

Aus der Klinik für Anästhesiologie und operativen Intensivmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

**DISSERTATION**

**Untersuchung präsynaptischer und postsynaptischer  
Effekte der Anästhetika Sevofluran und Lachgas im  
Rückenmark des Menschen**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Michael Benzke

aus Lutherstadt Wittenberg

---

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. B. Rehberg-Klug  
2. Prof. Dr. med. B. Antkowiak  
3. Prof. Dr. med. U. Dirnagl

**Datum der Promotion: 18.09.2009**

---

## **Meiner Familie**

---

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>8</b>
1.1 Grundlagen spinaler Hemmungsmechanismen .....	13
1.1.1 Präsynaptische Inhibition .....	13
1.1.2 Postsynaptische Inhibition.....	16
1.2 Ziel der Arbeit .....	17
<b>2 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>21</b>
2.1 Probanden.....	21
2.2 Inhalationsanästhetika .....	21
2.2.1 Sevofluran .....	21
2.2.2 Lachgas.....	22
2.2.3 Zufuhr von Sevofluran und Lachgas .....	22
2.3 Technischer Aufbau zur Ableitung und Aufzeichnung der elektrophysiologischen Parameter und Vorbereitung der Probanden .....	23
2.3.1 Stimulation des H-Reflexes.....	23
2.3.2 Stimulation des N. femoralis.....	24
2.3.3 Überwachung der Vitalparameter .....	24
2.3.4 Vorbereitung der Probanden .....	25
2.4 Durchführung der Messungen.....	26
2.4.1 Heteronyme Ia-Fazilitation .....	26
2.4.2 Durchführung der Messung der heteronymen Ia-Fazilitation.....	29
2.4.3 Rekrutierungskurven .....	31
2.5 Datenanalyse und statische Auswertung .....	33
2.5.1 Heteronyme Ia-Fazilitation .....	33
2.5.2 Vergleich der Effekte von Sevofluran und Lachgas .....	34
2.5.3 Rekrutierungskurven .....	35
<b>3 ERGEBNISSE.....</b>	<b>36</b>
3.1 Probanden.....	36
3.2 Einfluss der Anästhetika Sevofluran und Lachgas auf den BIS-Wert, den OAA/S und	

---

andere Vitalparameter .....	37
3.3 Einfluss von Sevofluran und Lachgas auf die maximale H-Reflex-Amplitude.....	38
3.4 Einfluss von Sevofluran und Lachgas auf die heteronyme Ia-Fazilitation des H-Reflexes .....	41
3.5 Rekrutierungskurven und Parameter der neuronalen Erregbarkeit.....	47
<b>4 DISKUSSION .....</b>	<b>49</b>
4.1 Präsynaptische Effekte .....	51
4.2 Postsynaptische Effekte.....	53
4.3 Limitationen der Studie .....	59
<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>63</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>65</b>
<b>APPENDIX .....</b>	<b>74</b>
Curriculum Vitae.....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
Danksagung.....	76
Eidesstattliche Erklärung.....	77
Teilpublikationen .....	78

---

---

**Abkürzungsverzeichnis**

A.	Arteria
Ag/AgCl	Silber/Silberchlorid
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
ANOVA	Analysis of Variance, Varianzanalyse
BIS	Bispektralindex
CGRP	Calcitonin Gene-Related Peptide
cm	Zentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
EEG	Elektroenzephalogramm
EPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Potenzial
GABA	gamma-aminobutyric-acid ( $\gamma$ -Amino-n-Buttersäure)
G-Protein	Guaninnucleotid-bindendes Protein
H-Reflex	Hoffman Reflex
Hmax	Maximum der H-Welle
Hz/ kHz	Hertz/ Kilohertz
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potenzial
kg	Kilogramm
l	Liter
L <sub>7</sub>	Lendenwirbelkörper 7
M.	Musculus
m	männlich
mA	Milliampere
MAC	Minimum Alveolar Concentration, minimale alveoläre Konzentration
Mmax	Maximum der M-Welle
ms	Millisekunden
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mV	Millivolt
N.	Nervus
N <sub>2</sub> O	Lachgas
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OAA/S	Observer's Assessment of Alertness and Sedation, Sedierungsskala

p	p-Wert, Wahrscheinlichkeit fälschlich einen Unterschied anzunehmen
PAD	Primäre afferente Depolarisation
REM	Rapid Eye Movement
S <sub>1</sub>	Sakralwirbelkörper 1
SD	Standardabweichung eines Mittelwerts
Vol.-%	Volumenprozent
w	weiblich
ZNS	Zentrales Nervensystem
°C	Grad Celsius
%	Prozent
°	Grad

## 1 Einleitung

Der 16. Oktober 1846 wird als der Beginn der modernen Anästhesie angesehen. William Thomas Green Morton (1819-1868) gelang es, die anästhetische Wirkung von Ether erstmals öffentlich im Massachusetts General Hospital zu demonstrieren. *„Der schöne Traum, dass der Schmerz von uns genommen ist, ist zur Wirklichkeit geworden.“* So schreibt der Berliner Chirurg Johann Friedrich Dieffenbach (1792-1847) in seiner Schrift *„Der Aether gegen den Schmerz“* im Jahr 1847 [1].

Obwohl die analgetischen Eigenschaften von Lachgas schon viele Jahre bekannt waren, so dauerte es doch Jahrzehnte, bis es in der Medizin Verwendung fand. Schon 1776 wurde Lachgas von Joseph Priestley (1733-1804) entdeckt [2]. Humphrey Davy (1778-1829) beschreibt erstmals 1800 dessen analgetische Wirkung [3]. Bekanntheit erlangte Lachgas, nachdem Gardner Quincy Colton 1867 auf der Weltausstellung in Paris die Vorteile der Zahnbehandlung unter Lachgas demonstrierte. Daraufhin wurde es unverdünnt von Zahnärzten zur Zahnextraktion verwendet. Der Physiologe Ludimar Hermann (1838-1914) beschreibt in der Zeitschrift *„Berliner klinische Wochenschrift“* das Verfahren folgendermaßen: *„Ein Verfahren... nicht mehr und nicht weniger als ein Versuch, den Patienten durch Sauerstoffentzug zu ersticken, die Bewusstlosigkeit der Asphyxie zur Operation zu benutzen und dann auf Restitution zu hoffen“* [4].

Heute wird Lachgas vor allem als Zusatzanästhetikum verwendet, es führt zu einer Wirkungszunahme und Dosisreduktion anderer inhalativer und intravenöser Anästhetika.

Mit dem Einzug elektrischer Geräte in den Operationssaal suchte man ein sicheres, nicht brennbares Anästhetikum. Halothan erfüllte diese Eigenschaften und wurde ab 1956 als Inhalationsanästhetikum in den klinischen Gebrauch eingeführt. Die meisten der neuen Inhalationsanästhetika, halogenierte Kohlenwasserstoffe oder Ether, sind nach Halothan modelliert, unter anderem Sevofluran, welches sich aufgrund seiner geringen Löslichkeit als besonders gut steuerbares Anästhetikum erwies. Schon in den 1970er Jahren wurden die günstigen pharmakologischen Eigenschaften in Studien beschrieben. Jedoch dauerte die Einführung in die Klinik noch bis in die 1990er Jahre, maßgeblich wegen der hepatischen Metabolisierung und dem entstehenden Degradationsprodukt Compound A. Erst, nachdem eine Toxizität der Degradationsprodukte durch Studien ausgeschlossen werden konnte und neue Erkenntnisse zur Pathogenese der fluoridinduzierten Nierenschädigung vorlagen, erhielt es die Zulassung, so auch 1995 in Deutschland.

Bis heute konnten die Prozesse, die sich während einer Narkose abspielen nicht vollständig aufgeklärt werden. Obwohl es schon früh Bemühungen gab, die Narkose anhand klinischer Parameter einzuteilen [5;6], ist noch nicht eindeutig geklärt, wie der Begriff Narkose definiert wird. Prys-Roberts definiert die Narkose als einen Zustand, unter dem der Patient weder chirurgische Schmerzen wahrnimmt, noch sich an sie erinnern kann [7]. Kissin versteht die Narkose als einen pharmakologisch-induzierten Zustand, um psychische und physische Symptome auf ein chirurgisches Trauma zu verhindern [8]. Neben der Hypnose und Analgesie sieht er die Blockade motorischer Reaktionen auf chirurgische Schmerzreize als wichtiges Ziel der Narkose.

Sie stellt auch einen Teil des, von Eger et al. 1965 eingeführten, Standardmaßes der anästhetischen Potenz von Inhalationsanästhetika dar, der minimalen alveolaren Konzentration (Minimum Alveolar Concentration,  $MAC_{50}$ ), also der Narkosegaskonzentration, bei der 50 Prozent der Patienten keine gezielte Abwehrreaktion auf einen schmerzhaften Stimulus zeigen [9]. Folglich stellen Aussagen über die Immobilität, also die Unterdrückung motorischer Reaktionen auf chirurgische Reize, einen wesentlichen Faktor zur Bestimmung der Wirkungsstärke von Inhalationsanästhetika dar. Sevofluran und Lachgas teilen die Fähigkeit einer immobilisierenden Wirkung auf Schmerzreize.

Allgemeinanästhetika könnten die Funktion des Nervensystems auf vielen verschiedenen Stufen einschließlich peripherer sensibler Neurone, dem Rückenmark, dem Hirnstamm, kortikaler und subkortikaler Strukturen beeinflussen. Den genauen Wirkungsort zu bestimmen fällt schwer, da viele Anästhetika diffus die Aktivität des ZNS unterdrücken. Jedoch konnten *in vitro* Studien zeigen, dass spezifische kortikale Bahnen eine unterschiedliche Sensitivität auf Inhalationsanästhetika und intravenöse Anästhetika zeigen [10-12]. Dies legt nahe, dass verschiedene Anästhetika ihre Wirkung an spezifischen Orten des ZNS entfalten.

Die Ergebnisse der Arbeiten von Rampil et al. und Antognini et al. konnten demonstrieren, dass die Unterdrückung von motorischen Reaktionen auf Schmerzreize hauptsächlich auf spinaler Ebene vermittelt wird. Rampil et al. zeigten am Rattenmodell, dass sowohl die präkollikuläre Dezerebration als auch die komplette Durchtrennung des Rückenmarks auf thorakaler Ebene nur mit einer minimalen Veränderung der benötigten Menge an Isofluran einhergehen, um motorische Reaktionen auf Schmerzreize zu unterdrücken [13;14]. Antognini et al. untersuchten am Ziegenmodell die selektive Wirkung von Isofluran auf Großhirn und das Rückenmark. Sie konnten zeigen, dass der MAC für Isofluran bei pulmonaler Zuführung 1.2 % beträgt, sich jedoch bei isolierter zerebraler Perfusion des

---

Gehirns auf 3 % erhöht, einige der untersuchten Ziegen bewegten sich sogar bei nachgewiesenem Nulllinien-EEG [15]. Sie gehen aufgrund ihrer Ergebnisse davon aus, dass im Gegensatz zu den amnestischen und hypnotischen Effekten von Isofluran die Immobilität nicht im Prosenzephalon, sondern im Rückenmark vermittelt wird.

In F-Wellen-Studien konnte *in vivo* für den Menschen nachgewiesen werden, dass die Unterdrückung von Bewegungen auf Schmerzreize mit der Unterdrückung der motoneuronalen Erregbarkeit korreliert [16]. Elektrophysiologische Untersuchungen am Rückenmark von Ratten zeigten, dass Inhalationsanästhetika *in vivo* sowohl die Aktivität sensorischer als auch motorischer Neurone herabsetzen können [13;14;17;18]. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass es keinen einheitlichen Angriffspunkt für alle Anästhetika bezüglich der Immobilität gibt. Halothan scheint vor allem an Hinterhornneuronen seine Wirkung zu entfalten, wo es vor allem die sensorische Verarbeitung beeinflussen würde. Im Gegensatz dazu konnte für Isofluran eine Wirkung im vorderen Bereich des Rückenmarks gezeigt werden, was wiederum eher einen Effekt auf die motorische Komponente zeigen würde [17]. Periphere Effekte von Inhalationsanästhetika an Nozizeptoren, peripheren Nerven und Muskeln in klinisch relevanten Konzentrationen konnten weitgehend ausgeschlossen werden [19].

Die Ergebnisse dieser Studien konnten trotz unterschiedlicher Spezies und unterschiedlichem experimentellen Aufbau zeigen, dass die Immobilität durch Inhalationsanästhetika primär auf spinaler Ebene vermittelt wird und nur ein geringer Teil durch zerebrale Effekte bedingt ist.

Für große Teile des 20. Jahrhunderts wurde angenommen, dass Anästhetika einen gemeinsamen Wirkungsmechanismus haben und die anästhetischen Eigenschaften auf der Überwindung der physikalischen Barriere von Zellmembranen beruhen. Diese Theorie stützte sich größtenteils auf die Beobachtungen, dass die Potenz eines Inhalationsanästhetikums mit der Löslichkeit in Olivenöl korreliert. Horst Meyer (1853-1939) und Charles Ernest Overton (1865-1933) konnten diesen Effekt unabhängig voneinander nachweisen [20;21]. Die nach ihnen benannte Meyer-Overton-Regel nahm an, dass die Lipiddoppelschicht Ziel der Anästhetika sei und deren Struktur verändere. In letzter Zeit konnten jedoch Abweichungen von dieser Regel klar aufgezeigt werden [22;23]. Es konnte demonstriert werden, dass intravenöse Anästhetika und Inhalationsanästhetika enantioselektiv in ihrer Wirkung sind [24-26]. Schon 1984 konnten Franks und Lieb eine direkte Interaktion von Allgemeinanästhetika mit membranständigen Proteinen zeigen [27]. Auch durch Temperaturänderungen ausgelöste Einflüsse auf die Lipidkonformation bewirkten keine anästhetischen Effekte [28].

---

In letzter Zeit rückten elektrophysiologische Effekte von Allgemeinanästhetika auf zellulärer Ebene in den Vordergrund. Mehr als 30 verschiedene Ionenkanaltypen konnten als molekulare Ziele von Anästhetika identifiziert werden [29]. Für die in dieser Studie untersuchten Anästhetika Sevofluran und Lachgas konnten Interaktionen für diverse Rezeptoren *in vitro* nachgewiesen werden.

Grasshoff und Antkowiak konnten zeigen, dass die Wirkung von Sevofluran an spinalen Neuronen in hohem Maße auf einer direkten Aktivierung von  $\gamma$ -Amino-n-Buttersäure-A- ( $GABA_A$ ) und Glycin-Rezeptoren und der damit erhöhten Leitfähigkeit von Chloridionen-Kanälen zurückzuführen ist [30]. Die Wirkung von Sevofluran am Glycinrezeptor konnte sowohl an dissoziierten Hippocampus-Neuronen, als auch an rekombinanten humanen Glycin- $\alpha_1$ -Rezeptoren auf humanen embryonalen Nierenzellen nachgewiesen werden [31;32]. Wang und Deng zeigten im Tiermodell, dass Sevofluran durch die Aktivierung von  $GABA_A$ -Rezeptoren an der Unterdrückung spinaler Nozizeption beteiligt sein soll [33]. Weiterhin sollen exzitatorische Effekte unterdrückt werden, indem Sevofluran den N-methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDA-Rezeptor) und den  $\alpha$ -Amino-5-methyl-4-isoxazolepropionsäure-Rezeptor (AMPA-Rezeptor), Subtypen des Glutamat-Rezeptors, in Abhängigkeit von der Konzentration hemmen [34].

Für Lachgas konnte gezeigt werden, dass dessen hypnotische Wirkung hauptsächlich auf einem nichtkompetitiven Antagonismus an exzitatorischen Glutamatrezeptoren, wie NMDA- und AMPA-Rezeptoren beruht [35-37]. Jevtovic-Todorovic und Mennerick konnten zeigen, dass eine 80 %-ige Lachgaskonzentration den größten Effekt am NMDA-Rezeptor hat und dass diese nur wenig von der Spannung und nicht vom Öffnungszustand des NMDA-Rezeptor abhängig ist [36;37]. Die antagonistische Wirkung am AMPA-Rezeptor ist geringer als die am NMDA-Rezeptor und spannungsabhängig [37]. Mennerick et al. zeigen in ihren Untersuchungen, dass Lachgas seine Wirkung bei der synaptischen Übertragung auf postsynaptische Ziele in Hippocampuskulturen beschränkt [37]. Einen Einfluss auf „high voltage-gated“ Kalziumkanäle als mögliche präsynaptische Ziele für Lachgas konnte nicht nachgewiesen werden [37]. Weiterhin konnte eine  $GABA_A$ erge Wirkung an rekombinanten  $GABA_A$ -Rezeptoren in humanen embryonalen Nierenzellen nachgewiesen werden [35].

Die analgetische Wirkung von Lachgas beruht auf der Freisetzung endogener Opioidpeptide im periaquäduktalen Grau und der Aktivierung absteigender hemmender Bahnen [37-41]. Doch obwohl zelluläre Experimente  $GABA_A$ -, Glycin- und Glutamat-Rezeptoren als primär

---

verantwortliche Wirkungsstrukturen identifizieren konnten, bleiben die Mechanismen der Bewegungsunterdrückung im intakten motorischen System ungeklärt.

Für die intravenösen Anästhetika Propofol und Etomidat konnten gezeigt werden, dass sie ihre immobilisierende Wirkung über GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren vermitteln. Eine Punktmutation in der beta-3-Untereinheit des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors minimierte bei Mäusen die unterdrückende Wirkung motorischer Reaktionen auf Schmerzreize durch Propofol und Etomidat [42;43]. Da Sevofluran *in vitro* eine verstärkende Wirkung am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor zeigt, kann vermutet werden, dass es seinen immobilisierenden Effekt ebenfalls durch Wirkung am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor entfaltet. Deshalb soll auch der Frage nachgegangen werden, ob der in dieser Studie untersuchte Mechanismus der GABAergen präsynaptischen Inhibition zu einem immobilisierenden Effekt von Sevofluran beitragen könnte. *In vivo* Studien am Menschen konnten für volatile Anästhetika und Lachgas unter Verwendung des H-Reflexes bereits erste Hinweise darauf liefern, dass die Unterdrückung der spinalen motoneuronalen Erregbarkeit mit der Unterdrückung motorischer Reaktionen auf Schmerzreize korreliert [16;44;45]. *In vitro*-Studien ergaben, dass sowohl präsynaptische als auch postsynaptische Hemmungsmechanismen in der Umgebung erregender Synapsen von Motoneuronen beteiligt sein könnten [46-48].

## **1.1 Grundlagen spinaler Hemmungsmechanismen**

Die in dieser Studie untersuchten Hemmungsmechanismen der präsynaptischen und postsynaptischen Inhibition des zentralen Nervensystems sollen im Folgendem näher erklärt werden. Mögliche Einflüsse auf diese durch Lachgas und Sevofluran stellen den Gegenstand dieser Arbeit dar.

Das ZNS hätte stetig eine Vielzahl von afferenten Impulsen aus Sinnesorganen zu verarbeiten, würden diese ungefiltert weitergeleitet. Zur Reduzierung des Überangebots und zur Filterung relevanter Informationen müssen demnach hemmende Mechanismen existieren. Inhibitorische Mechanismen existieren beim Menschen bereits an der ersten Synapse im Rückenmark an der Endigung der primären afferenten Faser und der nachfolgenden Zelle. Aufgrund des räumlichen Bezugs dieser beiden Zellen zur Synapse wird die Inhibition in eine präsynaptische für die primäre Afferenz und postsynaptische für die nachfolgende Zelle unterteilt. Somit stellt das Rückenmark einen frühen Punkt dar, an dem inhibitorische Einflüsse auf afferente Bahnen wirken können.

### **1.1.1 Präsynaptische Inhibition**

Das zentrale Nervensystem verfügt mit der präsynaptischen Inhibition über einen potenten Hemmungsmechanismus, Informationen primärafferenter Signale frühzeitig, sehr präzise in der Peripherie durch selektive Beeinflussung einzelner Neurone zu modulieren.

Erstmals beobachteten die Wissenschaftler Franks und Fuortes 1957 nach der Stimulation afferenter Ia-Fasern die Abnahme des monosynaptisch exzitatorischen postsynaptischen Potenzials (EPSP) an den nachfolgenden Motoneuronen, jedoch ohne gleichzeitige Veränderungen postsynaptischer Potenziale oder Veränderungen der Erregbarkeit der Motoneurone [49]. Sie fanden schließlich zwei Erklärungsansätze: 1.) es erfolgt eine postsynaptische Inhibition an entfernten Dendriten oder 2.) inhibitorische Impulse interagieren mit den exzitatorischen, bevor diese das Motoneuron erreichen. Aufgrund der großen räumlichen Entfernung der inhibitorischen Mechanismen in Bezug zum Motoneuronensoma, benannten sie das Phänomen „entfernte Inhibition“ (remote inhibition).

Auf dieser Grundlage führten Eccles et al. und Lundberg et al. 1961 die Forschung zum Thema „entfernte Inhibition“ fort. Sie konnten bestätigen, dass die Unterdrückung der EPSPs ohne darstellbare Veränderungen des Ruhemembranpotenzials oder der Erregbarkeit

---

postsynaptischer Zellen stattfindet [50-52]. Im Gegensatz dazu blieben monosynaptische EPSPs mit Ursprung in absteigenden Bahnen in ihrer Größe unverändert. Das Ergebnis, das monosynaptischen EPSPs, welche durch absteigende Bahnen ausgelöst wurden, in den gleichen Motoneuronen nicht durch die gleichen konditionierenden Stimuli wie die EPSPs der Ia-Afferenzen unterdrückt wurden, wurde als Beweis eines primärafferenten Ursprungs der Unterdrückung der Ia-EPSPs angesehen. Aufgrund dieser Tatsache wurde die „entfernte Inhibition“ nun „präsynaptische Inhibition“ genannt.

Die präsynaptische Inhibition stellt eine komplexe Form der Hemmung dar. In Abbildung 1 wird diese anhand einer hemmenden GABAergen axo-axonalen Synapse der auf das Motoneuron projizierenden Ia-Faser dargestellt. Das Motoneuron erhält einen synaptisch erregenden Zufluss von den Muskelspindeln über Ia-Fasern. Am Ende der Ia-Faser liegt eine GABAerge axo-axonale Synapse mit der Endigung eines Interneurons. Das von den Ia-Fasern ausgelöste EPSP wird gehemmt, wenn das Interneuron einige Millisekunden vor der Ia-Faser erregt wird. Die Ausschüttung des Transmitters GABA aus dem präsynaptischen Interneuron führt zu einer verminderten Ausschüttung des exzitatorischen Transmitters Glutamat aus der primären Afferenz und somit zu einer Reduktion des EPSPs am Motoneuron. Die Freisetzung von GABA aus dem präsynaptischen inhibitorischen Interneuron führt zur Aktivierung zwei verschiedener Subtypen des GABA-Rezeptors, welche sich im Mechanismus der Signalweiterleitung und im relativen Anteil der Höhe der präsynaptischen Inhibition unterscheiden.

Typ A) Der prominentere ionotrope  $GABA_A$ -Rezeptor ist ein ligandenaktivierter Ionenkanal. Dieser aus fünf Untereinheiten bestehende Kanal führt bei Aktivierung zu Erhöhung der Leitfähigkeit des Ionenkanals für Chloridionen.

