

Wie blockieren Lokalanästhetika den Schmerz?

Molekulare Mechanismen neuronaler Blockade

Von Michael Bräu, Werner Vogel und Gunter Hempelmann

Die örtliche Betäubung, die Lokalanästhesie, ist heute ein wesentlicher Bestandteil der Schmerz ausschaltenden Maßnahmen in der Humanmedizin und Veterinärmedizin. Neben der Vollnarkose hat sie ihren Stellenwert nicht nur behauptet, sondern in den letzten Jahren deutlich verbessern können, was sowohl durch verfeinerte Techniken, wie z.B. Kathetertechniken, und verbesserte Materialien, z.B. Einmalartikel, als auch durch spezifischere Wirkungen der verwendeten Substanzen, der Lokalanästhetika, bedingt wurde. Seit der Entdeckung der örtlichen Betäubung für klinische Zwecke durch C. Koller 1883 hat die Lokalanästhesie nach zwischenzeitlich herber Kritik bis Ablehnung dennoch weite Verbreitung gefunden, zumal durch die heute zur Verfügung stehenden Substanzen ein differenzierter Einsatz unter geringer Patientengefährdung möglich geworden ist. Erst in den letzten Jahren gelang es, die zur Schmerzausschaltung führenden molekularen Mechanismen auf Zellebene zu erforschen. Der wissenschaftliche Aspekt der lokalanästhetischen Wirkung hat nicht zuletzt durch die 1991 mit dem Nobelpreis ausgezeichnete Methodik der Einzelkanalmessung von Neher und Sakmann in jüngster Zeit besondere Aktualität gewonnen. Im Gießener Fachbereich Humanmedizin wird in einer Zusammenarbeit zwischen Anästhesisten und Physiologen die blockierende Wirkung klinisch verwendeter Lokalanästhetika mit Hilfe dieser biophysikalischen Technik der Fleckklemme oder „Patch-clamp“-Methode (Abb. 1) studiert.

genannten Schnürringen (siehe Abb. 2) unterbrochen. Je nach Grad der Myelinisierung und Durchmesser der Nervenfasern werden Fortleitungsgeschwindigkeiten der Aktionspotentiale von 1 bis 120 Meter pro Sekunde erreicht. Die Intensität einer Information, hier die Stärke des Schmerzes, ist in der Zahl von Aktionspotentialen pro Zeit kodiert.

Wie wirken Lokalanästhetika?

Bespült man in elektrophysiologischen Untersuchungen die Nervenmembran mit einer Badlösung, die ein Lokalanästhetikum enthält, so werden sowohl Na Einstrom wie auch K

Zahnschmerz zum Beispiel wird wie die meisten Bioinformationen in unserem Körper in Nerven geleitet, genauer gesagt, in den einzelnen Nervenfasern, den Axonen (Abb. 2). Diese sind unterschiedlich dünne (1 bis 15 Mikrometer) und zum Teil sehr lange schlauchförmige Ausläufer einer Nervenzelle, des Neurons. Aufgrund unterschiedlicher Ionenverteilung – innerhalb des Zellplasmas viele Kaliumionen (K) und im Extrazellulärraum viele Natriumionen (Na) – besteht unter Ruhebedingungen eine Potentialdifferenz von 70 Millivolt, wobei die Innenseite der Zellmembran negativ ist. Durch einen Reiz, hier den Schmerz, entsteht ein Aktionspotential, das Grundelement eines neuronalen Biosignals, wobei die Zellmembran für eine Millisekunde durchlässiger für Na Ionen wird. Hierbei öffnen sich potentialgesteuert sogenannte Natriumkanäle, und Na Ionen strömen, dem Konzentrations- und Potentialgefälle folgend, von der Außenseite der Zellmembran an die Innenseite, wodurch es zu einer Umpolarisierung des Membranpotentials von -70 mV auf $+50$ mV kommt. Durch diese Depolarisation der Membran öffnen sich außerdem mit kurzer Verzögerung potentialabhängige Kaliumkanäle, durch die in entgegengesetzter Richtung K Ionen fließen und damit zu der Beendigung des Aktionspotentials beitragen.

