

Aus der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin  
(Komm. Direktor: Prof. Dr. med. Markus Steinfath)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**UNTERSUCHUNGEN ZUR ROLLE VON  $\alpha_2$ -ADRENOZEPTOREN BEI  
DER VERMITTLUNG DER DURCH PETHIDIN INDUZIERTEN  
THERMOREGULATORISCHEN ANTWORT DER MAUS**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**MARTIN OLAF NIELSEN**

aus Preetz, Kreis Plön

Kiel 2009

1.Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Bein, Klinik für Anästhesiologie  
und Operative Intensivmedizin

2.Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Cascorbi, Institut für  
Experimentelle und Klinische Pharmakologie

Tag der mündlichen

Prüfung: 12.07.2010

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 12.07.2010

gez. \_\_\_\_\_

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
2. Material und Methoden.....	5
2.1 Geräte und Software.....	5
2.2 Medikamente .....	5
2.3 Versuchstiere .....	6
2.4 Versuchsdurchführung .....	6
2.5 Auswertung und Statistik.....	12
3. Ergebnisse.....	14
4. Diskussion .....	18
5. Zusammenfassung .....	23
6. Literaturverzeichnis .....	25
7. Tabellen und Abbildungen.....	30
Danksagungen .....	31
Lebenslauf.....	32

## Abkürzungen

AR	-	Adrenozeptor
bzw.	-	beziehungsweise
ccm	-	Kubikzentimeter
CO <sub>2</sub>	-	Kohlendioxid
d.h.	-	das heißt
EMG	-	Elektromyographie
i.p.	-	intraperitoneal
KO	-	Knockout
NaCl	-	Natriumchlorid
O <sub>2</sub>	-	medizinischer Sauerstoff
SD	-	Standardabweichung
s.o.	-	siehe oben
SvO <sub>2</sub>	-	venöse Sauerstoffsättigung
TRS	-	thermoregulatorische Schwellentemperatur
u. A.	-	unter Anderem
WT	-	Wildtyp

# 1. Einleitung

Als postoperatives Muskelzittern („Shivering“) bezeichnet man unwillkürliche Muskelbewegungen des Patienten während der frühen Phase nach Operationen. Es wird medikamentös hauptsächlich mit Opioiden oder  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten behandelt.

Die Inzidenz von Shivering variiert stark; von unterschiedlichen Autoren werden Werte zwischen 6,3% und 66% angegeben [1]. Einflussfaktoren hierfür sind u. A. die Art der Narkose, die Art des Eingriffes und das Patientenkollektiv.

Die zu Grunde liegenden Ursachen für die Entstehung von Shivering sind nicht vollständig geklärt. Eine entscheidende Rolle scheint hierbei der perioperativen Hypothermie, vermittelt durch Anästhesie-induzierte Inhibition der körpereigenen Thermoregulation, sowie der Umgebungstemperatur, zuzukommen (sogenanntes „thermoregulatory shivering“) [1, 2]. Ein wichtiger Faktor der intraoperativen Hypothermie ist der initial starke Abfall der Körperkerntemperatur durch eine Umverteilung der Körperwärme in die Peripherie [3].

Shivering kann jedoch auch unabhängig von einer perioperativen Hypothermie auftreten („non-thermoregulatory shivering“). Diese Form des Shiverings wird unter anderem mit postoperativem Schmerz in Verbindung gebracht [1, 4, 5].

Beide Formen des Shiverings lassen sich beispielsweise durch elektromyographische Untersuchungen (EMG) voneinander unterscheiden [6, 7].

Shivering führt zu einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauches des Körpers. Der erhöhte Bedarf kann, wenn auch selten, das Sauerstoffangebot überschreiten.

Auch hier weichen die veröffentlichten Werte erheblich voneinander ab. Verschiedene Autoren beschreiben eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauches um 40-120% [1].

Ob postoperatives Shivering zu einer erhöhten Morbidität der Patienten führt, ist schwer festzustellen. Eindeutige Ergebnisse gibt es hierzu bisher nicht. Eine Erhöhung der Morbidität allein durch Shivering ist bisher nicht belegt worden.

Allerdings muss in diesem Zusammenhang hervorgehoben werden, dass milde perioperative Hypothermie an sich bereits zu einer um den Faktor zwei erhöhten Morbidität im Vergleich zu normothermen Patienten führt. Ursächlich bedingt wird dies durch kardiale Ereignisse [8].