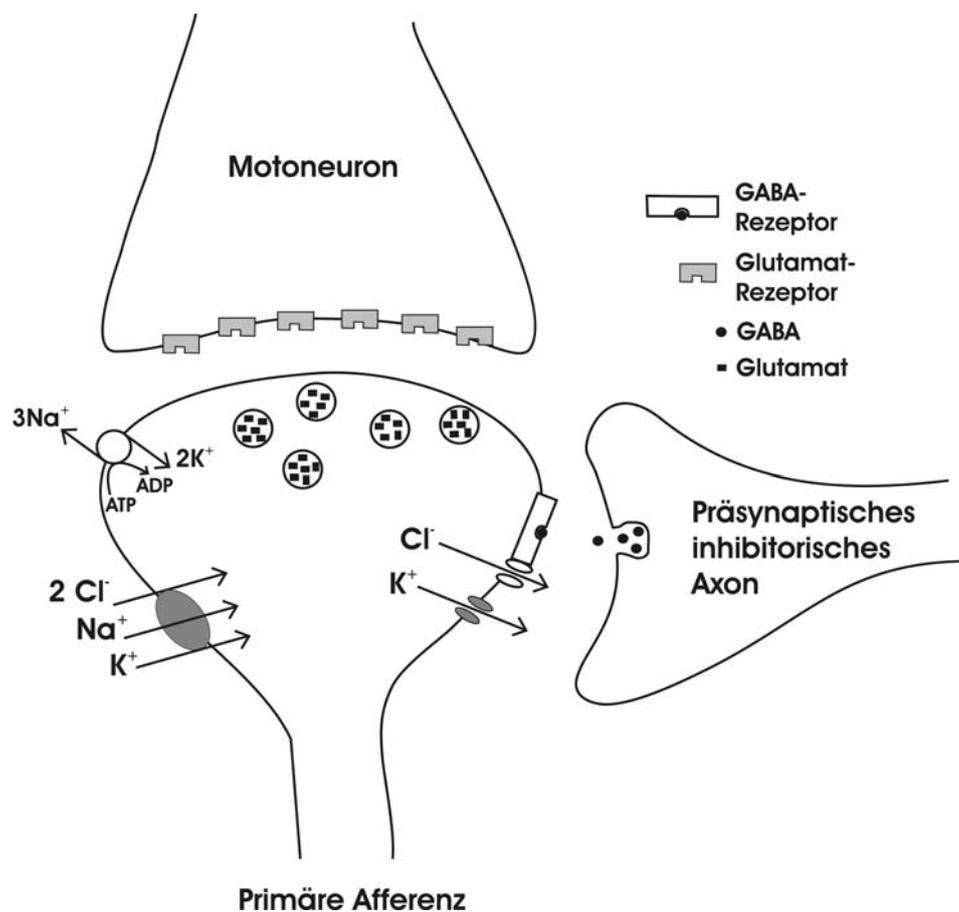
Typ B) Der metabotrope  $GABA_B$ -Rezeptor ist im Gegensatz dazu an ein G-Protein gekoppelt und führt zu einer erhöhten Leitfähigkeit für Kalium und zu einer verminderten Leitfähigkeit für Kalzium [53-55].

Zur Differenzierung des jeweiligen Anteils des GABA-Rezeptorsubtypen an der präsynaptischen Inhibition wurde der Einfluss des jeweiligen Rezeptorantagonisten untersucht. Unter der Gabe der  $GABA_A$ -Rezeptorantagonisten Picrotoxin und Bicucullin konnte eine erhebliche, aber keine komplette Aufhebung der präsynaptischen Inhibition gezeigt werden, mit der Schlussfolgerung einer zusätzlichen Beteiligung von  $GABA_B$ -Rezeptoren [56-60]. Umgekehrt verzeichnete man nach der Gabe des Typ-B-Rezeptorantagonisten eine deutlich geringere Reduktion der präsynaptischen Inhibition als bei der Antagonisierung der  $GABA_A$ -Rezeptoren. Der größere Anteil der  $GABA_A$ -Rezeptoren an

---

der präsynaptischen Inhibition wird mit der Fähigkeit in Verbindung gebracht, vorwiegend ein schnelles Einsetzen der Inhibition zu erreichen, während die Aktivierung von GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren den Erhalt der Inhibition bei längerem Kontakt axo-axonaler Synapsen bewirkt [61].

Wird ein GABA<sub>A</sub>-Rezeptor der Ia-Afferenz durch Ausschüttung von GABA durch das inhibitorische Interneuron aktiviert, führt das zu einem Ausstrom von Chlorid-Ionen entlang des elektrochemischen Gradienten von intrazellulär nach extrazellulär [62-65]. Der Verlust negativ geladener Ionen führt zu einer Depolarisation der primären Afferenz (primary afferent depolarisation - PAD), die einen Kalium- und Wasserausstrom aus der Zelle zur Folge hat. Der Ionengradient und das osmotische Gleichgewicht werden über einen aktiven Natrium-Kalium-Chlorid-Kotransporter wiederhergestellt [66;67]. Der entstandene intrazelluläre



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der primären afferenten Depolarisation (PAD). Modifiziert nach F. J. Alvarez-Leefmanns [66;67].

Natriumüberschuss wird aktiv durch eine Natrium-Kalium-Pumpe ausgeglichen. Die primär afferente Depolarisation der Ia-Faser hat zur Folge, dass die Amplitude des in der Peripherie ausgelösten Aktionspotenzials abnimmt. Folglich kommt es zu einer geringeren Aktivierung von Kalzium-Kanälen und damit zu einem verminderten Anstieg des intrazellulären Kalziumspiegels. Die kalziumabhängige synaptische Vesikelfusion an der präsynaptischen Plasmamembran wird reduziert und führt zu einer verminderten Ausschüttung des Neurotransmitters Glutamat und somit zu einer Reduktion des EPSPs am Zielmotoneuron. GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren erreichen dieses Ziel „G-Protein“-vermittelt durch einen verminderten Einstrom von Kalzium durch spannungsabhängige Kalzium-Kanäle an der primären Afferenz.

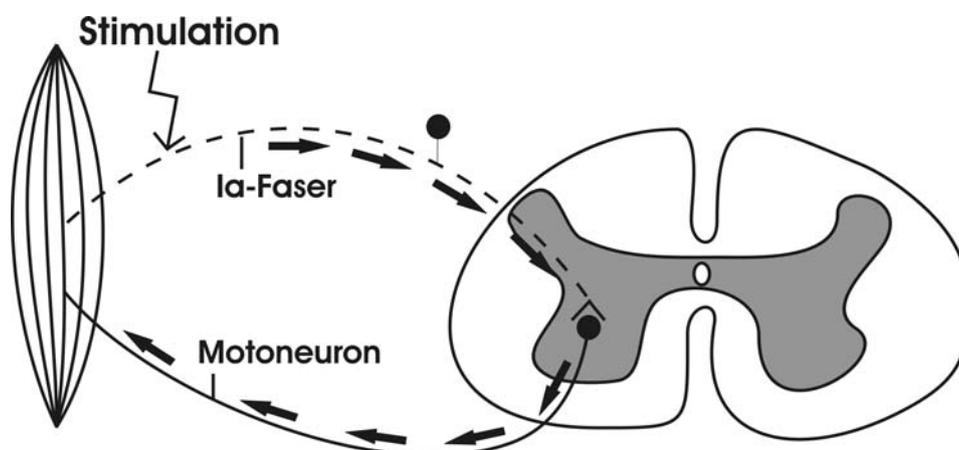
### **1.1.2 Postsynaptische Inhibition**

Die postsynaptische Inhibition ist ein weniger selektiver Hemmungsmechanismus des ZNS, da alle Einflüsse auf die nachfolgende Zelle vollständig reduziert werden. Die durch einen inhibitorischen Transmitter ausgelösten hemmenden postsynaptischen Potenziale (IPSP) führen zu einer Hyperpolarisation und behindern so die Depolarisation zur Erregungsschwelle. IPSP und EPSP summieren sich räumlich und zeitlich an einer Nervenzelle, und die Summe bestimmt schließlich die Frequenz des Aktionspotenzials im Axon. Auch die räumliche Verteilung der inhibitorischen und exzitatorischen Synapsen kann von Bedeutung sein. Hemmende Synapsen liegen vermehrt in der Nähe des Axonhügels und kontrollieren dort, wie die hauptsächlich an den Dendriten lokalisierten EPSPs auf die Depolarisation des Axons einwirken. Im Rückenmark wird die postsynaptische Inhibition hauptsächlich durch Glycin vermittelt. Der Glycin-Rezeptor ist, ähnlich dem GABA-Rezeptor, ein ligandengekoppelter Chloridkanal.

## 1.2 Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Studie ist es, das Ausmaß der präsynaptischen und postsynaptischen Effekte der Anästhetika Sevofluran und Lachgas auf die motoneuronale Erregbarkeit an einem monosynaptischen Reflexbogen zu differenzieren, und aufgrund der Ergebnisse auf mögliche molekulare Wirkungsstrukturen am intakten Rückenmark des Menschen schließen zu können. Hierfür wurde das von Hultborn et al. etablierte Verfahren der heteronymen monosynaptischen Ia-Fazilitation verwendet, was im Folgenden näher erläutert werden soll.

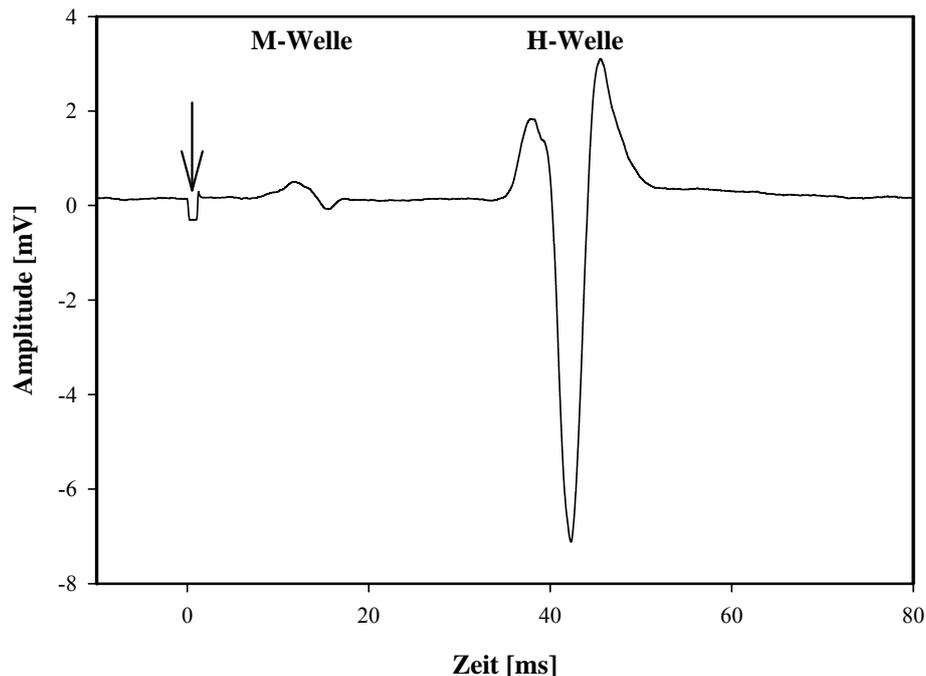
Die Grundlage dieser Methode stellt der Hoffman-Reflex (H-Reflex) dar [68]. Dieser erstmals durch den Physiologen Paul Hoffman 1918 beschriebene Reflex wird durch die Stimulation des N. tibialis in der Fossa poplitea ausgelöst, bei dem selektiv die aus den Muskelspindeln des M. soleus stammenden Ia-Afferenzen erregt werden. Die Impulse werden im Rückenmark monosynaptisch auf die  $\alpha$ -Motoneurone verschaltet und lösen eine Kontraktion des M. soleus aus (Abbildung 2).



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung des H-Reflexes. Durch die Stimulation der sensorischen Ia-Fasern werden Aktionspotenziale zum Rückenmark weitergeleitet und monosynaptisch im Vorderhorn auf die  $\alpha$ -Motoneurone verschaltet. Über dem M. soleus kann die Muskelantwort im Elektromyogramm abgeleitet werden.

In Abhängigkeit von der Stimulationsstromstärke lassen sich zwei elektromyographische Antworten registrieren (Abbildung 3). Bei niedriger Stimulationsstromstärke entsteht mit einer Latenz von 30-35 ms die H-Welle, diese stellt die Erregung der Ia-Afferenzen dar. Bei zunehmender Stimulusintensität erscheint mit einer Latenz von 5-10 ms die M-Welle als

Ausdruck direkter Erregung motorischer Axone. Die Bezeichnung „Hoffman-Reflex“ führten Magladery und MacDougal 1950 Paul Hoffman zu Ehren ein, auch den monosynaptischen Charakter konnten sie ein Jahr später nachweisen [69]. Klinisch wird der H-Reflex in der Neurologie zur Diagnostik des S<sub>1</sub>-Syndroms, des Konus-/Kauda-Syndroms und des Guillain-Barré-Syndroms eingesetzt, auch für die Grundlagenforschung ist er sehr wichtig [70].



**Abbildung 3:** Exemplarische Darstellung einer elektromyographischen Ableitung des H-Reflexes über dem M. soleus nach elektrischer Stimulation des N. tibialis in der Fossa poplitea. Die erste Welle repräsentiert die M-Welle nach direkter Stimulation der  $\alpha$ -Motoneurone. Die zweite Welle stellt die H-Welle als monosynaptisch verschaltete Muskelantwort dar. Der Pfeil markiert den Zeitpunkt der Stimulation der N. tibialis.

Für den Nachweis präsynaptischer Effekte nutzen wir die von Hultborn et al. etablierte Methode der heteronymen monosynaptischen Ia-Fazilitation [71]. Hierbei wird zusätzlich zur Ia-Afferenz des M. soleus die Ia-Afferenz des N. femoralis im Trigonum femorale stimuliert. Die Ia-Afferenzen des N. femoralis verfügen über Kollateralen, welche monosynaptisch auf die  $\alpha$ -Motoneurone des M. soleus projizieren. Wird gewährleistet, dass die EPSPs der Ia-Afferenzen des M. soleus und M. quadriceps femoris simultan auf das M. soleus  $\alpha$ -Motoneuron treffen, führt dies zu einer Vergrößerung der Amplitude des M. soleus

H-Reflexes. Motoneurone, welche durch den Stimulus der Ia-Afferenzen des M. soleus allein nicht erregt würden, werden nun durch das zusätzliche EPSP gebahnt (konditioniert).

Es konnte gezeigt werden, dass die Ia-Fasern des N. femoralis vor ihrer Verschaltung auf die Soleus-Motoneurone Gegenstand präsynaptischer Inhibition sind [72]. Werden die Größe des unkonditionierten H-Reflexes und die Stimulationstärke des N. femoralis konstant gehalten und wird der monosynaptische Charakter gewährleistet, dann können Veränderungen in der Höhe der Bahnung allein auf eine veränderte Höhe der präsynaptischen Inhibition zurückgeführt werden.

*In vitro*-Studien an spinalen Schnittpräparaten zeigten, dass Anästhetika die spinale motoneuronale Erregbarkeit sowohl durch präsynaptische als auch durch postsynaptische Mechanismen unterdrücken können [46-48]. Jedoch ist die relative Verteilung präsynaptischer und postsynaptischer Effekte unbekannt.

Um den Umfang präsynaptischer und postsynaptischer Einflüsse der untersuchten Anästhetika auf die Erregbarkeit des spinalen monosynaptischen Reflexbogens differenzieren zu können und aus den Ergebnissen auf mögliche rezeptorspezifische Wirkungen von Lachgas und Sevofluran *in vivo* am Menschen schließen zu können, untersuchten wir die zwei folgenden Parameter:

1.) den elektrophysiologischen Parameter der motoneuronalen Erregbarkeit  $H_{\max}/M_{\max}$ :

Dieser wird berechnet als Quotient aus der maximalen H-Reflex-Antwort ( $H_{\max}$ ) und der maximalen M-Antwort ( $M_{\max}$ ).  $M_{\max}$  spiegelt die Erregung aller Motoneurone wider und ermöglicht so ein Abschätzen der Antwort des gesamten Motoneuronenpools des M. soleus. Der Quotient dient der Einschätzung des Anteils der M. soleus-Neurone, der monosynaptisch durch Ia-Fasern des M. soleus im Rückenmark erregt werden kann, und dient so als elektrophysiologischer Parameter der motoneuronalen Erregbarkeit. Die Abnahme der motoneuronalen Erregbarkeit kann sowohl durch präsynaptische, als auch durch postsynaptische Effekte beeinflusst werden. Um den Effekten von Sevofluran und Lachgas, genauer präsynaptischen und postsynaptischen Effekten zuschreiben zu können, untersuchten wir einen weiteren Parameter nach dem Verfahren, welches von Hultborn et al. etabliert wurde [71].

2.) die Höhe der präsynaptischen Inhibition:

Werden die Größe des unkonditionierten H-Reflexes und die Stimulationstärke des N. femoralis konstant gehalten und wird der monosynaptische Charakter gewährleistet, dann können Veränderungen in der Höhe der Bahnung allein auf eine veränderte Höhe der

---

GABAergen präsynaptischen Inhibition zurückgeführt werden.

Die *in vitro*-Ergebnisse konnten zeigen, dass der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor als primäre Struktur bei der Vermittlung chirurgischer Immobilität durch Sevofluran als mögliches Ziel in Frage kommt. Es soll der Fragestellung nachgegangen werden, ob die *in vitro*-Ergebnisse durch die *in vivo*-Ergebnisse dieser Studie bestätigt werden können. Anhand der Wirkung von Sevofluran auf die präsynaptische Inhibition soll eine mögliche Wirkung am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor *in vivo* am Menschen gezeigt werden, und es soll nachgewiesen werden, dass der NMDA-Antagonist Lachgas keine oder nur geringe Effekte auf die präsynaptische Inhibition aufweist. Es soll versucht werden anhand der heteronomen Ia-Fazilitation präsynaptische Effekte, welche schon für Propofol gezeigt werden konnten, für Sevofluran nachzuweisen, und somit die Wirkung am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor *in vivo* zu demonstrieren [73].

*Hypothese 1: Sevofluran verstärkt die präsynaptische Inhibition afferenter Ia-Fasern im Rückenmark und weist somit spezifische GABAerge Effekte in vivo beim Menschen auf.*

Die, in dem hier untersuchten monosynaptischen Reflexbogen, beteiligten Transmitter sind Glutamat für die synaptische Übertragung von der Ia-Afferenz auf die Motoneurone und GABA, welches die präsynaptische Inhibition an der Ia-Afferenz vermittelt. Die Rolle der GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren bei der präsynaptischen Inhibition konnte in Studien glaubhaft belegt werden [74]. Hingegen ist die Art der postsynaptischen Glutamat-Rezeptoren weitgehend ungeklärt, es scheinen sowohl NMDA- als auch AMPA-Rezeptoren involviert zu sein [74;74]. Um die Größe des Einflusses von Sevofluran *in vivo* auf GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren und auf die präsynaptische Inhibition einzuschätzen, wurden die präsynaptischen Effekte von Sevofluran mit denen von Lachgas verglichen. Lachgas vermittelt seine Effekte überwiegend durch Glutamat-Rezeptoren, und somit vermutlich mehr auf postsynaptischer Seite und wurde für diese Studie als Kontrollsubstanz mit einem geringen bzw. keinem GABAergen Effekt gewählt [36;75]. Daher erwarten wir für unseren experimentellen Ansatz:

*Hypothese 2: Lachgas bewirkt keine oder eine geringe Verstärkung der präsynaptischen Inhibition afferenter Ia-Fasern im Rückenmark und weist damit keine oder nur geringe GABAerge Effekte in vivo am Menschen auf.*

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Probanden

Nach Zustimmung der Ethikkommission der Charité wurde die Studie an 24, davon 5 weiblichen, gesunden, volljährigen und einwilligungsfähigen Probanden durchgeführt. Diese wurden gemäß der American Society of Anaesthesiologists als Risikoklasse 1 klassifiziert. Die Studienteilnehmer wurden zum Aufklärungsgespräch und zur Probemessung ohne Gabe von Sevofluran und Lachgas mindestens einen Tag vor der Messung geladen, um die Eignung zur Teilnahme an der Studie zu prüfen.

Vor Beginn der Probemessung wurden die Probanden über Ziel, Zweck, Ablauf und Risiken der Studie mündlich und schriftlich informiert. Als Teilnahmevoraussetzung musste ein H-Reflex auslösbar sein, der bei zusätzlicher Stimulation des N. femoralis um mindestens 15 % gebahnt werden kann. Den Probanden wurde bei der Probemessung die Möglichkeit gegeben, sich mit dem Messablauf vertraut zu machen und Fragen zu stellen. Als Ausschlusskriterien galten neurologische Erkrankungen, chronische Einnahme ZNS-wirksamer Medikamente, bereits bekannte Unverträglichkeit von Lachgas oder Sevofluran, Drogen- oder Alkoholabusus, Schwangerschaft und alle Kontraindikationen für eine Maskenbeatmung. Alle Probanden gaben ihre schriftliche Zustimmung zur Durchführung der Studie.

### 2.2 Inhalationsanästhetika

In dieser Studie wurden das volatile Anästhetikum Sevofluran und Lachgas verwendet.

#### 2.2.1 Sevofluran

Das volatile Anästhetikum Sevofluran (Sevorane®, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland) ist ein mit sieben Fluor-Atomen halogenerter Methylether [Fluormethyl 2,2,2-trifluor-1-(trifluormethyl)äthyl-Äther] und hat die Summenformel  $C_4H_3OF_7$ . Bei Raumtemperatur ist es eine klare, farblose, volatile Flüssigkeit, sie ist nicht entflammbar und nicht explosiv im Gemisch mit Raumluft oder Sauerstoff. Ein spezieller Verdampfer ist nötig, um den flüssigen Stoff in die Gasphase zu überführen (Siedepunkt 58,5°C; Dampfdruck bei 25°C 200 mmHg) [76]. Mit einem niedrigen Blut-Gas-Koeffizienten von 0.686 +/- 0.047 (Mittelwert +/- SD) und einem niedrigen Gehirn-/ Blutverteilungskoeffizienten von 1.70 +/- 0.09 (Mittelwert +/- SD) besitzt Sevofluran eine sehr günstige Pharmakokinetik [77-79]. Diese sorgt für ein

schnelles Anfluten von Sevofluran in der Einleitungsphase und einen schnellen Anstieg der Narkosegaskonzentration im Blut und ZNS/Rückenmark, dem Effektkompartiment, welches Hauptziel dieser Studie ist. Dadurch ist eine schnelle Anpassung der Narkosetiefe bei Veränderung der zugeführten Narkosegaskonzentration und eine schnelle pulmonale Elimination bei der Narkoseausleitung und somit eine gute Steuerbarkeit der Narkose möglich. Die minimale alveoläre Konzentration für Menschen mittleren Alters ( $MAC_{50}$ ) beträgt 1.7 [80] bzw. 2.1 [81] Vol.-%. Sevofluran ist seit 1995 als Narkosegas auf dem deutschen Markt zugelassen.

### **2.2.2 Lachgas**

Lachgas (Distickstoffmonoxid) ist ein inertes, farb-, geruch- und geschmackloses Gas, es ist für die Schleimhäute völlig reizlos. Es ist weder brennbar noch explosiv, hat aber eine brandfördernde Wirkung. Die Summenformel lautet  $N_2O$ .

Lachgas hat im Gegensatz zu den volatilen Anästhetika niedrigere Verteilungskoeffizienten, auch hier sorgt der niedrige Gehirn-/Blutverteilungs-Koeffizient von 1.1 bei  $37^\circ C$  für einen schnellen Anstieg der Narkosegas-Konzentration im ZNS/Rückenmark [82]. Aus der geringen Löslichkeit im Blut mit einem Blut-Gas-Koeffizienten von 0.47 resultiert die schnelle Äquilibration zwischen zugeführter und alveolärer Konzentration. Der MAC-Wert von Lachgas liegt theoretisch bei  $104 \pm 0.10 \%$  (Mittelwert  $\pm$  SD), weshalb Lachgas unter isobaren Bedingungen nicht als Monoanästhetikum verwendet werden kann [83].

### **2.2.3 Zufuhr von Sevofluran und Lachgas**

Als Narkosegeräte dienten die Narkosesysteme „Primus“ und „Zeus“ der Firma Dräger (Dräger Medical Deutschland GmbH, Lübeck, Deutschland). Beide Geräte sind Standard-Narkosegeräte und bieten eine Vielzahl von Modi, Messverfahren und Anzeigen. Zum Monitoring können unter anderem folgende Parameter überwacht werden: inspiratorische und expiratorische Konzentration von Sauerstoff, Lachgas, Kohlenstoffdioxid sowie volatiler Anästhetika (Halothan, Enfluran, Isofluran, Sevofluran, Desfluran, Lachgas). Folgende Parameter können weiterhin angezeigt werden: Minutenvolumen (MV) und Tidalvolumen (VT), Atemfrequenz, Spitzendruck, Plateaudruck, mittlerer Druck, PEEP, Patienten Compliance CPAT.

Beide Anästhetika wurden nicht invasiv über eine Gesichtsmaske verabreicht, diese schloss

Mund und Nase dicht ab und wurde mittels eines Gummibandes fixiert.

In dieser Studie wurden die Probanden mit einer automatischen Druckunterstützung der Spontanatmung von bis zu 5 mmHg beatmet, um den leicht erhöhten Atemwegswiderstand durch das Narkosegerät auszugleichen. Vor den Messungen unter dem jeweiligen Anästhetikum erhielten die Probanden ein Luft-Sauerstoff-Gemisch (50 %), um sich an das Atemsystem zu gewöhnen. Die Anästhetikakonzentration für Sevofluran wurde manuell mittels eines Verdampfers reguliert. Die Probanden erhielten entweder ein Gemisch aus 45 Vol.-% Lachgas (MAC<sub>50</sub>: 0.43) und 55 Vol.-% Sauerstoff oder 0.8 Vol.-% (MAC<sub>50</sub>: 0.39) Sevofluran in einem Stickstoff-Sauerstoff-Gemisch mit 60 Vol.-% Sauerstoffanteil. Der Frischgasfluss lag bei 1-4 Litern. Um die Anflutung zu beschleunigen, wurden in den ersten fünf Minuten höhere Konzentrationen zugeführt. Die Konzentrationen von Sevofluran und Lachgas wurden so gewählt, dass eine annähernd gleiche Unterdrückung des unkonditionierten H-Reflexes zu erwarten war.