Dieses elektrische Signal wird entlang der Nervenfasern fortgeleitet. Eine vielschichtige Umscheidung mit lipidhaltigem Myelin isoliert die Axonmembran nach außen und ist im Abstand von 1 bis 2 Millimetern nur an den so-

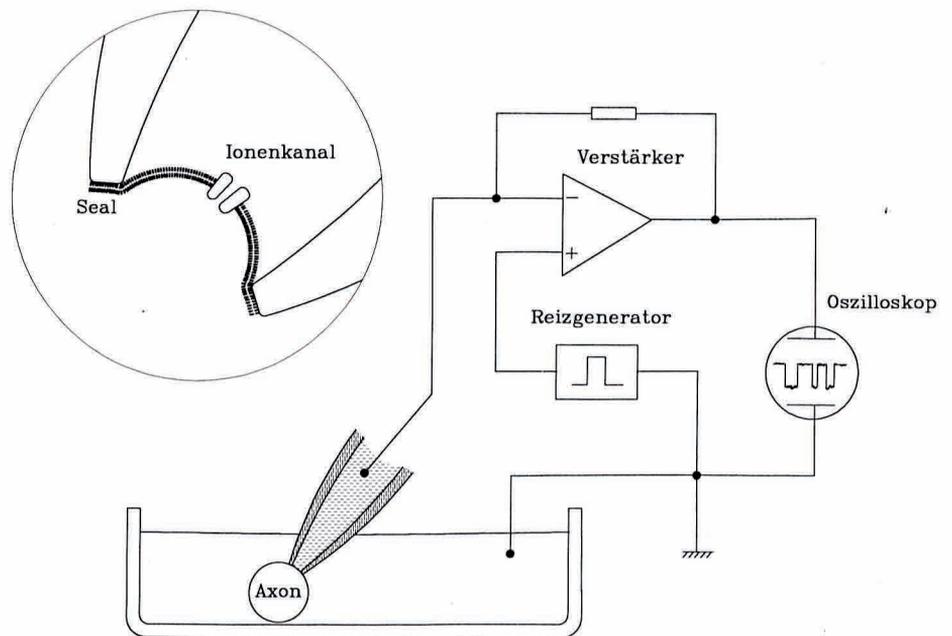


Abb. 1: Schema eines „Patch-clamp“-Experiments. In die Spitze einer vorn glattgeschmolzenen Glaspipette wird ein Fleck („patch“) der Zellmembran leicht angesaugt, so daß ein hoher Widerstand („seal“, über 5 Giga Ohm) zwischen Pipetteninnenseite und Badlösung entsteht (Hamill et al. 1981). Die Potentialdifferenz zwischen der Innen- und der Außenseite eines Membranflecks kann elektrisch festgeklemmt („clamp“) und durch eingespeiste Reize variiert werden. Öffnet nach einem Spannungssprung von -90 mV nach -40 mV z.B. ein einziger potentialabhängiger Na Kanal, so kann das als mehr oder weniger rechteckige Zunahme des Einwärtsstromes auf einem Oszilloskop beobachtet werden. Nach dem Ansaugen des „patch“ kann dieser aus dem Axon herausgerissen werden, so daß die Innenseite der Membran auf der Badseite zu liegen kommt und so wahlweise mit Testlösungen gespült werden kann („inside-out“-Konfiguration, vergrößert im Kreis abgebildet).