Als Folge des erhöhten  $O_2$ -Verbrauchs korreliert das Auftreten von Shivering in der postoperativen Phase mit einer erhöhten  $O_2$ -Ausschöpfung und einer verminderten venösen Sauerstoffsättigung ( $SvO_2$ ), sowie mit einem erhöhten Verbrauch an inotrop wirksamen Medikamenten [9, 10].

Der Patient selbst erlebt durch Shivering an erster Stelle Unwohlsein und Kälteempfindung [11].

All diese Gründe machen es notwendig, postoperatives Shivering nach Möglichkeit durch vorbeugende Maßnahmen zu vermeiden, zum Beispiel durch aktives Erwärmen des Patienten mittels konvektiver Wärmedecken während der Operation. Bei Auftreten von Shivering in der postoperativen Phase sollte der Patient, neben physikalischen Maßnahmen wie beispielsweise durch aktives Erwärmen mit Wärmedecken, medikamentös behandelt werden.

Im Rahmen medikamentöser Behandlungen in der Therapie des postoperativen Shiverings haben sich  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten und Opiate als besonders erfolgreich erwiesen. Unter den  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten sind im Besonderen Clonidin und Dexmedetomidin wirksam [12, 13].

Bisherige Studien über Opiode in der Therapie des Shivering untersuchten verschiedene Wirkstoffe und Dosierungen. Es konnte z.B. gezeigt werden, dass  $\mu$ -Rezeptor-Agonisten, wie beispielsweise Alfentanil, postoperatives Shivering hemmen können [14].

Aus der Gruppe der Opiode hebt sich Pethidin besonders hervor. Pethidin hat sich in vorausgegangenen Studien in der Behandlung des postoperativen Shiverings als sehr effektiv erwiesen, effektiver als vergleichbare Dosen anderer Opiode, besonders im Vergleich mit reinen  $\mu$ -Rezeptor-Agonisten [15-18].

Pethidin zeigt einen sehr starken und spezifischen Effekt gegen das Shivering. Andere Medikamente zur Therapie des postoperativen Shiverings wirken über eine Hemmung der allgemeinen Thermoregulation der Patienten dergestalt, dass neben der Shivering-Schwellentemperatur auch ungefähr in gleichem Maße der Schwellenwert zur Auslösung einer Vasokonstriktionsreaktion sinkt.

Pethidin ist jedoch in der Lage, den Schwellenwert für Shivering ca. zweimal stärker zu senken als den Schwellenwert der Vasokonstriktion [16]. Der Mechanismus dieser speziellen Wirkung auf das postoperative Shivering ist nicht gänzlich erklärt.

Diskutiert wurde zum Beispiel eine Wirkungsvermittlung über den  $\kappa$ -Opioidrezeptor [19].

Pethidin ist ebenfalls in der Lage, in klinisch relevanten Dosierungen auch nicht über den Opioidrezeptor vermittelte Effekte auszulösen. Es besitzt zum Beispiel lokalanästhetische Eigenschaften und wirkt zentral als Anticholinergikum [20, 21].

Ebenso ist es imstande,  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren zu aktivieren [19, 22], was ein möglicher Erklärungsansatz für die speziellen Eigenschaften von Pethidin in der Therapie des postoperativen Shiverings ist. Es haben sich nämlich  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten wie Clonidin oder Dexmedetomidin als noch effektiver in der Behandlung von postoperativem Shivering erwiesen als Pethidin [23, 24].

$\alpha_2$ -Adrenozeptoren sind G-Protein gekoppelte Rezeptoren des zentralen und peripheren Nervensystems. Sie werden durch Adrenalin und Noradrenalin aktiviert. Beim Menschen sind drei verschiedene Subtypen der  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren beschrieben:

- der  $\alpha_{2A}$ -
- der  $\alpha_{2B}$ - und
- der  $\alpha_{2C}$ -Subtyp.