## **2.3 Technischer Aufbau zur Ableitung und Aufzeichnung der elektrophysiologischen Parameter und Vorbereitung der Probanden**

### **2.3.1 Stimulation des H-Reflexes**

Zur Auslösung des H-Reflexes diente der „Digitimer DS7A“ der Firma Digitimer Ltd. (Welwyn Garden City, UK). Die Stimulation erfolgte mit Rechteckimpulsen von 1 ms Dauer und einer Frequenz von 0.16 Hz. Die Kathode, eine vergoldete monopolare Halbkugelelektrode mit einem Durchmesser von 7.5 Millimetern, wurde zur Stimulation des N. tibialis in der Fossa poplitea mittels eines Gurtes, der über dem Knie geschlossen wurde, fixiert. Der optimale Stimulationspunkt des N. tibialis wurde in der Fossa poplitea aufgrund interindividueller Unterschiede manuell bestimmt. Die Anode wurde proximal der Patella angebracht.

Die Ableitung des H-Reflexes erfolgte über dem M. soleus. An den Ableitungs- und Stimulationspunkten wurde die Haut des Probanden mit einer Abrasiv-Paste (Omni-Prep®-Paste, Weaver & Company, Aurora CO, USA) entfettet und aufgeraut. Als Oberflächenelektroden sowohl für die Anode als auch für die Ableitung dienten Ag/AgCl-Selbstklebelektroden (blue sensor Medicotest S/A, Istrykke, Dänemark).

Zur Ableitung des Elektromyogramms wurde eine Messelektrode über dem Muskelbauch des M. soleus distal des M. gastrocnemius befestigt. Die zweite Messelektrode wurde über der

Achillessehne geklebt, um eine möglichst große Amplitudenantwort zu erhalten [84]. Der Übergangswiderstand war immer kleiner als 5000 Ohm. Die Erdungselektrode wurde oberhalb der Patella an der medialen Seite des Oberschenkels befestigt. Die Aufzeichnung des abgeleiteten H-Reflexes erfolgte mit dem Gerät Neuropack „four mini“ der Firma Nihon Kohden (Nihon Kohden Cooperation, Tokio, Japan). Eingehende Signale wurden mit einem Tiefpassfilter (2.5 kHz) und einem Hochpassfilter (20 Hz) gefiltert und anschließend 500-fach verstärkt. Danach erfolgte die Digitalisierung mit einer Frequenz von 5 kHz (Mikro 1401 mk II; CED Ltd. Cambridge, United Kingdom) und die gemessenen Daten wurden an ein Notebook gesendet, um sie für die anschließende Auswertung aufzuzeichnen. Die Spitzenamplituden von H-Reflex und M-Welle (direkte Muskelantwort durch Stimulation der Motoneurone des N. tibialis) wurden während den Messungen mit dem Programm Signal 3.01 (CED Ltd. Cambridge, UK) ausgewertet.

### **2.3.2 Stimulation des N. femoralis**

Der konditionierende Stimulus wurde auf der ipsilateralen Seite, lateral der A. femoralis im Trigonum femorale ausgelöst. Als Kathode diente eine vergoldete Halbkugelelektrode mit einem Durchmesser von 12.5 Millimetern, welche zur Stabilisierung mit einem Gurt, der um Oberschenkel und Hüfte gespannt wurde, stabilisiert. Als Anode kam auch hier wieder eine Ag/AgCl-Selbstklebelektrode zum Einsatz, sie wurde an der Rückseite des Oberschenkels befestigt. Die Stimulation erfolgte mit einem Rechteckimpuls von 1 ms und einer Frequenz von 0.16 Hz mit dem Gerät Neuropack „four mini“ der Firma Nihon Kohden (Nihon Kohden Cooperation, Tokio, Japan). Die Muskelantwort des M. quadriceps femoris wurde über zwei Selbstklebelektroden, die jeweils 5 cm und 10 cm proximal der Patella über dem Muskelbauch des M. quadriceps femoris befestigt wurden, aufgezeichnet und ebenfalls wie die Muskelantwort des M. soleus gefiltert, verstärkt, digitalisiert und zur weiteren Auswertung auf einem Notebook aufgezeichnet.

### **2.3.3 Überwachung der Vitalparameter**

Während der Sevofluran- und Lachgasnarkose und den Kontrollmessungen wurden die anästhesiologisch üblichen Vitalparameter gemessen und aufgezeichnet. Dazu gehören die Ableitung und Aufzeichnung von Elektrokardiogramm, der Herzfrequenz, des Blutdruckes sowie der Pulsoxymetrie (iMM Anästhesie Monitor, Datex Ohmeda S/5FM, Helsinki,

Finnland).

Weiterhin wurden der endtidale CO<sub>2</sub>-Partialdruck und die endtidale Anästhetikakonzentration fortlaufend mittels spektrophotometrischer Analyse ermittelt (iMM Anästhesie Monitor, Datex Ohmeda S/5FM, Helsinki, Finnland). Eine strenge Einhaltung der Normokapnie (etCO<sub>2</sub> 35 - 40 mmHg) wurde mittels manueller Unterstützung der Beatmung in allen drei Messabschnitten sichergestellt, da sowohl Hyperkapnie als auch Hypokapnie die neuromuskuläre Funktion beeinträchtigen können [85;86]. Alle Messungen unter Lachgas- und Sevoflurannarkose wurden unter „Steady-State“-Bedingungen durchgeführt, das heißt, dass die jeweilige endtidale Konzentration für mindestens 35 Minuten konstant war, bevor mit den Messungen begonnen wurde.

Zusätzlich wurde der Verlauf des Bispektralindex (BIS) während der Sevofluran- und Lachgasnarkose und den Kontrollmessungen mit einem Aspect XP-Monitor (Aspect Medical Systems, Newton, MA, USA) bestimmt. Der Bispektralindex ist ein von der Firma Aspect Medical Systems entwickelter Monitor zur Überwachung der Narkosetiefe. Anhand von Roh-Elektroenzephalogramm-Daten, welche über einen Sensor auf der Stirn des Patienten bestimmt werden, berechnet das BIS-System eine dimensionslose Zahl zwischen 0 und 100. Diese wird direkt und kontinuierlich auf einem Monitor angezeigt. Bei der Analyse werden die Komponenten Zeit und Frequenz des Elektroenzephalogramms berücksichtigt. Ein Wert nahe 100 bedeutet, dass der Patient wach ist, ein Wert von Null bedeutet das Fehlen elektrischer Hirnaktivität. Dieser Wert soll ein direktes Maß für den Bewusstseinsgrad des Patienten und die Reaktion auf die Sedierung darstellen.

Zusätzlich zum BIS wurde noch die „Observer’s Assessment of Alertness and Sedation“-Punktzahl bestimmt, diese umfasst einen Bereich von 0 (keine Reaktion) bis 5 (prompte Reaktion auf Ansprache) [87].

#### **2.3.4 Vorbereitung der Probanden**

Alle Probanden wurden mündlich und schriftlich mindestens einen Tag vor den Messungen über den Ablauf und das Ziel der Studie aufgeklärt, mögliche Risiken waren den Probanden bekannt. Es wurde darauf geachtet, dass die Probanden nüchtern zu den Messterminen erschienen (Nahrungskarenz > 6 Stunden). Die Messungen erfolgten in einem der Operationssäle der Charité Berlin nach einem festgelegten Protokoll. Die Probanden nahmen auf einem Relaxsessel Platz, die Beine wurden auf einer aus Styrodur® C (Styrodur, BASF) gefertigten Beinschiene gelagert. Diese Beinschiene ermöglichten am Kniegelenk eine

Beugung von  $160^\circ$  und an den Füßen eine Dorsalflexion von  $110^\circ$ . Um während den Messungen eine ausreichende Stabilisierung des zu messenden Beines zu garantieren und um eine Veränderung an den angebrachten Elektroden zu vermeiden, wurde zusätzlich eine Orthese am Kniegelenk angebracht, auch hier mit einem Winkel von  $160^\circ$  im Kniegelenk (MOS Genu®, Bauerfeind AG, Zeulenroda-Triebes, Deutschland). Die Lehne des Sessels wurde so eingestellt, dass der Winkel in der Hüfte  $120^\circ$  betrug.

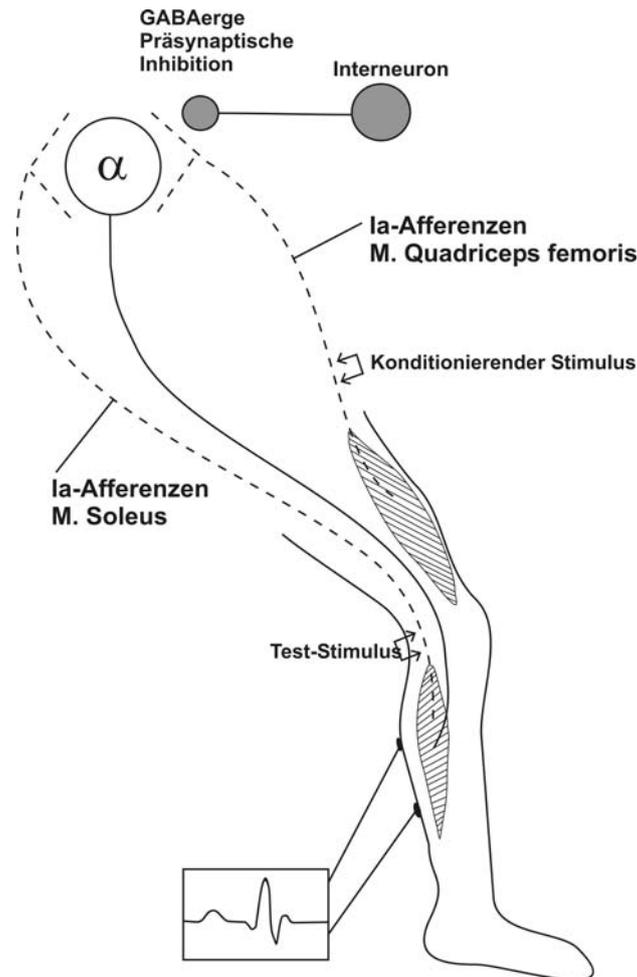
Anschließend wurden alle Elektroden angebracht und jeder Proband erhielt eine Venenverweilkanüle. Nachdem sichergestellt war, dass der Proband sich in einer möglichst angenehmen Sitzposition befand, wurde er aufgefordert, sich während den Messungen möglichst nicht zu bewegen. Um von äußeren akustischen und optischen Einflüssen möglichst abgeschirmt zu sein, hörten die Probanden Musik über Kopfhörer und wurden gebeten, die Augen zu schließen.

## **2.4 Durchführung der Messungen**

### **2.4.1 Heteronyme Ia-Fazilitation**

Die Methode der heteronymen Ia-Fazilitation des M. soleus H-Reflex wurde von Hultborn et al. etabliert. Die Grundlage bildet die monosynaptische Verschaltung von Ia-Afferenzen des N. femoralis auf Motoneurone des M. soleus [71;72]. Werden die Ia-Afferenzen von N. tibialis und N. femoralis so stimuliert, dass die Potenziale zeitgleich das Motoneuron des M. soleus erreichen, so führt dies zu einer Vergrößerung des H-Reflexes des M. soleus, da nun auch zuvor unterschwellige Motoneurone rekrutiert werden.

Um sicherzustellen, dass die Potenziale das Rückenmark zeitgleich erreichen, muss der Zeitabstand zwischen der Stimulation der beiden Nerven ermittelt werden. Da der Abstand von der Fossa poplitea zum Rückenmark länger ist als der Abstand vom Trigonum femorale zum Rückenmark, erfolgte zuerst die Stimulation des N. tibialis und kurze Zeit später die Stimulation des N. femoralis (Abbildung 4). Der Interstimulusabstand ist daher konventionsgemäß negativ. Definiert wird der Beginn der Bahnung als der früheste Interstimulusabstand, bei dem sich die H-Reflexamplitude des konditionierten Reizes signifikant von der des Testreflexes unterscheidet. Um sich dem frühesten, zu einer Bahnung des H-Reflexes führenden, Interstimulusabstand anzunähern, wurde eine Serie mit fünf verschiedenen Zeitabständen und dem Testreflex in Stufen von 0.4 ms in randomisierter

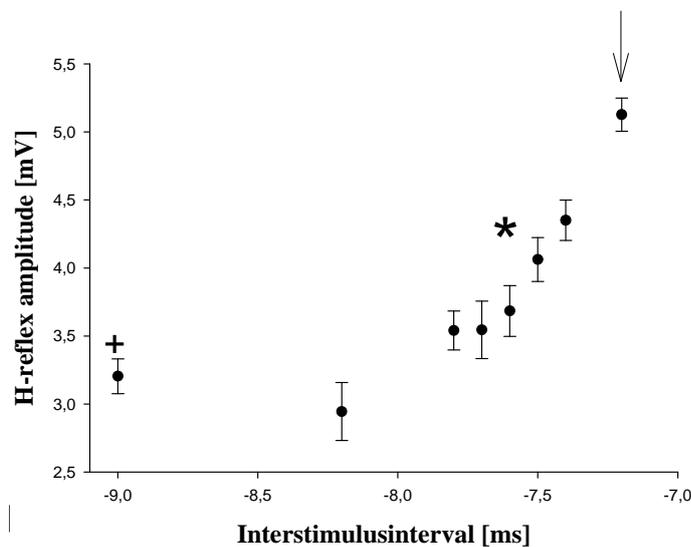


**Abbildung 4:** Heteronyme Ia-Fazilitation. Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus: Der H-Reflex des M. soleus wird durch die Stimulation des N. tibialis in der Kniekehle ausgelöst. Durch die zusätzliche Stimulation des N. femoralis im Trigonum femorale kommt es zu einer Bahnung des H-Reflexes, da die Ia-Fasern des N. femoralis ebenfalls auf die  $\alpha$ -Motoneurone des M. soleus projizieren. Die Bahnung ist innerhalb eines Interstimulusintervalls von 0.5 ms rein monosynaptisch. Jene Ia-Fasern sind Gegenstand präsynaptischer Inhibition durch axo-axonale Kontakte GABAerger Interneurone, sodass eine Veränderung in der Größe der Bahnung eine Veränderung der präsynaptischen Inhibition der Ia-Fasern darstellt.

Reihenfolge mindestens 30-mal gemessen. Anschließend wurde der genaue Beginn der Bahnung durch Veränderung des Interstimulusabstandes in 0.1 Millisekunden-Schritten ermittelt. Hultborn et al. konnten nachweisen, dass bei der heteronymen Ia-Fazilitation nur die ersten 0.5 ms monosynaptisch verschaltet werden [71]. Wird der Zeitabstand über die 0.5 ms verlängert, können andere Effekte wie zum Beispiel die Ib-Inhibition oder oligosynaptische

Verschaltungen nicht ausgeschlossen werden. Um eine ausreichende Amplitudenvergrößerung des gebahnten M. soleus H-Reflex zu erhalten und trotzdem im monosynaptischen Bereich zu bleiben, wurde ein Interstimulusabstand gewählt, der 0.3–0.4 ms länger war als derjenige, der den Beginn der H-Reflex-Bahnung darstellte. Dadurch konnte sowohl eine deutliche Bahnung des H-Reflexes ausgelöst, als auch eine rein monosynaptische Übertragung des EPSPs von den Ia-Afferenzen des N. femoralis auf die Motoneurone des M. soleus sichergestellt werden. Der bestimmte Interstimulusabstand zwischen N. tibialis und N. femoralis blieb bei allen Messungen einer Messsitzung eines Probanden unverändert. In Abbildung 5 wird der zeitliche Verlauf eines durch Stimulation des N. femoralis, konditionierten H-Reflex exemplarisch dargestellt.

Wird durch den bestimmten Interstimulusabstand der monosynaptische Charakter der heteronymen Fazilitation sichergestellt und bleiben die Stimulationsstärken des N. tibialis und des N. femoralis konstant, so kann die Veränderung der Höhe der Bahnung in den verschiedenen Messabschnitten wahrscheinlich auf eine Veränderung der präsynaptischen Inhibition zurückgeführt werden. Das bedeutet, je niedriger die Höhe der heteronymen Fazilitation des H-Reflexes, desto größer ist folglich die präsynaptische Inhibition.



**Abbildung 5:** : Beispielhafte Darstellung eines Zeitverlaufs der heteronymen Ia Fazilitation des M. soleus H-Reflexes. Das Interstimulusintervall ist die zeitliche Differenz zwischen der Stimulation des N. tibialis (Testreflex) und der Stimulation des N. femoralis (konditionierender Stimulus). Da die Entfernung vom N. tibialis (Kniekehle) zum Rückenmark weiter ist als die des N. femoralis (Trigonum femorale) zum Rückenmark, ist der Interstimulusabstand in diesem Fall konventionsgemäß negativ. Das Kreuz (+) kennzeichnet die H-Reflex-Amplitude des unconditionierten H-Reflexes. Mit einem Stern (\*) ist der Beginn der signifikanten Zunahme der Bahnung im Gegensatz zum unconditionierten H-Reflex dargestellt (Dunnett Posttest). Der Pfeil deutet auf den Interstimulusabstand, bei dem alle Messungen durchgeführt wurden. Die Fehlerbalken kennzeichnen den Standardfehler.

#### 2.4.2 Durchführung der Messung der heteronymen Ia-Fazilitation

Um den Effekt von Sevofluran und Lachgas auf die heteronyme Ia-Fazilitation zu zeigen, wurde ein Messprotokoll mit drei aufeinanderfolgenden Abschnitten entwickelt: 1) Kontrollmessung vor Gabe des Anästhetikums, 2) Messung mindestens 35 Minuten nach Erreichen einer stabilen endtidalen Konzentration des jeweiligen Anästhetikums (45 Vol.-% Lachgas bzw. 0.8 Vol.-% Sevofluran), 3) zweite Kontrollmessung mindestens 30 Minuten nach Abflutung des Anästhetikums (wash-out). In jedem dieser drei Messabschnitte wurde eine Serie von jeweils 100 unconditionierten und konditionierten Reizen in zufälliger Reihenfolge in einem Abstand von sechs Sekunden ausgelöst. Da die Sensibilität des H-Reflexes auf inhibitorische oder fazilitatorische Effekte abhängig ist von seiner Größe [88],

wurde der H-Reflex bei allen Messungen auf 15 % der maximalen Muskelantwort ( $M_{\max}$ ) normiert. Die maximale Muskelantwort wurde vor jeder Messung in jedem Abschnitt bestimmt, indem die Stimulationsstärke in Schritten von 10 mA, beginnend bei 40 mA, so lange erhöht wurde, bis die Amplitude der M-Welle im Elektromyogramm nicht mehr anstieg, anschließend wurde der H-Reflex auf 15 % von  $M_{\max}$  eingestellt. Dieses Verfahren ermöglicht einen interindividuellen Vergleich der Messergebnisse unter den Probanden. Die Höhe der Bahnung ist demnach nicht nur abhängig von der Intensität des konditionierenden Stimulus, sondern auch von der Höhe des Testreflexes. In Abhängigkeit der zusätzlich rekrutierten Motoneurone nimmt die Bahnung des H-Reflexes bis zu einer Größe von 30 % von  $M_{\max}$  zu, bei höheren Amplituden nimmt sie aber wieder ab [88].

Für den konditionierenden Stimulus wurde eine Intensität gewählt, die annähernd 15 % über der motorischen Schwelle des M. quadriceps femoris lag. Die motorische Schwelle ist definiert als die Stimulusintensität, bei der erstmals eine M-Welle elektromyographisch darstellbar ist. Dadurch war es möglich, die Stabilität des konditionierenden Stimulus anhand der elektromyographischen Amplitude, welche über dem M. quadriceps femoris abgeleitet wurde, zu kontrollieren. Die Stimulusintensität blieb während aller Messungen eines Probanden konstant, sollte sich die Amplitude plötzlich, z. B. durch Beinbewegungen des Probanden, verändert haben, wurde sie wieder auf 15 % der motorischen Schwelle der Muskelantwort angepasst.

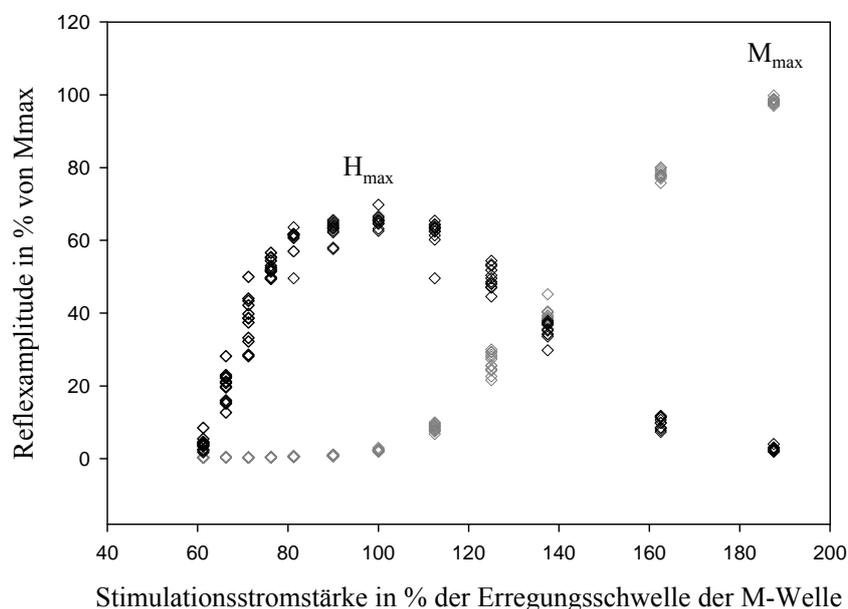
Für die statistische Auswertung wurde die Höhe jeder konditionierten H-Reflex-Antwort auf den Durchschnittswert der jeweils zugehörigen (1. Kontrolle, Anästhetikum, 2. Kontrolle) unkonditionierten H-Reflexantwort normiert. Die Höhe des unkonditionierten H-Reflexes wurde bewusst so angepasst, dass sie während der drei Messabschnitte gleich blieb.

Zur Messung des unterdrückenden Effekts von Sevofluran und Lachgas auf den unkonditionierten H-Reflex wurde die maximale H-Antwort ( $H_{\max}$ ) ermittelt. Die Stimulationsstromstärke des N. tibialis wurde stufenweise in 11 bis 13 Schritten erhöht, beginnend unterhalb der ersten elektromyographisch darstellbaren Antwort (Threshold) des H-Reflexes bis zur maximalen Muskelantwort. In jedem Messabschnitt wurde eine Serie von mindestens zehn  $H_{\max}$ -Werten bestimmt, aus diesen wurde der Mittelwert bestimmt und als Prozentsatz von  $M_{\max}$  beschrieben. Dieses Verfahren diente ebenso, wie die im folgenden Kapitel beschriebene Ermittlung von Rekrutierungskurven, der Erfassung der spinalen motoneuronalen Erregbarkeit. Für die oben beschriebene Methode der heteronymen

Fazilitation, bei der spezifisch die Höhe der präsynaptischen Inhibition gemessen werden soll, ist es wichtig, dass die Summe der heteronomen Ia-Fazilitation unverändert bleibt, auch wenn der Motoneuronenpool potenziellen postsynaptischen Effekten durch Sevofluran oder Lachgas ausgesetzt ist. Tierexperimentell wurde von Hultborn et al. nachgewiesen, dass eine mäßige postsynaptische Inhibition, die den Testreflex bis zu 50 % vermindert, keinen Einfluss auf die konditionierenden EPSPs hat [71]. Eine Voraussetzung für diese Studie ist demzufolge, dass die Unterdrückung des unkonditionierten H-Reflexes durch die in dieser Studie verwendeten Anästhetika weniger als 50 % beträgt. Zu diesem Zweck wurde die Unterdrückung des H-Reflexes mittels der im folgenden Kapitel beschriebenen Messung der Rekrutierungskurven überwacht.

