mikroskop mit aufgesetzter DP72 Digitalkamera aufgenommen - auf einen Maßstab wurde bewusst verzichtet.)

Mit einem Antikörper gegen ZO-1 konnte in der immunhistochemischen Untersuchung in der Drogengruppe gegenüber der Kontrollgruppe im temporalen und okzipitalen

Kortex sowie in der weißen Substanz der frontoorbitalen, frontalen, parietalen, und okzipitalen Regionen ein signifikant geringeres Auftreten von ZO-1-immunopositiven Anfärbungen in den Gefäßanschnitten nachgewiesen werden. In den übrigen Regionen war kein signifikanter Unterschied sichtbar (siehe Anhang Tabelle 7.4 der univariaten Varianzanalyse).

Bei Betrachtung der numerischen Dichte der Gefäßanschnitte bezogen auf die einzelnen Kategorisierungen zeigt sich in der Drogengruppe in allen untersuchten Hirnregionen ein signifikanter Unterschied bezüglich der Dichte von Gefäßanschnitten der Kategorien 1 (keine Färbung) und 2 (geringgradige Färbung) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Hinsichtlich der Kategorie 3 (starke Färbung) ergibt sich in einigen Regionen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen, und zwar im gesamten Großhirn (frontoorbital, frontal, parietal, temporal, okzipital) sowohl im Kortex als auch in der weißen Substanz sowie im Ncl. caudatus. Einzige Ausnahme hier ist die frontoorbitale weiße Substanz, dort war, wie in den übrigen Regionen auch, ein signifikanter Unterschied nachzuweisen (siehe Anhang Tabelle 7.5 der multivariaten Regressionsanalyse).

Die HIV-1-positive Gruppe zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe in der frontalen und parietalen weißen Substanz, im Putamen, im Pons im Bereich der Pyramidenbahn und in den Kerngebieten der Medulla oblongata ein signifikant geringeres Auftreten von ZO-1-immunopositiven Anfärbungen in den Gefäßanschnitten, in den übrigen Regionen zeigte sich kein signifikanter Unterschied (siehe Anhang Tabelle 7.4 der univariaten Varianzanalyse).

Hinsichtlich der numerischen Dichte der Gefäßanschnitte ergeben sich zwischen den beiden Gruppen in der Kategorie 1 (keine Färbung) keine signifikanten Unterschiede in allen untersuchten Hirnregionen. Im Gegensatz hierzu ließen sich bei den anderen

beiden Kategorien signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachweisen: In der Kategorie 2 (geringgradige Färbung) ist dies der Fall im frontoorbitalen und temporalen Kortex, der frontalen, parietalen und temporalen weißen Substanz, im Putamen, der Capsula interna, im Thalamus, in den Kerngebieten des Mesencephalons, des Pons und der Medulla oblongata sowie in der Substantia nigra, pontinen Pyramidenbahn, im Ncl. olivaris und im gesamten Kleinhirn (Kortex, weiße Substanz, Ncl. dentatus). In der Kategorie 3 (starke Färbung) betrifft dies die frontoorbitale, parietale und okzipitale weiße Substanz, den Ncl. caudatus, das Putamen, die Capsula interna, den Thalamus, die Kerngebiete des Mesencephalons, des Pons und der Medulla oblongata, den Ncl. olivaris sowie das Kleinhirn im Bereich der weißen Substanz und des Ncl. dentatus (siehe Anhang Tabelle 7.5 der multivariaten Regressionsanalyse).

Das Alter übt in der univariaten Varianzanalyse in einigen Regionen einen Einfluss auf die Gesamtergebnisse aus; signifikante Werte zeigen sich in der okzipitalen weißen Substanz, im Ncl. caudatus, im Pons im Bereich der Pyramidenbahn und im Ncl. olivaris (siehe Anhang Tabelle 7.4). In der multivariaten Regressionsanalyse zeigt das Alter im kompletten Großhirn (Kortex und weiße Substanz) einen signifikanten Einfluss auf die Kategorien 1 und 2. In den übrigen Regionen lässt sich lediglich im Ncl. caudatus ein Einfluss auf die Kategorie 2 nachweisen (siehe Anhang Tabelle 7.5).

Das Geschlecht schien in der univariaten Varianzanalyse in der frontoorbitalen weißen Substanz, im Thalamus und im Ncl. dentatus des Kleinhirns einen Einfluss auszuüben (siehe Anhang Tabelle 7.4). In der multivariaten Regressionsanalyse zeigten sich signifikante Werte bezüglich der Kategorie 1 in der frontoorbitalen weißen Substanz und im okzipitalen Kortex (siehe Anhang Tabelle 7.5).

Hinsichtlich der postmortem-Zeiten übten diese in der univariaten Varianzanalyse einen Einfluss im okzipitalen Kortex, im Putamen, Pallidum, in der Capsula interna und im Thalamus aus (siehe Anhang Tabelle 7.4). In der multivariaten Regressionsanalyse beeinflussten diese die Kategorie 2 im Okzipitallappen (Kortex und weiße Substanz) und die Kategorie 3 im cerebellären Kortex (siehe Anhang Tabelle 7.5).

Die Fixationsdauer zeigte in der univariaten Varianzanalyse lediglich in der frontoorbitalen weißen Substanz einen Einfluss (siehe Anhang Tabelle 7.4). In der multivariaten Regressionsanalyse waren von deren Einfluss die Kategorie 1 in der Substantia nigra und den Kerngebiete der Medulla oblongata betroffen sowie die Kategorie 2 in der frontoorbitalen, frontalen, okzipitalen und cerebellären weißen Substanz, in den mesencephalen Kerngebieten und im Ncl. olivaris und die Kategorie 3 im frontoorbitalen Kortex (siehe Anhang Tabelle 7.5).

4 Diskussion

Die bislang durchgeführten größeren Obduktionsstudien an Drogentoten befassten sich primär mit epidemiologischen und chemisch-toxikologischen Daten, detaillierte neuropathologische Untersuchungen existieren jedoch kaum [Büttner 2011, 2021, Darke et al. 2000, Gerostamoulos et al. 2001, Kaa und Teige 1993, Penning et al. 1993, Preti et al. 2002, Püschel 1993a und b, Quaglio et al. 2001, Rössler et al. 1993, Steentoft et al. 2001]. Ob im menschlichen Gehirn Schädigungen der Blut-Hirn-Schranke durch einen Drogenkonsum verursacht werden, wurde bislang nur wenig untersucht. Ziel dieser Arbeit war deshalb die systematische lichtmikroskopische Analyse der Blutgefäße in den Gehirnen von Drogentoten unter Verwendung einer immunhistochemischen Methode.

4.1 Methode

Bedingt durch das vorgeschriebene Anordnungsverfahren zur gerichtsmedizinischen Obduktion konnte kaum Einfluss auf die postmortalen Liegezeiten der verstorbenen Personen genommen werden. Diese sollte jedoch möglichst kurz sein, um Artefaktbildungen zu vermeiden. Deshalb wurden in dieser Arbeit nur Gehirne ohne autolytische Veränderungen untersucht.

Das Geschlecht, die postmortem-Zeiten und die Fixationsdauer in gepuffertem Formalin zeigten nur in wenigen, vereinzelt Regionen einen signifikanten Einfluss. Deshalb haben diese Parameter keinen Einfluss auf die Gesamtergebnisse, da es keine biologische Erklärung gibt, warum nicht alle Regionen hiervon in gleichem Ausmaß betroffen sind. Jedoch lässt sich teils ein Einfluss des Alters der untersuchten Fälle feststellen.

Das in dieser Arbeit verwendete immunhistochemische Verfahren ist langjährig etabliert und sensitiv für die Identifizierung zellulärer Antigene. Um hiermit aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, ist jedoch eine große Sorgfalt und Sauberkeit in der Anwendung nötig. Zum einen muss der Antikörper in einer Verdünnungsreihe getestet werden, um die optimale Konzentration zu bestimmen. Zum anderen ist zur Überwachung der Reaktionsspezifität bei jedem Färbevorgang jeweils eine Positiv- und Negativkontrolle mitzuführen. Die jeweiligen Schritte der Gewebsvorbehandlungen, die Verdünnungen, pH-Werte und Inkubationszeiten sind bei jeder Färbung exakt einzuhalten. Diese Punkte wurden in der Studie genauestens berücksichtigt.

Um den Einfluss exogener Faktoren wie Umgebungs- und Reagenzientemperatur möglichst gering zu halten, wurden die Färbeserien parallel an den verschiedenen Gruppen an einem Tag durchgeführt.

Die mikroskopische Auswertung anhand der Rating-Skala musste ebenfalls sehr sorgfältig vorgenommen werden, um eine adäquate Einordnung der Anfärbbarkeit zu gewährleisten und um Doppelzählungen zu vermeiden. Eine detaillierte Dokumentation erfolgte durch fortlaufende Arbeitsprotokolle.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um keine unbiased design-based stereologische Untersuchung (UDBSU), wie von Schmitz und Hof 2005 beschrieben. So würde das von der Aarhus-Gruppe um Gundersen vorgeschlagene Samplingverfahren der histologischen Proben keine sichere Zuordnung zu einer spezifischen Hirnregion, insbesondere der Hirnrinde, erlauben. Ebenfalls wäre es nicht

möglich, die Hirnrinde in ihrer Gänze zu erfassen. Daher wurde hier das „Systematic Row Sampling“ (Weis 1991) durchgeführt.

In der design-based stereologischen Untersuchung von Gaus et al. 2023 hatte die postmortem-Zeit eine statistisch signifikante Auswirkung auf die untersuchte Anzahl und Dichte der Neuronen im Kortex der Area 24. Die Auswirkungen der postmortem-Zeit auf die Farbergebnisse wurden deshalb in dieser Arbeit wie oben erwähnt statistisch erhoben und mit berücksichtigt. Ein experimentelles Modell mit Ratten und Hirnentnahme nach unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Euthanasie konnte aus praktischen Gründen nicht durchgeführt werden. Die Fixationsdauer kann prinzipiell einen Einfluss auf das Hirngewicht bzw. Hirngröße haben. So zeigte Bauchot 1967, dass das Gehirn nach Entnahme bei Fixation an Volumen zunimmt, um nach etwa 6 Monaten das Ursprungsgewicht zu erreichen. Der Einfluss der Todesart auf die Ausprägung eines Hirnödems und damit auf das Hirnvolumen kann nicht reliabel und objektiv bestimmt werden. Die quantitativen Gewebsveränderungen während der Herstellung der Schnitte im Sinne von Residualvolumen 1 und Residualvolumen 2 nach Haug sind auch bei Fehlen der entsprechenden Infrastruktur nicht nachvollziehbar [Sass 1982, Kretschmann et al. 1982, Haug 1980].

Obwohl diese Untersuchung ein großes, gut dokumentiertes Kollektiv von Drogentoten einbezog, war der Einfluss einiger Variablen nicht zu verhindern. So existieren keine Eigenangaben zum tatsächlichen Beginn und zur Dauer des Drogenkonsums; die erstmalige polizeiliche Registrierung kann hier nur als grober Anhaltspunkt dienen. Ebenso sind die konsumierten Substanzen nur aus Kranken- und Polizeiakten bekannt. Erschwerend kommt hinzu, dass von den hier untersuchten Personen häufig eine Vielzahl an Drogen gleichzeitig oder abwechselnd eingenommen wurde, auch zusammen mit Alkohol und Nikotin. Interaktionen sind deshalb nicht ausschließbar.