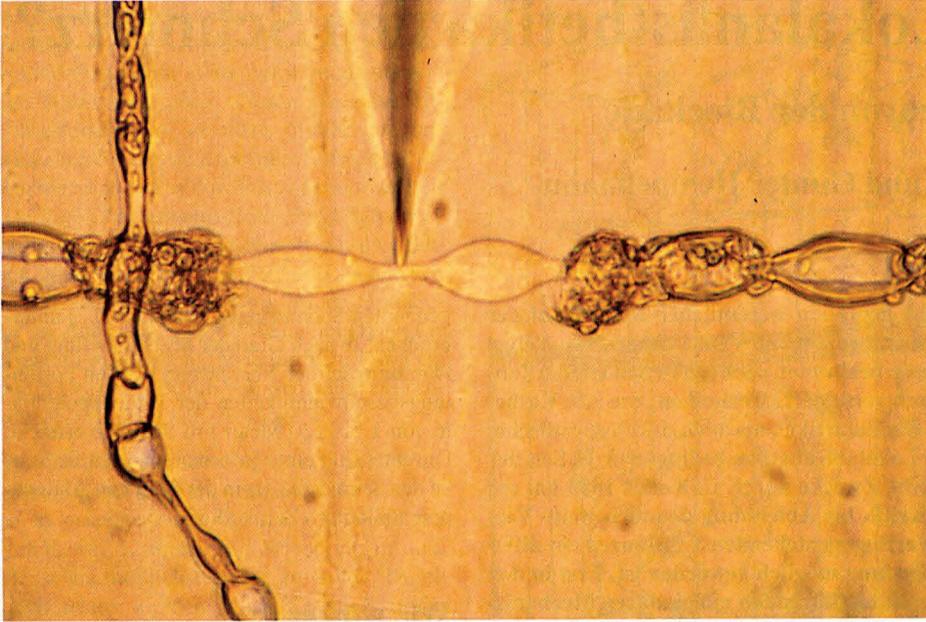


Abb. 2: Nervenaxon nach enzymatischer Behandlung mit Collagenase und Protease, die zu einem Zurückweichen der Myelinhülle vom Schnürring – dem in der Mitte auf etwa 3 Mikrometer verengten Teil des Axons – geführt hat. An diesen gereinigten Membranbereichen kann die „Patch“-Elektrode angesetzt werden.

Ausstrom unterdrückt, und Aktionspotentiale können nicht ausgebildet werden. Nach Auswaschen mit Badlösung ohne Lokalanästhetikum wird die Erregung im Nerven wieder normal fortgeleitet, die Wirkung ist also – anders als manche Nervenvergiftung – rasch und vollständig reversibel. Die chemische Bindung des Lidocainmoleküls an den Rezeptor, also den Bindungsort am Ionenkanal, scheint nur von kurzer Dauer zu sein. Sie kommt immer wieder so lange zustande, wie das Lokalanästhetikum in ausreichender Konzentration am Nerven vorliegt. Die Diffusionseigenschaften eines Lokalanästhetikums im Gewebe bestimmen damit wesentlich seine Wirkungsdauer. Für die Art der Wirkung sind die Rezeptorenverteilung an den verschiedenen Ionenkanälen und die Ausstattung der verschiedenen Typen von Nervenfasern mit den verschiedenen Ionenkanälen von Bedeutung. Ionenkanäle finden sich allerdings nicht nur in Nervenfasern, sondern sie haben als „Tausendsassa“ (Siemen, 1991) auch mannigfaltige Funktionen in unserem Körper, insbesondere auch in allen Zellen des Herzens. Das macht die Gefahr von Kreislaufkomplika­tionen nach Verabreichung höherer Dosen von Lokalanästhetika verständlich.

Die „Patch-clamp“-Methode

Die Einzelkanalanalyse wurde durch die in der Abbildung 1 dargestellte „Patch-clamp“-Me-

thode von Neher (Göttingen) und Sakmann (Heidelberg) möglich.