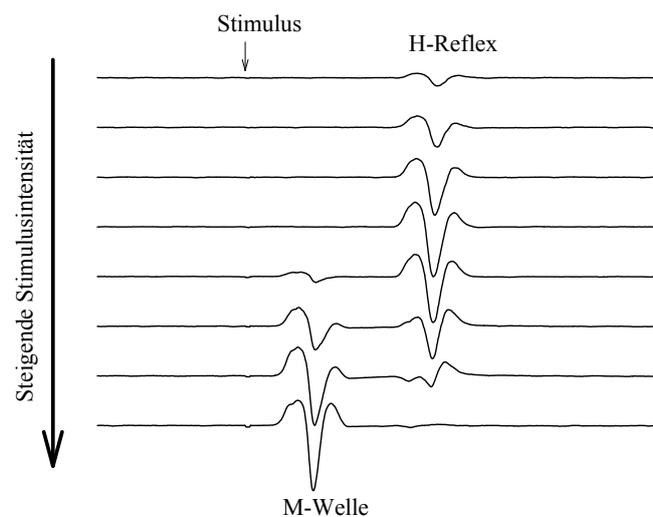
### 2.4.3 Rekrutierungskurven

Anhand der Rekrutierungskurven kann die Erregbarkeit eines Motoneuronenpools beurteilt werden, sie stellt den Verlauf der Amplitude der H- und M-Welle bei unterschiedlichen Stimulationsstromstärken dar. Rekrutierungskurven wurden in allen drei Messabschnitten (1. Kontrolle, Anästhetikum, 2. Kontrolle) erstellt.



**Abbildung 6:** Exemplarische Rekrutierungskurve eines Probanden. Dargestellt sind die Verläufe der H-Welle (schwarz) sowie der M-Welle (grau), sowie  $H_{\max}$  und  $M_{\max}$ . Der Quotient dieser beiden Werte dient der Erfassung der spinalen motoneuronalen Erregbarkeit.

Wie in Abbildung 6 dargestellt, ist die Rekrutierungskurve eine Funktion der Amplitude des H-Reflexes von der Stimulationsstromstärke, wobei eine lineare Progression zwischen jeweils zwei gemessenen Punkten vorausgesetzt wird. Bei zunehmender Stimulationsstärke nimmt die Amplitude des H-Reflexes bis zu einem bestimmten Punkt zu, fällt aber schließlich trotz weiter steigender Stimulationsstärke wieder ab. Der Punkt der maximalen H-Antwort fällt in der Regel mit dem Beginn der M-Antwort zusammen, welche die direkte Erregung der höherschwelligen motorischen Axone widerspiegelt. Der Abfall der H-Reflex-Kurve und der Anstieg der M-Antwort-Kurve ist auf eine direkte Erregung motorischer Axone zurückzuführen. Da es bei der direkten Erregung der Motoneurone nicht nur zur orthodromen Weiterleitung der elektrischen Stimulation, sondern auch zu einer antidromen Weiterleitung kommt, führt dies zur Auslöschung des reflektorisch ausgelösten Stimulus. Somit nimmt die H-Reflex-Amplitude bei steigender Stimulationsstromstärke ab, während die Amplitude der M-Welle steigt.



**Abbildung 7:** Exemplarische Ableitung der H- und M-Welle bei steigenden Stimulationsstärken. Die Graphik zeigt, dass mit steigender Stimulusintensität die Amplitude des H-Reflexes bis zu einem Maximum im Bereich der Erregungsschwelle der M-Welle ansteigt und bei höheren Stimuli wieder abfällt.

Die Rekrutierung der Motoneurone erfolgt nach dem so genannten „Größenprinzip“: Bei Stimulation des H-Reflexes mit geringer Stimulationsstärke werden zuerst kleine Motoneurone erregt, welche die langsamen motorischen Einheiten innervieren. Mit

zunehmender Stimulationsstärke werden auch große Motoneurone erregt, welche schnelle motorische Einheiten innervieren [89].

Dies wirkt sich auch auf die Reihenfolge der exzitatorischen und inhibitorischen Einflüsse auf Motoneurone aus, es sind entweder Motoneurone betroffen, welche sich gerade noch nicht entladen konnten (Exzitation) oder solche, die gerade rekrutiert wurden (Inhibition). Anhand dessen kann man selektiv die Einflüsse auf Motoneurone verschiedener Größen differenzieren, da entsprechend dem Größenprinzip die Erregung der Motoneurone bei zunehmendem Stimulus in strenger Reihenfolge ihrer Größe, beginnend mit dem Kleinsten, erfolgt [89;90].

Die maximale M-Antwort  $M_{\max}$  spiegelt die Erregung aller Motoraxone wider und ermöglicht so ein Abschätzen der Antwort des gesamten Motoneuronenpools des M. soleus. Der Quotient  $H_{\max}/M_{\max}$  dient der Einschätzung des Anteils der M. soleus-Neurone, der monosynaptisch durch Ia-Fasern im Rückenmark vom M. soleus erregt werden kann, und dient so als elektrophysiologischer Parameter der motoneuronalen Erregbarkeit. Diese Werte wurden für jeden Probanden in jedem Messabschnitt bestimmt.

## **2.5 Datenanalyse und statische Auswertung**

Während den Messsitzungen wurden mehrere statistische Auswertungen durchgeführt. Daten, welche in einem Zusammenhang mit einer Störung im Messablauf, wie zum Beispiel starker Bewegung, Übelkeit oder Erbrechen aufgezeichnet wurden, wurden von der Auswertung manuell ausgeschlossen.

### **2.5.1 Heteronyme Ia-Fazilitation**

Da nur die ersten 0.5 ms der heteronymen Ia-Fazilitation vom N. femoralis auf das Motoneuron des M. soleus rein monosynaptisch sind [71], ist es notwendig, den genauen Beginn der Bahnung des H-Reflexes zu definieren. Der früheste Interstimulusabstand zwischen N. tibialis und N. femoralis wird definiert als der erste Abstand, bei dem sich die H-Reflex-Amplitude des konditionierenden Reizes signifikant von dem des unkonditionierten H-Reflexes unterscheidet. Die statistische Signifikanz wurde mittels einer Varianzanalyse (ANOVA) und dem Dunnett Posttest überprüft. Es wurde ein  $\alpha$  von 0.05 ( $p < 0.05$ ) angenommen. Um die Daten der unterschiedlichen Messungen miteinander vergleichen zu können (1. Kontrolle, Anästhetikum, 2. Kontrolle), wurden sowohl die konditionierten als

auch die unkonditionierten H-Reflex-Amplituden als Fraktion von  $M_{max}$  dargestellt. Die Höhe der Bahnung wurde als Relation des Mittelwertes des unkonditionierten H-Reflexes zu dem Mittelwert des konditionierten H-Reflexes ausgedrückt. Die relative Unterdrückung der heteronomen Fazilitation wurde für jeden Probanden berechnet als Quotient aus der Bahnung unter dem jeweiligen Anästhetikum und dem Durchschnittswert der beiden Kontrollmessungen vor und nach Anästhetikagabe. Mittelwerte und Standardabweichungen wurden für alle Messungen ermittelt.

### **2.5.2 Vergleich der Effekte von Sevofluran und Lachgas**

Zum Vergleich der Effekte von Sevofluran und Lachgas auf die heteronyme Ia-Fazilitation wurde ein „linear mixed effect model“ gewählt, welches zur Analyse von Datenstrukturen mit teilweise verbundenen und teilweise nicht verbundenen Daten geeignet ist. Da in der Studie jeweils 7 Probanden unter dem Einfluss beider Anästhetika gemessen wurden, es aber auch jeweils 3 Probanden gibt, die nur unter einem Anästhetikum gemessen wurden, wurde dieses Modell gewählt.

Dieses Modell verarbeitet grundlegend zwei Formen der Variabilität, die intraindividuelle Variabilität und die interindividuelle Variabilität. Sowohl interindividuelle Variabilität als auch intraindividuelle Variabilität werden als normal verteilt vorausgesetzt. Die Annahme einer Normalverteilung der Daten wurde graphisch ausgewertet. Das Zufallseffekt-Modell berücksichtigt weiterhin die Korrelation unter den Individuen, wie sie bei solchen Datensätzen häufig vorkommen.

Die interindividuelle Variabilität ist von vielen festen Einflüssen abhängig, einer von ihnen ist der Medikamenteneffekt. Die Wahl dieses Modells beruht auf dem Akaike-Informationskriterium, es wurde jeweils das Modell mit dem niedrigsten Akaike-Informationskriterium gewählt. Dieses Modell ist äquivalent der Anpassung der linearen Regression, bei dem das zugeführte Medikament und die Messzeitpunkte (1. Kontrolle, Anästhetikum, 2. Kontrolle) als unabhängige Variablen verwendet werden. Das hier verwendete statistische Modell nimmt das Medikament, die Zeitpunkte und die Interaktion von Medikament und Messzeitpunkt während der Medikamentengabe als feste Effekte an. Die Schnittpunkte wurden als Zufallseffekte gewählt, bei denen die Probanden die Analyseeinheit darstellen. Das bedeutet, dass gleichzeitig die Variabilität zwischen den Probanden und die Korrelation innerhalb der Probandengruppe berücksichtigt wird.

Die Daten aus der Sevoflurangruppe vor Applikation des Anästhetikums wurden als

Basiswert verwendet. Der Unterschied zwischen dem Medikamenteneffekt von Sevofluran und Lachgas wurde durch einen Interaktionsterm bestimmt. Die statistische Signifikanz des Interaktionsterms zeigt einen signifikanten Unterschied im Medikamenteneffekt der Anästhetika innerhalb des Zufallsmodells auf.

Die statistische Analyse wurde mit dem SAS 9.1. Data Analysis and Graphic Package durchgeführt (SAS Institute Inc., Cary; NC, USA). Sowohl die Daten der heteronymen Fazilitation, als auch die Daten für die motoneuronale Erregbarkeit  $H_{\max}/M_{\max}$ , wurden mit dem linear mixed effect model analysiert (PROC MIXED; SAS Institute Inc.).

### **2.5.3 Rekrutierungskurven**

Für jeden Probanden wurde in jedem der drei Messabschnitte eine Rekrutierungskurve erstellt. Um die Rekrutierungskurven für alle Messabschnitte vergleichbar zu machen, wurde sowohl die Amplitude des H-Reflexes als auch die der M-Welle auf die maximale M-Antwort ( $M_{\max}$ ) des betreffenden Messabschnitts normiert. Die Stimulationsstärke wurde auf jene Stimulationsstärke normiert, welche den Beginn der M-Antwort darstellte (Motor-Threshold). Als Beginn der M-Antwort wurde die niedrigste Stimulationsstärke definiert, die in allen 10 Messungen eine M-Wellen-Amplitude ergab, die sich vom statischen Rauschen unterschied.

Um den Einfluss auf kleine bzw. große Motoneurone besser unterscheiden zu können, wurde die relative Unterdrückung des H-Reflexes bei verschiedenen Stimulationsstärken berechnet. Die erhaltene Kurve der Messung unter dem jeweiligen Anästhetikum wurde durch die gemittelten Kurven der ersten und zweiten Kontrolle geteilt. Für jeden einzelnen Probanden wurde die relative Unterdrückung ermittelt. Die statistische Signifikanz wurde mit dem Friedmann-Test für Messwiederholungen untersucht.

Nach Normierung der Kurven für jeden einzelnen Probanden wurde eine Durchschnittskurve aller Probanden berechnet, indem angenommen wurde, dass eine lineare Progression jeweils zwischen zwei gemessenen Punkten der gemessenen Rekrutierungskurven besteht. Zur Einschätzung der motoneuronalen Erregbarkeit wurde aus den in den Rekrutierungskurven enthaltenen Parametern das Verhältnis der maximalen H-Antwort zur maximalen M-Antwort ( $H_{\max}/M_{\max}$ ) in alle drei Messabschnitten und für alle Probanden mittels des Programms Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA) berechnet. Die statistische Signifikanz der Veränderungen unter dem Einfluss der Medikamente wurde mittels einer Varianzanalyse mit Messwiederholungen und einem Tukey Posttest geprüft. Sämtliche statistischen Untersuchungen erfolgten mit Prism 3.0 (Graphpad Prism Version 3.0, San Diego, CA, USA).

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Probanden

Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt 37 Probemessungen durchgeführt, jedoch konnten 13 Probanden davon nicht für weitere Messungen unter Sevofluran oder Lachgas zugelassen werden. Bei diesen Probanden bestanden entweder Schwierigkeiten in der Auslösung des H-Reflexes und/ oder des konditionierenden Reizes oder es konnte keine ausreichende Bahnung von 15 % erreicht werden. Insgesamt erfüllten 24 der Probanden die Voraussetzung für die Zulassung zur Studienteilnahme, letztendlich wurden jedoch nur 13 Probanden in die Datenanalyse eingeschlossen. Von diesen 13 Probanden wurden 7 Probanden unter beiden Anästhetika erfolgreich gemessen, mit einem Abstand von mindestens zwei Monaten zwischen den Messsitzen.

Drei Probanden, die für die Messung mit Sevofluran zugelassen wurden, mussten aus der Studie ausgeschlossen werden, da sie sich bei der Sevofluranzufuhr innerhalb der ersten 30 Minuten sehr stark bewegt haben, es kam schließlich zur Verschiebung beider Stimulationselektroden. Bei einem Probanden musste die Studie wegen Erbrechen in der Einleitungsphase der Sevofluran-Narkose abgebrochen werden. Diese vier Probanden wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Zwei Probanden (0413 FW und 0924 FB) erbrachen während der Messung zur Bestimmung der motoneuronalen Erregbarkeit unter Sevofluran. Da die zuerst durchgeführten Messungen der heteronymen Ia-Fazilitation erfolgreich waren, wurde auf eine Bestimmung der motoneuronalen Erregbarkeit unter Sevofluran verzichtet und mit Zustimmung der Probanden im Studienprotokoll bei der 2. Kontrollmessung fortgefahren. Die Ergebnisse der motoneuronalen Erregbarkeit ( $H_{\max}/M_{\max}$ ) unter Sevofluran fehlen in diesen Fällen.

Die Messungen unter Lachgas erwiesen sich als bedeutend schwieriger als die unter Sevofluran. Fünf Probanden wurden wegen Übelkeit und/ oder Erbrechen innerhalb der ersten 30 Minuten der Anflutung ausgeschlossen. Bei zwei weiteren Probanden musste die Messung unterbrochen werden, da sie unter massiven Albträumen litten, diese führten zu unkontrollierter Körperbewegung und Verschiebung der Elektroden. Diese sieben Probanden konnten nicht in die Studie eingeschlossen werden. Die demographischen Daten des Patientenkollektivs sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Insgesamt wurden jeweils 10 Probanden unter Sevofluran und Lachgas gemessen, bei 7 Probanden konnten beide Anästhetika eingesetzt werden.

Proband (Geschlecht)	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	Anästhetikum Lachgas (L) Sevofluran (S)
VK (w)	25	164	48	L+S
FB (m)	23	172	67	L+S
VB (m)	23	184	75	L+S
CL (w)	23	172	54	L+S
VP (m)	26	183	72	L+S
VH (m)	30	182	74	L+S
JB (m)	32	176	67	L+S
FW (m)	27	195	78	L
BK (m)	25	193	82	L
HS (w)	23	168	58	L
TP (m)	19	177	75	S
PB (m)	32	188	77	S
FD (m)	25	191	72	S
Mittelwert	25.6	180.4	69.2	
SD	3.8	9.8	10.1	

**Tabelle 1:** Probandenkollektiv: m: männlich, w: weiblich, SD: Standardabweichung.

### 3.2 Einfluss der Anästhetika Sevofluran und Lachgas auf den BIS-Wert, den OAA/S und andere Vitalparameter

Bei einem Probanden (0924FB) in der Sevoflurangruppe konnten aus technischen Gründen keine BIS-Werte aufgezeichnet werden. Der mediane BIS-Wert der Probanden in der Sevoflurangruppe betrug im wachen Zustand (1. und 2. Kontrolle) 94 (Spannweite 90-97). Unter einer Sevoflurankonzentration von 0.8 Vol.-% kam es zu einer deutlichen Unterdrückung des BIS-Wertes, der mediane BIS-Wert fiel auf 59 (Spannweite 48-70). Eine Korrelation der Reduktion der heteronymen Ia-Fazilitation mit der Höhe der Abnahme des BIS-Wertes konnte nicht nachgewiesen werden. Die endtidale Sevoflurankonzentration von 0.8 Vol.-% führte bei allen Probanden zu einer tiefen Sedierung. Die Reaktion auf laute Ansprache war vollständig unterdrückt, dies entspricht einem medianem OAA/S von 2 (Spannweite 1-3).

Lachgas bewirkte keinen Abfall des BIS-Wertes. Im wachen Zustand (1. und 2. Kontrolle) lag der mediane BIS-Wert bei allen zehn Probanden bei 93 (Spannweite 84-97), unter Lachgas bei 92 (Spannweite 73-98). Es konnte keine Korrelation der heteronymen Ia-Fazilitation mit der Höhe des BIS-Wertes nachgewiesen werden. 45 Vol.-% Lachgas induzierten einen

Zustand, indem die Mehrheit der Probanden noch auf laute Ansprache reagieren konnten, entsprechend einem medianem OAA/S von 3 (Spannweite 1-3). Alle Probanden berichteten über intensive Träume, die einem das Gefühl vermittelten, in einer anderen Welt zu sein, gelegentlich äußerten sich diese Wahrnehmungen als Albträume, die zum Abbruch der Messung führen konnten. Alle Probanden hatten Erinnerungen an diese Träume und konnten deren Inhalte nach der Messung wiedergeben.

Die überwachten Vitalparameter Blutdruck, Sauerstoffsättigung, endtidale CO<sub>2</sub>-Konzentration sowie Herzfrequenz zeigten keine relevanten Veränderungen.

### **3.3 Einfluss von Sevofluran und Lachgas auf die maximale H-Reflex-Amplitude**

Lachgas und Sevofluran unterdrücken die, auf die Amplitude der maximalen Muskelantwort ( $M_{\max}$ ) normierte, maximale Amplitude des H-Reflexes ( $H_{\max}$ ) im Vergleich zu den Kontrollmessungen signifikant.

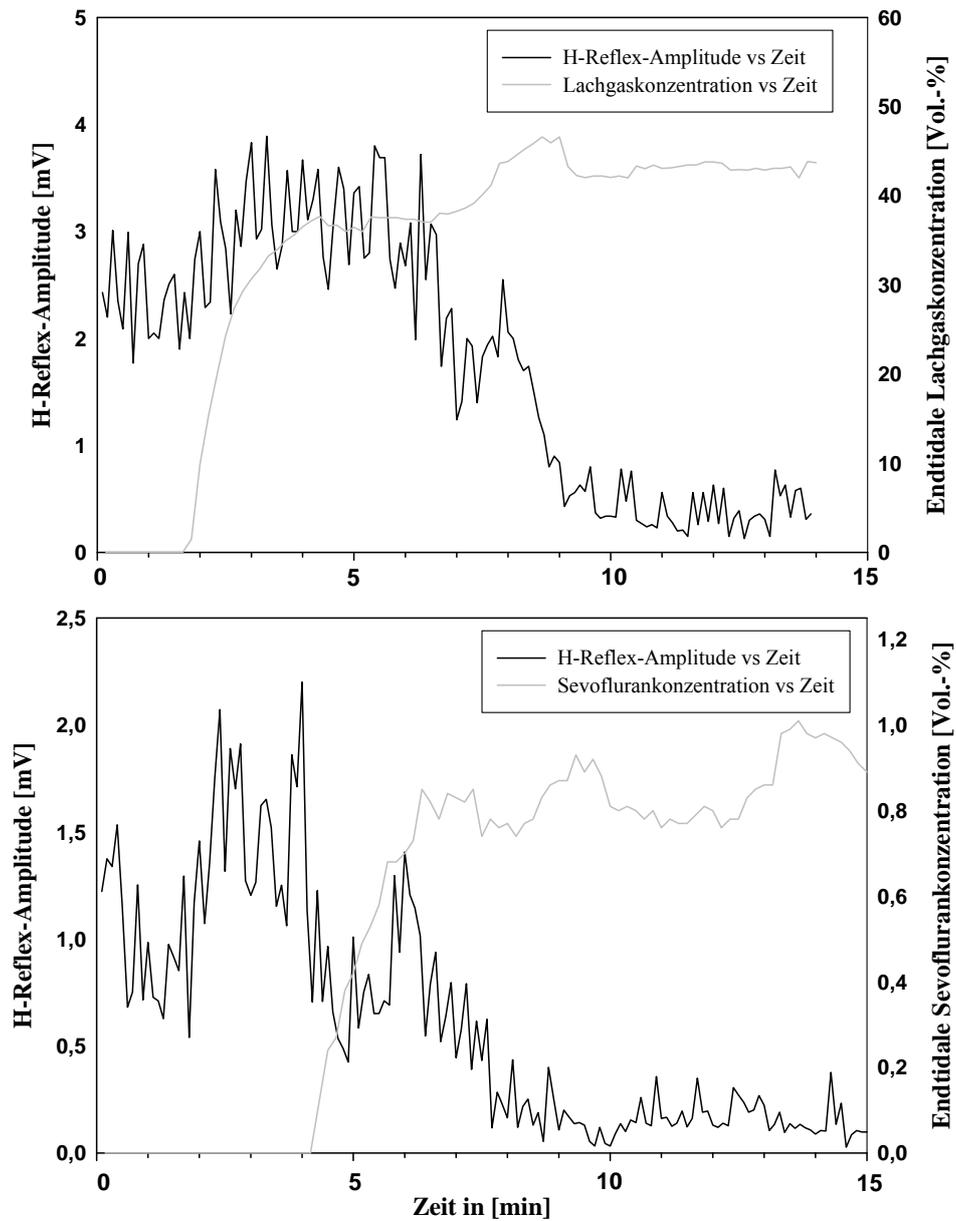
Bei einer endtidalen Konzentration von 0.8 Vol.-% Sevofluran wird  $H_{\max}/M_{\max}$  um  $26.3 \pm 8.4$  % (Mittelwert  $\pm$  SD) unterdrückt. Die endtidale Konzentration von 45 Vol.-% Lachgas führte zu einer Unterdrückung von  $H_{\max}/M_{\max}$  um  $33.5 \pm 15.6$  % (Mittelwert  $\pm$  SD). Die Analyse des linear mixed effect model erbrachte eine leichte, aber signifikant höhere Unterdrückung von  $H_{\max}/M_{\max}$  für Sevofluran (Interaktionsterm von -0.05, im Vergleich mit dem Effekt des linear mixed effect model von Sevofluran von -0.17). Beide untersuchten Anästhetika unterdrückten den Parameter der motoneuronaler Erregbarkeit  $H_{\max}/M_{\max}$  signifikant während der Anästhetikagabe im Vergleich zu den Kontrollmessungen. Die Parameter der maximalen M-Wellen-Amplitude ( $M_{\max}$ ) wurden in jedem Messabschnitt zur Normierung des H-Reflexes auf 15 % der maximalen Muskelantwort neu bestimmt und blieben in engen Grenzen konstant. Eine deutliche Veränderung der maximalen Muskelantwort stand häufig in Verbindung mit einer Verschiebung der Stimulationselektroden durch Bewegung des Probanden und führte zum Ausschluss des Probanden aus der Analyse. Die Latenzen des H-Reflexes veränderten sich unter Sevofluran- und Lachgasnarkose nicht. Die Abnahme der Amplitude des unconditionierten H-Reflexes bei Einleitung der Sevofluran- und Lachgasnarkose sind in Abbildung 8 dargestellt. Die Amplitude fällt nicht gleichzeitig mit Beginn der Einleitung der Narkose, es kommt gelegentlich bei der Einleitung zu einem kurzen Anstieg der H-Reflex-Amplitude, vermutlich durch die Wahrnehmung des Narkosegases durch den Probanden, bevor es schließlich im Verlauf zu einer deutlichen Reduktion der Amplitude kommt.