Diese drei Subtypen unterscheiden sich, neben der genetischen Codierung auf unterschiedlichen Chromosomen des Menschen, vor allem in ihrer pharmakologischen Funktion [25]:

- Die „klassischen“ Wirkungen von  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten wie beispielsweise sedierende, anti-nozizeptive und hypotensive Effekte, werden dem  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptor zugeschrieben [26]. Darüber hinaus zeigten experimentelle Untersuchungen eine dominante Rolle des  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptorsubtyps in der Vermittlung der Thermoregulation [26, 27].
- Link et al. zeigten, dass der  $\alpha_{2B}$ -Adrenozeptor eine Vasokonstriktion durch Konstriktion glatter Muskelzellen bewirkt, und dadurch eine hypertensive Wirkung hat [28].
- Die Rolle des  $\alpha_{2C}$ -Adrenozeptors konnte noch nicht eindeutig geklärt werden. Durch ihn ausgelöste primär erkennbare Effekte auf die kardiovaskuläre Funktion wurden bisher nicht gefunden, allerdings konnten Sallinen et al. für den  $\alpha_{2C}$ -Adrenozeptor eine Beteiligung an der Thermoregulation nachweisen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde bei  $\alpha_{2C}$ -Adrenozeptor Knockout (AR

KO) Mäusen die durch  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten ausgelöste Antwort auf Hypothermie abgeschwächt [29].

Da Pethidin eine besondere Rolle in der Therapie des postoperativen Shiverings einnimmt, war es das Ziel dieser Studie, den Effekt von Pethidin auf  $\alpha_2$ -Adrenozeptor vermittelte Thermoregulation zu untersuchen.

Eine durch unsere Arbeitsgruppe durchgeführte vorausgegangene Studie konnte nachweisen, dass Pethidin seine thermoregulatorischen Effekte via  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren vermittelt [30]. Allerdings wurde hierbei keine  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Subtypspezifizierung durchgeführt. Zielsetzung der jetzigen Studie war es festzustellen, welcher der  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Subtypen hauptsächlich für die Vermittlung dieser Wirkung verantwortlich ist.

Für die Experimente wurde ein etabliertes und publiziertes Versuchsmodell der Nonshivering Thermogenese an Mäusen verwendet [30].

Nagetiere reagieren, im Gegensatz zu Menschen, auf eine Hypothermie mit der Nonshivering Thermogenese. Eine Erhöhung der Körpertemperatur wird hierbei auf metabolischem Wege erreicht, ohne dafür mechanische Arbeit zu leisten. Die dafür notwendige Energieressource stellt zum Beispiel das braune Fettgewebe dar.

Während bei erwachsenen Menschen diese Form der Energiegewinnung nur noch eine untergeordnete Rolle spielt, ist sie bei Säuglingen hingegen noch ein wichtiger Faktor der Thermoregulation.

Um die individuelle Rolle eines jeden der drei  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Subtypen zu bewerten, wurde die Wirkung von Pethidin auf Wildtyp Mäuse und auf  $\alpha_{2A^-}$ ,  $\alpha_{2B^-}$  und  $\alpha_{2C^-}$ -Adrenozeptor Knockout Mäuse verglichen.

Um zwischen Opioidrezeptor- und  $\alpha_2$ -Adrenozeptor vermittelten Effekten zu unterscheiden, wurde außerdem die Wirkung von Pethidin nach zusätzlicher Gabe des Opioidrezeptor-Antagonisten Naloxon sowie nach Gabe des  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Atipamezol untersucht. Um ein weiteres Opioid mit den Ergebnissen der Pethidin Versuche zu vergleichen, wurden ergänzende Messungen mit Fentanyl und Naloxon durchgeführt.



## 2. Material und Methoden

### 2.1 Geräte und Software

EKG- / Temperaturmonitor	Siemens - Sirecust 402
Temperatursonde	YSI Temperature Probe 402
Gasflussmesser	Fischer & Porter Co. Mod. 10A1338
PHASEIN IRMA <sup>®</sup> Multigas Sensor	Armeda Medizintechnik
Pocket PC	Hp iPAQ hx2100 Familie
Flockeneisbereiter (Eistemperatur -0,5°)	Scotsman AF 80
Druckregler	Messer-Griesheim (509.9711.2)
Plexiglaskammer	(innerer Ø 4 cm, äußerer Ø 5 cm, äußere Länge: 10,5 cm, Länge des Innenraumes: 6,5 cm)
Klebeband	3M <sup>™</sup> Durapore <sup>™</sup>
Analysewaage	Ohaus Explorer E04130 (d=0,001 g, +10 bis +30° C)
Spritzen	BD Plastipak <sup>™</sup> 1 ml
Kanülen	BD Microlance <sup>™</sup> 3 (0,4*19 ml)
VEO <sup>®</sup> Software	Armeda Medizintechnik, Langenhagen
Excel <sup>®</sup> 2003 Tabellenkalkulations-Software	Microsoft, USA
GraphPad Prism 5.0 <sup>®</sup>	GraphPad Software, San Diego, USA