Im letzten Jahrzehnt wurde eine Vielzahl von Ionenkanälen nicht nur an sogenannten erregbaren Membranen von Herz-, Muskel- und Nervenzellen, sondern eigentlich an allen biologischen Zellen – auch vielen pflanzlichen – entdeckt. Allerdings waren die Ionenkanäle der peripheren Nervenaxone der Einzelkanalanalyse bislang nicht zugänglich, da hier eng umkleidendes Myelin die Membran bedeckt. Im Gießener Physiologischen Institut gelang es, diese Myelinschicht durch eine enzymatische Behandlung (Jonas et al. 1989) teilweise zu entfernen. Dazu wird ein Nerv in eine Badlösung mit Collagenase gelegt. Diese verdaut die bindegewebige Struktur aus Collagen, welche die einzelnen Axone miteinander verspannt. Anschließend wird mit einer Protease behandelt, wodurch die Anheftungspunkte des Myelins an das Axon im Bereich des Schnürrings aufgebrochen werden und die erregbare Membran freigelegt wird. Mit der so gereinigten Axonmembran kann die Öffnung der Patchpipette den nötigen engen Kontakt aufnehmen (Abb. 2).

Bei Amphibiennerven gelingt diese enzymatische Aufbereitung leichter als bei Säugernerven. Deren Bindegewebe ist deutlich stärker ausgebildet und weist eine größere Variationsbreite auf. Nerven vom Menschen sind deswegen besonders schwierig enzymatisch aufzubereiten, und es standen bis heute keine Daten über Ionenströme an menschlichen Nerven zur Verfügung. Darum diente als Modell die Ner-

venfaser des Krallenfrosches *Xenopus*. Die mit der hier beschriebenen Methode erhobenen Meßdaten von Nerven aus Amphibien, Ratten und vom Menschen lassen nur geringfügige Unterschiede erkennen.

Das überraschende Ergebnis solcher „Patch-clamp“-Untersuchungen war weniger die hohe Dichte von Ionenkanälen besonders im Schnürringbereich als vielmehr deren Vielfalt: Neben einem Natriumkanal und einem Chloridkanal konnten bislang sieben verschiedene Typen von Kaliumkanälen identifiziert werden. Die Physiologie der Modulation der einzelnen Kanalaktivitäten ist teilweise sehr komplex und wird gegenwärtig in vielen Labors intensiv beforscht. Auch die K Kanäle der myelinisierten Nervenfasermembran werden auf sehr verschiedene Weise gesteuert, zum Beispiel durch die Membranpotentialdifferenz, durch die intrazelluläre Konzentration an Calcium- oder Natriumionen oder durch Adenosintriphosphat.

Blockade des Natriumkanals

Bei den Untersuchungen wurden in erster Linie die beiden weit verbreiteten Lokalanästhetika Lidocain und Bupivacain verwendet. Dabei war zunächst die blockierende Wirkung auf die Na Kanäle von Interesse, ohne die Aktionspotentiale nicht erzeugt werden. Da Lokalanästhetika von der Innenseite der Membran wirken, wurden die Substanzen in der sogenannten „inside-out“-Konfiguration angewendet (siehe Abb. 1), so daß die sonst nötigen Diffusionswege des Lokalanästhetikums von der Außenseite durch die Membran zunächst ausgeschaltet waren.

In der Abbildung 3 sind Registrierungen eines „patch“ mit mindestens zwei Na Kanälen unter Kontrollbedingungen gezeigt. Die Kanalöffnungen treten gehäuft beim Potentialsprung von -90 mV nach -40 mV am Beginn der Registrierungen auf. Bei einer Konzentration von 10 Mikromol Bupivacain pro Liter an der Innenseite der Membran nimmt die Offenscheinlichkeit ab. Die Wahrscheinlichkeit, daß sich Na Kanäle öffnen, wird durch Bupivacain offensichtlich vermindert. An den Registrierungen der Abbildung 3 ist jedoch auch zu beobachten, daß die Stromamplituden der immer noch eintretenden Öffnungereignisse unbeeinflusst bleiben. Durch Bupivacain kommt es also nicht zu einer Veränderung der Leitfähigkeit des einzelnen Na Kanals, sondern zu einer Verhinderung der Kanalöffnung, des sogenannten „gating“. Es bleibt zu untersuchen, wie ein Bupivacainmolekül an den Rezeptorteil des Kanalproteins bindet, wie lange die Bindung bestehen bleibt, welcher Teil des Kanalproteins als Rezeptor operiert und insbesondere, wie das „gating“ des Kanals verhindert wird. Jedenfalls resultiert aus der verminderten Anzahl der Kanalöffnungen eine