Aus diesen Gründen lässt sich nicht mit endgültiger Bestimmtheit sagen, welche der Substanzen die Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke bewirkten. Einen weiteren wichtigen, nicht beeinflussbaren Faktor stellen die Lebensumstände der verstorbenen Personen dar. Auch war in den untersuchten Fällen nicht zu klären, ob die beobachteten Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke bereits vorbestehend waren. Hinzu kommt, dass keine Korrelationen zu klinischen Symptomen oder neuroradiologischen Auffälligkeiten untersucht werden konnten, weil ausführliche Krankenblattunterlagen nicht vorlagen oder diese nur Informationen über die Akutbehandlung bei Intoxikationen enthielten.

Die beschriebenen Probleme existieren jedoch in sämtlichen publizierten Studien und sind naturgemäß nicht zu vermeiden.

4.2 Chemisch-toxikologische Untersuchungen

Die in den in dieser Arbeit untersuchten Drogenfällen nachgewiesenen Substanzen und Substanzkombinationen entsprechen dem typischen Missbrauchsspektrum bei Drogentoten im rechtsmedizinischen Obduktionsgut [Büttner und Weis 2006, Darke et al. 2000, Kaa und Teige 1993, Oehmichen et al. 1996, Penning et al. 1993, Preti et al. 2002, Steentoft et al. 2001] und sind deshalb repräsentativ. NPS waren im untersuchten Kollektiv noch nicht aktuell und somit mit den vorhandenen Methoden nicht nachweisbar.

Die häufigste Todesursache der untersuchten Drogenfälle war mit 77 % die Heroinintoxikation, an zweiter Stelle stand mit 12 % die Intoxikation mit Substitutionsmitteln. 89 % dieser Drogentodesfälle waren damit durch Opioide verursacht. In Folge dessen kann davon ausgegangen werden, dass die

beschriebenen Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke hauptsächlich durch deren Einwirkung verursacht wurden.

In einem Fall war Kokain die todesursächliche Substanz und in zwei Fällen MDMA. Diese Substanzen finden sich auch bei Personen mit polytoxikomanem Konsummuster häufig. Ein Beikonsum von Benzodiazepinen konnte in 48 % der untersuchten Drogentoten nachgewiesen werden. Der zusätzliche Konsum von Benzodiazepinen wird von Opioidkonsumenten weltweit betrieben [Darke und Zador 1996, Gerostamoulos et al. 2001, Koch et al. 2002, Penning et al. 1993, Preti et al. 2002, Püschel 1993a und b, White und Irvine 1999]. Der Konsum von Alkohol wiederum war bei der Todesursache der untersuchten Drogenfälle kaum von Bedeutung, was auch daraus ersichtlich ist, dass bei der Obduktion in der Mehrheit dieser Drogenfälle keine alkoholtypischen Organschäden nachgewiesen wurden.

4.3 Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke

Korrespondierend zu früheren Untersuchungen, die einen Verlust von Kollagen Typ IV an der zerebrovaskulären Basalmembran nachweisen konnten [Büttner et al. 2005], zeigt sich in der immunhistochemischen Untersuchung bei der Drogengruppe eine signifikante Reduktion ZO-1-positiver Anfärbungen in den Gefäßanschnitten im temporalen und okzipitalen Kortex sowie in der weißen Substanz der frontoorbitalen, frontalen, parietalen, und okzipitalen Regionen verglichen mit der Kontrollgruppe, was eine Störung der BHS in diesen Regionen belegt. In der HIV-1-positiven Gruppe konnten im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls Störungen der BHS nachgewiesen werden, hier ergab sich in der frontalen und parietalen weißen Substanz, im Putamen, im Pons im Bereich der Pyramidenbahn und in den Kerngebieten der Medulla oblongata ein signifikant geringeres Auftreten von ZO-1-immunopositiven Anfärbungen in den Gefäßanschnitten. Die Ausprägung und anatomische Verteilung der Läsionen

scheint jedoch anders zu sein als in der Drogengruppe: Im Vergleich zu dieser sind in der HIV-1-positiven Gruppe eher vereinzelte Regionen betroffen, diese erstrecken sich vom Großhirn bis in den Hirnstamm. In der Drogengruppe hingegen fokussieren sich die Läsionen ausschließlich auf den Frontal- bis Okzipitallappen des Großhirns, und zwar auf beinahe die gesamte weiße Substanz, teils auch auf den Kortex, wobei im Gegensatz zur HIV-1-positiven Gruppe der Okzipitallappen umfassend betroffen ist. Die Basalganglien und der Hirnstamm erscheinen hier im Gegensatz zur HIV-1-positiven Gruppe nicht betroffen zu sein.

Auch bei der Betrachtung der numerischen Dichte der Gefäßanschnitte hinsichtlich der einzelnen Kategorisierungen fallen Unterschiede zwischen der Drogengruppe und der HIV-1-positiven Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe auf: In der Drogengruppe findet sich in allen untersuchten Hirnregionen ein signifikanter Unterschied in der numerischen Dichte von ungefärbten und geringgradig gefärbten Gefäßanschnitten, lediglich bei den stark gefärbten Gefäßanschnitten ergab sich im Großhirn im Bereich des Kortex und der weißen Substanz sowie im Ncl. caudatus kein signifikanter Unterschied. Im Gegensatz hierzu zeigt sich in der HIV-1-positiven Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied in der numerischen Dichte von ungefärbten Gefäßen, das Gewicht liegt hier eher innerhalb der geringgradig und stark gefärbten Gefäßanschnitte. Die anatomische Verteilung gestaltet sich ebenfalls anders als in der Drogengruppe, da hier diese Unterschiede im Frontal- bis Okzipitallappen des Großhirns weniger ausgeprägt zu sein scheinen. Auch insgesamt weist die HIV-1-positive Gruppe im Vergleich in weniger Regionen des Gehirns signifikante Unterschiede auf, nicht betroffen sind hier der frontale, parietale und okzipitale Kortex sowie das Pallidum.

Das Alter der untersuchten Fälle übt teils einen Einfluss auf die Gesamtergebnisse aus. Während die univariate Varianzanalyse hier nur in vereinzelt Regionen einen Einfluss zeigt (okzipitale weiße Substanz, Ncl. caudatus, Pons im Bereich der Pyramidenbahn, Ncl. olivaris), weist diese Variable in der multivariaten Regressionsanalyse im kompletten Großhirn (Kortex und weiße Substanz) einen signifikanten Einfluss auf die Kategorien 1 und 2 und im Ncl. caudatus auf die Kategorie 2 auf.

In der Zusammenschau lässt sich somit feststellen, dass die Drogengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe in den o. g. Regionen des Großhirns eine signifikante Reduktion ZO-1-positiver Anfärbungen in den Gefäßanschnitten aufweist. Dort und ebenso in allen übrigen untersuchten Regionen ergeben sich in der Drogengruppe im Vergleich auch signifikante Unterschiede in der Dichte ungefärbter und geringgradig gefärbter Gefäßanschnitte. In den Regionen des Großhirns mit den signifikant reduzierten ZO-1-positiven Anfärbungen übt jedoch zusätzlich das Alter der untersuchten Personen einen Einfluss auf die Dichte ungefärbter und geringgradig gefärbter Gefäßanschnitte aus. Eine Ursache hierfür könnte sein, dass mit zunehmenden Alter in der Regel auch die Dauer des Drogenkonsums ansteigt (s. Anhang Tabelle 7.1), was zu einer verstärkten Ausprägung der Auffälligkeiten führen könnte.

Bei den hier beschriebenen Läsionen der BHS sind differentialdiagnostisch folgende Krankheitsbilder in Erwägung zu ziehen:

Die *hypoxisch-ischämische Enzephalopathie* entsteht nach prolongierten Perioden von Hypoxämie und Zirkulationsstörungen mit Hypotension. Sie tritt z. B. als Folge einer Kohlenmonoxidintoxikation, einer überlebten Strangulation und eines protrahierten

Herz-Kreislaufstillstands auf [Ginsberg et al. 1976]. In der weißen Hirnsubstanz sind kleinere Demyelinisierungen, aber auch ausgeprägte Nekrosen nachweisbar. Auch nach einer Überdosierung von Opioiden, welche nach primärer respiratorischer Depression zu einer prolongierten Hypotension führt, wurde dieses Krankheitsbild beschrieben [Ginsberg et al. 1976, Protass 1971]. In diesen Fällen entstand die Enzephalopathie jedoch einige Tage nach klinischer Remission und war deshalb mit einer längeren Überlebenszeit verbunden. Aus diesem Grund kann eine hypoxisch-ischämische Enzephalopathie in den in dieser Arbeit untersuchten Drogentodesfällen nicht die alleinige Ursache sein.

Die *HIV-1-assoziierte Enzephalopathie*, auch AIDS-Demenz-Komplex [Navia et al. 1986], HIV-1-assoziierte Demenz [Boven et al. 2000, Dallasta et al. 1999] oder „HIV-assoziiertes kognitiver/motorischer Komplex [American Academy of Neurology 1991] genannt, stellt letztlich eine Form der Demenz dar. Klinisch imponieren Störungen der Feinmotorik, Gedächtnis- und Konzentrationsstörungen, Auffassungsstörungen, eine Verlangsamung in der Reagibilität im Kontaktverhalten, ein Antriebsverlust mit Initiativlosigkeit, ein sozialer Rückzug mit Verlust sozialer Kompetenzen und eine depressive Affektlage mit reduzierter Schwingungsfähigkeit. Dieses Krankheitsbild kann in eine schwere Demenz, eine spastische Tetraparese mit Blasenstörungen sowie einen Mutismus münden [Boven et al. 2000, Budka 1991, Dallasta et al. 1999, Navia et al. 1986]. Morphologisch lassen sich diffuse, meist symmetrische subkortikale und neokortikale Schädigungen der weißen und grauen Hirnsubstanz, eine diffuse Blässe der weißen Substanz, bedingt durch den Untergang von Myelinscheiden, eine Schädigung bzw. ein Verlust von Neuronen, eine reaktive Astroglie, eine Vermehrung der Mikroglia sowie eine perivaskuläre und parenchymale Anhäufung von Makrophagen und multinukleäre Riesenzellen nachweisen. Letztere gelten als

typisches histologisches Kennzeichen einer HIV-Infektion. Das Endothel zeigt eine Hypertrophie, ebenso einen Verlust membranärer Glykoproteine und eine Ausdünnung der Basallamina [Budka 1991, Dallasta et al. 1999, Gosztonyi et al. 1991, Ketzler et al. 1990, Weis et al. 1993a und 1993b, Weis et al. 1994, Weis et al. 1996, Büttner et al. 1996, Itoh et al. 1996]. Bei 50 % der AIDS-Personen, die früher Drogen konsumierten, zeigen die Wände kleiner Blutgefäße konzentrische Verdickungen und Mineralisationen, auffällig sind auch Erweiterungen des perivaskulären Raums, Pigmentablagerungen und perivaskuläre Infiltrate inflammatorischer Zellen. Ähnliche Gefäßveränderungen sind auch bei HIV-negativen Polytoxikomanen nachzuweisen [Büttner und Weis 2006, Büttner 2011, 2021].