Proband	$H_{\max}/M_{\max}$ %			Abnahme, %
	Vor	Sevofluran	Nach	
1030VK	21.5	14.7	23.2	34.3
0924FB	-	-	-	-
0616VB	31.9	22.7	30.0	26.5
0514CL	57.2	34.7	61.9	41.7
0928VP	59.7	51.9	62.5	15.1
0619VH	71.6	58.4	74.3	19.9
0608JB	53.3	42.0	53.0	20.9
0413FW	-	-	-	-
0930BK	84.0	60.1	77.8	25.8
0415HS	64.7	47.5	63.8	26.2
MW	55.5	41.5	55.8	26.3
SD	20.3	16.4	19.7	8.4

Proband	$H_{\max}/M_{\max}$ %			Abnahme, %
	Vor	N <sub>2</sub> O	Nach	
1221VK	35.3	31.4	44.2	21.0
1228FB	93.3	69.3	91.6	25.0
1229VB	94.5	36.2	63.9	54.3
1230CL	74.9	54.0	78.5	29.6
0205VP	52.1	22.0	51.6	57.6
0307VH	67.9	35.4	56.6	43.1
0103JB	73.1	67.0	69.5	6.0
0405TP	86.2	66.7	91.5	24.9
0509FD	68.4	41.7	59.1	34.6
0118PB	47.2	24.8	33.4	38.5
MW	69.3	44.9	64.0	33.5
SD	19.7	18.0	19.2	15.6

**Tabelle 2:** Maximalamplitude des H-Reflexes in Prozent der Maximalamplitude der M-Welle ( $H_{\max}/M_{\max}$ ) der einzelnen Probanden in allen Messabschnitten für Sevofluran und Lachgas sowie die prozentuale Abnahme des H-Reflexes unter dem jeweiligen Anästhetikum im Vergleich mit den Kontrollmessungen (Vor, Nach). VK, VB, CL, JB, VH wurden in beiden Gruppen untersucht. Für 0924FB und 0413FW konnten keine Rekrutierungskurven erstellt werden. MW: Mittelwert; SD: Standardabweichung.

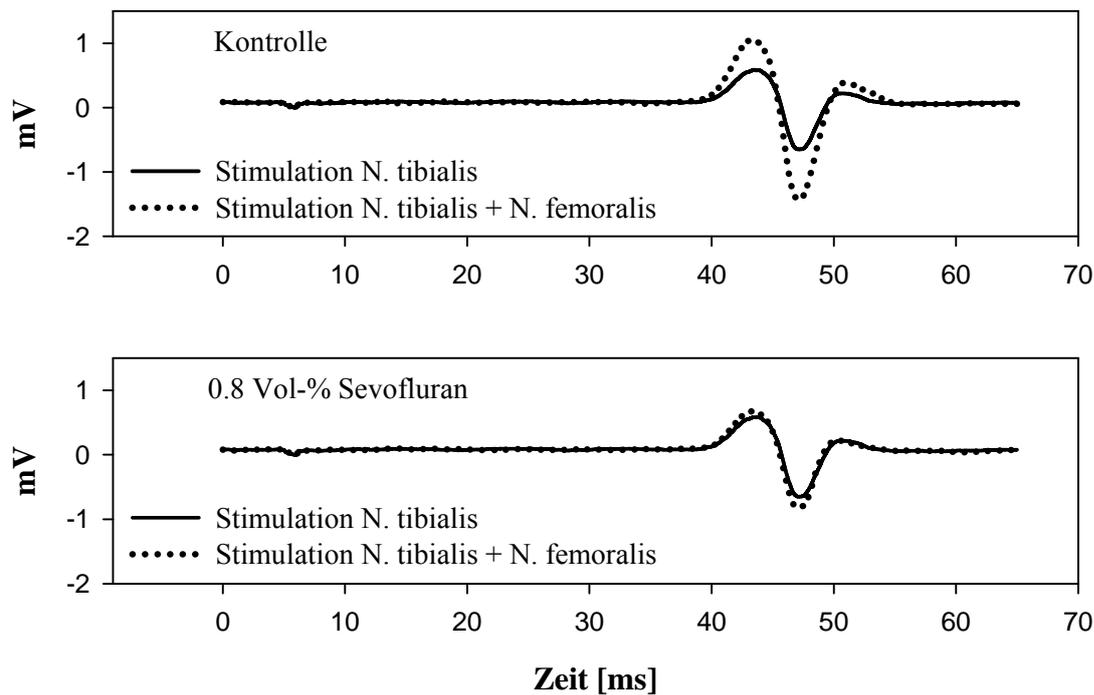
Dieser verzögerte Abfall der maximalen H-Reflex-Amplitude ist damit zu erklären, dass die Anästhetika eine gewisse Zeit benötigen, um das Effektkompartiment Rückenmark durch Diffusion zu erreichen. Die Durchschnittswerte für  $H_{\max}/M_{\max}$  sind in Tabelle 2 für die einzelnen Probanden zusammengestellt.



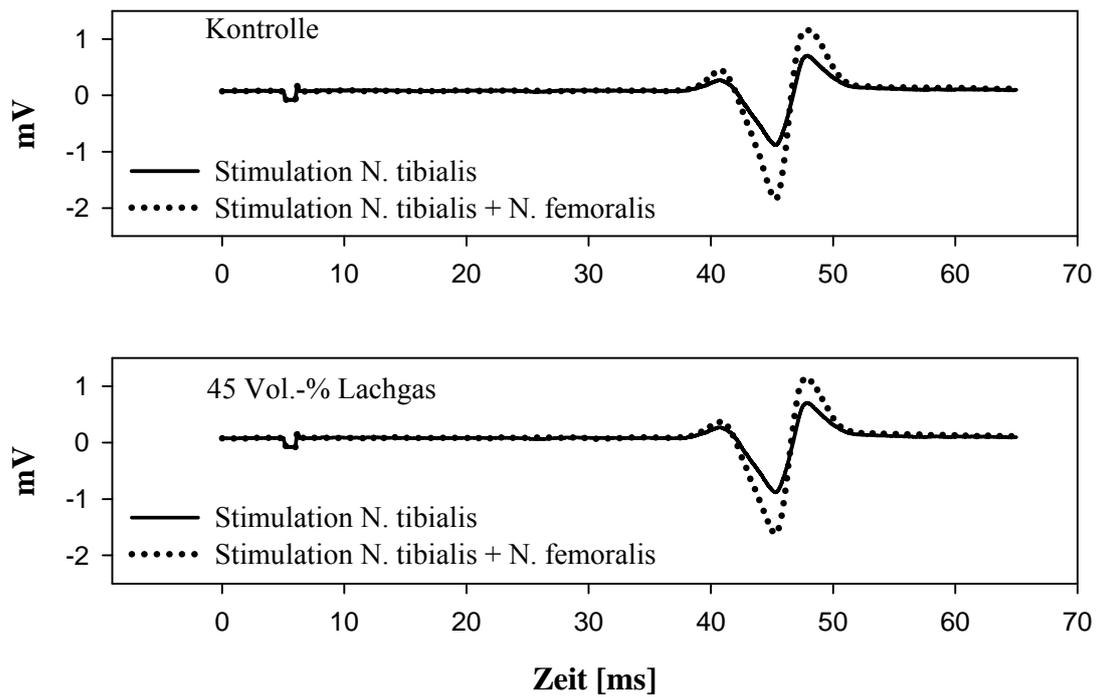
**Abbildung 8:** Zeitlicher Verlauf der H-Reflex-Amplitude und der endtidalen Konzentration während der Narkoseeinleitung mit Sevofluran/ Lachgas. Die schnelle pulmonale Aufnahme des Anästhetikums führt aufgrund der langsameren Diffusion in das Effektkompartiment Rückenmark erst nach einigen Minuten zu einem Abfall der H-Reflex-Amplitude. Schließlich kommt es nach kurzer Zeit zu einer Äquilibration der Konzentrationen in den unterschiedlichen Kompartimenten und die H-Reflex-Amplitude erreicht ein konstant niedriges Niveau.

### 3.4 Einfluss von Sevofluran und Lachgas auf die heteronyme Ia-Fazilitation des H-Reflexes

Sevofluran unterdrückt die heteronyme Ia-Fazilitation des H-Reflexes signifikant stärker als Lachgas. Exemplarisch sind in Abbildung 9 und Abbildung 10 jeweils eine Originalspur des unconditionierten H-Reflexes und seiner heteronymen Bahnung unter Kontrollbedingungen und unter Sevofluran bzw. Lachgas dargestellt.

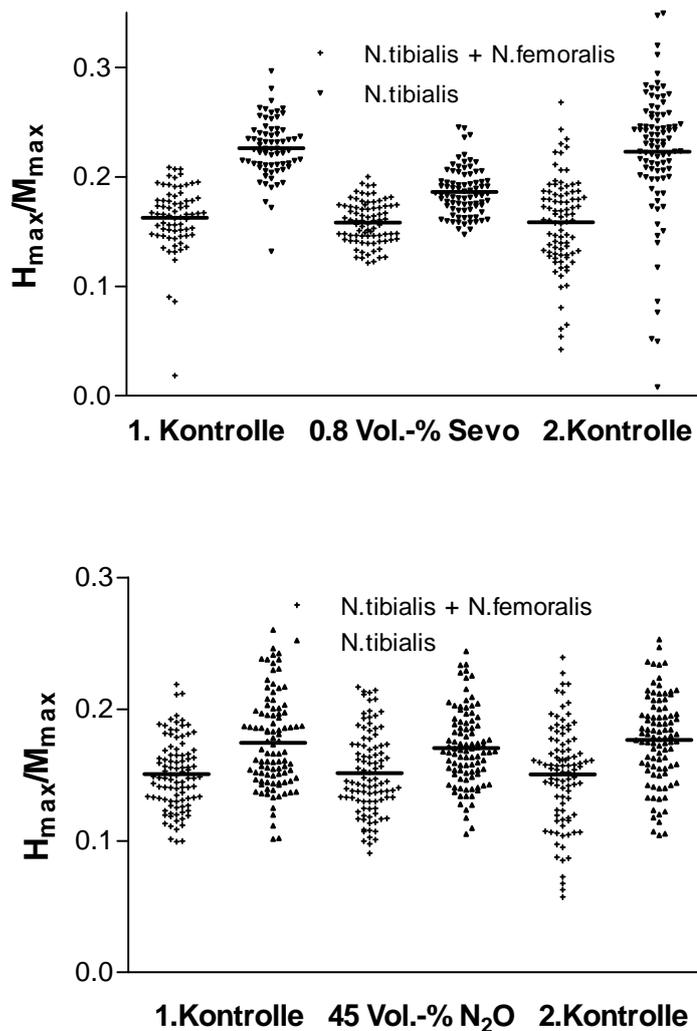


**Abbildung 9:** Originalspuren des unconditionierten und konditionierten H-Reflexes unter Kontrollbedingungen und unter 0.8 Vol.-% Sevofluran. Der konditionierende Stimulus (N. femoralis) führt zu einer Erhöhung der H-Reflex-Amplitude (gepunktete Linie), im Vergleich zu der Amplitude des unconditionierten H-Reflexes (durchgehende Linie). Da es unter Sevofluran auch zur Unterdrückung des unconditionierten H-Reflexes kommt, musste dieser so angepasst werden, dass er die gleiche Amplitude hat wie unter Kontrollbedingungen. Die Stimulationsstärke des N. femoralis wurde in allen Messabschnitten konstant gehalten. Unter Kontrollbedingungen ist die Fazilitation durch die Stimulation des N. femoralis größer als unter 0.8 Vol.-% Sevofluran (gepunktete Linie). Dies zeigt, dass die Wirkung des konditionierenden Stimulus auf den Testreflex unter 0.8 Vol.-% Sevofluran im Vergleich zu den Kontrollmessungen deutlich unterdrückt ist. Die Höhe der Fazilitation wird als Vergrößerung (in Prozent) der H-Reflex-Amplitude durch den konditionierenden Stimulus berechnet.



**Abbildung 10:** Originalspuren des konditionierten und unkonditionierten H-Reflexes unter Kontrollbedingungen und unter 45 Vol.-% Lachgas. Im Gegensatz zu den Originalspuren der Messungen unter Sevofluran wird deutlich, dass die heteronyme Ia-Fazilitation unter 45 Vol.-% im Vergleich zu den Kontrollmessungen wenig unterdrückt wurde.

Die mögliche Streuung der Messwerte für den unkonditionierten und den konditionierten H-Reflex sind in Abbildung 11 exemplarisch für je einen Probanden pro Anästhetikum für alle drei Messabschnitte dargestellt. Trotz der Unterschiede der Einzelwerte zeigen sich bei 100 Stimuli stabile Mittelwerte. Die Höhe der Fazilitation der zweiten Kontrollmessung nähert sich nach der Ablutung stark dem der ersten Kontrollmessung an.



**Abbildung 11:** Exemplarische Darstellung der Variabilität der heteronymen Ia-Fazilitation des M. soleus H-Reflex für jeweils einen Probanden je Anästhetikum. Dargestellt sind die einzelnen Messpunkte mit (Kreuze) und ohne (Dreiecke) konditionierenden Stimulus für die erste und zweite Kontrolle und unter 0.8 Vol.-% Sevofluran bzw. 45 Vol.-% Lachgas. Die horizontalen Linien kennzeichnen den Mittelwert der H-Reflex-Amplitude.

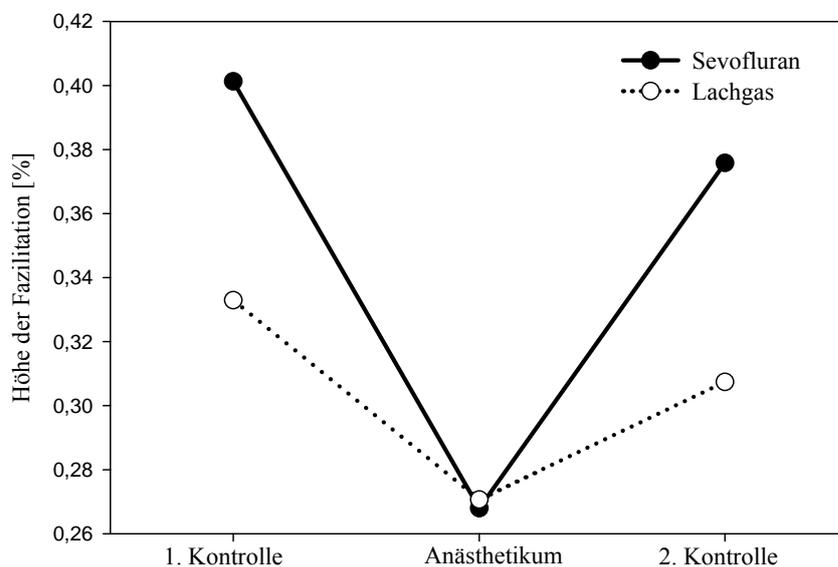
Proband	Heteronyme Fazilitation %			Abnahme %
	1. Kontrolle	Sevofluran	2. Kontrolle	
1030VK	18.1	13.3	31.1	45.9
0924FB	34.0	17.8	29.9	44.3
0616VB	35.8	22.3	31.6	33.8
0514CL	41.1	17.7	40.7	56.7
0928VP	17.7	16.8	17.6	4.8
0619VH	42.1	37.3	31.4	-1.5
0608JB	81.1	41.3	64.7	43.3
0413FW	45.4	39.5	74.7	34.2
0930BK	43.6	33.2	41.3	21.8
0415HS	29.3	26.7	26.8	4.8
Mittelwert	38.8	26.6	39.0	28.8
SD	17.9	10.5	17.7	20.0

Proband	Heteronyme Fazilitation %			Abnahme %
	1. Kontrolle	Lachgas	2. Kontrolle	
1221VK	27.1	35.1	20.2	-48.4
1228FB	13.6	11.6	8.6	-4.5
1229VB	29.4	30.9	28.0	-7.7
1230CL	74.7	34.8	53.4	45.7
0205VP	16.1	12.6	17.5	25.0
0307VH	17.2	20.0	25.0	5.2
0103JB	40.2	31.4	46.5	27.6
0405TP	31.6	22.1	16.8	8.7
0509FD	46.5	31.2	34.3	22.8
0118PB	51.4	37.0	14.6	-12.1
Mittelwert	34.8	26.7	26.5	6.2
SD	19.0	9.4	14.4	26.4

**Tabelle 3:** Werte der heteronymen Fazilitation der einzelnen Probanden unter Lachgas und Sevofluran. Jeweils die ersten sieben Probanden aus den Tabellen wurden sowohl unter Sevofluran als auch unter Lachgas gemessen. Die Bahnung wird angegeben als prozentuale Zunahme der unkonditionierten H-Reflex-Amplitude durch den konditionierenden Stimulus (N. femoralis) im jeweiligen Messabschnitt.

Wie in Tabelle 3 dargestellt, variiert sowohl die Fazilitation als auch die Unterdrückung der Fazilitation interindividuell stark. Daher wurden die Mittelwerte der auf  $M_{\max}$  normierten konditionierten und unkonditionierten Werte der H-Reflex-Amplitude bestimmt. Der unkonditionierte H-Reflex blieb in allen Messabschnitten durch Anpassung der Stimulationsstromstärke unverändert. Die relative Unterdrückung der heteronymen Fazilitation wurde für jeden Probanden berechnet als Quotient aus der Bahnung unter dem

jeweiligen Anästhetikum und dem Durchschnittswert der beiden Kontrollmessungen vor und nach Anästhetikagabe. Die Höhe der konditionierten H-Reflexamplitude der 2. Kontrolle (39.0 %) näherte sich nach Beendigung der Sevofluranzufuhr innerhalb von 35 Minuten der Amplitude der 1. Kontrolle (38.8 %) an, während sie sich in der Lachgasgruppe nicht erholte. Die durchschnittliche Reduktion der heteronymen Ia-Fazilitation beträgt unter Sevofluran  $28.8 \pm 20.0$  % (MW  $\pm$  SD) und unter Lachgas  $6.2 \pm 26.4$  % (MW  $\pm$  SD). Die Effekte, die sich nur zum Teil überschneidenen Gruppen von Probanden, wurde für beide Anästhetika berücksichtigt bei der statistischen Analyse durch das mixed effect model, welches „Proband“ als Analyseeinheit verwendete. Basierend auf dem linear mixed effect model konnte gezeigt werden, dass die Reduktion der heteronymen H-Reflex-Fazilitation sowohl durch Sevofluran, als auch für Lachgas reversibel und signifikant ist (Abbildung 12). Jedoch ist das Ausmaß der Reduktion unter Lachgas wesentlich geringer. Dies wird widergegeben durch den signifikanten Interaktionsterm in Tabelle 4. Die Daten für die einzelnen Probanden sind in Tabelle 3 dargestellt.



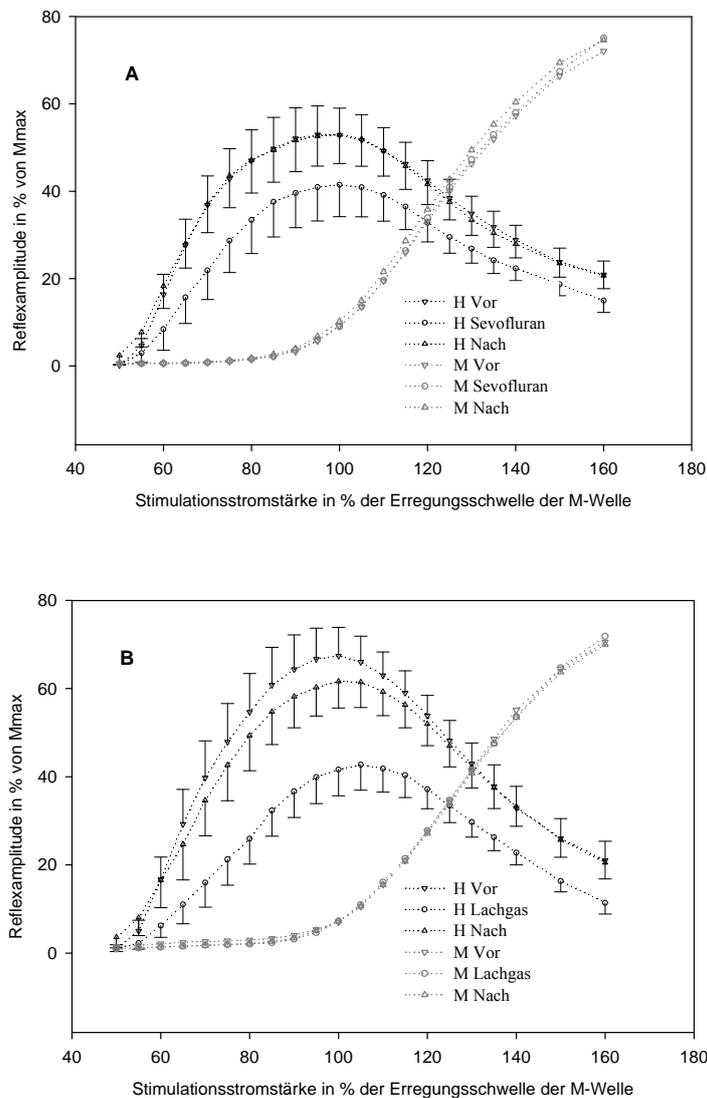
**Abbildung 12:** Die Graphen stellen die geschätzte Fazilitation, abgeleitet vom linear mixed effect model, an den verschiedenen Zeitpunkten dar. (1. Kontrolle, Anästhetikum, 2. Kontrolle). Die Fehlerberechnung des Modells kann Tabelle 4 entnommen werden, eine graphische Darstellung ist nicht möglich.

<b>Effekt von Sevofluran und Lachgas auf die heteronyme Fazilitation</b>					
	geschätzter Effekt	Fehler	<i>df</i>	<i>t</i> Wert	Pr >   <i>t</i>
Basiswert (vor Sevofluran-Zufuhr)	0.4013	0.03082	12	13.02	<0.0001
Medikamenteneffekt (Sevofluran und Lachgas) im Vergleich mit dem Basiswert	-0.1333	0.01426	5.631	-9.35	<0.0001
2. Kontrollmessung im Vergleich mit dem Basiswert	-0.02550	0.01076	5.631	-2.37	0.0178
Lachgasgruppe im Vergleich mit den Sevoflurangruppe	-0.06837	0.01192	5.631	-5.74	<0.0001
Modifikation des Sevofluran-Effekts durch Lachgas (Interaktion)	0.07104	0.01881	5.631	3.78	0.0002
SD der Zufallseffekte	0.13				

**Tabelle 4:** Ergebnisse des linear mixed effect models an den verschiedenen Messzeitpunkten, den Effekten der Anästhetika und ihrer Interaktionen. Effekte der heteronymen Fazilitation dargestellt als Zunahme des gemittelten unkonditionierten H-Reflexes in Prozent an den jeweiligen Zeitpunkten. Der Unterschied im Medikamenteneffekt von Sevofluran und Lachgas wurde unter Anwendung des Interaktionsterms getestet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 12 veranschaulicht. Pr = Probability.

### 3.5 Rekrutierungskurven und Parameter der neuronalen Erregbarkeit.

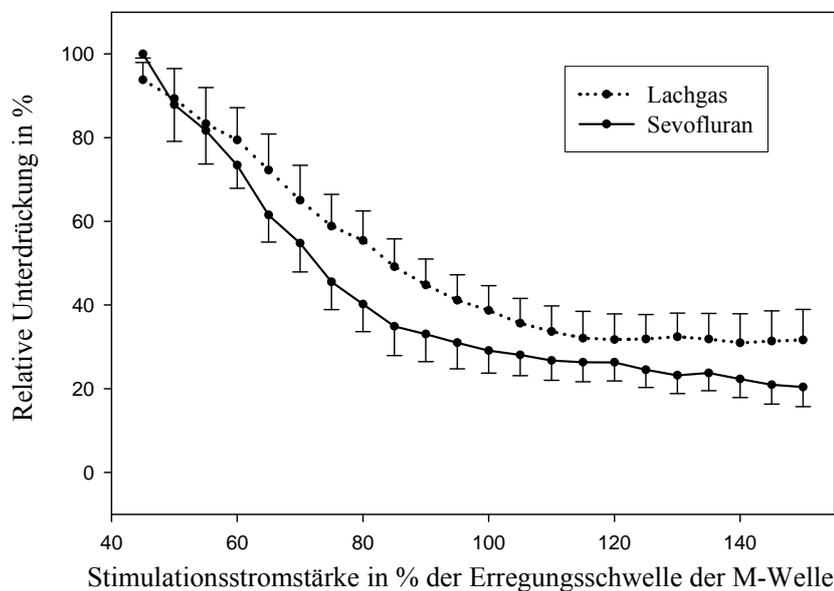
Rekrutierungskurven wurden in allen drei Messabschnitten für jeden Probanden erstellt. Die gemittelten Rekrutierungskurven aller Probanden zeigen eine ähnlich starke Unterdrückung der H-Reflex-Kurve durch Sevofluran und Lachgas, wohingegen weder die Erregungsschwelle der M-Welle noch die maximale M-Welle verändert wird (Abbildung 13).



**Abbildung 13:** Darstellung der gemittelten Verläufe der Rekrutierungskurven vor (▼), unter (●) und nach (▲) der Gabe von Sevofluran (A) und Lachgas (B). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar. Es wurden 8 Probanden in der Sevoflurangruppe und 10 Probanden Lachgasgruppe in die Analyse eingeschlossen.

Die Kurven der Kontrollmessungen in der Sevoflurangruppe zeigen einen annähernd gleichen Verlauf, wohingegen der Kurvenverlauf der Kontrollmessungen unter Lachgas sich sichtlich, aber nicht signifikant, unterscheidet (siehe Varianzanalyse zu  $H_{\max}/M_{\max}$ ). Es muss angemerkt werden, dass dies durch eine leichte Verschiebung der Elektroden durch die häufig beobachteten Bewegungen der Probanden unter Lachgas bedingt sein könnte.