Abnahme des Einstromes von Na Ionen, die Umpolarisierung der Axonmembran kann nicht erfolgen, die Ausbildung des Aktionspotentials unterbleibt, und damit ist die Leitung des Biosignals, z.B. Schmerz, unterbunden. Bespült man im Anschluß an dieses Experiment die Membran wieder mit einer Kontrolllösung ohne Lokalanästhetikum (in Abb. 3 nicht gezeigt), so wird die ursprüngliche Kanalaktivität schnell wieder erreicht. Die Wirkung des Lokalanästhetikums ist also voll reversibel.

In der Abbildung 4 ist die zunehmende Blockade („inhibition“) mit zunehmender Konzentration des Lokalanästhetikums dargestellt. Zur Blockade von 50 Prozent der Na Kanäle erweist sich Bupivacain achtmal potenter als Lidocain.

Kaliumkanäle

Die blockierende Wirkung beider Lokalanästhetika wurde auch an anderen Ionenkanälen der peripheren Nervenmembran getestet. Interessant ist der stark inhibierende Effekt von Bupivacain auf den Flickerkanal (Abb. 5). Dieser wegen seines besonders raschen Öffnens und Schließens so benannte K Kanal vermittelt aufgrund seiner ständigen erheblichen Aktivität auch unter Ruhebedingungen einen K Strom. Dadurch ist der Flickerkanal an der Generierung des oben erwähnten Ruhepotentials der Nervenfasern beteiligt (Koh et al. 1991). Durch die Blockade des Flickerkanal kommt es zu einer Depolarisation der

Membran. Dies wiederum führt zu einer hier nicht näher zu erläuternden Inaktivierung von Na Kanälen, was wiederum zu einer Dämpfung der Erregbarkeit führt.

Flickerkanäle wurden am häufigsten in dünnen Nervenfasern beobachtet. Schmerz wird in dünnen Fasern geleitet. Ob das die den Anästhesisten bekannte besonders schmerzblockierende Wirkung des Bupivacains erklärt? Lidocain dagegen hat auf Flickerkanäle eine deutlich schwächere Wirkung (Abb. 5). Bupivacain wirkt andererseits nicht auf die am häufigsten in Nervenfasern auftretenden potentialabhängigen K Kanäle. Offensichtlich bindet Bupivacain spezifischer, und es sind geringere Wirkungen auf andere Ionenkanäle zu erwarten.

Ausblick

In einer Kooperation von Membranelektrophysiologen und Anästhesisten wird die blockierende Wirkung von Lokalanästhetika an Nervenfasern von Amphibien auf Einzelkanalniveau beobachtet. Die Übertragbarkeit der Daten auf menschliche Nerven ist wahrscheinlich, muß aber experimentell geprüft werden. In wenigen Jahren ist ein vollständigeres Bild von der molekularen Interaktion der Lokalanästhetika mit Ionenkanälen besonders hinsichtlich der Art und Lage der Rezeptoren zu erwarten, und es ist auf spezifischer wirkende Pharmaka zu hoffen. Sobald die gegenwärtig in vielen Arbeitsgruppen intensiv untersuchte „Kartographie“ der Ionenkanäle an Nerven-

und anderen Geweben insbesondere von Herz und Kreislauf vervollständigt sein wird, können Nebenwirkungen von Lokalanästhetika besser abgeschätzt und vermieden werden. Aus der Biophysik der Erregungsleitung können wir ein Beispiel dafür erwarten, daß ursprünglich zweckfreie Grundlagenforschung praktisch nutzbar wird.