Boven et al. (2000) konnten in einer immunhistochemischen post-mortem-Studie beim Menschen im frontalen Kortex eine klare Relation der Monozyteninfiltration mit dem Verlust des ZO-1 in den TJ der Blutgefäße und der HIV-assoziierten Demenz nachweisen. Diese tritt jedoch erst spät im Verlauf einer HIV-1-Infektion auf. Die Zunahme der Permeabilität der BHS entwickelt sich dabei langsam und tritt erst am Höhepunkt der HIV-1-assoziierten Enzephalopathie in Erscheinung [Dallasta et al. 1999]. Dallasta et al. (1999) beschrieben eine signifikante Reduktion der ZO-1-Immunoreaktivität in der subkortikalen weißen Substanz, in den Basalganglien und -etwas geringer ausgeprägt- im Kortex bei Personen mit HIV-1-assoziiierter Enzephalopathie, die mit einer Extravasation von Serumproteinen und einer Astrozytose assoziiert war. Im Cerebellum zeigte sich kein Unterschied in der ZO-1-Expression. Im Gegensatz hierzu konnte bei mit HIV-1 infizierten Personen ohne HIV-1-assoziiierter Enzephalopathie in all diesen Regionen kein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrolle belegt werden.

Die Mehrzahl der Studien, die Störungen der BHS durch den Einfluss von Drogensubstanzen untersuchten, wurden bislang an Zellkulturen und Tiermodellen durchgeführt [Moretti et al. 2019]. Zellkulturen erweisen sich jedoch in zweierlei Hinsicht als problematisch. Zum einen verwenden viele Untersuchungen Endothelzellen aus z. B. der Aorta, die einfacher zu gewinnen sind als zerebrale Endothelzellen. Das Endothel der BHS zeigt jedoch bezüglich der molekularen Struktur der TJ mehr Ähnlichkeiten mit Epithelzellen als mit Endothelzellen peripherer Blutgefäße, aber auch wiederum entscheidende Unterschiede zum Epithel hinsichtlich Barriereigenschaften und Sensitivität auf extrinsische Faktoren [Kniesel und Wolburg 2000, Rubin und Staddon 1999]. Deshalb können Erkenntnisse aus Kulturen von Epithelzellen nicht ohne weiteres auf das zerebrale Endothel übertragen werden. Zum anderen verlieren zerebrale Endothelzellen in Kultur nach einiger Zeit ihre für die BHS typischen Charakteristika wie die hohe Permeabilitätsbarriere, die nur durch Signale von Astrozyten ausgebildet werden. Trotz der Verwendung von Co-Kulturen mit Astrozyten lässt sich dieses Problem nicht vollständig beheben, da auch hierdurch die Diffusionsbarriere nicht mehr das Niveau, das in vivo beobachtet werden kann, erreicht [Bazzoni und Dejana 2004, Kniesel und Wolburg 2000, Rubin und Staddon 1999].

Eine immunhistochemische Untersuchung zu den Schädigungen der BHS bei Drogentoten wurde von Moretti et al. (2019) durchgeführt. In dieser Arbeit wurden insgesamt 30 Drogentote untersucht, die entweder an einer Monointoxikation von Heroin oder Kokain oder an einer Mischintoxikation beider Substanzen verstarben. Mittels eines Antikörpers gegen ZO-1 wiesen die Autoren bei den Heroinkonsumenten eine signifikant niedrigere ZO-1-Immunopositivität im frontalen Kortex nach, jedoch nicht bei den reinen Kokainkonsumenten. Andere Hirnregionen wurden in dieser Studie nicht untersucht. Eine HIV-Infektion galt als Ausschlusskriterium. Als Kritikpunkt dieser

Arbeit betrachteten die Autoren ebenfalls das Problem des Polysubstanzgebrauchs, weshalb dieser Effekt nur schwer einer spezifischen Substanz zuzuordnen ist. Erwähnt wird auch das Problem des hohen Infektionsrisikos bei den Drogenabhängigen ihres Kollektivs.

Die nachgewiesenen Befunde in der BHS sind somit am ehesten Folge einer direkten toxisch-metabolischen Drogeneinwirkung, die v.a. von Opioiden hervorgerufen wird. Hierbei scheint es sich um einen Prozess zu handeln, der durch eine zerebrale Hypoxie entweder induziert oder verstärkt wird.

Bei den in dieser Untersuchung festgestellten Schädigungen der BHS im Sinne einer Unterbrechung der TJ kann es sich entweder um einen akuten Zusammenbruch oder ein chronisches Geschehen handeln, insbesondere da Drogenabhängige über Monate bis Jahre hinweg regelmäßig Suchtmittel konsumieren. Die Folge hiervon könnte sein, dass das Hirnparenchym plötzlich ungeschützt Bestandteilen des Blutes wie Serumproteinen einschließlich Immunglobulinen ähnlich wie dem HIV-1 ausgesetzt ist, was dann zu neuroinflammatorischen Prozessen führt. Dieser Vorgang könnte auch der Stimulus für die perivaskulären Lymphozytenaggregate sein, die gelegentlich in den Gehirnen HIV-negativer Drogenkonsumenten gefunden wurden [Büttner und Weis 2006, Büttner 2011, 2021]. Zusätzlich konnten in Gehirnen Polytoxikomaner Auffälligkeiten an den Gefäßen in Form von reaktiven Endothelzellproliferationen, degenerativen hyalinen Verdickungen, Endothelschwellungen und eine Endothelzellhyperplasie nachgewiesen werden [Büttner und Weis 2006]. Die vaskuläre Basallamina weist einen verringerten Gehalt des Kollagen IV auf [Büttner et al. 2005]. Drogenkonsum scheint somit eine Kaskade von miteinander interagierenden direkt toxischen, vaskulären und hypoxischen Effekten zu initiieren, die dann schlussendlich

zu umfangreichen Störungen der komplexen Interaktionen der Zellen im ZNS führen. [Büttner und Weis 2006, Büttner 2011, 2021, Moretti et al. 2019].

Wenn auch 89 % der in dieser Arbeit untersuchten Fälle an einer akuten Opioidintoxikation verstorben sind und damit diese am ehesten für die Veränderungen verantwortlich zu sein scheint, ist jedoch nach wie vor unklar, welche der konsumierten Drogensubstanzen in welchem Ausmaß hierzu beigetragen haben. Auch die Dosierungen und die Konsumzeiten, die zu den Läsionen führten, sind nicht zu bestimmen. Offen bleibt auch die Frage, ob die Veränderungen zu klinischen Symptomen oder neuroradiologischen Auffälligkeiten führten, was ein generelles Problem postmortaler Studien darstellt. Ebenso bleibt fraglich, ob es sich um reversible oder irreversible Veränderungen handelt. Um diese Fragen zu klären könnten z. B. Untersuchungen mit Tierexperimenten unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt werden. Weitere Studien an Drogentoten mit bekannter Anamnese oder ausschließlich monovalentem Konsum wären hierfür ebenso notwendig. Auch die weitere Untersuchung der parenchymalen ZNS-Komponenten wie z. B. Neuronen, Gliazellen und Myelinscheiden wäre aufschlussreich, denkbar wäre hier natürlich auch die Einbeziehung molekularer Techniken.

5 Zusammenfassung

Ausgehend von Berichten über Schädigungen der Blut-Hirn-Schranke durch Drogenkonsum wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, in welchen Regionen des ZNS sich morphologische Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke nachweisen lassen und welches Ausmaß sie annehmen. Durch die Einbeziehung von mit dem HIV-1 infizierten Verstorbenen wurde ein Vergleich zu einer Infektionskrankheit gezogen, bei der es bekanntermaßen zu Läsionen der Blut-Hirn-Schranke kommt.

Hierzu wurden Gehirnschnitte von 26 Drogentodesfällen, 15 Kontrollfällen ohne Hinweis auf Drogenmissbrauch und 7 mit dem HIV-1 infizierten Verstorbenen aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität München immunhistochemisch mit einem Antikörper gegen das Zonula occludens-1-Protein (ZO-1), ein zytoplasmatischer Bestandteil der Tight Junctions zwischen den Endothelzellen, die letztlich die Blut-Hirn-Schranke bilden, auf mögliche Schäden untersucht. Die systematische lichtmikroskopische Auswertung erfolgte semiquantitativ anhand einer 4-Punkte-Rating Skala.

Die immunhistochemische Untersuchung zeigte bei der Drogengruppe verglichen mit der Kontrollgruppe eine signifikante Reduktion ZO-1-positiver Anfärbungen im temporalen und okzipitalen Kortex sowie in der weißen Substanz der frontoorbitalen, frontalen, parietalen, und okzipitalen Regionen. Die HIV-1-positive Gruppe zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe in der frontalen und parietalen weißen Substanz, im Putamen, im Pons im Bereich der Pyramidenbahn und in den Kerngebieten der Medulla oblongata ein signifikant geringeres Auftreten von ZO-1-immunopositiven Anfärbungen in den Gefäßanschnitten. Das Alter der untersuchten Fälle hatte teils einen Einfluss auf die Gesamtergebnisse.

Die mittels Nachweis von ZO-1 aufgezeigten Schäden der Blut-Hirn-Schranke bei Drogentoten sind Folge einer direkten toxisch-metabolischen Drogeneinwirkung, die insbesondere von Opioiden hervorgerufen wird. Hierbei scheint es sich um einen Prozess zu handeln, der durch eine zerebrale Hypoxie entweder induziert oder verstärkt wird. Die Folge hiervon könnte sein, dass das Hirnparenchym ungeschützt sämtlichen Bestandteilen des Blutes ausgesetzt ist, was wiederum zu neuroinflammatorischen Prozessen führt. Zur weiteren Aufklärung der Pathogenese der aufgezeigten Schäden könnten z. B. kontrollierte tierexperimentelle Studien oder Untersuchungen weiterer Zellelemente des ZNS beitragen.

6 Literaturverzeichnis

Aasly J, Storsaeter O, Nilsen G, Smevik O, Rinck P. Minor structural brain changes in young drug abusers. A magnetic resonance study. *Acta Neurol Scand* 87: 210 – 214, 1993.

Abbruscato TJ, Lopez SP, Mark KS, Hawkins BT, Davis TP. Nicotine and cotinine modulate cerebral microvascular permeability and protein expression of ZO-1 through nicotinic acetylcholine receptors expressed on brain endothelial cells. *J Pharm Sci* 91: 2525 – 2538, 2004.

Abood ME, Martin BR. Neurobiology of marijuana abuse. *Trends Pharmacol Sci* 13: 301 – 306, 1992.

Adelman LS, Aronson SM. The neuropathologic complications of narcotic drug addiction. *Bull N Y Acad Med* 45: 225 – 234, 1969.

Ade-Biassette H, Marc B, Benhaiem-Sigaux N, Durigon M, Gray F. Infarctus cérébraux chez un toxicomane inhalant l'héroïne. *Arch Anat Cytol Pathol* 44: 12 – 17, 1996.

Amass L, Nardin R, Mendelson JH, Teoh SK, Woods BT. Quantitative magnetic resonance imaging in heroin- and cocaine-dependent men: a preliminary study. *Psychiatr Res* 45: 15 – 23, 1992.

Amen DG, Waugh M. High resolution SPECT imaging of marijuana smokers with AD/HD. *J Psychoactive Drugs* 30: 209 – 214, 1998.

Ameri A. Pharmakologie und Toxikologie von Ecstasy und Cannabis. *Med Welt* 50: 120 – 127, 1999.