### 2.2 Medikamente

Atipamezol	5,0 mg/ml	Antisedan <sup>®</sup> ; Orion Pharma, Finnland
Fentanyl	0,05 mg/ml	Fentanyl <sup>®</sup> -Janssen; Janssen-Cilag
Natriumchloridlösung	0,9 %	Berlin Chemie
Pethidin	50 mg/ml	Dolantin <sup>®</sup> ; Aventis Pharma
Naloxon	0,4 mg/ml	Naloxon Curamed; CuraMED Pharma
Lidocain Gel		Instillagel <sup>®</sup> , Farco Pharma, Köln
Medizinischer Sauerstoff		Dräger, Lübeck

## 2.3 Versuchstiere

In den Versuchen wurden 10 Mäuse jedes Typs untersucht.

Mäuse des C57Bl/6 Stammes dienten als Kontrolltiere (Wildtyp, WT). Die übrigen drei Typen waren genetisch veränderte Mäuse mit gezielter Deletion eines Gens, das für einen von drei  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Subtypen kodiert. Die Eigenschaften von AR KO-Maus Stämmen mit einem fehlenden  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Subtyp sind u. A. bereits in Veröffentlichungen von Link et al. und Altmann et al. beschrieben worden [28, 31].

Die  $\alpha_2$ -Adrenozeptor Knockoutmäuse wurden von Herrn Professor Dr. L. Hein, Institut für Pharmakologie der Universität Freiburg, zur Verfügung gestellt. Die Wildtypmäuse sind Eigenzüchtungen der zentralen Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Bei den Tieren handelte es sich um männliche Tiere im Alter von 8 bis 16 Wochen und mit einem Körpergewicht zwischen 26 und 35 Gramm.

Alle Mäuse wurden bei Standardlaborbedingungen mit einem 12:12 Stunden Tag/Nacht Zyklus (Tageslicht von 06:00 h bis 18:00 h), sowie kontrollierter Temperatur (21 °C) und Luftfeuchtigkeit (50 ± 10%) in einer Pathogen freien Einrichtung gehalten. Bis zu vier Tiere teilten sich einen Käfig und hatten freien Zugang zu Futter und Wasser.

Alle Experimente wurden zwischen 09:00 und 16:00 Uhr durchgeführt.

## 2.4 Versuchsdurchführung

Nach Genehmigung durch die zuständige Tierschutzkommission wurden insgesamt sechs Versuchsgruppen untersucht.

Die Versuchsgruppen bestanden aus je 40 Tieren (jeweils zehn Mäuse jedes Typs; WT,  $\alpha_{2A}$ -AR KO,  $\alpha_{2B}$ -AR KO und  $\alpha_{2C}$ -AR KO). Die Gruppen wurden in zwei Abschnitten mit unterschiedlichen Pharmaka behandelt – die Einteilung der Gruppen wurde folgendermaßen vorgenommen:

Gruppe 1: Injektion von NaCl in Abschnitt 1

Gruppe 2: Injektion von Pethidin in Abschnitt 1

Gruppe 3: Injektion von NaCl in Abschnitt 1 und Naloxon in Abschnitt 2

Gruppe 4: Injektion von Pethidin in Abschnitt 1 und Naloxon in Abschnitt 2

Gruppe 5: Injektion von Fentanyl in Abschnitt 1 und Naloxon in Abschnitt 2

Gruppe 6: Injektion von Pethidin in Abschnitt 1 und Atipamezol in Abschnitt 2

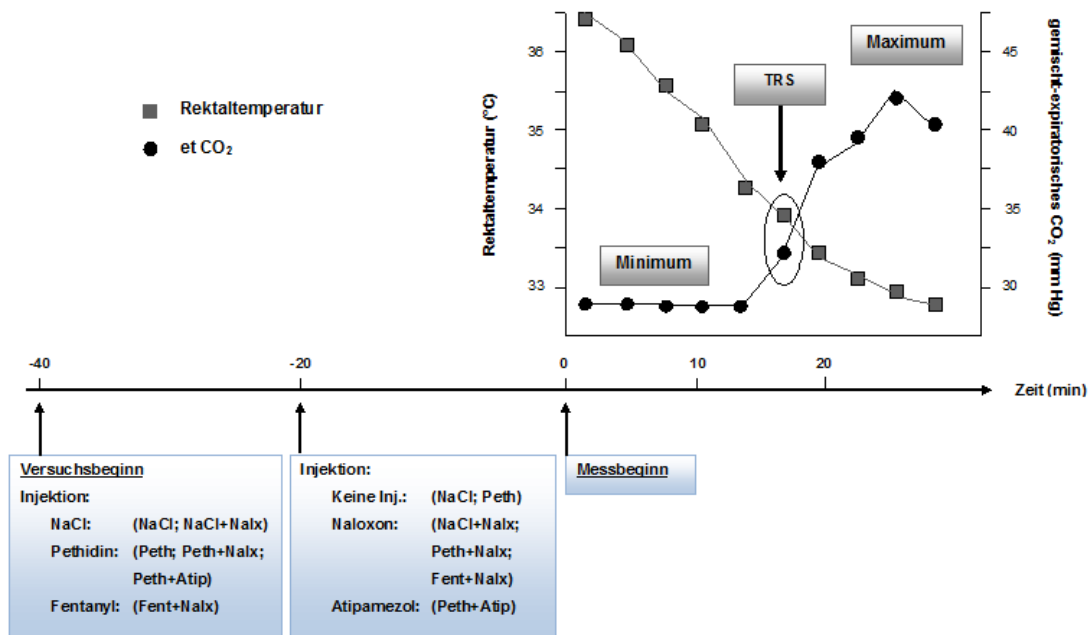
Abschnitt Gruppe	1 (40 Minuten vor Messbeginn)	2 (20 Minuten vor Messbeginn)
1 „NaCl“	NaCl	-
2 „Peth“	Pethidin	-
3 „NaCl+Nalx“	NaCl	Naloxon
4 „Peth+Nalx“	Pethidin	Naloxon
5 „Fent+Nalx“	Fentanyl	Naloxon
6 „Peth+Atip“	Pethidin	Atipamezol

**Tab. 1: Einteilung der Versuchsgruppen und der in den Versuchsabschnitten applizierten Medikamente**

Im folgenden Text werden die Versuchsgruppen entsprechend der in **Tabelle 1** angegebenen Medikamentenkürzel bezeichnet.

Alle Medikamente wurden intraperitoneal (i.p.) appliziert. Jeder Wirkstoff wurde von seiner Stammkonzentration auf die Zielkonzentration so verdünnt, dass jedes Tier bei jedem Medikament ein Injektionsvolumen von 0,01 ml/g Körpergewicht erhielt. Das Körpergewicht der Tiere wurde immer unmittelbar vor den Injektionen bestimmt.

Die Messungen begannen in allen Gruppen 40 Minuten nach Applikation des ersten Medikamentes. Im Falle der Verabreichung eines zweiten Medikamentes in Abschnitt 2 erfolgte diese 20 Minuten nach Applikation des ersten Medikamentes (**Abb. 1**).



**Abb. 1: Versuchsablauf und Datenanalyse**

Rektaltemperatur und gemischt-expiratorische CO<sub>2</sub>-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit. Die maximale Reaktionsintensität der non-Shivering-Thermogenese ist definiert als das Verhältnis von maximaler zu minimaler gemischt-expiratorischer CO<sub>2</sub>-Konzentration. Die thermoregulatorische Schwellentemperatur ist definiert als die Temperatur, bei der ein anhaltender Anstieg der gemischt-expiratorischen CO<sub>2</sub>-Konzentration zu erkennen ist. (NaCl = Natriumchloridlösung, Peth = Pethidin, NaCl+Nalx = Natriumchloridlösung plus Naloxon, Peth+Atip = Pethidin plus Atipamezol, Fent+Nalx = Fentanyl plus Naloxon, Peth+Nalx = Pethidin plus Naloxon, Inj. = Injektion)

Die analysierten Mäuse dienten als ihre eigene Kontrollgruppe, indem nach Ablauf von zwei Wochen im nächsten Versuchsdurchgang eine neue Applikation mit anschließender Messung erfolgte, so dass jedes Tier mit jeder Medikamentengruppe einmal behandelt wurde.