Literatur:

HAMILL et al. 1981, Pflügers Archiv 391:85-100
 HILLE 1992, Sinauer Verlag
 JONAS et al. 1989, Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 86:7238-7242
 KOH et al. 1991, Pflügers Archiv 418:R30
 SIEMEN 1991, Spiegel der Forschung, Heft 1

Spiegel der Forschung

Wissenschaftsmagazin der Universität Gießen

Herausgeber:

Der Präsident der Justus-Liebig-Universität Gießen

Redaktion:

Christel Lauterbach, Pressereferentin, Ludwigstr. 23, 6300 Gießen, Tel.: 0641/702 20 35, Telex 48 28 56, Telefax: (0641) 702 20 39

Anzeigenverwaltung:

Anzeigenagentur Alpha, Bürstädter Straße 48, 6840 Lampertheim I, Tel.: (06206) 5 70 21, Telex: 4 65 74

Druck:

„brühl druck + pressehaus giessen“, Am Urnenfeld 12, 6300 Gießen-Wieseck

Auflage:

10000 Expl.
 Gedruckt auf elementar chlorfreiem Papier

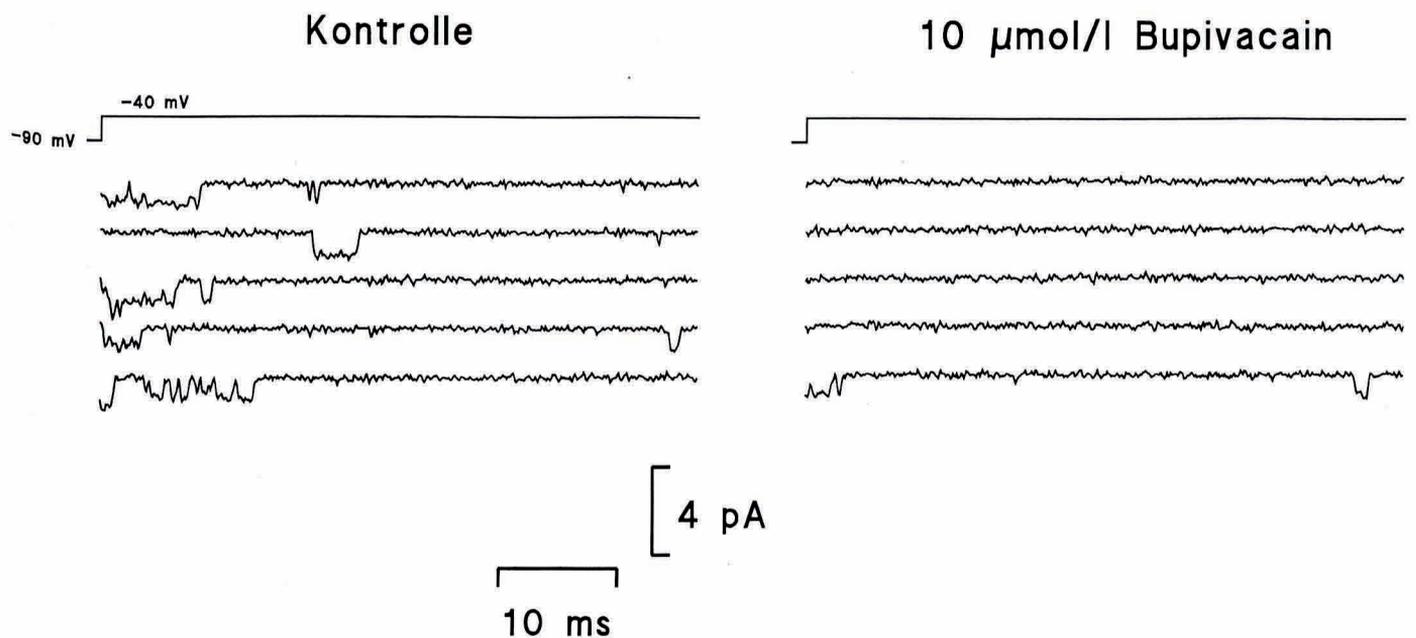