American Academy of Neurology. Nomenclature and research case definitions for neurologic manifestations of human immunodeficiency virus-type 1 (HIV-1) infection. Report of a Working Group of the American Academy of Neurology AIDS Task Force. *Neurology* 41: 778 – 785, 1991.

Amine ARC. Neurosurgical complications of heroin addiction: brain abscess and mycotic aneurysm. *Surg Neurol* 7: 385 – 386, 1977.

Andersen SN, Skullerud K. Hypoxic/ischaemic brain damage, especially pallidal lesions, in heroin addicts. *Forensic Sci Int* 102: 51 – 59, 1999.

Ashton CH. Pharmacology and effects of cannabis: a brief review. *Br J Psychiatry* 178: 101 – 106, 2001.

Barnes D, Palace J, O'Brien MD. Stroke following marijuana smoking. *Stroke* 22: 1381, 1992.

Bartzokis G, Goldstein IB, Hance DB, Beckson M, Shapiro D, Lu PH, et al.. The incidence of T2-weighted MR imaging signal abnormalities in the brain of cocaine-dependent patients is age-related and region-specific. *Am J Neuroradiol* 20: 1628 – 1635, 1999.

Battaglia G, Yeh SY, De Souza EB. MDMA-induced neurotoxicity: parameters of degeneration and recovery of brain serotonin neurons. *Pharmacol Biochem Behav* 29: 269 – 274, 1988.

Bauchot R. Les modifications du poids encéphalique au cours de la fixation. *J Hirnforschung* 9: 253 – 283, 1967.

Bazzoni G, Dejana E. Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev* 84: 869 – 901, 2004.

Bentley AJ, Busuttill A. Deaths among drug abusers in South-East Scotland. *Med Sci Law* 36: 231 – 236, 1996.

Block RI, O'Leary DS, Hichwa RD, Augustinack JC, Boles Ponto LL, Ghoneim MM, et al. Cerebellar hypoactivity in frequent marijuana users. *NeuroReport* 11: 749 – 753, 2000.

Böcker W, Denk H, Heitz PU. Pathologie. 3. Auflage. Elsevier Urban & Fischer, München und Jena, 2004.

Boenisch T. Handbuch Immunchemische Färbemethoden. 3. Auflage. DakoCytomation GmbH, Hamburg, 2003.

Bolla KI, McCann UD, Ricaurte GA. Memory impairment in abstinent MDMA ("ecstasy") users. *Neurology* 51: 1532 – 1537, 1998.

Bostwick DG. Amphetamine induced cerebral vasculitis. *Hum Pathol* 12: 1031 – 1033, 1981.

Boven LA, Middel J, Verhoef J, De Groot CJA, Nottet HSLM. Monocyte infiltration is highly associated with loss of the tight junction protein zonula occludens in HIV-1-associated dementia. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 26: 356 – 360, 2000.

Breivogel CS, Childers SR. The functional neuroanatomy of brain cannabinoid receptors. *Neurobiol Dis* 5: 417 – 431, 1998.

Brown E, Prager J, Lee HY, Ramsey RG. CNS complications of cocaine abuse: prevalence, pathophysiology and neuroradiology. *Am J Roentgenol* 159: 137 – 147, 1992.

Brust JC. Clinical, radiological and pathological aspects of cerebrovascular disease associated with drug abuse. *Stroke* 24: 129 – 133, 1993.

Brust JCM. Vasculitis owing to substance abuse. *Neurol Clin* 15: 945 – 957, 1997.

Budka H. Neuropathology of human immunodeficiency virus infection. *Brain Pathol* 1: 163 – 175, 1991.

Büttner A, Mehraein P, Weis S. Vascular changes in the cerebral cortex of HIV-1 infected brains: II. An immunohistochemical and lectin histochemical analysis. *Acta Neuropathologica* 92: 35 – 41, 1996.

Büttner A, Mall G, Penning R, Weis S. The neuropathology of heroin abuse. *Forensic Sci Int* 113: 435 – 442, 2000.

Büttner A, Mall G, Penning R, Sachs H, Weis S. The neuropathology of cocaine abuse. *Legal Med* 5 (Suppl. 1): S240 – S242, 2003.

Büttner A, Weis S. Central nervous system alterations in drug abuse. *Forensic Pathology Reviews* Vol. 1: 3 – 60, 2004.

Büttner A, Kroehling C, Mall G, Penning R, Weis S. Alterations of the vascular basal lamina in the cerebral cortex in drug abuse: A combined morphometric and immunohistochemical investigation. *Drug Alcohol Dep* 69: 63 – 70, 2005.

Büttner A, Weis S. Neuropathological alterations in drug abusers - The involvement of neurons, glial and vascular systems. *Forensic Sci Med Pathol* 2:115-126, 2006.

Büttner A. Review: The neuropathology of drug abuse. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 37: 118–134, 2011.

Büttner A. *Neuropathology of Drug Abuse*. Springer Nature Switzerland AG 2021.

Bundeskriminalamt. Bundeslagebild Rauschgiftkriminalität 2014 bis 2021.

Byard RW, Gilbert J, James R, Lokan RJ. Amphetamine derivative fatalities in South Australia – is “ecstasy” the culprit? *Am J Forensic Med Pathol* 19: 261 – 265, 1998.

Cala LA, Mastaglia FL. Computerized axial tomography in the detection of brain damage: 1. Alcohol, nutritional deficiency and drugs of addiction. *Med J Aust* 2: 193 – 198, 1980.

Caplan LR, Hier DB, Banks G. Current concepts of cerebrovascular disease – stroke: stroke and drug abuse. *Stroke* 13: 869 – 872, 1982.

Chang L, Mehringer CM, Ernst T, Melchor R, Myers H, Forney D, Satz P. Neurochemical alterations in asymptomatic abstinent cocaine users: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry* 42: 1105 – 1114, 1997.

Chang L, Grob CS, Ernst T, Itti L, Mishkin FS, Jose-Melchor R, Poland RE. Effect of ecstasy [3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)] on cerebral blood flow: a co-registered SPECT and MRI study. *Psychiatry Res* 98: 15 – 28, 2000.

Christophersen AS. Amphetamine designer drugs – an overview and epidemiology. *Toxicol Lett* 112 – 113: 127 – 131, 2000.

Commins DL, Vosmer G, Virus RM, Woolverton WL, Schuster CR, Seiden LS. Biochemical and histological evidence that methylenedioxymethamphetamine (MDMA) is toxic to neurons in the rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 241: 338 – 345, 1987.

Cregler LL, Mark H. Medical complications of cocaine abuse. *N Engl J Med* 315: 1495 – 1500, 1986.

Curran HV. Is MDMA (“ecstasy”) neurotoxic in humans? An overview of evidence and of methodological problems in research. *Neuropsychobiology* 42: 34 – 41, 2000.

Dallasta LM, Pizarov LA, Esplen JE, Werley JV, Moses AV, Nelson JA, Achim CL. Blood-brain barrier tight junction disruption in human immunodeficiency virus-1 encephalitis. *Am J Pathol* 155: 1915 – 1927, 1999.

Danos P, Kasper S, Grünwald F, Klemm E, Krappel C, Broich K, et al. Pathological regional cerebral blood flow in opiate-dependent patients during withdrawal: a HMPAO – SPECT study. *Neuropsychobiology* 37: 194 – 199, 1998.

Darke S, Zador D. Fatal heroin “overdose”: a review. *Addiction* 91: 1765 – 1772, 1996.

Darke S, Ross J, Zador D, Sunjic S. Heroin – related deaths in New South Wales, Australia, 1992 – 1996. *Drug Alcohol Depend* 60: 141 – 150, 2000.

Davidson C, Gow AJ, Lee TH, Ellinwood EH. Methamphetamine neurotoxicity: necrotic and apoptotic mechanisms and relevance to human abuse and treatment. *Brain Res Rev* 36: 1 – 22, 2001.

Derlet RW, Albertson TE. Emergency department presentation of cocaine intoxication. *Ann Emerg Med* 18: 182 – 186, 1989a.

Derlet RW, Rice P, Horowitz BZ, Lord RV. Amphetamine toxicity: experience with 127 cases. *J Emerg Med* 7: 157 – 161, 1989b.

Dhuna A, Pascual-Leone A, Langendorf F, Anderson DC. Epileptogenic properties of cocaine in humans. *Neurotoxicology* 12: 621 – 626, 1991.

Die Drogenbeauftragte der Bundesregierung. Drogen- und Suchtbericht Juli 2017.

Dinse H. Ecstasy (MDMA)-Intoxikation. Ein Überblick. *Anaesthesist* 46: 697 – 703, 1997.

Dowling GP, McDonough ET, Bost RO. “Eve” and “Ecstasy”. A report of five deaths associated with the use of MDEA and MDMA. *JAMA* 257: 1615 – 1617, 1987.

Ernst T, Chang L, Oropilla G, Gustavson A, Speck O. Cerebral perfusion abnormalities in abstinent cocaine abusers: a perfusion MRI and SPECT study. *Psychiatry Res* 99: 63 – 74, 2000.

Fanning AS, Jameson BJ, Jesaitis LA, Anderson JM. The tight junction protein ZO-1 establishes a link between the transmembrane protein occludin and the actin cytoskeleton. *J Biol Chem* 273: 29745 – 29753, 1998.

Felgenhauer N, Zilker TR. Intoxikation mit Amphetaminen und Designer-Drogen. *Internist* 40: 617 – 623, 1999.

Fineschi V, Centini F, Mazzeo E, Turillazzi E. Adam (MDMA) and Eve (MDEA) misuse: an immunohistochemical study on three fatal cases. *Forensic Sci Int* 104: 65 – 74, 1999.

Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 6. Auflage. BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich, 1992.

Frost DO, Cadet JL. Effects of methamphetamine-induced neurotoxicity on the development of neural circuits: a hypothesis. *Brain Res Rev* 34: 103 – 118, 2000.

Galynker II, Watras-Ganz S, Miner C, Rosenthal RN, Des Jarlais DC, Richman BL, London E. Cerebral metabolism in opiate-dependent subjects: effects of methadone maintenance. *Mt Sinai J Med* 67: 381 – 387, 2000.

Gaus R, Popal M, Heinsen H, Schmitt A, Falkai P, Hof PR, Schmitz C, Vollhardt A. Reduced cortical neuron number and neuron density in schizophrenia with focus on area 24: a post-mortem case-control study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 273 (6):1209 – 1223, 2023.

Gerostamoulos J, Staikos V, Drummer OH. Heroin-related deaths in Victoria: a review of cases for 1997 and 1998. *Drug Alcohol Depend* 61: 123 - 127, 2001.

Gerra G, Calbani B, Zaimovic A, Sartori R, Ugolotti G, Ippolito L, et al. Regional cerebral blood flow and comorbid diagnosis in abstinent opioid addicts. *Psychiatry Res* 83: 117 – 126, 1998.

Gill JR, Hayes JA, deSouza IS, Marker E, Stajic M. Ecstasy (MDMA) deaths in New York City: a case series and review of the literature. *J Forensic Sci* 47: 121 – 126, 2002.

Ginsberg MD, Hedley-Whyte ET, Richardson EPJ. Hypoxic-ischemic leukoencephalopathy in man. *Arch Neurol* 33: 5 – 14, 1976.