Die relative Unterdrückung wurde für jeden Probanden berechnet als Quotient aus der Rekrutierungskurve unter dem jeweiligen Anästhetikum und dem Durchschnittswert der beiden Kontrollkurven vor und nach Anästhetikagabe. Bei Betrachtung der gemittelten Kurve der relativen Unterdrückung des H-Reflexes fällt auf, dass diese sowohl unter Sevofluran als auch unter Lachgas von der Stimulationsstärke anhängig ist (Abbildung 14).



**Abbildung 14:** Gemittelte Verläufe der relativen Unterdrückung des H-Reflexes bei unterschiedlichen Stimulationsstärken unter Sevofluran (····) und unter Lachgas (—). Die relative Unterdrückung wurde für jeden Probanden berechnet als Quotient aus der Rekrutierungskurve unter dem jeweiligen Anästhetikum und dem Durchschnittswert der beiden Kontrollkurven vor und nach Anästhetikagabe. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar.

Diese Abhängigkeit ist bei beiden Anästhetika statistisch signifikant ( $p < 0.001$ , Friedmann-Test). Bei Stimulationsstärken unterhalb jener, welche die maximale H-Welle erzeugt, ist eine deutlich höhere relative Unterdrückung bei beiden Anästhetika zu finden als bei höheren Stimulationsstärken.

## 4 Diskussion

Die Anästhetika Sevofluran und Lachgas finden heute breite Anwendung in der Anästhesie. Neben Hypnose, Amnesie und Analgesie ist die Unterdrückung motorischer Reaktionen auf Schmerzreize („Immobilität“) eine zentrale Eigenschaft von Allgemeinanästhetika.

Um dieses Ziel optimal zu erreichen, ist es sinnvoll die Wirkungsweisen verschiedener Anästhetika zu verstehen und deren molekulare Wirkungsmechanismen einschätzen zu können. Es gibt viele Studien, welche sich mit den Mechanismen von Anästhetika *in vitro* beschäftigt haben und ohne deren Ergebnisse eine Studie in diesem Rahmen nicht durchführbar und sinnvoll gewesen wäre. Jedoch gibt es nur wenige Studien, welche sich mit der Wirkungsweise von Anästhetika *in vivo* am Menschen beschäftigen. Auch konnten immer wieder Abweichungen zwischen den Ergebnissen von *in vitro*- und *in vivo*-Studien an Tiermodellen gezeigt werden [91].

Nachdem das Rückenmark vor mehr als einem Jahrzehnt als Zielstruktur der Vermittlung der Unterdrückung motorischer Antworten auf Schmerzreize identifiziert wurde, rückten Untersuchungen spinaler Wirkungen von Anästhetika in den Vordergrund [13;14]. Obwohl in zellulären Experimenten GABA<sub>A</sub>-, Glycin- und Glutamat-Rezeptoren als primär verantwortliche Strukturen ermittelt werden konnten, bleiben die Mechanismen der Unterdrückung von motorischen Reaktionen im intakten motorischen System des Menschen unbekannt [28]. *In vitro*-Studien zeigten, dass an der Abnahme der Erregbarkeit von Alpha-Motoneuronen sowohl präsynaptische als auch postsynaptische Hemmungsmechanismen an erregenden Synapsen der Motoneurone beteiligt sein können [46-48].

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir die spinalen Hemmungsmechanismen im Umfeld der Synapse zwischen der Ia-Faser des M. soleus und dem folgendem  $\alpha$ -Motoneuron. Zur Unterscheidung zwischen präsynaptischen Effekten auf die Ia-Afferenzen und direkten postsynaptischen Effekten auf die Erregbarkeit der Motoneurone untersuchten wir zwei Parameter, die motoneuronale Erregbarkeit  $H_{\max}/M_{\max}$ , welche sowohl durch präsynaptische als auch durch postsynaptische Hemmungsmechanismen beeinflusst wird, und die Höhe der heteronomen Fazilitation, deren Abnahme als direktes Maß der präsynaptischen Hemmung verwendet werden kann.

Die Rolle der GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren an der präsynaptischen Inhibition ist unbestritten, jedoch ist die Verteilung postsynaptischer Rezeptoren noch weitgehend unklar, sowohl NMDA- als auch Nicht-NMDA-Rezeptoren scheinen in Frage zu kommen [57;74;92]. Für Sevofluran konnten *in vitro*-Studien an spinalen Schnittpräparaten den GABA<sub>A</sub>-Rezeptor als eine primäre

---

molekulare Zielstruktur identifizieren [30]. Hingegen beruht die Wirkung von Lachgas vor allem auf der Antagonisierung exzitatorischer NMDA-Rezeptoren [36;75].

Das Verfahren der heteronymen Fazilitation konnte durch Tierexperimente validiert werden, bei denen die präsynaptische Inhibition der Ia-Afferenzen und postsynaptische Veränderungen durch intrazelluläre Ableitungen dargestellt werden konnten. Diese Experimente zeigten, dass die Höhe der Bahnung glaubwürdig die Höhe der präsynaptischen Inhibition der Ia-Afferenzen auf das Motoneuron widerspiegeln und diese nicht durch postsynaptische inhibitorische Effekte auf das Motoneuron beeinflusst werden [71].

Um den Einfluss des jeweiligen Anästhetikums auf die motoneuronale Erregbarkeit zu bestimmen, wurde der H-Reflex in allen drei Messabschnitten bei steigenden Stimulationsstromstärken ausgelöst und der Parameter der motoneuronalen Erregbarkeit berechnet.

Das Ziel dieser Studie war es, die relative Verteilung präsynaptischer und postsynaptischer Effekte der Unterdrückung der motoneuronalen Erregbarkeit für Sevofluran und Lachgas zu differenzieren und Rückschlüsse auf mögliche molekulare Strukturen am intakten motorischen System des Menschen zu ziehen. Es soll versucht werden anhand der Wirkung von Sevofluran auf die präsynaptische Inhibition eine mögliche Wirkung am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor *in vivo* am Menschen zu zeigen, und nachzuweisen, dass der NMDA-Antagonist Lachgas keine oder nur geringe Effekte auf die präsynaptische Inhibition aufweist.

Für die notwendigen Messungen unter Sevofluran und Lachgas wurden durch Probemessungen Probanden ausgewählt, bei denen der H-Reflex gut auslösbar war und welche eine Bahnung des H-Reflexes durch den N. femoralis von mindestens 15 % erreichten. Die Messungen wurden an jeweils 10 Probanden für Sevofluran und Lachgas durchgeführt, wobei 7 Probanden an beiden Studien teilnahmen. Da die Messungen unter Lachgasmononarkose sich schwieriger gestalteten als erwartet, konnten nicht, wie anfänglich geplant, 10 Probanden beide Studienprotokolle durchlaufen.

#### 4.1 Präsynaptische Effekte

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen eine signifikant höhere Reduktion der heteronymen Ia-Fazilitation unter dem Einfluss von Sevofluran im Vergleich zu Lachgas. Die Abnahme der Ia-Fazilitation unter Sevofluran bei rein monosynaptischer Verschaltung wird auf eine gesteigerte präsynaptische Inhibition der Ia-Afferenzen des N. femoralis zurückgeführt. Es ist bekannt, dass GABA die präsynaptische Inhibition an axo-axonalen Synapsen im Rückenmark vermittelt [57;92]. So konnte in pharmakologischen Studien gezeigt werden, dass die GABA-Antagonisten Bicucullin und Picrotoxin die präsynaptische Inhibition vermindern können [56;58;59]. Maxwell et al. gelang es den morphologischen Nachweis GABAerger axo-axonaler Synapsen im Rückenmark der Katze zu erbringen. Diese vermitteln die präsynaptische Inhibition zwischen Ia-Afferenzen und Motoneuronen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass an den Ia-Afferenzen vor allem der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor und nicht der GABA<sub>B</sub>-Rezeptor (welcher auch an der Ia-Afferenz vorhanden ist) an der Vermittlung der präsynaptischen Inhibition beteiligt ist [93]. Folglich kann die Reduktion der Fazilitation unter dem Einfluss von Sevofluran wahrscheinlich auf einen spezifischen präsynaptischen GABAergen Effekt von Sevofluran zurückgeführt und die erste Hypothese bestätigt werden:

*Hypothese 1: Sevofluran verstärkt die präsynaptische Inhibition afferenter Ia-Fasern im Rückenmark und weist somit spezifische GABAerge Effekte in vivo beim Menschen auf.*

Präsynaptische Effekte wurden für die volatilen Anästhetika Enfluran und Isofluran *in vitro* an glutamatergen Synapsen in Rückenmarkspräparaten gezeigt [48;94]. Sowohl für Enfluran als auch für Isofluran konnten Grasshoff et al. nachweisen, dass sie einen Teil ihrer Wirkung durch Interaktion mit dem GABA<sub>A</sub>-Rezeptor entwickeln [95]. Bestätigend konnte gezeigt werden, dass die Blockade von GABA<sub>A</sub>-inhibitorischen Chloridkanälen zu einer verminderten Unterdrückung motorischer Reaktionen auf Schmerzreize durch Isofluran führt [96]. Es gibt jedoch keine in der Literatur beschriebenen Studien, die das Ausmaß präsynaptischer Effekte volatiler Anästhetika im Menschen zu quantifizieren versuchen.

Kullmann et al. untersuchten den Effekt des volatilen Anästhetikums Halothan *in vivo* im Rückenmark der Katze [97]. Hierfür verwendeten sie einen Versuchsaufbau ähnlich dem von Hultborn et al. verwendeten Verfahren zur Validierung der Methode der heteronymen Ia-Fazilitation. Jedoch wurde hier ohne konditionierende Stimuli gearbeitet. Die Nerven von Katzen, welche die hintere Extremität versorgen, wurden freipräpariert, distal abgetrennt und

---

anschließend mit Stimulationselektroden verbunden. Nach Laminektomie stellte man natürlich vorkommende Filamente der Hinterwurzel von L7 oder S1 des lumbosakralen Rückenmarks dar. Es wurde ein Filament gewählt, das eine Ia-Faser von jedem/ annähernd jedem Beinmuskel enthält und mit einer Ableitungselektrode verbunden. Anschließend trennte man die Vorderwurzel dieser Segmente ab. Die Ableitung der EPSPs erfolgte hier intrazellulär am Motoneuron von L7 oder S1, es wurden lediglich EPSPs abgeleitet, welche einem somatischen Ursprung zugeordnet werden konnten. Mit diesen Versuchen konnte eine Abnahme monosynaptischer EPSPs sowohl an Halothan-anästhesierten als auch an dezerebrierten Katzen ohne darstellbare Veränderungen des Membranpotenzials gezeigt werden, womit ein präsynaptischer Effekt am wahrscheinlichsten ist.

Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse der Anästhetika Sevofluran und Lachgas auf die heteronyme Ia-Fazilitation beruht auf der unterschiedlichen Affinität zum GABA<sub>A</sub>-Rezeptor. Während der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor eine primäre molekulare Zielstruktur von Sevofluran ist, hat Lachgas nur einen geringen oder keinen Effekt an diesem Rezeptor [30;36]. Sevofluran imitiert also möglicherweise die physiologischen Effekte des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors und führt durch eine erhöhte Leitfähigkeit für Chloridionen zu einer verminderten Neurotransmitterfreisetzung an der Synapse, was wiederum zu einer Reduktion des EPSPs am folgenden Motoneuron führt. Dies würde in Einklang sein mit anderen pharmakologischen Studien, welche die hier verwendete Methode der heteronymen Ia-Fazilitation verwendet haben.

Erst kürzlich konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass das intravenöse Anästhetikum Propofol ebenfalls die präsynaptische Inhibition an der Ia-Afferenz steigert [73]. Grasshoff et al. untersuchten an spinalen Neuronen embryonaler Ratten die Wirkung von Propofol und Sevofluran am GABA<sub>A</sub>- und Glycin-Rezeptor. Sie konnten zeigen, dass Propofol seine Wirkung fast ausschließlich am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor (96 %) entfaltet, wohingegen Sevofluran sowohl eine Wirkung am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor (38 %) als auch am Glycin-Rezeptor (45 %) aufweist. Da Propofol seine Wirkung fast ausschließlich am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor entfaltet, gingen wir auch der Hypothese nach, ob Propofol aufgrund seiner stärkeren Affinität zum GABA<sub>A</sub>-Rezeptor eine vermutlich stärkere präsynaptische Inhibition hervorruft als Sevofluran. Wir verglichen die Daten der Sevoflurangruppe mit denen der Propofolgruppe, wobei fünf Probanden an beiden Studien teilnahmen. Aufgrund dessen konnte hier ebenso das statistische Verfahren des linear mixed effect models angewendet werden, welches verwendet wurde, um den Effekt von Sevofluran und Lachgas zu bestimmen. Wie vermutet fiel die

---

---

Abschwächung der heteronymen Ia-Fazilitation in der Propofolgruppe signifikant höher aus als in der Sevoflurangruppe. Das Ausmaß der Veränderung des Medikamenteneffekts durch Propofol (Interaktionsterm) korrespondiert mit dem Ausmaß der Höhe des Sevofluraneffekts verglichen mit dem Basiswert, während die Unterdrückung von  $H_{\max}/M_{\max}$  sich nicht signifikant zwischen den beiden Medikamenten unterschied. Die Höhe der präsynaptischen Inhibition auf die Ia-Afferenzen steigt daher in der Reihenfolge von Lachgas zu Sevofluran zu Propofol, was mit der Affinität der Anästhetika zum  $GABA_A$ -Rezeptor korrelieren würde. Da hingegen die Unterdrückung des unkonditionierten H-Reflexes für alle Medikamente ähnlich hoch war, muss für die postsynaptische Unterdrückung eine umgekehrte Reihenfolge angenommen werden. Die Kombination von präsynaptischen und postsynaptischen Effekten an der Ia-Afferenz und am Motoneuron scheint wahrscheinlich, insbesondere für Sevofluran.

Neben der Verstärkung der präsynaptischen Inhibition entweder durch Potenzierung oder durch Imitation des GABAergen Effekts müssen jedoch auch andere Mechanismen, welche zu einer verminderten Neurotransmitterfreisetzung führen könnten, in Betracht gezogen werden. So konnten Hemmings et al. an Hippocampus Neuronen neonataler Ratten mittels Laserscanner-Fluoreszenz-Mikroskopie für Isofluran zeigen, dass Natrium- und Kaliumkanäle möglicherweise für die verminderte Neurotransmitterfreisetzung verantwortlich sind [98]. Die Hemmung der Neurotransmitterfreisetzung war resistent auf die Gabe des  $GABA_A$ -Rezeptorantagonisten Bicucullin, was zeigte, dass der präsynaptische Effekt hier nicht durch Modulation am  $GABA_A$ -Rezeptor durch das volatile Anästhetikum verursacht wurde. Ein direkter Effekt auf die Exozytose konnte nicht nachgewiesen werden, woraus man schloss, dass der Effekt von Isofluran auf die synaptische Übertragung primär durch die Inhibition Aktionspotenzial-evozierter synaptischer Vesikelexozytose an einer Stelle vor dem Kalziumeinstrom stattfinden muss. Als Möglichkeiten kämen hier die Blockade von Natriumkanälen und/oder die Aktivierung von Kaliumkanälen in Betracht.

#### **4.2 Postsynaptische Effekte**

Um die Methode der heteronymen Ia-Fazilitation zu verwenden, ist es von großer Bedeutung, dass der unkonditionierte H-Reflex durch die Gabe des Anästhetikums um nicht mehr als 50 % reduziert wird.

Hultborn et al. untersuchten inhibitorische postsynaptische Einflüsse auf die heteronyme Ia-Fazilitation [71]. Sie führten an spinalisierten Katzen die heteronyme Ia-Fazilitation durch,

---

wobei die Unterschiede in der Anatomie berücksichtigt wurden, und untersuchten den Effekt konditionierender postsynaptischer Inhibition auf die monosynaptischen Ia-EPSPs anhand intrazellulärer Ableitungen an den Motoneuronen. Die Autoren konnten so nachweisen, dass monosynaptische Ia-EPSPs in ihrer Amplitude nicht verändert werden, wenn der unkonditionierte H-Reflex durch postsynaptische Stimuli auf nicht mehr als 25-90 % seiner ursprünglichen Größe reduziert wird. Um Effekte in der Bahnung sicher der präsynaptischen Inhibition zuordnen zu können und andere inhibitorische Einflüsse sicher auszuschließen, empfahlen Hultborn et al. eine postsynaptische Unterdrückung des unkonditionierten Reflexes um mehr als 50 % nicht zu überschreiten.

Um eine Unterdrückung über den validierten Bereich der Methode der präsynaptischen Inhibition durch Sevofluran und Lachgas über 50 % auszuschließen, wurden in allen Messabschnitten Rekrutierungskurven erstellt und die Kurve unter dem Einfluss des Medikaments mit den gemittelten Kurven der Kontrollmessungen verglichen. Hierdurch konnte sichergestellt werden, dass Veränderungen in der Höhe der Bahnung des M. soleus-H-Reflexes unter dem Einfluss der Anästhetika, Veränderungen der präsynaptischen Inhibition entsprechen, ohne durch postsynaptische Effekte moduliert wurden zu sein. Die Messungen bei unterschiedlichen Stimulationsstromstärken lassen weiterhin Rückschlüsse auf Ausmaß und Art der beteiligten Neurone zu und der Einfluss des jeweiligen Anästhetikums auf Motoneurone unterschiedlicher Größe kann berechnet und differenziert werden.

In dieser Studie konnten wir zeigen, dass sowohl Lachgas als auch Sevofluran die unkonditionierte H-Reflex-Kurve unterdrücken, wobei jedoch Lachgas deutlich geringere präsynaptische Effekte auf die Ia-Afferenzen des N. femoralis zeigt, wodurch sich auch die zweite Hypothese bestätigen lässt:

*Hypothese 2: Lachgas bewirkt keine oder eine geringe Verstärkung der präsynaptischen Inhibition afferenter Ia-Fasern im Rückenmark und weist damit keine oder nur geringe GABAerge Effekte in vivo am Menschen auf.*

Demnach entfaltet Lachgas seine Wirkung vor allem durch postsynaptische Mechanismen. Obwohl es weitgehend akzeptiert ist, dass Glutamat als Transmitter zwischen Ia-Afferenz und Motoneuron vermittelt, so wird jedoch weiterhin diskutiert, welcher Subtyp die Wirkung auf das Motoneuron vermittelt, in Frage kommen hier sowohl NMDA als auch Nicht-NMDA-Rezeptoren [99;100].

Als mögliche Erklärung für die H-Reflex-Unterdrückung kommt auch hier wieder die

---

---

unterschiedliche Affinität von Sevofluran und Lachgas zum NMDA-Rezeptor in Betracht. Für Lachgas konnte gezeigt werden, dass seine überwiegende Wirkung auf der Antagonisierung von NMDA-Rezeptoren, und in geringerem Umfang auf der von Nicht-NMDA-Rezeptoren, beruht [36;37;75]. Die Blockade von NMDA-Rezeptoren kann folglich die exzitatorische Überleitung von aktivierten Ia-Afferenzen auf die postsynaptische Seite abschwächen oder die Erregbarkeit des Motoneuron, durch unterschiedliche tonisch bahnende Einflüsse verschiedenen Ursprungs, vermindern. Beide Effekte würden zu der beobachteten Unterdrückung des unkonditionierten H-Reflexes führen. Zu den direkten Effekten von Lachgas auf Motoneurone kommen ebenfalls indirekte Effekte, welche zu einer Verminderung der Reflex-Erregbarkeit führen können, in Betracht, etwa durch Modulation vom Hirnstamm deszendierender noradrenerger Bahnen. So konnten Fujinaga et al. unter den deszendierenden Bahnen zeigen, dass vor allem noradrenerge inhibitorische Bahnen zur Modulation von Schmerzreizen durch Lachgas beitragen [101].

Sowohl antagonistischer Effekte auf die exzitatorische Übertragung (NMDA und Nicht-NMDA-Rezeptoren) als auch agonistische Effekte auf die inhibitorische Neurotransmission via GABA<sub>A</sub>- und Glycin-Rezeptoren, welche ebenso am Motoneuron vorhanden sind, könnten zu einer allgemeinen Verminderung der motoneuronalen Erregbarkeit führen. Die Wirkung von Lachgas beruht hauptsächlich auf einem nichtkompetitiven Antagonismus von exzitatorischen Glutamatrezeptoren (NMDA und AMPA), aber auch in geringem Umfang auf der Verstärkung GABAerger Effekte [35-37]. Jedoch konnte gezeigt werden, dass eine alleinige Blockade von NMDA-Rezeptoren keine chirurgische Immobilität hervorruft, sodass Lachgas seine immobilisierende Wirkung durch andere Mechanismen als reine Blockade von NMDA-Rezeptoren hervorrufen muss [102].

Auch für Sevofluran konnten postsynaptische Effekte nachgewiesen werden. Kammer et al. zeigten für Sevofluran an F-Wellen-Untersuchungen in subanästhetischen Konzentrationen, dass Sevofluran seine Wirkung auf spinaler Ebene auch auf postsynaptischer Seite entfaltet [103].

Für volatile Anästhetika konnten antagonistische Interaktionen am NMDA-Rezeptor aufgezeigt werden. Bei klinisch relevanten Konzentrationen unterdrücken auch Sevofluran, Isofluran und Desfluran rekombinante NMDA-Rezeptoren reversibel in Abhängigkeit von der Konzentration [104]. Es gibt also einen deutlichen Hinweis, dass ein breites Spektrum von Inhalationsanästhetika die NMDA-Rezeptor-Funktion inhibiert. Spinale Rückenmarks-Präparate erlauben eine isolierte Untersuchung postsynaptischer Effekte auf Motoneurone,

---

unabhängig von primären Afferenzen und Interneuronen. Für volatile Anästhetika konnte so gezeigt werden, dass sie Erregungen durch Glutamatgabe direkt unterdrücken, mit der Annahme einer direkten Unterdrückung motoneuronaler Erregbarkeit [46].

Cheng et al. untersuchten, ob das volatile Anästhetikum Enfluran eine direkte Wirkung am Motoneuron bei der synaptischen Übertragung am Glutamat-Rezeptor aufweist [46]. Sie blockierten spannungsabhängige Natriumkanäle durch Tetrodotoxin und unterdrückten somit präsynaptische Aktionspotenziale. Die präsynaptische Übertragung wurde durch die Gabe von Glutamat direkt auf die postsynaptische Zelle umgangen, auch hier unterdrückte Enfluran Glutamat-evozierte Potenziale, was eine postsynaptische Wirkung von Enfluran aufzeigt. Die zusätzliche Blockade von GABA<sub>A</sub>- und Glycin-Rezeptoren reduzierte den Effekt von Enfluran auf Glutamat-evozierte Potenziale nicht. Ebenso konnte sie zeigen, dass die Blockade entweder von NMDA- oder AMPA-Rezeptoren den Effekt von Enfluran auf Glutamat-evozierte Potenziale nicht reduzierte, sodass Enfluran seine Wirkung sowohl am AMPA- als auch am NMDA-Rezeptor am Motoneuron entfalten muss. Einer verstärkende Wirkung am GABA<sub>A</sub>- oder Glycin-Rezeptor ist für diesen Effekt nicht nötig.

Zusammenfassend kann man aus den *in vitro*-Studien schließen, dass sowohl Sevofluran als auch Lachgas einen möglichen inhibierenden Effekt an postsynaptischen Glutamat-Rezeptoren von Motoneuronen aufweisen und somit für die Unterdrückung des unconditionierten H-Reflexes verantwortlich sein könnten. Eine Beteiligung weiterer Rezeptoren, wie GABA<sub>A</sub>- oder Glycin-Rezeptoren, kann nicht sicher ausgeschlossen, da die alleinige Blockade von Glutamat-Rezeptoren nicht zu chirurgischer Immobilität führt, sodass eine Kombination von Effekten auf die exzitatorische (AMPA und NMDA) und die inhibitorische (GABA<sub>A</sub> und Glycin) Übertragung für die Immobilität wahrscheinlich scheint.

---

Die Ergebnisse der Rekrutierungskurven wurden verwendet, um sicherzustellen, dass eine Unterdrückung über den validierten Bereich der Methode der heteronymen Ia-Fazilitation ausgeschlossen ist. Weiterhin lassen sich jedoch auch Rückschlüsse auf Ausmaß und Art der beteiligten Neurone ziehen und der Einfluss des jeweiligen Anästhetikums auf Motoneurone unterschiedlicher Größe berechnen und differenzieren.