Abb. 3.: „Patch-clamp“-Ableitungen von einzelnen Natriumkanälen. Untereinander dargestellt sind je fünf Registrierungen von einem „inside-out patch“, der mindestens zwei Na Kanäle enthält. Potentialsprung von -90 mV nach -40 mV jeweils direkt vor Beginn einer Registrierung. Öffnungen von Na Kanälen sind als Ablenkungen nach unten zu erkennen. Links Kontrollbedingung mit Normallösung an der Innenseite der Membran, rechts nach Zusatz von 10 µmol/l Bupivacain.

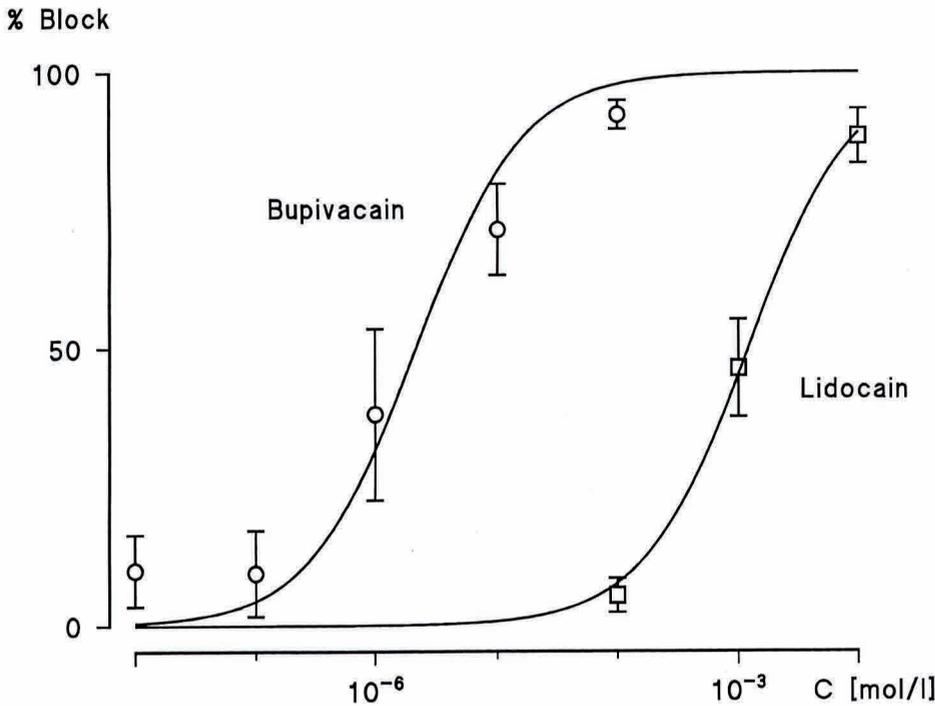


Abb. 4.: Inhibitions – Konzentrationskurve für den Na Kanal.

Inhibition des Na Stroms in Abhängigkeit von der Konzentration von Bupivacain und Lidocain. Die Kurven entsprechen der Funktion $I = 100 \times C / (C + IC_{50})$ und wurden durch Anpassung an Mittelwerte (Fehlerbalken = \pm Standardfehler des Mittelwertes) aus je fünf Experimenten mit einer Methode kleinster Fehlerquadrate erhalten, wobei C = Konzentration, IC_{50} = Konzentration zur Inhibition von 50 Prozent der Na Ströme. $IC_{50} = 8,3 \mu\text{mol/l}$ Bupivacain und $IC_{50} = 65 \mu\text{mol/l}$ Lidocain.