Gledhill JA, Moore DF, Bell D, Henry JA. Subarachnoid haemorrhage associated with MDMA abuse. *JNNP* 56: 1036 – 1037, 1993.

Gomes de Matos E, Hannemann TV, Atzendorf J, Kraus L, Piontek D. The consumption of new psychoactive substances and methamphetamine - analysis of data from 6 German federal states. *Dtsch Ärztebl Int* 2018; 115: 49 - 55, 2018.

González-Mariscal L, Betanzos A, Nava P, Jaramillo BE. Tight junction proteins. *Prog Biophys Mol Biol* 81:1 – 44, 2003.

Gosztanyi G, Rothschild MA, Nickel R, Schneider V. Neuropathologische Befunde bei HIV-Ak-positiven und HIV-Ak-negativen Drogentodesfällen. *Medizinrecht – Psychopathologie – Rechtsmedizin*, Springer Verlag, Berlin und Heidelberg: 386 – 392, 1991.

Gosztanyi G, Schmidt V, Nickel R, Rothschild MA, Camacho S, Siegel G, et al. Neuropathologic analysis of postmortal brain samples of HIV-seropositive and -seronegative i. v. drug addicts. *Forensic Sci Int* 62: 101 – 105, 1993.

Gottardi CJ, Arpin M, Fanning AS, Louvard D. The junction-associated protein, zonula occludens-1, localizes to the nucleus before the maturation and during the remodeling of cell-cell contacts. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:10779 – 10784, 1996.

Gottschalk PC, Kosten TR. Cerebral perfusion defects in combined cocaine and alcohol dependence. *Drug Alcohol Depend* 68: 95 – 104, 2002.

Gouzoulis-Mayfrank E, Daumann J, Saß H. Neurotoxische Langzeitschäden bei Ecstasy (MDMA)-Konsumenten. Überblick über den aktuellen Wissensstand. *Nervenarzt* 73: 405 – 421, 2002.

Green AR, Mechan AO, Elliott JM, O’Shea E, Colado MI. The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, “ecstasy”). *Pharmacol Rev* 55: 463 – 508, 2003.

Guilarte TR. Is methamphetamine abuse a risk factor in parkinsonism? *Neurotoxicology* 22: 725 – 731, 2001.

Gundersen HJG. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: the edge effects. *J Microscopy* 111: 219 – 223, 1977.

Gundersen HJG. Estimators of the number of objects per area unbiased by edge effects. *Microscopica Acta* 81: 107 – 117, 1978.

Haen E, Wodarz N. Pharmakologie der Suchtstoffe. *Internist* 40: 605 – 610, 1999.

Hanyu S, Ikeguchi K, Imai H, Imai N, Yoshida M. Cerebral infarction associated with 3,4-methylenedioxymethamphetamine (“ecstasy”) abuse. *Eur Neurol* 35: 173, 1995.

Harhaj NS, Antonetti DA. Regulation of tight junctions and loss of barrier function in pathophysiology. *Int J Biochem Cell Biol* 36: 1206 – 1237, 2004.

Hart JB, Wallace J. The adverse effects of amphetamines. *Clin Toxicol* 8: 179 – 190, 1975.

Haug H. Die Abhängigkeit der Einbettungsschrumpfung des Gehirngewebes vom Lebensalter. *Ver Anat Ges* 74: 699 – 700, 1980.

Hawkins BT, Abbruscato TJ, Egleton RD, Brown RC, Huber JD, Campos CR, Davis TP. Nicotine increases in vivo blood-brain barrier permeability and alters cerebral microvascular tight junction protein distribution. *Brain Res* 1027: 48 – 58, 2004.

Heinemann A, Iwersen-Bergmann S, Stein S, Schmoltdt A, Püschel K. Methadone-related fatalities in Hamburg 1990 – 1999: implications for quality standards in maintenance treatment? *Forensic Sci Int* 113: 449 – 455, 2000.

Henry JA, Jeffreys KJ, Dawling S. Toxicity and deaths from 3,4-methylenedioxymethamphetamine (“ecstasy”). *Lancet* 340: 384 – 387, 1992.

Herkenham M. Cannabinoid receptor localization in brain: relationship to motor and reward systems. *Ann NY Acad Sci* 654: 19 – 32, 1992.

Hershewe GL, Davis LE, Bicknell JM. Primary cerebellar brain abscess from nocardiosis in a heroin addict. *Neurology* 38: 1655 – 1656, 1988.

Heye N, Hankey GJ. Amphetamine-associated stroke. *Cerebrovasc Dis* 6: 149 – 155, 1996.

Hill MD, Cooper PW, Perry JR. Chasing the dragon – neurological toxicity associated with inhalation of heroin vapour: case report. *CMAJ* 162: 236 – 238, 2000.

Hsu SM, Raine L, Fanger H. The use of avidin-biotin complex (ABC) in immunoperoxidase technique. *J Histochem Cytochem* 29: 577 - 580, 1982.

Hughes JC, McCabe M, Evans RJ. Intracranial haemorrhage associated with ingestion of “ecstasy”. *Arch Emerg Med* 10: 372 – 374, 1993.

Insel TR, Battaglia G, Johannessen JN, Marra S, De Souza EB. 3,4-methylenedioxymethamphetamine (“ecstasy”) selectively destroys brain serotonin terminals in rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 249: 713 – 720, 1989.

Inturrisi CE. Disposition of narcotics and narcotic antagonists. *Ann NY Acad Sci* 281: 273 – 287, 1976.

Iten PX. *Fahren unter Drogen- oder Medikamenteneinfluss*. Institut für Rechtsmedizin, Universität Zürich-Irchel, 1994.

Itoh K, Mehraein P, Weis S. Astroglial reaction pattern in HIV-1 infected brains. *Neuropathology* 16: 225 – 230, 1996.

Iversen L. Cannabis and the brain. *Brain* 126: 1252 – 1270, 2003.

Jacobsen LK, Giedd JN, Gottschalk C, Kosten TR, Krystal JH. Quantitative morphology of the caudate and putamen in patients with cocaine dependence. *Am J Psychiatry* 158: 486 – 9, 2001.

Jennings LK, White MM, Sauer CM, Mauer AM, Robertson JT. Cocaine-induced platelets defects. *Stroke* 24: 1352 – 1359, 1993.

Jones C. Why do people die from taking ecstasy? *J Subst Misuse* 3: 1 – 3, 1998.

Kaa E. Drug abuse in western Denmark during the eighties. II. Fatal poisonings among drug abusers. *Forensic Sci Int* 55: 75 – 82, 1992.

Kaa E, Teige B. Drug – related deaths during the 1980s. A comparative study of drug addict deaths examined at the Institutes of Forensic Medicine in Aarhus, Denmark, and Oslo, Norway. *Int J Legal Med* 106: 5 – 9, 1993.

Kaku DA, Lowenstein DH. Emergence of recreational drug abuse as a major risk factor for stroke in young adults. *Ann Intern Med* 113: 821 – 827, 1990.

Kalant H. The pharmacology and toxicology of “ecstasy” (MDMA) and related drugs. *CMAJ* 165: 917 – 928, 2001.

Karch SB, Stephens BS. When is cocaine the cause of death? *Am J Forensic Med Pathol* 12: 1 – 2, 1991.

Karch SB, Stephens BG, Ho CH. Methamphetamine-related deaths in San Francisco: demographic, pathologic and toxicologic profiles. *J Forensic Sci* 44: 359 – 368, 1999.

Karch SB. *Karch’s Pathology of Drug Abuse*. Fourth Edition. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2009.

Kasantikul V, Shuangshoti S, Taecholarn C. Primary phycomycosis of the brain in heroin addicts. *Surg Neurol* 28: 468 – 472, 1987.

Kasantikul V, Shuangshoti S, Sampatanukul P. Primary chromoblastomycosis of the medulla oblongata: complication of heroin addiction. *Surg Neurol* 29: 319 – 321, 1988.

Kaufman MJ, Levin JM, Ross MH, Lange N, Rose SL, Kukes TJ, et al. Cocaine – induced cerebral vasoconstriction detected in humans with magnetic resonance angiography. *JAMA* 279: 376 – 380, 1998.

Kelly MA, Gorelick PB, Mirza D. The role of drugs in the etiology of stroke. *Clin Neuropharmacol* 15: 249 - 275, 1992.

Ketzler S, Weis S, Haug H, Budka H. Loss of neurons in the frontal cortex of AIDS brains. *Acta Neuropathologica* 80: 92 - 94, 1990.

Kibayashi K, Matri AR, Hirsch CS. Cocaine induced intracerebral hemorrhage: analysis of predisposing factors and mechanisms causing hemorrhagic strokes. *Hum Pathol* 26: 659 – 663, 1995.

Kish SJ. How strong is the evidence that brain serotonin neurons are damaged in human users of ecstasy? *Pharmacol Biochem Behav* 71: 845 – 855, 2002.

Kniesel U, Wolburg H. Tight junctions of the blood-brain barrier. *Cell Mol Neurobiol* 20: 57 – 76, 2000.

Koch A, Reiter A, Meissner C, Oehmichen M. Ursache des Todes von Heroinkonsumenten mit niedrigen Morphin-Konzentrationen im Blut. *Arch Kriminol* 209: 76 - 87, 2002.

Kraus L, Seitz NN, Schulte B, Cremer-Schaeffer P, Braun B, Verthein U, et al. Estimation of the number of people with opioid addiction in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2019; 116: 137 - 143.

Krausz M, Raschke P, Naber D. Substitution von Heroinabhängigen mit Methadon. *Internist* 40: 645 – 650, 1999.

Kreek MJ. Rationale for maintenance pharmacotherapy of opioid dependence. In: O'Brien CP, Jaffe AJ. Addictive states. Raven Press, New York, S205 – 230, 1992.

Kretschmann HJ, Tafesse U, Herrmann A. Different volume changes of cerebral cortex and white matter during histological preparation. *Microscopia Acta* 86: 13 – 24, 1982.

Kriegstein AR, Armitage BA, Kim PY. Heroin inhalation and progressive spongiform leukoencephalopathy. *N Engl J Med* 336: 589 – 590, 1997.

Kriegstein AR, Shungu DC, Millar WS, Armitage BA, Brust JC, Chillrud S, et al. Leukoencephalopathy and raised brain lactate from heroin vapor inhalation ("chasing the dragon"). *Neurology* 53: 1765 – 1773, 1999.

Kringsholm B, Kaa E, Steentoft A, Worm K, Simonsen KW. Deaths among drug addicts in Denmark in 1987 – 1991. *Forensic Sci Int* 67: 185 – 195, 1994.

Lalouschek W, Schnider P, Aull S, Uhl F, Zeiler K, Deecke L, Lesch OM. Cocain-Mißbrauch – unter besonderer Berücksichtigung cerebrovaskulärer Komplikationen. *Wien Klin Wochenschr* 107/17: 516 – 521, 1995.

Lathers CM, Tyau LS, Spino MM, Agarwal I. Cocaine-induced seizures, arrhythmias and sudden death. *J Clin Pharmacol* 28: 584 – 593, 1988.

Levine SR, Brust JC, Futrell N, Brass LM, Blake D, Fayad P, et al. A comparative study of the cerebrovascular complications of cocaine: alkaloidal versus hydrochloride – a review. *Neurology* 41: 1173 – 1177, 1991.

Logan BK, Fligner CL, Haddix T. Cause and manner of death in fatalities involving methamphetamine. *J Forensic Sci* 43: 28 – 34, 1998.