Die Tiere hatten zwischen den Injektionen mit Pethidin, Pethidin und Naloxon, Pethidin und Atipamezol oder Fentanyl und Naloxon mindestens zwei Wochen Erholungszeit bevor ein neuer Versuch an ihnen durchgeführt wurde.

**Versuchsgruppe 1 (NaCl):**

Je 10 Mäuse eines jeden Typs (WT,  $\alpha_{2A}$ -AR KO,  $\alpha_{2B}$ -AR KO und  $\alpha_{2C}$ -AR KO) erhielten eine intraperitoneale Injektion mit isotonischer Natriumchloridlösung (NaCl) mit einem Volumen von 0,01 ml/g Körpergewicht. Nach der Injektion wurden die Mäuse für 40 Minuten in ihren Käfig zurückgesetzt.

**Versuchsgruppe 2 (Peth):**

Erneut erhielten 10 Mäuse jedes Typs eine intraperitoneale Injektion mit Pethidin. Das Pethidin (Stammkonzentration 50 mg/ml) wurde vorab mit NaCl-Lösung im Verhältnis 1:25 verdünnt, so dass jede Maus eine Zielkonzentration von 20 mg/kg Körpergewicht erhielt, entsprechend einem Volumen von 0,01 ml/g Körpergewicht. Daraufhin wurden die Tiere wiederum für 40 Minuten in den Käfigen untergebracht, um die Wirkung des Pethidins abzuwarten.

**Versuchsgruppe 3 (NaCl+Nalx):**

Die dritte Versuchsgruppe erhielt zunächst im ersten Abschnitt eine NaCl - Injektion, deren Konzentration der der ersten Versuchsgruppe (NaCl) entsprach (0,01 ml/g). Nach einer 20 minütigen Pause im Käfig erhielten die Tiere im zweiten Abschnitt eine weitere Injektion mit Naloxon, einem Opiat-Antagonisten (kompetitive Hemmung aller Opioidrezeptoren, mit jedoch höchster Affinität am  $\mu$ -Rezeptor). Das Naloxon wurde dabei so verdünnt, dass jede Maus das übliche Volumen von 0,01 ml/g Körpergewicht erhielt. Dieses Volumen entsprach einer Naloxon Zielkonzentration von 125  $\mu$ g/kg Körpergewicht.

Nach dieser zweiten Injektion wurden die Mäuse für weitere 20 Minuten in die Käfige gesetzt.

**Versuchsgruppe 4 (Peth+Nalx):**

In der vierten Versuchsgruppe (Peth+Nalx) erhielten die Tiere zunächst eine Injektion mit Pethidin entsprechend der in Gruppe 2 (20 mg/kg Körpergewicht, 0,01 ml/g Körpergewicht), mit einer sich daran anschließenden Pause von 20 Minuten im Käfig. Nach Ablauf der 20 Minuten erhielten sie, wie die dritte Versuchsgruppe (NaCl+Nalx), eine zweite Injektion mit Naloxon und wurden ebenfalls wieder für 20 Minuten in den Käfigen untergebracht.

**Versuchsgruppe 5 (Peth+Atip):**

In der fünften Versuchsgruppe (Peth+Atip) erhielten die Tiere 20 Minuten nach der Gabe von Pethidin eine weitere Injektion mit dem  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Atipamezol. Die Konzentration betrug 2 mg/kg Körpergewicht in einem Volumen von 0,01 ml/g Körpergewicht.

Nach dieser Injektion erhielten die Tiere ebenfalls eine Pause von 20 Minuten.

**Versuchsgruppe 6 (Fent+Nalx):**

Um die Effekte unterschiedlicher Opioide auf die Thermoregulation nach Antagonisierung mit Naloxon zu untersuchen, wurden als zusätzliche Kontrolle Messungen mit Fentanyl (50  $\mu$ g/kg entsprechend 0,01 ml/g Körpergewicht) und Naloxon durchgeführt. Die Naloxon-Konzentration entsprach dabei der bisher verwendeten Konzentration. Zwischen den Injektionen und vor Versuchsbeginn hatten die Tiere, analog zu den Tieren der übrigen Versuchsgruppen, jeweils eine Pause von 20 Minuten.