Wir konnten anhand der Ergebnisse der erstellten Rekrutierungskurven zeigen, dass die relative Unterdrückung des H-Reflexes unter beiden Anästhetika abhängig von den Stimulationsstromstärken ist.

Die Erregung der Motoneurone des H-Reflexes unterliegt einem Größenprinzip, es erfolgt eine Rekrutierung beginnend bei dem kleinsten Motoneuron bis hin zum größten Motoneuron bei steigender Stimulationsstromstärke. Dieses Größenprinzip wird auch unter präsynaptischen und postsynaptischen Einflüssen beibehalten.

Die transkutane Stimulation von Ia-Fasern führt hingegen zu einer Rekrutierung in umgekehrter Reihenfolge, hier werden erst die Ia-Fasern mit dem größten Durchmesser erregt und bei steigender Stimulationsstromstärke auch Ia-Fasern mit kleinerem Durchmesser. Es ist bekannt, dass für myelinisierte Fasern die Erregbarkeit direkt proportional zum Internodium-Abstand ist, welcher wiederum direkt proportional zum Nervenfasern-Durchmesser ist [105]. Bei dem experimentellen Versuchsaufbau mit nur einer punktuellen elektrischen Stimulationsquelle könnte die Reihenfolge der Rekrutierung der Ia-Fasern aufgrund der unterschiedlichen Distanz jeder einzelnen Faser zur Elektrode zusätzlich beeinflusst werden. Da jedoch auf jedes Motoneuron, unabhängig von seiner Größe, Endigungen aller Ia-Fasern des entsprechenden Muskels projizieren, und die Dichte synaptischer Kontakte sich an unterschiedlich großen Motoneuronen nicht unterscheidet, wird die physiologische Reihenfolge der motoneuronalen Rekrutierung durch die selektive Stimulation nicht oder nur unwesentlich beeinflusst [105;106].

Folglich bewirkt der Stimulus, der die niedrigste H-Welle verursacht, nach dem Größenprinzip bevorzugt die Erregung kleinerer Motoneurone. Die Unterdrückung von Lachgas und Sevofluran bei dieser Stimulationsstromstärke würde bedeuten, dass der Effekt von Sevofluran und Lachgas auf kleinere Motoneurone zurückgeführt werden kann. Bei steigenden Stimulationsstromstärken werden größere Motoneurone rekrutiert. Sollten diese Motoneurone gleichmäßig unterdrückt sein, ergäbe dies eine konstante Höhe der relativen Unterdrückung des unconditionierten H-Reflexes auch bei höheren Stimulationsstärken. Im Gegensatz dazu zeigen unsere Ergebnisse der Rekrutierungskurven eine wesentlich höhere relative Unterdrückung des H-Reflexes bei niedrigen Stimulationsstärken, sodass

---

angenommen werden kann, dass Sevofluran und Lachgas kleinere Motoneurone in einem stärkeren Ausmaß unterdrücken als große Motoneurone.

Solche selektive Unterdrückung kleiner  $\alpha$ -Motoneurone konnte bereits anhand zellulärer Ableitungen an Motoneuronen der Katze für die Anästhetika Äther und Thiopental nachgewiesen werden [107]. Eine erst kürzlich veröffentlichte Arbeit unserer Arbeitsgruppe konnte auch für Sevofluran und Propofol die bevorzugte Unterdrückung früh rekrutierter Motoneurone zeigen, diese Ergebnisse konnten wir für Lachgas bestätigen [108].

Es ist bekannt, dass die Rekrutierung der Motoneurone auch unter dem Einfluss supraspinaler Zentren des Gehirns dem Größenprinzip unterliegt [109]. Folglich würden supraspinal unterdrückende Effekte zuerst große Motoneurone betreffen, welche als letzte in der Reihenfolge des Größenprinzips gerade erregt wurden und deshalb für unterdrückende Effekte empfindlichsten sind. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass die selektive Unterdrückung kleiner Motoneurone durch Sevofluran und Lachgas einen Hinweis auf einen spinalen (im Gegensatz zu einen supraspinalen) Effekt darstellt.

### 4.3 Limitationen der Studie

Für diese Studie wurde ein monosynaptischer Reflexbogen gewählt, dessen Verschaltung und beteiligte Transmitter bekannt sind. Anhand der Veränderung der Höhe der Ia-Fazilitation wurden Rückschlüsse auf mögliche GABAerge Effekte der untersuchten Anästhetika geführt. Trotz eines Aufbaus mit möglichst einfachem Übertragungsweg, können mögliche beeinflussende Faktoren nicht sicher ausgeschlossen werden, und folglich ein definitiver Rückschluss von spezifischen Effekten von Sevofluran am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor nicht gezogen werden.

Es gibt eine Vielzahl von Studien, die eine supraspinale Kontrolle des H-Reflexes, welche teilweise durch Veränderung der präsynaptischen Inhibition erklärt werden, beschreiben [71;110-112]. Über welchen Weg supraspinale Einflüsse den H-Reflex oder die präsynaptische Inhibition in unterschiedlichen Wachheitsstadien tonisch modulieren, ist nur wenig bekannt, wäre aber für diese Studie von Relevanz. So konnte gezeigt werden, dass unter REM-Schlaf der H-Reflex unterdrückt wird und dass ein hohes Aufmerksamkeits-Level den H-Reflex verstärkt [113;114]. Tierexperimentelle Studien konnten zeigen, dass es tonisch supraspinale Effekte auf Ia-Afferenzen von Muskelfasern gibt. Sie demonstrierten, dass die reversible Spinalisation bei anästhesierten Katzen die, durch Muskelafferenzen hervorgerufene, primäre afferente Depolarisation (PAD) eher vermindern. Dies wurde interpretiert als Unterdrückung der tonisch deszendierenden Fazilitation, mit Wirkung auf Bahnen, welche die primäre afferente Depolarisation auf Ia-Afferenzen vermitteln, sodass tonisch supraspinale Effekte von Anästhetika die präsynaptische Inhibition auf Ia-Afferenzen eher verstärken als vermindern würden [115;116].

Als weitere Möglichkeit für supraspinale Einflüsse auf die präsynaptische Inhibition blieben noch die sedierenden Effekte von Sevofluran und Lachgas. Jedoch sprechen die Beobachtungen, dass die Immobilität unter Stimulation mit Schmerzreizen nicht mit der elektroenzephalographischen Aktivität korreliert, gegen die Hypothese, dass kortikale Strukturen die motorische Antwort auf Schmerzreize kontrollieren [117]. Die für die Modulation der präsynaptischen Inhibition verantwortlichen Hirnstammstrukturen unterliegen inhibierenden Einflüssen höherer Strukturen. Kullmann et al. konnten aber keinen Unterschied zwischen anästhesierten und dezerebrierten Katzen bei der maximalen Reduktion von EPSPs in Motoneuronen nach Stimulation von Ia-Afferenzen nachweisen [97].

---

Entsprechend zeigen diese Resultate, dass die Intaktheit des zerebrobulbären Systems nicht ausschlaggebend ist für die Funktion der präsynaptischen Inhibition auf Ia-Afferenzen. Auch unsere Ergebnisse der Veränderungen der H-Reflex-Rekrutierungskurven unter dem Einfluss der Anästhetika konnten zeigen, dass die H-Reflex-Unterdrückung selbst, primär spinalen Ursprungs ist.

Um supraspinale Einflüsse auf die präsynaptische Inhibition sicher einschätzen zu können, könnte das hier verwendete Studienprotokoll bei Freiwilligen mit kompletter Hemi- oder Tetraplegie nach der Phase des spinalen Schocks durchgeführt werden.

Bei dem verwendeten Verfahren der heteronymen Ia-Fazilitation wurde die Reduktion der Bahnung unter Sevofluran infolge der rein monosynaptischen Verschaltung zwischen Ia-Afferenz des N. femoralis und den Motoneuronen des M. soleus einer erhöhten präsynaptischen Inhibition zugeschrieben. Wir konnten zeigen, dass die erhöhte präsynaptische Inhibition wahrscheinlich auf einem GABAergen Effekt von Sevofluran beruht, da der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor die primäre Zielstruktur von Sevofluran darstellt. Zusätzliche Interaktionen von Sevofluran mit weiteren präsynaptischen Ionenkanälen, die durch andere Mechanismen zu einer Reduktion der Transmitterfreisetzung führen, können jedoch nicht sicher ausgeschlossen werden. Mögliche Ziele, welche bei Blockade zu einer verminderten Glutamat-Freisetzung aus der präsynaptischen Endigung führen könnten, sind Kalium-, Natrium- und Kalzium-Kanäle [118-120].

Zur genaueren Prüfung GABAerger Effekte bestünde die, aus ethischen Gründen jedoch nicht realisierbare, Möglichkeit unter der Messung der heteronymen Ia-Fazilitation zusätzlich den Probanden spezifische GABA-Antagonisten wie Bicucullin zu verabreichen. Bei anhaltender Reduktion der heteronymen Ia-Fazilitation könnte somit auf andere Mechanismen, als die des GABAergen Effekts auf die präsynaptische Inhibition geschlossen werden.

Tierexperimentelle Untersuchungen konnten zwar eine Reduktion des MAC-Wertes volatiler Anästhetika nach intrathekaler Gabe des GABA<sub>A</sub>-Antagonisten Picrotoxin zeigen, jedoch können sie nur komplementäre Hinweise liefern, da die Daten oft nicht unter Kontrollbedingungen ermittelt werden können und es Unterschiede in der Verschaltung des motorischen Systems zwischen Primaten und anderen Säugetieren gibt [91]. Tierexperimente, welche dem von Hultborn et al. etablierten Verfahren entsprechen würden, könnten durch simultane intrazelluläre Ableitung aus den Ia-Afferenzen und den entsprechenden Motoneuronen einen direkten Nachweis für präsynaptische Effekte von Sevofluran erbringen und den in dieser Studie erbrachten Nachweis belegen. Aber auch hier wäre es ethisch nicht

---

vertretbar, Tiere unter Kontrollbedingungen ohne Anästhetikum zu messen und die anatomischen Unterschiede der neuronalen Verschaltung müssten berücksichtigt werden.

Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass in dieser Studie der Einfluss von Sevofluran und Lachgas auf die präsynaptische Inhibition an afferenten Ia-Fasern untersucht wurde und nicht an den für die Immobilität relevanten A $\delta$ - und C-Fasern. Ein präsynaptischer Effekt der untersuchten Anästhetika auf diese Fasern und dem damit verbundenen Einfluss auf die Immobilität wäre denkbar, jedoch gibt es hierfür kein etabliertes Verfahren, um diesen Effekt am Menschen nachzuweisen.

Es gibt wenige Studien, die sich mit präsynaptischen GABAergen Effekten auf A $\delta$ - und C-Fasern beschäftigen. Fitzgerald et al. gelang der Nachweis primärer afferenter Depolarisationen (PAD) an A $\delta$ - und C-Fasern [121]. Es konnte gezeigt werden, dass die PAD in Schmerzfasern primär durch GABA hervorgerufen wird und dass sie in A $\delta$ -Fasern größer ausfällt als bei C-Fasern [122].

Auch an C-Fasern gelang der Nachweis präsynaptischer GABAerger Effekte. Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) wird fast ausschließlich aus den Endigungen nicht myelinisierter Afferenzen im Rückenmark freigesetzt. Die Freisetzung steigt nach elektrischer, schmerzhafter mechanischer oder thermischer Stimulation der Haut. Es gelang der Nachweis *in vitro* an spinalen Schnittpräparaten von Ratten, dass unter dem Einfluss von GABA und Muscimol (einem potenten GABA<sub>A</sub>-Agonisten) die Freisetzung von CGRP sich um 30 % verminderte, wohingegen der GABA<sub>B</sub>-Agonist Baclofen zu keiner darstellbaren Veränderung der Freisetzung von CGRP führte [123]. Bestätigend konnte gezeigt werden, dass der GABA<sub>A</sub>-Antagonist Bicuculline die inhibierende Wirkung von GABA und Muscimol komplett unterdrückte. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass GABA einen Einfluss auf die präsynaptische inhibitorische Kontrolle von C-Fasern über GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren ausübt.

Hinsichtlich dieser Erkenntnisse kann eine Verstärkung präsynaptischer GABAerger Inhibition an Schmerzfasern durch Sevofluran eine Möglichkeit sein, motorische Reaktionen auf Schmerzreize zu unterdrücken. Eine Modifikation der spinalen Erregbarkeit von Motoneuronen durch präsynaptische Effekte an afferenten Fasern kann hingegen nicht erwartet werden. Nielsen et al. konnten zeigen, dass kortikospinale Eingänge nicht der präsynaptischen Inhibition unterliegen und folglich keinen Einfluss auf willkürliche Bewegungen haben [124].

In dieser Studie wurden für die Inhalationsanästhetika Konzentrationen verwendet, welche annähernd einem MAC von 0.4 entsprechen, also einer Konzentration weit unterhalb jener, welche benötigt wird, um bei 50 % der Probanden eine motorische Reaktion auf schmerzhafte Stimuli zu unterdrücken. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie können nicht auf höhere Konzentrationen der untersuchten Anästhetika extrapoliert werden. Auch die involvierten Mechanismen können die Unterdrückung motorischer Antworten auf schmerzhafte Stimuli nicht vollständig aufklären. Studien zeigten aber, dass der H-Reflex selbst mit der chirurgischen Immobilität korreliert und die beobachteten Effekte einen möglichen Mechanismus darstellen, wie der H-Reflex durch Sevofluran und Lachgas unterdrückt wird [16].

Den Beweis einer GABAergen Wirkung von Sevofluran kann eine klinische Studie wie die hier durchgeführte jedoch nicht erbringen und benötigt ergänzende Untersuchungen durch Tier- oder *in vitro*-Studien.

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass die Unterdrückung eines humanen monosynaptischen spinalen Reflexbogens durch Sevofluran zu einem Teil durch präsynaptische Effekte vermittelt wird. Es ist anzunehmen, dass diese Effekte zumindest teilweise durch GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren vermittelt werden, weil im Gegensatz dazu, Lachgas, welches nur eine geringe oder keine Wirkung am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor aufweist, nur geringe präsynaptische Effekte zeigt.

## Zusammenfassung

Einleitung: Spinale Effekte von Anästhetika sind von besonderem Interesse, seit dem das Rückenmark tierexperimentell als primäres Ziel der Unterdrückung motorischer Reaktionen auf Schmerzreize identifiziert werden konnte. H-Reflex-Studien am Menschen konnten für Sevofluran und Lachgas zeigen, dass die Unterdrückung der spinalen motoneuronalen Erregbarkeit mit der Unterdrückung motorischer Antworten auf Schmerzreize korreliert. *In vitro*-Studien geben erste Hinweise darauf, dass im Umfeld der erregenden Synapsen der Motoneurone sowohl präsynaptische als auch postsynaptische Hemmungsmechanismen beteiligt sein könnten. Der Einfluss von Anästhetika auf die motoneuronale Erregbarkeit scheint für die Unterdrückung von Bewegungsantworten auf Schmerzreize von besonderer Bedeutung zu sein. Doch obwohl zelluläre Experimente GABA<sub>A</sub>-, Glycin- und Glutamat-Rezeptoren als primär verantwortliche Zielstrukturen ermitteln konnten, bleiben die Mechanismen der Bewegungsunterdrückung im intakten motorischen System des Menschen unbekannt.

Ziel dieser Studie ist es, das Ausmaß der präsynaptischen und postsynaptischen Effekte der Anästhetika Sevofluran und Lachgas auf die motoneuronale Erregbarkeit an einem monosynaptischen Reflexbogen am intakten Rückenmark des Menschen zu zeigen, dessen Verschaltung und dessen beteiligte molekulare Strukturen bekannt sind.

Methodik: Nach Zustimmung der Ethikkommission und schriftlicher Einwilligung wurden 24 Probanden in die Studie eingeschlossen. Für die Differenzierung präsynaptischer und postsynaptischer Mechanismen der Unterdrückung der motoneuronalen Erregbarkeit durch die Anästhetika Sevofluran und Lachgas untersuchten wir zwei Parameter:

- 1.) die Unterdrückung der Amplitude des maximalen H-Reflexes als Parameter der motoneuronalen Erregbarkeit, welche sowohl prä- als auch postsynaptische Hemmungsmechanismen einschließt
- 2.) die Unterdrückung der heteronymen Fazilitation des H-Reflexes als Parameter der reinen präsynaptischen Hemmung.

Das von Hultborn et al. etablierte Verfahren der heteronyme Fazilitation des M. soleus H-Reflexes wurde verwendet, um eine stattfindende präsynaptische Inhibition auf Ia-Fasern des N. femoralis zu untersuchen. Da eine direkte Verschaltung zwischen dem im N. femoralis verlaufenden Ia-Muskelspindelfasern des M. quadriceps femoris und den Motoneuronen des

---

M. soleus existiert, kann die durch Stimulation des N. tibialis hervorgerufene H-Welle durch zusätzliche Stimulation des N. femoralis vergrößert (konditioniert) werden. Werden N. femoralis und N. tibialis in einem Zeitfenster so stimuliert, dass sie zeitgleich auf das Motoneuron des M. soleus treffen, kann der monosynaptische Charakter der Fazilitation gesichert werden. Bei einer Abnahme der Fazilitation kann so als einzige mögliche Ursache auf eine Zunahme der präsynaptischen Hemmung geschlossen werden. Konditionierte und unkonditionierte Reflexe wurden in zufälliger Reihenfolge und an drei Zeitpunkten gemessen: 1.) Vor Gabe des Anästhetikums, 2.) mindestens 35 min nach Erreichen einer stabilen endtidalen Konzentration des Anästhetikums (0.8 Vol.-% Sevofluran und 45 Vol.-% Lachgas, äquipotente Konzentration in Bezug auf die motoneuronale Unterdrückung), 3.) mindestens 30 min nach Abflutung des Anästhetikums.

Ergebnisse: Die Studie wurde für jeweils zehn Probanden im Alter von 19-32 Jahren erfolgreich durchgeführt, wobei sieben Probanden unter beiden Anästhetika gemessen wurden. Bei den gewählten Anästhetikakonzentrationen wurde eine statistisch signifikante Unterdrückung der maximalen H-Reflex-Antwort unter Sevofluran von  $26.3 \pm 8.4$  % (MW  $\pm$  SD) und eine Unterdrückung für Lachgas von  $33.5 \pm 15.6$  % (MW  $\pm$  SD) gemessen (jeweils Analyse mittels linear mixed effect model). Die Reduktion der H-Reflex-Fazilitation im Vergleich zu den Kontrollmessungen beträgt  $28.8 \pm 20.0$  % (MW  $\pm$  SD) unter Sevofluran und  $6.2 \pm 26.4$  % (MW  $\pm$  SD) unter Lachgas. Die Abnahme der H-Reflex-Fazilitation unter dem Einfluss von Sevofluran ist signifikant höher als unter dem Einfluss von Lachgas (Analyse mittels linear mixed effect model).

Schlussfolgerungen: Die Ergebnisse zeigen, dass Lachgas nur geringe präsynaptische Effekte bei deutlicher Unterdrückung der motoneuronalen Erregbarkeit aufweist, während Sevofluran sowohl präsynaptische als auch postsynaptische Hemmung zeigt. Da es allgemein anerkannt ist, dass GABA als Transmitter bei der präsynaptischen Hemmung agiert, lassen sich die Unterschiede im Ausmaß der präsynaptischen Hemmung am ehesten aufgrund der unterschiedlichen GABAergen Wirkung der untersuchten Anästhetika erklären. Während Lachgas keine bis geringe Effekte am GABA-Rezeptor aufweist, stellt dieser ein Hauptziel der spinalen Wirkung von Sevofluran dar. Somit konnten in dieser Studie spezifische GABAerge Effekte von Sevofluran beim Menschen *in vivo* gezeigt werden.

---

**Literaturverzeichnis**

1. Dieffenbach JF: <<Der>> Aether gegen den Schmerz, ed Unveränd. Nachdruck. Graz, Akademische Druck- und Verlagsanstalt, 1847.
2. Severinghaus JW: Priestley, the furious free thinker of the enlightenment, and Scheele, the taciturn apothecary of Uppsala. *Acta Anaesthesiol Scand* 2002;46(1):2-9.
3. Faulconer A, Keys TE: *Foundations of anesthesiology*. Springfield, Charles C. Thomas, 1965.
4. Hermann, L. Notiz ueber die Empfehlung des Stickoxyduls als Anaestheticum. *Berliner klinische Wochenschrift* 3, 115-116. 1866.  
Ref Type: Journal (Full)
5. Snow J: On the inhalation of vapors of ether in surgical operations. Containing a description of the various stages of etherization and a statement of the results of nearly eighty operations in which ether has been employed at St. Georges's and University College hospitals.; in London, John Churchill, 1847, pp 1-15.
6. Snow J: On chloroform and other anesthetics, in London, John Churchill, 1858.
7. Prys-Roberts C: Anaesthesia: a practical or impractical construct? *Br J Anaesth* 1987;59(11):1341-1345.
8. Kissin I: General anesthetic action: an obsolete notion? *Anesth Analg* 1993;76(2):215-218.
9. Eger EI, Saidman LJ, Brandstater B: Minimum alveolar anesthetic concentration: a standard of anesthetic potency. *Anesthesiology* 1965;26(6):756-763.
10. MacIver MB, Roth SH: Inhalation anaesthetics exhibit pathway-specific and differential actions on hippocampal synaptic responses in vitro. *Br J Anaesth* 1988;60(6):680-691.
11. Nicoll RA: The effects of anaesthetics on synaptic excitation and inhibition in the olfactory bulb. *J Physiol* 1972;223(3):803-814.
12. Richards CD, White AE: The actions of volatile anaesthetics on synaptic transmission in the dentate gyrus. *J Physiol* 1975;252(1):241-257.
13. Rampil IJ, Mason P, Singh H: Anesthetic potency (MAC) is independent of forebrain structures in the rat. *Anesthesiology* 1993;78(4):707-712.
14. Rampil IJ: Anesthetic potency is not altered after hypothermic spinal cord transection in rats. *Anesthesiology* 1994;80(3):606-610.
15. Antognini JF, Schwartz K: Exaggerated anesthetic requirements in the preferentially anesthetized brain. *Anesthesiology* 1993;79(6):1244-1249.
16. Zhou HH, Jin TT, Qin B, Turndorf H: Suppression of spinal cord motoneuron

- 
- excitability correlates with surgical immobility during isoflurane anesthesia. *Anesthesiology* 1998;88(4):955-961.
17. Jinks SL, Martin JT, Carstens E, Jung SW, Antognini JF: Peri-MAC depression of a nociceptive withdrawal reflex is accompanied by reduced dorsal horn activity with halothane but not isoflurane. *Anesthesiology* 2003;98(5):1128-1138.
  18. King BS, Rampil IJ: Anesthetic depression of spinal motor neurons may contribute to lack of movement in response to noxious stimuli. *Anesthesiology* 1994;81(6):1484-1492.
  19. MacIver MB, Tanelian DL: Volatile anesthetics excite mammalian nociceptor afferents recorded in vitro. *Anesthesiology* 1990;72(6):1022-1030.
  20. Meyer H: Zur Theorie der Alkoholnarkose. Erste Mittheilung. Welche Eigenschaft der Anästhetica bedingt ihre narkotische Wirkung? *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1899;42:-109.
  21. Overton E: Studien über die Narkose Zugleich ein Beitrag zur Allgemeinen Pharmakologie [in German]. Jena, Verlag von Gustav Fisher, 1901.
  22. Koblin DD, Chortkoff BS, Laster MJ, Eger EI, Halsey MJ, Ionescu P: Polyhalogenated and perfluorinated compounds that disobey the Meyer-Overton hypothesis. *Anesth Analg* 1994;79(6):1043-1048.
  23. Raines DE, Korten SE, Hill AG, Miller KW: Anesthetic cutoff in cycloalkanemethanols. A test of current theories. *Anesthesiology* 1993;78(5):918-927.
  24. Lysko GS, Robinson JL, Casto R, Ferrone RA: The stereospecific effects of isoflurane isomers in vivo. *Eur J Pharmacol* 1994;263(1-2):25-29.
  25. Tomlin SL, Jenkins A, Lieb WR, Franks NP: Stereoselective effects of etomidate optical isomers on gamma-aminobutyric acid type A receptors and animals. *Anesthesiology* 1998;88(3):708-717.
  26. Wittmer LL, Hu Y, Kalkbrenner M, Evers AS, Zorumski CF, Covey DF: Enantioselectivity of steroid-induced gamma-aminobutyric acidA receptor modulation and anesthesia. *Mol Pharmacol* 1996;50(6):1581-1586.
  27. Franks NP, Lieb WR: Do general anaesthetics act by competitive binding to specific receptors? *Nature* 1984;310(5978):599-601.
  28. Franks NP, Lieb WR: Molecular mechanisms of general anaesthesia. *Nature* 1982;300(5892):487-493.
  29. Campagna JA, Miller KW, Forman SA: Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. *N Engl J Med* 2003;348(21):2110-2124.
  30. Grasshoff C, Antkowiak B: Propofol and sevoflurane depress spinal neurons in vitro via different molecular targets. *Anesthesiology* 2004;101(5):1167-1176.
  31. Kira T, Harata N, Sakata T, Akaike N: Kinetics of sevoflurane action on.
-