London ED, Cascella NG, Wong DF, Phillips RL, Dannals RF, Links JM, et al. Cocaine – induced reduction of glucose utilization in human brain. A study using positron emission tomography and [fluorine 18]-fluorodeoxyglucose. *Arch Gen Psychiatry* 47: 567 – 574, 1990.

Lowenstein DH, Massa SM, Rowbotham MC, Collins SD, McKinney HE, Simon RP. Acute neurologic and psychiatric complications associated with cocaine abuse. *Am J Med* 83: 841 – 846, 1987.

Luissint A-C, Artus C, Glacial F, Ganeshamoorthy K, Couraud P-O. Tight junctions at the blood brain barrier: physiological architecture and disease-associated dysregulation. *Fluids Barriers CNS* 9: 23, 2012.

Lukes SA. Intracerebral hemorrhage from an arteriovenous malformation after amphetamine injection. *Arch Neurol* 40: 60 – 61, 1983.

Lundberg GD, Garriott JC, Reynolds PC, Cravey RH, Shaw RF. Cocaine-related death. *J Forensic Sci* 22: 402 – 408, 1977.

Lundqvist T, Jönsson S, Warkentin S. Frontal lobe dysfunction in long-term cannabis users. *Neurotoxicol Teratol* 23: 437 – 443, 2001.

Lyles J, Cadet JL. Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy) neurotoxicity: cellular and molecular mechanisms. *Brain Res Rev* 42: 155 – 168, 2003.

Lyyo IK, Streeter CC, Ahn KH, Lee HK, Pollack MH, Silveri MM, et al. White matter hyperintensities in subjects with cocaine and opiate dependence and healthy comparison subjects. *Psychiatry Res* 131: 135 – 145, 2004.

Manchanda S, Connolly MJ. Cerebral infarction in association with ecstasy abuse. *Postgrad Med J* 69: 874 – 875, 1993.

Mark KS, Davis TP. Cerebral microvascular changes in permeability and tight junctions induced by hypoxia-reoxygenation. *Am J Physiol Cell Physiol* 282: H1485 – H1494, 2002.

Martins T, Baptista S, Gonçalves J, Leal E, Milhazes N, Borges F, et al. Methamphetamine transiently increases the blood–brain barrier permeability in the

hippocampus: Role of tight junction proteins and matrix metalloproteinase-9. *Brain Res* 1411: 28 – 40, 2011.

Mathew RJ, Wilson WH, Coleman RE, Turkington TG, DeGrado TR. Marijuana intoxication and brain activation in marijuana smokers. *Life Sci* 60: 2075 – 2089, 1997.

McCann UD, Szabo Z, Scheffel U, Dannals RF, Ricaurte GA. Positron emission computed tomographic evidence of toxic effect of MDMA („ecstasy“) on brain serotonin neurons in human beings. *Lancet* 352: 1433 – 1437, 1998.

McCann UD, Eligulashvili V, Ricaurte GA. (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine („ecstasy“)-induced serotonin neurotoxicity: clinical studies. *Neuropsychobiology* 42: 11 – 16, 2000.

Milroy CM, Clark JC, Forrest AR. Pathology of deaths associated with „ecstasy“ and „eve“ misuse. *J Clin Pathol* 49: 149 – 153, 1996.

Milroy CM, Forrest AR. Methadone deaths: a toxicological analysis. *J Clin Pathol* 53: 277 – 281, 2000.

Mitic LL, Anderson JM. Molecular architecture of tight junctions. *Annu Rev Physiol* 60: 121 – 142, 1998.

Mittleman RE, Wetli CV. Cocaine and sudden „natural“ death. *J Forensic Sci* 32: 11 – 19, 1987.

Möller HJ, Laux G, Kapfhammer HP. *Psychiatrie, Psychosomatik, Psychotherapie*. 4. Auflage. Springer-Verlag, Berlin und Heidelberg, 2011.

Mooradian AD, Haas MJ, Chehade JM. Age-related changes in rat cerebral occludin and zonula occludens-1 (ZO-1). *Mech Aging Dev* 124: 143 – 146, 2003.

Moretti M, Belli G, Morini L, Monti MC, Osculati AMM, Visona SD. Drug abuse-related neuroinflammation in human postmortem brains: an immunohistochemical approach. *J Neuropathol Exp Neurol* 78: 1059 – 1065, 2019.

Mouzak A, Agathos P, Kerezoudi E, Mantas A, Vourdeli-Yiannakoura E. Transient ischemic attack in heavy cannabis smokers – how ‘safe’ is it? *Eur Neurol* 44: 42 – 44, 2000.

Navia BA, Jordan BD, Price RW. The AIDS dementia complex: I. Clinical features. *Ann Neurol* 19: 517 – 524, 1986.

Niehaus L, Meyer BU. Bilateral borderzone brain infarctions in association with heroin abuse. *J Neurol Sci* 160: 180 – 182, 1998.

Obrocki J, Buchert R, Vaterlein O, Thomasius R, Beyer W, Schiemann T. Ecstasy – long-term effects on the human central nervous system revealed by positron emission tomography. *Br J Psychiatry* 175: 186 – 188, 1999.

Obrocki J, Andresen B, Schmoltdt A, Thomasius R. Anhaltende neurotoxische Schäden durch Ecstasy. *Dtsch Ärztebl* 98: A3132 – 3138, 2001.

Oehmichen M, Meißner C, Reiter A, Birkholz M. Neuropathology in non-human immunodeficiency virus-infected drug addicts: hypoxic brain damage after chronic intravenous drug abuse. *Acta Neuropathol* 91: 642 – 646, 1996.

Oyesiku NM, Colohan AR, Barrow DL, Reisner A. Cocaine-induced aneurysmal rupture: an emergent negative factor in the natural history of intracranial aneurysms? *Neurosurgery* 32: 518 – 25, 1993.

Pascual-Leone A, Dhuna A, Altafullah I, Anderson DC. Cocaine-induced seizures. *Neurology* 40: 404 – 407, 1990.

Pascual-Leone A, Dhuna A, Anderson DC. Cerebral atrophy in habitual cocaine abusers: a planimetric CT study. *Neurology* 41: 34 – 38, 1991.

Penning R, Fromm E, Betz P, Kauert G, Drasch G, von Meyer L. Drug death autopsies at the Munich Institute of Forensic Medicine (1981 – 1992). *Forensic Sci Int* 62: 135 – 139, 1993.

Penning R. *Rechtsmedizin systematisch*. 2. Auflage. UNI – MED, Bremen, 2006.

Perez JA Jr, Arsura EL, Strategos S. Methamphetamine-related stroke: four cases. *J Emerg Med* 17: 469 – 471, 1999.

Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid CB 1 and CB 2 receptors. *Pharmacol Ther* 74: 129 – 180, 1997.

Pezawas LM, Fischer G, Diamant K, Schneider C, Schindler S, Thurnher M, et al. Cerebral CT findings in male opioid-dependent patients: stereological, planimetric and linear measurements. *Psychiatr Res* 83: 139 - 147, 1988.

Preti A, Miotto P, De Coppi M. Deaths by unintentional illicit drug overdose in Italy, 1984 – 2000. *Drug Alcohol Depend* 66: 275 – 282, 2002.

Protass LM. Delayed postanoxic encephalopathy after heroin use. *Ann Intern Med* 74: 738 – 739, 1971.

Püschel K. Drug-related death – an update. *Forensic Sci Int* 62: 121 – 128, 1993a.

Püschel K, Teschke F, Castrup U. Etiology of accidental/unexpected overdose in drug-induced deaths. *Forensic Sci Int* 62: 129 – 134, 1993b.

Quaglio G, Talamini G, Lechi A, Venturini L, Lugoboni F, Mezzelani P. Study of 2708 heroin-related deaths in north-eastern Italy 1985 - 98 to establish the main causes of death. *Addiction* 96: 1127 - 1137, 2001.

Quinn DI, Wodak A, Day RO. Pharmacokinetic and pharmacodynamic principles of illicit drug use and treatment of illicit drug users. *Clin Pharmacokinet* 33: 344 – 400, 1997.

Qureshi AI, Suri MF, Guterman LR, Hopkins LN. Cocaine use and the likelihood of nonfatal myocardial infarction and stroke: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation* 103: 502 – 6, 2001.

Reneman L, Habraken JB, Majoie CB, Booij J, den Heeten GJ. MDMA („ecstasy“) and its association with cerebrovascular accidents: preliminary findings. *Am J Neuroradiol* 21: 1001 – 1007, 2000.

Ricaurte GA, DeLanney LE, Irwin I, Langston JW. Toxic effects of MDMA on central serotonergic neurons in the primate: importance of route and frequency of drug administration. *Brain Res* 446: 165 – 168, 1988.

Ricaurte GA, Martello AL, Katz JL, Martello MB. Lasting effects of (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on central serotonergic neurons in nonhuman primates: neurochemical observations. *J Pharmacol Exp Ther* 261: 616 – 622, 1992.

Ricaurte GA, Yuan J, McCann UD. (+/-) 3,4-methylenedioxymethamphetamine („ecstasy“)-induced serotonin neurotoxicity: studies in animals. *Neuropsychobiology* 42: 5 – 10, 2000.

Richter RW, Pearson J, Bruun B. Neurological complications of addiction to heroin. *Bull N Y Acad Med* 49: 3 – 21, 1973.

Rizzuto N, Morbin M, Ferrari S, Cavallaro T, Sparaco M, Boso G, Gaetti L. Delayed spongiform leukoencephalopathy after heroin abuse. *Acta Neuropathol* 94: 87 – 90, 1997.

Rochester JA, Kirchner JT. Ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine): history, neurochemistry and toxicology. *J Am Board Fam Pract* 12: 137 – 142, 1999.

Rössler H, Battista HJ, Riener Y, Neumann B, Unterdorfer H, Wehinger G, et al. Todesfälle von Drogensüchtigen. Eine kritische Analyse. *Nervenarzt* 64: 599 - 605, 1993.

Rogers JN, Henry TE, Jones AM, Froede RC, Byers JMI. Cocaine-related deaths in Pima County, Arizona, 1982 – 1984. *J Forensic Sci* 31: 1404 – 1408, 1986.

Rose JS, Branchey M, Buydens–Branchey L, Stapleton JM, Chasten K, Werrell A, Maayan ML. Cerebral perfusion in early and late opiate withdrawal: a technetium-99m-HMPAO SPECT study. *Psychiatry Res* 67: 39 – 47, 1996.

Rubin LL, Staddon JM. The cell biology of the blood-brain barrier. *Annu Rev Neurosci* 22: 11 – 28, 1999.

Sawada N. Tight junction-related human diseases. *Pathol Int* 63: 1 – 12, 2013.

Sass NL. The age-dependent variation of the embedding-shrinkage of neurohistological sections. *Mikroskopie* 39: 278 – 281, 1982.

Scheid R, Schindler E, Biniek R. Kokaininduzierte akute ZNS-Erkrankungen. *Nervenarzt* 70: 315 – 321, 1999.

Schlaeppli M, Prica A, de Torrenté A. Hémorragie cérébrale et „ecstasy“. *Praxis* 88: 568 – 572, 1999.

Schmitz C, Hof PR. Design-based stereology in neuroscience. *Neuroscience* 130(4): 813 – 831, 2005.