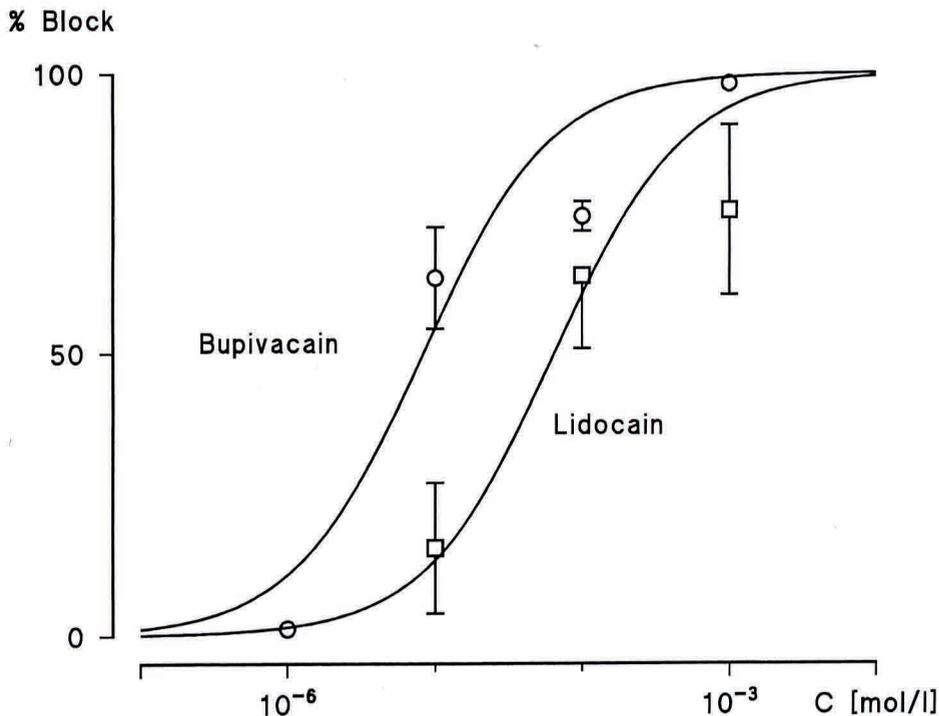
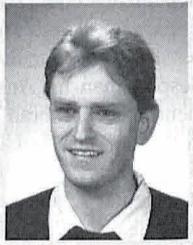


Abb. 5.: Inhibitions – Konzentrationskurve für den Flicker K Kanal. $IC_{50} = 2,2 \mu\text{mol/l}$ Bupivacain und $1200 \mu\text{mol/l}$ Lidocain, aus Kurvenanpassung erhalten wie in Abb. 4. Mittelwerte aus fünf Experimenten.

Zu den Autoren:



Michael Bräu, geboren 1961 in Hirzenhain, Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen, Staatsexamen 1989. Seit 1990 ist er wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin der Universität Gießen.

Prof. Dr. Werner Vogel, geboren 1938 in Itzehoe/Holstein, Studium der Biologie, Chemie und Humanbiologie in Würzburg und Kiel, Staatsexamen und Promotion 1966, Assessor des Höheren Lehramts 1968, Assistent im Physiologischen Institut in Kiel, 1978 an das Physiologische Institut im Fachbereich Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen berufen; Forschungsaufenthalte in Plymouth/England, Chapel Hill/North Carolina und Burlington/Vermont; Arbeitsgebiet: Elektrophysiologie des peripheren Nerven.

Prof. Dr. Gunter Hempelmann, geboren 1940 in Elmshorn, Studium der Medizin in Erlangen und Hamburg, Promotion 1966. 1972 erhielt er die Facharztanerkennung für Anästhesie und habilitierte sich 1973 für Anästhesie, Wiederbelebung und Intensivmedizin an der Medizinischen Hochschule Hannover. Seit 1978 ist Prof. Hempelmann als Professor für Anästhesiologie am Klinikum der Universität Gießen und leitet dort die Abteilung für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin des Zentrums für Chirurgie, Anästhesiologie und Urologie.