- Neuroscience 1998;85(2):383-394.
32. Krasowski MD, Harrison NL: The actions of ether, alcohol and alkane general anaesthetics on GABAA and glycine receptors and the effects of TM2 and TM3 mutations. *Br J Pharmacol* 2000;129(4):731-743.
  33. Wang YW, Deng XM, You XM, Liu SX, Zhao ZQ: Involvement of GABA and opioid peptide receptors in sevoflurane-induced antinociception in rat spinal cord. *Acta Pharmacol Sin* 2005;26(9):1045-1048.
  34. Matute E, Lopez-Garcia JA: Characterisation of sevoflurane effects on spinal somato-motor nociceptive and non-nociceptive transmission in neonatal rat spinal cord: an electrophysiological study in vitro. *Neuropharmacology* 2003;44(6):811-816.
  35. Hapfelmeier G, Zieglgansberger W, Haseneder R, Schneck H, Kochs E: Nitrous oxide and xenon increase the efficacy of GABA at recombinant mammalian GABA(A) receptors. *Anesth Analg* 2000;91(6):1542-1549.
  36. Jevtovic-Todorovic V, Todorovic SM, Mennerick S, Powell S, Dikranian K, Benshoff N, Zorumski CF, Olney JW: Nitrous oxide (laughing gas) is an NMDA antagonist, neuroprotectant and neurotoxin. *Nat Med* 1998;4(4):460-463.
  37. Mennerick S, Jevtovic-Todorovic V, Todorovic SM, Shen W, Olney JW, Zorumski CF: Effect of nitrous oxide on excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal cultures. *J Neurosci* 1998;18(23):9716-9726.
  38. Chapman CR, Benedetti C: Nitrous oxide effects on cerebral evoked potential to pain: partial reversal with a narcotic antagonist. *Anesthesiology* 1979;51(2):135-138.
  39. Fang F, Guo TZ, Davies MF, Maze M: Opiate receptors in the periaqueductal gray mediate analgesic effect of nitrous oxide in rats. *Eur J Pharmacol* 1997;336(2-3):137-141.
  40. Hashimoto T, Maze M, Ohashi Y, Fujinaga M: Nitrous oxide activates GABAergic neurons in the spinal cord in Fischer rats. *Anesthesiology* 2001;95(2):463-469.
  41. Yang JC, Clark WC, Ngai SH: Antagonism of nitrous oxide analgesia by naloxone in man. *Anesthesiology* 1980;52(5):414-417.
  42. Jurd R, Arras M, Lambert S, Drexler B, Siegwart R, Crestani F, Zaugg M, Vogt KE, Ledermann B, Antkowiak B, Rudolph U: General anesthetic actions in vivo strongly attenuated by a point mutation in the GABA(A) receptor beta3 subunit. *FASEB J* 2003;17(2):250-252.
  43. Krasowski MD, Jenkins A, Flood P, Kung AY, Hopfinger AJ, Harrison NL: General anesthetic potencies of a series of propofol analogs correlate with potency for potentiation of gamma-aminobutyric acid (GABA) current at the GABA(A) receptor but not with lipid solubility. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297(1):338-351.
  44. Rehberg B, Bouillon T, Gruenewald M, Schneider J, Baars J, Urban BW, Kox WJ: Comparison of the concentration-dependent effect of sevoflurane on the spinal H-reflex and the EEG in humans. *Acta Anaesthesiol Scand* 2004;48(5):569-576.

- 
45. Zhou HH, Mehta M, Leis AA: Spinal cord motoneuron excitability during isoflurane and nitrous oxide anesthesia. *Anesthesiology* 1997;86(2):302-307.
  46. Cheng G, Kendig JJ: Enflurane directly depresses glutamate AMPA and NMDA currents in mouse spinal cord motor neurons independent of actions on GABAA or glycine receptors. *Anesthesiology* 2000;93(4):1075-1084.
  47. Cheng G, Kendig JJ: Pre- and postsynaptic volatile anaesthetic actions on glycinergic transmission to spinal cord motor neurons. *Br J Pharmacol* 2002;136(5):673-684.
  48. Cheng G, Kendig JJ: Enflurane decreases glutamate neurotransmission to spinal cord motor neurons by both pre- and postsynaptic actions. *Anesth Analg* 2003;96(5):1354-9, table.
  49. Frank K, Fuortes MGF: Presynaptic and postsynaptic inhibition of monosynaptic reflexes. *Fed Proc* 1957;16:39-40.
  50. Eccles JC, Schmidt RF, Willis WD: Presynaptic inhibition of the spinal monosynaptic reflex pathway. *J Physiol* 1962;161:282-297.
  51. Eccles JC, Kostyuk PG, Schmidt RF: Central pathways responsible for depolarization of primary afferent fibres. *J Physiol* 1962;161:237-257.
  52. Lundberg A: Supraspinal control of Transmission in Reflex Paths to Motoneurons and primary Afferents. *Prog Brain Res* 1964;12:197-221.
  53. Billinton A, Upton N, Bowery NG: GABA(B) receptor isoforms GBR1a and GBR1b, appear to be associated with pre- and post-synaptic elements respectively in rat and human cerebellum. *Br J Pharmacol* 1999;126(6):1387-1392.
  54. Brauner-Osborne H, Krogsgaard-Larsen P: Functional pharmacology of cloned heterodimeric GABAB receptors expressed in mammalian cells. *Br J Pharmacol* 1999;128(7):1370-1374.
  55. Grifa A, Totaro A, Rommens JM, Carella M, Roetto A, Borgato L, Zelante L, Gasparini P: GABA (gamma-amino-butyric acid) neurotransmission: identification and fine mapping of the human GABAB receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250(2):240-245.
  56. Barker JL, Nicoll RA: The pharmacology and ionic dependency of amino acid responses in the frog spinal cord. *J Physiol* 1973;228(2):259-277.
  57. Curtis DR: Two Types of Inhibition in the Spinal Cord; in Rudomin P, Romo R, Mendell LM (eds): *Presynaptic Inhibition and Neural Control*. New York, 1998, pp 150-161.
  58. Davidoff RA: Gamma-aminobutyric acid antagonism and presynaptic inhibition in the frog spinal cord. *Science* 1972;175(19):331-333.
  59. Eccles JC, Schmidt R, Willis WD: Pharmacological Studies on Presynaptic Inhibition. *J Physiol* 1963;168:500-530.
-

- 
60. Schmidt RF: Pharmacological Studies on the primary Afferent Depolarisation of the spinal Cord. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere* 1963;277:325-346.
  61. Redman SJ: The Relative Contributions of GABA-A and GABA-B Receptors to Presynaptic Inhibition of Group Ia EPSPs; in Rudomin P, Romo R, Mendell LM (eds): *Presynaptic Inhibition and Neural Control*. New York, 1998, pp 162-177.
  62. Davidoff RA, Hackmann JC: Drugs, chemicals, and toxins: their effects on the spinal cord; in Davidoff RA (ed): *Handbook of the spinal cord*. New York, Basel, 1983, vol 1, pp 409-478.
  63. Davidoff RA, Hackmann JC: Spinal inhibition; in Davidoff RA (ed): *Handbook of the spinal cord*. New York, Basel, 2 and 3, 1984, pp 385-459.
  64. Nicoll RA, Alger BE: Presynaptic inhibition: transmitter and ionic mechanisms. *Int Rev Neurobiol* 1979;21:217-258.
  65. Nistri A: Spinal cord pharmacology of GABA and chemically related amino acids; in Davidoff RA (ed): *Handbook of the spinal cord*. New York, Basel, 1983, vol 1, pp 45-104.
  66. Alvarez-Leefmans FJ: Intracellular Cl regulation and synaptic inhibition in vertebrate and invertebrate neurons; in Alvarez-Leefmans FJ, Russell JM (eds): *Chloride channels and carriers in nerve, muscle, and glial cells*. New York, Plenum Press, 1990, pp 109-158.
  67. Alvarez-Leefmans F, Gamino SM, Giraldez F, Nogueron I: Intracellular chloride regulation in amphibian dorsal root ganglion neurones studied with ion-selective microelectrodes. *J Physiol* 1988;406:225-246.
  68. Hoffman P: Über die Beziehungen der Sehnenreflexe zur willkürlichen Bewegung zum Tonus. *Z Biol* 1918;68:351-370.
  69. Magladery JW, McDougal DB, Jr.: Electrophysiological studies of nerve and reflex activity in normal man. I. Identification of certain reflexes in the electromyogram and the conduction velocity of peripheral nerve fibers. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1950;86(5):265-290.
  70. Fisher MA: H reflexes and F waves. *Fundamentals, normal and abnormal patterns*. *Neurol Clin* 2002;20(2):339-60, vi.
  71. Hultborn H, Meunier S, Morin C, Pierrot-Deseilligny E: Assessing changes in presynaptic inhibition of I a fibres: a study in man and the cat. *J Physiol* 1987;389:729-756.
  72. Meunier S, Pierrot-Deseilligny E, Simonetta M: Pattern of monosynaptic heteronymous Ia connections in the human lower limb. *Exp Brain Res* 1993;96(3):534-544.
  73. Baars JH, von DF, Reiche J, Rehberg B: Propofol increases presynaptic inhibition of ia afferents in the intact human spinal cord. *Anesthesiology* 2006;104(4):798-804.
-

- 
74. Rudomin P, Schmidt RF: Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 1999;129(1):1-37.
  75. Yamakura T, Harris RA: Effects of gaseous anesthetics nitrous oxide and xenon on ligand-gated ion channels. Comparison with isoflurane and ethanol. *Anesthesiology* 2000;93(4):1095-1101.
  76. Wallin RF, Regan BM, Napoli MD, Stern IJ: Sevoflurane: a new inhalational anesthetic agent. *Anesth Analg* 1975;54(6):758-766.
  77. Conzen P, Hobbhahn J: Sevofluran-Kompodium Inhalationsanästhetikum. Wiesbaden, Wissenschaftliche Verlagsabteilung Abbott, 2001.
  78. Yasuda N, Targ AG, Eger EI: Solubility of I-653, sevoflurane, isoflurane, and halothane in human tissues. *Anesth Analg* 1989;69(3):370-373.
  79. Yasuda N, Lockhart SH, Eger EI, Weiskopf RB, Liu J, Laster M, Taheri S, Peterson NA: Comparison of kinetics of sevoflurane and isoflurane in humans. *Anesth Analg* 1991;72(3):316-324.
  80. Katoh T, Ikeda K: The minimum alveolar concentration (MAC) of sevoflurane in humans. *Anesthesiology* 1987;66(3):301-303.
  81. Scheller MS, Saidman LJ, Partridge BL: MAC of sevoflurane in humans and the New Zealand white rabbit. *Can J Anaesth* 1988;35(2):153-156.
  82. Goodman LS, Hardman JG, Gilman A: Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 10th ed. New York, McGraw-Hill, 2001.
  83. Hornbein TF, Eger EI, Winter PM, Smith G, Wetstone D, Smith KH: The minimum alveolar concentration of nitrous oxide in man. *Anesth Analg* 1982;61(7):553-556.
  84. Fisher MA: AAEM Minimonograph #13: H reflexes and F waves: physiology and clinical indications. *Muscle Nerve* 1992;15(11):1223-1233.
  85. Beekley MD, Cullom DL, Brechue WF: Hypercapnic impairment of neuromuscular function is related to afferent depression. *Eur J Appl Physiol* 2004;91(1):105-110.
  86. Higashi H, Kano T, Shimoji K, Morioka T, Sances A: Effects of acute hypocapnia and hypercapnia on neuromuscular transmission and on monosynaptic spinal reflex in wakeful man. *Br J Anaesth* 1972;44(11):1128-1132.
  87. Chernik DA, Gillings D, Laine H, Hendler J, Silver JM, Davidson AB, Schwam EM, Siegel JL: Validity and reliability of the Observer's Assessment of Alertness/Sedation Scale: study with intravenous midazolam. *J Clin Psychopharmacol* 1990;10(4):244-251.
  88. Crone C, Hultborn H, Mazieres L, Morin C, Nielsen J, Pierrot-Deseilligny E: Sensitivity of monosynaptic test reflexes to facilitation and inhibition as a function of the test reflex size: a study in man and the cat. *Exp Brain Res* 1990;81(1):35-45.
  89. Henneman E: The size principle and its relation to transmission failure in Ia
-

- 
- projections to spinal motoneurons. *Ann N Y Acad Sci* 1991;627:165-168.
90. Funase K, Imanaka K, Nishihira Y: Excitability of the soleus motoneuron pool revealed by the developmental slope of the H-reflex as reflex gain. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1994;34(8):477-489.
  91. Zhang Y, Sonner JM, Eger EI, Stabernack CR, Laster MJ, Raines DE, Harris RA: Gamma-aminobutyric acidA receptors do not mediate the immobility produced by isoflurane. *Anesth Analg* 2004;99(1):85-90.
  92. Todd AJ, Maxwell DJ: *GABA in the Nervous System: The View at Fifty Years*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
  93. Stuart GJ, Redman SJ: The role of GABAA and GABAB receptors in presynaptic inhibition of Ia EPSPs in cat spinal motoneurons. *J Physiol* 1992;447:675-692.
  94. Haseneder R, Kurz J, Dodt HU, Kochs E, Zieglgansberger W, Scheller M, Rammes G, Hapfelmeier G: Isoflurane reduces glutamatergic transmission in neurons in the spinal cord superficial dorsal horn: evidence for a presynaptic site of an analgesic action. *Anesth Analg* 2004;98(6):1718-23, table.
  95. Grasshoff C, Antkowiak B: Effects of isoflurane and enflurane on GABAA and glycine receptors contribute equally to depressant actions on spinal ventral horn neurones in rats. *Br J Anaesth* 2006;97(5):687-694.
  96. Wong SM, Cheng G, Homanics GE, Kendig JJ: Enflurane actions on spinal cords from mice that lack the beta3 subunit of the GABA(A) receptor. *Anesthesiology* 2001;95(1):154-164.
  97. Kullmann DM, Martin RL, Redman SJ: Reduction by general anaesthetics of group Ia excitatory postsynaptic potentials and currents in the cat spinal cord. *J Physiol* 1989;412:277-296.
  98. Hemmings HC, Jr., Yan W, Westphalen RI, Ryan TA: The general anesthetic isoflurane depresses synaptic vesicle exocytosis. *Mol Pharmacol* 2005;67(5):1591-1599.
  99. Jahr CE, Yoshioka K: Ia afferent excitation of motoneurons in the in vitro new-born rat spinal cord is selectively antagonized by kynurenate. *J Physiol* 1986;370:515-530.
  100. Ornung G, Ragnarson B, Grant G, Ottersen OP, Storm-Mathisen J, Ulfhake B: Ia boutons to CCN neurones and motoneurons are enriched with glutamate-like immunoreactivity. *Neuroreport* 1995;6(15):1975-1980.
  101. Fujinaga M, Maze M: Neurobiology of nitrous oxide-induced antinociceptive effects. *Mol Neurobiol* 2002;25(2):167-189.
  102. Stabernack C, Sonner JM, Laster M, Zhang Y, Xing Y, Sharma M, Eger EI: Spinal N-methyl-d-aspartate receptors may contribute to the immobilizing action of isoflurane. *Anesth Analg* 2003;96(1):102-7, table.
  103. Kammer T, Rehberg B, Menne D, Wartenberg HC, Wenningmann I, Urban BW:
-

- 
- Propofol and sevoflurane in subanesthetic concentrations act preferentially on the spinal cord: evidence from multimodal electrophysiological assessment. *Anesthesiology* 2002;97(6):1416-1425.
104. Hollmann MW, Liu HT, Hoenemann CW, Liu WH, Durieux ME: Modulation of NMDA receptor function by ketamine and magnesium. Part II: interactions with volatile anesthetics. *Anesth Analg* 2001;92(5):1182-1191.
105. Hennings K, rendt-Nielsen L, Andersen OK: Orderly activation of human motor neurons using electrical ramp prepulses. *Clin Neurophysiol* 2005;116(3):597-604.
106. Mendell LM, Henneman E: Terminals of single Ia fibers: location, density, and distribution within a pool of 300 homonymous motoneurons. *J Neurophysiol* 1971;34(1):171-187.
107. Somjen G, Carpebter D, Henneman E: Selective Depression of Alpha Motoneurons of small size by Ether. *J Pharmacol Exp Ther* 1965;148:380-385.
108. von DF, Reiche J, Rehberg B, Baars JH: H-reflex depression by propofol and sevoflurane is dependent on stimulus intensity. *Clin Neurophysiol* 2006;117(12):2653-2660.
109. Somjen G, Carpenter DO, Henneman E: Responses of motoneurons of different sizes to graded stimulation of supraspinal centers of the brain. *J Neurophysiol* 1965;28(5):958-965.
110. Faist M, Dietz V, Pierrot-Deseilligny E: Modulation, probably presynaptic in origin, of monosynaptic Ia excitation during human gait. *Exp Brain Res* 1996;109(3):441-449.
111. Hultborn H, Meunier S, Pierrot-Deseilligny E, Shindo M: Changes in presynaptic inhibition of Ia fibres at the onset of voluntary contraction in man. *J Physiol* 1987;389:757-772.
112. Meunier S, Pierrot-Deseilligny E: Gating of the afferent volley of the monosynaptic stretch reflex during movement in man. *J Physiol* 1989;419:753-763.
113. Bathien N, Morin C: [Comparing variations of spinal reflexes during intensive and selective attention (author's transl)]. *Physiol Behav* 1972;9(4):533-538.
114. Hodes R, Dement WC: Depression of electrically induced Reflexes ("H-Reflexes") in man during low voltage EEG "sleep". *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1964;17:617-629.
115. Quevedo J, Eguibar JR, Jimenez I, Schmidt RF, Rudomin P: Primary afferent depolarization of muscle afferents elicited by stimulation of joint afferents in cats with intact neuraxis and during reversible spinalization. *J Neurophysiol* 1993;70(5):1899-1910.
116. Rudomin P, Lomeli J, Quevedo J: Tonic differential supraspinal modulation of PAD and PAH of segmental and ascending intraspinal collaterals of single group I muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp Brain Res* 2004;159(2):239-250.
-

- 
117. Rampil IJ, Laster MJ: No correlation between quantitative electroencephalographic measurements and movement response to noxious stimuli during isoflurane anesthesia in rats. *Anesthesiology* 1992;77(5):920-925.
  118. Friederich P, Benzenberg D, Trellakis S, Urban BW: Interaction of volatile anesthetics with human Kv channels in relation to clinical concentrations. *Anesthesiology* 2001;95(4):954-958.
  119. Lingamaneni R, Hemmings HC, Jr.: Differential interaction of anaesthetics and antiepileptic drugs with neuronal Na<sup>+</sup> channels, Ca<sup>2+</sup> channels, and GABA(A) receptors. *Br J Anaesth* 2003;90(2):199-211.
  120. Petrenko AB, Tsujita M, Kohno T, Sakimura K, Baba H: Mutation of alpha1G T-type calcium channels in mice does not change anesthetic requirements for loss of the righting reflex and minimum alveolar concentration but delays the onset of anesthetic induction. *Anesthesiology* 2007;106(6):1177-1185.
  121. Fitzgerald M, Woolf CJ: Effects of cutaneous nerve and intraspinal conditioning of C-fibre afferent terminal excitability in decerebrate spinal rats. *J Physiol* 1981;318:25-39.
  122. Desarmenien M, Santangelo F, Loeffler JP, Feltz P: Comparative study of GABA-mediated depolarizations of lumbar A delta and C primary afferent neurones of the rat. *Exp Brain Res* 1984;54(3):521-528.
  123. Bourgoin S, Pohl M, Benoliel JJ, Mauborgne A, Collin E, Hamon M, Cesselin F: gamma-Aminobutyric acid, through GABAA receptors, inhibits the potassium-stimulated release of calcitonin gene-related peptide- but not that of substance P-like material from rat spinal cord slices. *Brain Res* 1992;583(1-2):344-348.
  124. Nielsen J, Petersen N: Is presynaptic inhibition distributed to corticospinal fibres in man? *J Physiol* 1994;477 ( Pt 1):47-58.

**Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.**



## **Danksagung**

Zum Erfolg dieser Arbeit haben viele Menschen beigetragen, all denjenigen möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich danken.

Meinen besonderen Dank möchte ich an Herrn PD Dr. Benno Rehberg-Klug sowie Herrn Dr. Jan Baars für die Vergabe und Betreuung der Arbeit in allen Phasen der Vorbereitung und Entstehung richten. Auch für die intensive Einarbeitung und die praktische Unterstützung sowie für die Durchsicht meiner Arbeit möchte ich mich bedanken. Die Arbeit in der Arbeitsgruppe Neuromonitoring habe ich stets als Bereicherung meines Studiums erlebt.

Ebenso möchte ich mich bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Neuromonitoring, insbesondere Falk von Dincklage, bedanken für ihre Kollegialität und Freundschaft, die vielen Anregungen, Diskussionen und konstruktiven Vorschläge zur Verbesserung der Arbeit, welche mir besonders in der Endphase eine große Hilfe und Motivation waren. Herrn Peter Schlattmann aus dem Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie bin ich für die komplexen statistischen Berechnungen dankbar.

Aufrichtigen Dank schulde ich allen Probanden, die als Freiwillige an unseren Studien teilgenommen haben und durch ihre gute Kooperation, Geduld und Ruhe zum Gelingen der Versuchsreihen beigetragen haben.

Ich bedanke mich bei meinen Eltern, die stets Vertrauen in mich setzten, mir das Studium ermöglichten und mich stets finanziell und moralisch in allen Phasen dieser Arbeit unterstützt haben.

**Eidesstattliche Erklärung**

„Ich, Michael Benzke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Untersuchung präsynaptischer und postsynaptischer Effekte der Anästhetika Sevofluran und Lachgas im Rückenmark des Menschen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

15.07.2009



---

## Teilpublikationen

1. Baars JH, Benzke M, von Dincklage F, Reiche J, Schlattmann P, Rehberg B.  
*Presynaptic and postsynaptic effects of the anesthetics sevoflurane and nitrous oxide in the human spinal cord.*  
Anesthesiology. 2007 Oct; 107(4):553-62.

## Weitere Publikationen

1. von Dincklage F, Benzke M, Rehberg B, Baars JH.  
*Ethanol reduces motoneuronal excitability and increases presynaptic inhibition of Ia afferents in the human spinal cord.*  
Brain Res. 2007 Oct 10;1173:78-83. Epub 2007 Aug 9.
2. F. von Dincklage, J.H. Baars, M. Benzke, J. Reiche, B. Rehberg  
*Propofol und Sevofluran unterdrücken bevorzugt die Erregbarkeit kleiner Motoneurone*  
Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung 2006. ISSN 0941-4223. 2-2006: 82.

## Poster

1. M. Benzke, J.H. Baars, F. von Dincklage, J. Reiche, B. Rehberg  
*Sevoflurane but not nitrous oxide enhances GABAergic presynaptic Ia-inhibition in humans.*  
17th European Students' Conference Berlin, Oktober 2006
2. J.H. Baars, M. Benzke, F. von Dincklage, J. Reiche, B. Rehberg  
*Sevofluran hemmt die Depolarisation von Ia-Afferenzen beim Menschen über präsynaptische Mechanismen*  
20. Wissenschaftliche Arbeitstage der DGAI in Würzburg, Februar 2006
3. F. von Dincklage, J.H. Baars, M. Benzke, J. Reiche, B. Rehberg  
*Propofol und Sevofluran unterdrücken bevorzugt die Erregbarkeit kleiner Motoneurone*  
Hauptstadtkongress für Anästhesiologie und Intensivtherapie, April 2006

4. Jan H. Baars, M.D., Falk von Dincklage, M.S., Michael Benzke, M.S., Josephine Reiche, M.S., Benno Rehberg, M.D., Privatdozent  
*Sevoflurane Inhibits Glycinergic Reciprocal Ia-Inhibitions in Humans*  
American Society of Anesthesiologists Annual Meeting 2007, San Francisco, CA, USA. 2007 ASA Meeting Abstracts A-138