Selmi F, Davies KG, Sharma RR, Neal JW. Intracerebral haemorrhage due to amphetamine abuse: report of two cases with underlying arteriovenous malformations. *Br J Neurosurg* 9: 93 – 96, 1995.

Spatt J, Glawar B, Mamoli B. A pure amnesic syndrome after MDMA („ecstasy“) ingestion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 62: 418 – 419, 1997.

Sporer KA. Acute heroin overdose. *Ann Intern Med* 130: 584 – 590, 1999.

Sprague JE, Everman SL, Nichols DE. An integrated hypothesis for the serotonergic axonal loss induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Neurotoxicology* 19: 427 – 442, 1998.

Squier MV, Jalloh S, Hilton-Jones D, Series H. Death after ecstasy ingestion: neuropathological findings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 58: 756, 1995.

Stamatovic SM, Johnson AM, Keep RF, Andjelkovic AV. Junctional proteins of the blood-brain barrier: New insights into function and dysfunction. *Tissue Barriers* 4: e1154641, 2016.

Steentoft A, Teige B, Holmgren P, Vuori E, Kristinsson J, Kaa E, et al. Drug addict deaths in the Nordic countries: a study based on medicolegally examined cases in the five Nordic countries in 1991. *Forensic Sci Int* 77: 109 – 118, 1996.

Steentoft A, Teige B, Ceder G, Vuori E, Kristinsson J, Simonsen KW, et al. Fatal poisoning in drug addicts in the Nordic countries. *Forensic Sci Int* 123: 63 – 69, 2001.

Stoltenburg-Didinger G, Wiese J, Finck A. Diffuse progressive multifokale spongiöse Leukenzephalopathie nach Inhalation von Heroin – Ein Fallbericht. *Akt Neurol* 22: 107 – 110, 1995.

Strang J, Gurling H. Computerized tomography and neuropsychological assessment in long-term high-dose heroin addicts. *Br J Addict* 84: 1011 – 1019, 1989.

Strang J, Johns A, Caan W. Cocaine in the UK – 1991. *Br J Psychiatry* 162: 1 – 13, 1993.

Strickland TL, Mena I, Villanueva-Meyer J, Miller BL, Cummings J, Mehringer CM, et al. Cerebral perfusion and neuropsychological consequences of chronic cocaine use. *J Neuropsychiatr Clin Neurosci* 5: 419 – 427, 1993.

Tardiff K, Gross E, Wu J, Stajic M, Millman R. Analysis of cocaine-positive fatalities. *J Forensic Sci* 34: 53 – 63, 1989.

Thomasius R, Schmolke M, Kraus D. MDMA („Ecstasy“) - Konsum – ein Überblick zu psychiatrischen und medizinischen Folgen. Fortschr Neurol Psychiatr 65: 49 – 61, 1997.

Thomasius R. Psychotherapie der Suchterkrankungen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2000.

Tretter F, Federmann M. Ecstasy & Co. – Partydrogen oder harte Drogen? Bayer Ärztebl 55: 396 – 399, 2000.

Tumeh SS, Nagel JS, English RJ, Moore M, Holman BL. Cerebral abnormalities in cocaine abusers: demonstration by SPECT perfusion brain scintigraphy. Radiology 176: 821 – 824, 1990.

Verbaten MN. Specific memory deficits in ecstasy users? The results of a meta-analysis. Hum Psychopharmacol Clin Exp 18: 281 – 290, 2003.

Volkow ND, Valentine A, Kulkarni M. Radiological and neurological changes in the drug abuse patient. A study with MRI. J Neuroradiol 15: 288 – 293, 1988a.

Volkow ND, Mullani N, Gould KL, Adler S, Krajewski K. Cerebral blood flow in chronic cocaine users: a study with positron emission tomography. Br J Psychiatry 152: 641 – 648, 1988b.

Volkow ND, Fowler JS, Wolf AP, Hitzemann R, Dewey S, Bendriem B, et al. Changes in brain glucose metabolism in cocaine dependence and withdrawal. Am J Psychiatry 148: 621 – 626, 1991.

Volkow ND, Gillespie H, Mullani N, Tancredi L, Grant C, Valentine A, Hollister L. Brain glucose metabolism in chronic marijuana users at baseline and during marijuana intoxication. Psychiatry Res 67: 29 – 38, 1996.

Warner-Smith M, Darke S, Lynskey M, Hall W. Heroin overdose: causes and consequences. Addiction 96: 1113 – 1125, 2001.

Weis S. Morphometry in the Neurosciences. In: Wenger E, Dimitrov L (eds): Digital Image Processing and Computer Graphics. Theory and Applications. OCG Schriftenreihe, volume 58, Oldenburg Verlag, München: 306 – 26, 1991.

Weis S, Haug H, Budka H. Neuronal damage in the cerebral cortex of AIDS brains. *Acta Neuropathologica* 85: 185 – 189, 1993a.

Weis S, Haug H, Budka H. Astroglial changes in the cerebral cortex of AIDS brains. A morphometric and immunohistochemical investigation. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 19: 329 – 335, 1993b.

Weis S, Neuhaus B, Mehraein P. Activation of microglia in HIV-1 infected brains is not dependent on the presence of HIV-1 antigens. *NeuroReport* 5: 1514 – 1516, 1994.

Weis S, Haug H, Budka H. Vascular changes in the cerebral cortex of HIV-1 infected brains: I. A quantitative lightmicroscopic and electronmicroscopic investigation. *Clinical Neuropathology* 15: 361 – 366, 1996.

White FJ, Kalivas PW. Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. *Drug Alcohol Depend* 51: 141 – 153, 1998.

White JA, Irvine RJ. Mechanisms of fatal opioid overdose. *Addiction* 94: 961 – 972, 1999.

Wodarz N, Mühlig S, Thomasius R. Neue Psychoaktive Substanzen: ein kurzgefasster Überblick. *Sucht* 65: 362 – 370, 2019.

Wolf S, Seehaus B, Minol K, Gassen HG. Die Blut-Hirn-Schranke: Eine Besonderheit des cerebralen Mikrozirkulationssystems. *Naturwissenschaften* 83: 302 – 311, 1996.

Wolters EC, Stam FC, Lousberg RJ, van Wijngaarden GK, Rengelink H, Schipper MEI, Verbeeten B. Leucoencephalopathy after inhaling „heroin“ pyrolysate. *Lancet* 2: 1233 – 1237, 1982.

Yen DJ, Wang SJ, Ju TH, Chen CC, Liao KK, Fuh JL, Hu HH. Stroke associated with methamphetamine inhalation. *Eur Neurol* 34: 16 – 22, 1994.

Zachariah SB. Stroke after heavy marijuana smoking. *Stroke* 22: 406 – 409, 1991.

Zhu BL, Oritani S, Shimotouge K, Ishida K, Quan L, Fujita MQ, et al. Methamphetamine-related fatalities in forensic autopsy during 5 years in southern half of Osaka city and surrounding areas. *Forensic Sci Int* 113: 443 – 447, 2000.

7 Anhang

Tabelle 7.1: Daten der Drogengruppe (NB = nicht bekannt)

Fall-Nr.	Alter/ Geschlecht	Hirngewicht	pm-Zeit	Dauer des Drogenkonsums	Fixations- dauer (Tage)
BTM 1	16/M	1652 g	25 Std	9 Monate	10
BTM 2	18/W	1078 g	34 Std	NB	7
BTM 3	18/W	1440 g	36 Std	24 Monate	10
BTM 4	19/M	1744 g	31 Std	20 Monate	8
BTM 5	19/W	1506 g	23 Std	NB	11
BTM 6	21/M	1187 g	17 Std	60 Monate	8
BTM 7	21/M	1452 g	13 Std	36 Monate	6
BTM 8	21/W	1216 g	11 Std	NB	10
BTM 9	23/W	1258 g	53 Std	33 Monate	9
BTM 10	24/M	1532 g	78 Std	NB	9
BTM 11	24/M	1530 g	74 Std	18 Monate	7
BTM 12	24/W	1290 g	22 Std	23 Monate	7
BTM 13	26/M	1495 g	77 Std	60 Monate	10
BTM 14	28/M	1659 g	6 Std	53 Monate	10
BTM 15	28/W	1307 g	20 Std	60 Monate	7
BTM 16	29/M	1547 g	3 Std	NB	14
BTM 17	29/M	1567 g	13 Std	41 Monate	6
BTM 18	31/M	1591 g	5 Std	4 Monate	15
BTM 19	31/M	1499 g	63 Std	132 Monate	10
BTM 20	31/M	1453 g	9 Std	108 Monate	7
BTM 21	32/M	1282 g	30 Std	168 Monate	8
BTM 22	38/W	1396 g	20 Std	264 Monate	8
BTM 23	40/M	1611 g	22 Std	60 Monate	13
BTM 24	44/M	1556 g	39 Std	197 Monate	10
BTM 25	30/M	1579 g	15 Std	141 Monate	8
BTM 26	31/W	1255 g	23 Std	216 Monate	22

Tabelle 7.2: Daten der Kontrollgruppe

Fall-Nr.	Alter/ Geschlecht	Hirngewicht	pm-Zeit	Todesursache	Fixations- dauer (Tage)
K 1	12/W	1296 g	12 Std	Verbluten nach Messerstichen	9
K 2	16/W	1330 g	15 Std	Zentrale Lähmung bei Erhängen	9
K 3	24/W	1510 g	6 Std	Verbluten nach Messerstichen	14
K 4	27/M	1478 g	24 Std	Zentrale Lähmung bei Erhängen	4
K 5	30/M	1716 g	4 Std	Zentrale Lähmung bei Erhängen	9
K 6	32/M	1655 g	40 Std	Zentrale Lähmung bei Erhängen	10
K 7	33/M	1606 g	19 Std	Zentrale Lähmung bei Erhängen	7
K 8	38/M	1530 g	4 Std	HerzKreislaufversagen bei Ösophaguskarzinom	8
K 9	38/M	1379 g	19 Std	HerzKreislaufversagen	7
K 10	39/M	1400 g	64 Std	hämorrhagischer Schock	5
K 11	43/M	1350 g	42 Std	HerzKreislaufversagen bei Pneumonie	5
K 12	44/M	1350 g	15 Std	HerzKreislaufversagen bei septischem Schock	9
K 13	47/M	1521 g	30 Std	Zentrale Lähmung bei Erhängen	14
K 14	59/W	1115 g	3 Std	Lungenarterienembolie	10
K 15	47/W	1307 g	11 Std	Alkoholintoxikation	5

Tabelle 7.3: Daten der HIV-1-positiven Gruppe

Fall-Nr.	Alter/Geschlecht	Hirngewicht	pm-Zeit	Fixationsdauer (Tage)
HIV 1	26/M	1560 g	46 Std	12
HIV 2	28/M	1520 g	78 Std	11
HIV 3	30/M	1610 g	29 Std	13
HIV 4	33/M	1430 g	52 Std	10
HIV 5	35/M	1500 g	16 Std	9
HIV 6	37/M	1330 g	48 Std	12
HIV 7	48/M	1444 g	22 Std	6

Tabelle 7.4: ZO-1-Nachweis in der Blut-Hirn-Schranke, Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse (p-Werte = Signifikanzniveau)

Region	Drogen-Kontrolle	HIV-Kontrolle		Alter	Geschlecht	PM	FIX
froorbcotot	0,127	0,477		0,613	0,325	0,412	0,398
froorbwmtot	0,000	0,130		0,289	0,003	0,742	0,042
frocotot	0,160	0,944		0,663	0,756	0,759	0,207
frowmtot	0,005	0,028		0,449	0,937	0,400	0,121
parcotot	0,441	0,862		0,243	0,524	0,598	0,403
parwmtot	0,027	0,010		0,079	0,208	0,663	0,142
temcotot	0,003	0,180		0,935	0,639	0,810	0,772
temwmtot	0,078	0,223		0,219	0,771	0,069	0,410
occcotot	0,004	0,350		0,231	0,066	0,027	0,451
occwmtot	0,002	0,142		0,012	0,947	0,076	0,128
bagnctot	0,156	0,631		0,000	0,640	0,057	0,500
bagputot	0,697	0,001		0,427	0,918	0,049	0,426
bagpatot	0,158	0,245		0,228	0,845	0,025	0,818
bagcitot	0,315	0,298		0,082	0,392	0,043	0,289
thatot	0,490	0,422		0,130	0,029	0,010	0,767
meskgtot	0,514	0,246		0,409	0,947	0,103	0,698
messntot	0,999	0,274		0,787	0,982	0,440	0,145
ponkgtot	0,708	0,687		0,105	0,293	0,266	0,478
ponpytot	0,279	0,043		0,013	0,112	0,786	0,255
medkgtot	0,897	0,021		0,515	0,383	0,123	0,259
mednotot	0,515	0,398		0,024	0,881	0,311	0,996
cblcotot	0,475	0,153		0,246	0,663	0,183	0,368
cblwmtot	0,069	0,262		0,203	0,441	0,076	0,053
cblndtot	0,876	0,439		0,483	0,042	0,922	0,349

PM = postmortem-Zeit; FIX = Fixationsdauer

Tabelle 7.5: ZO-1-Nachweis in der Blut-Hirn-Schranke, Ergebnisse der multivariaten Regressionsanalyse (p-Wert = Signifikanzniveau)

Region/ Kategorie	Drogen- Kontrolle	HIV- Kontrolle	Alter	Geschlecht	PM	FIX
froorbco1	0,000	0,283	0,027	0,137	0,728	0,158
froorbco2	0,000	0,041	0,006	0,522	0,176	0,069
froorbco3	0,103	0,644	0,110	0,997	0,744	0,015
froorbwm1	0,000	0,637	0,042	0,035	0,267	0,407
froorbwm2	0,000	0,302	0,005	0,189	0,100	0,009
froorbwm3	0,023	0,039	0,915	0,375	0,418	0,961
froco1	0,000	0,292	0,003	0,674	0,545	0,785
froco2	0,000	0,167	0,001	0,494	0,189	0,084
froco3	0,153	0,931	0,078	0,322	0,774	0,687
frowm1	0,004	0,292	0,001	0,637	0,155	0,539
frowm2	0,000	0,026	0,000	0,814	0,337	0,040
frowm3	0,276	0,119	0,711	0,708	0,403	0,786
parco1	0,000	0,155	0,001	0,401	0,529	0,288
parco2	0,000	0,160	0,000	0,894	0,174	0,105
parco3	0,204	0,610	0,253	0,652	0,913	0,463
parwm1	0,000	0,308	0,010	0,626	0,535	0,411
parwm2	0,000	0,021	0,001	0,163	0,297	0,068
parwm3	0,272	0,008	0,328	0,556	0,823	0,415
temco1	0,000	0,242	0,007	0,309	0,687	0,570
temco2	0,000	0,046	0,013	0,715	0,596	0,660
temco3	0,155	0,086	0,389	0,618	0,401	0,726
temwm1	0,000	0,220	0,013	0,859	0,264	0,825
temwm2	0,000	0,014	0,004	0,735	0,193	0,384
temwm3	0,123	0,906	0,261	0,525	0,788	0,691
occo1	0,000	0,230	0,014	0,015	0,969	0,504

occo2	0,000	0,852	0,004	0,716	0,013	0,209
occo3	0,236	0,995	0,263	0,886	0,696	0,795
occwm1	0,000	0,490	0,002	0,904	0,523	0,090
occwm2	0,000	0,586	0,001	0,907	0,014	0,023
occwm3	0,246	0,030	0,267	0,750	0,418	0,963
bagnc1	0,000	0,896	0,331	0,698	0,829	0,265
bagnc2	0,000	0,368	0,043	0,899	0,216	0,516
bagnc3	0,061	0,039	0,132	0,360	0,296	0,970
bagpu1	0,000	0,702	0,281	0,574	0,353	0,053
bagpu2	0,000	0,001	0,286	0,954	0,420	0,053
bagpu3	0,002	0,020	0,357	0,187	0,517	0,525
bagpa1	0,000	0,704	0,726	0,633	0,814	0,316
bagpa2	0,001	0,569	0,860	0,881	0,334	0,104
bagpa3	0,043	0,137	0,646	0,532	0,601	0,366
bagci1	0,000	0,919	0,485	0,516	0,621	0,249
bagci2	0,000	0,024	0,338	0,253	0,544	0,078
bagci3	0,004	0,007	0,780	0,052	0,224	0,938
tha1	0,000	0,782	0,189	0,538	0,146	0,236
tha2	0,000	0,004	0,802	0,050	0,844	0,220
tha3	0,000	0,001	0,459	0,171	0,519	0,636
meskg1	0,000	0,623	0,539	0,811	0,062	0,129
meskg2	0,000	0,001	0,697	0,497	0,764	0,029
meskg3	0,003	0,021	0,864	0,429	0,797	0,656
messen1	0,000	0,812	0,948	0,911	0,537	0,042
messen2	0,000	0,037	0,577	0,515	0,331	0,191
messen3	0,011	0,080	0,617	0,409	0,323	0,446
ponkg1	0,000	0,922	0,188	0,588	0,916	0,107
ponkg2	0,000	0,002	0,359	0,586	0,927	0,130
ponkg3	0,006	0,007	0,320	0,960	0,252	0,843

ponpy1	0,000	0,798	0,122	0,421	0,482	0,456
ponpy2	0,000	0,015	0,394	0,603	0,455	0,142
ponpy3	0,021	0,251	0,846	0,595	0,787	0,646
medkg1	0,000	0,659	0,943	0,433	0,147	0,008
medkg2	0,000	0,000	0,829	0,713	0,990	0,075
medkg3	0,002	0,016	0,727	0,602	0,728	0,490
medno1	0,000	0,708	0,094	0,655	0,394	0,099
medno2	0,000	0,000	0,983	0,530	0,763	0,005
medno3	0,000	0,010	0,880	0,265	0,869	0,807
cblco1	0,000	0,678	0,335	0,720	0,745	0,200
cblco2	0,000	0,017	0,198	0,849	0,765	0,801
cblco3	0,013	0,088	0,585	0,501	0,018	0,779
cblwm1	0,000	0,934	0,978	0,400	0,761	0,566
cblwm2	0,000	0,038	0,451	0,796	0,702	0,045
cblwm3	0,025	0,038	0,637	0,520	0,136	0,968
cblnd1	0,000	0,899	0,660	0,255	0,869	0,306
cblnd2	0,000	0,024	0,990	0,086	0,790	0,846
cblnd3	0,045	0,035	0,745	0,290	0,821	0,959

PM = postmortem-Zeit; FIX = Fixationsdauer

7.6 Chemikalien

Anti-ZO-1 Antikörper

Clone/Pad: Z-R1. Host/Isotype: Rabbit Ig.

Bezugsquelle: Zymed Laboratories Inc, South San Francisco, CA, USA. Kat. Nr. 61-7300.

Protease (Proteinase K)

Ansatz: 0,025 g in 250 ml Aqua destillata

Bezugsquelle: Sigma Chemie GmbH, Deisenhofen

No. P 8038 Typ XXIV: bakteriell

DAB-(3,3-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride) Substrate Kit

Inhalt: Tropfflasche A mit Pufferkonzentrat, Tropfflasche B mit DAB-Lösung, Tropfflasche C mit konzentriertem H₂O₂.

Aktivierung der DAB-Lösung: 1 Tropfen Reagens A in 1 ml Aqua destillata geben und mischen. Jeweils 1 Tropfen Reagens B und Reagens C in die verdünnte Pufferkonzentratlösung geben und erneut mischen.

Bezugsquelle: Zytomed GmbH, Berlin. Kat. Nr. 00-2014.

Dako® Antibody Diluent, hintergrundreduzierend, gebrauchsfertig

Bezugsquelle: DakoCytomation GmbH, Hamburg. Code No. S3022.

Formalin, 4 %ig mit PBS gepuffert

40 %iges Formalin 1:10 mit PBS-Puffer verdünnt.

Histostain®-Plus (Peroxidase) Kit

Bezugsquelle: Zytomed GmbH, Berlin. Kat. Nr. 85-9043.

PBS-Puffer

pH 7,4 - 7,5

Herstellung: 16,1 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

2,2 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

40,0 g NaCl

-> in 5 Liter Aqua destillata lösen.

7.7 Abkürzungsverzeichnis

ABC	Avidin-Biotin-Complex
AJ	Adherens Junction (Zonula adhaerens)
ATP	Adenosintriphosphat
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BtM	Betäubungsmittel
CB	Cannabinoid
CT	Computertomographie
DAB	Diaminobenzidin
EKhD	Erstauffällige Konsumenten harter Drogen
GDP	Guanosindiphosphat
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
GGT	Gamma-Glutamyltranspeptidase
GMP	Guanosinmonophosphat
G-Protein	Guaninnucleotid-bindendes Protein
HIV-1	Humanes Immundefizienz-Virus-1
ICD-10	International Classification of Diseases-10
MDMA	3,4-Methylenedioxyamphetamin
MRT	Magnetresonanztomographie
Ncl.	Nucleus

NPS	Neue psychoaktive Substanzen/Stoffe
PAS	Perjod-acid-Schiff
PET	Positronenemissionstomographie
p-Wert	Signifikanzniveau
SPECT	Single-Photonen-Emissionscomputertomographie
THC	delta ⁹ -Tetrahydrocannabinol
TJ	Tight Junction (Zonula occludens)
TNF	Tumornekrosefaktor
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZO-1	Zonula occludens-1-Protein

8 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn em. Prof. Dr. Wolfgang Eisenmenger und Herrn Prof. Dr. Matthias Graw, Vorstände des Instituts für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, für die Möglichkeit, die hier vorgelegten Untersuchungen durchführen zu können.

Meinem Doktorvater, Herrn Univ.-Prof. Dr. Andreas Büttner, Institut für Rechtsmedizin der Universitätsmedizin Rostock, danke ich nicht nur für die stetige fachliche, sondern auch überaus menschliche Unterstützung.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Serge Weis, Abteilung für Neuropathologie des Instituts für Pathologie, Kepler Universitätsklinikum Linz, für die umfangreiche Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Nicht zuletzt danke ich Frau Susanne Ring, ehemals Technische Assistentin am Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, die mir nicht nur bei den technischen Fragen immer freundschaftlich zur Seite stand, von ganzem Herzen.



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Dekanat Medizinische Fakultät
Promotionsbüro



Eidesstattliche Versicherung

Rampeltshammer, Ronald Franz

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Immunhistochemische Untersuchung des ZO-1 an Gehirnen von Drogentoten

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 18.2.2025

Ort, Datum

Unterschrift Ronald Franz Rampeltshammer