Unmittelbar vor Messbeginn wurde den Tieren eine Temperatursonde, auf die Lidocaingel zur lokalen Analgesie und als Gleitmittel aufgetragen wurde, rektal eingeführt und am Schwanz der Maus mit Klebeband befestigt. Nach einer für die Temperaturmessung technisch notwendigen Kalibrierungsphase von 3 Minuten wurde die Initialtemperatur (Baseline) vor Versuchsbeginn notiert.

Anschließend wurde das Versuchstier in eine gasdichte Plexiglaskammer (Länge des Innenraumes: 6,5 cm, Innendurchmesser: 4 cm) gesetzt. An der Vorderseite der Plexiglaskammer wurde ein O<sub>2</sub>-Fluss von 100 ml/min eingeleitet. Zur Messung des expiratorischen CO<sub>2</sub>-Flusses wurde an der Rückseite der Kammer ein CO<sub>2</sub>-Sensor angebracht. Die Messung der CO<sub>2</sub>-Konzentration erfolgte über ein kontinuierliches Hauptstrom-Messverfahren.

Nach Abschluss der Kalibrierung des Temperatursensors wurde die Plexiglaskammer von außen mit Flockeneis (Eistemperatur -0,5°C) gekühlt, um eine thermoregulatorische Reaktion zu provozieren (**Abb. 2**).

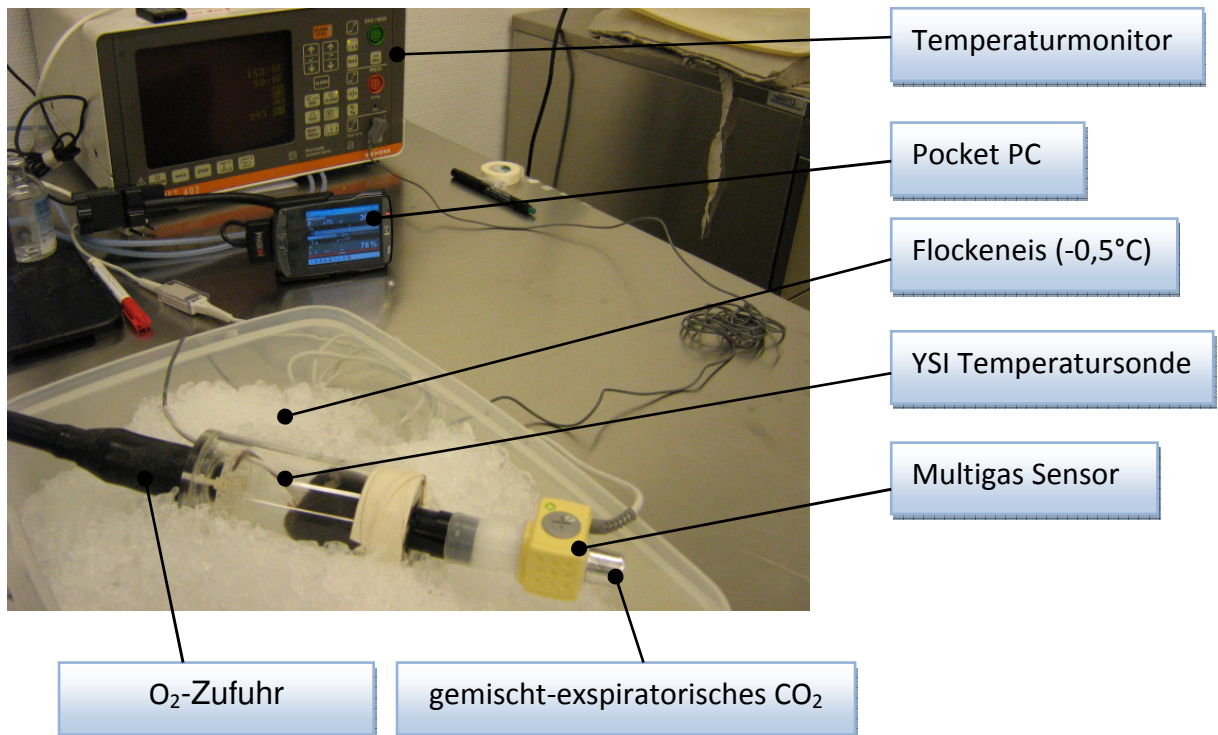
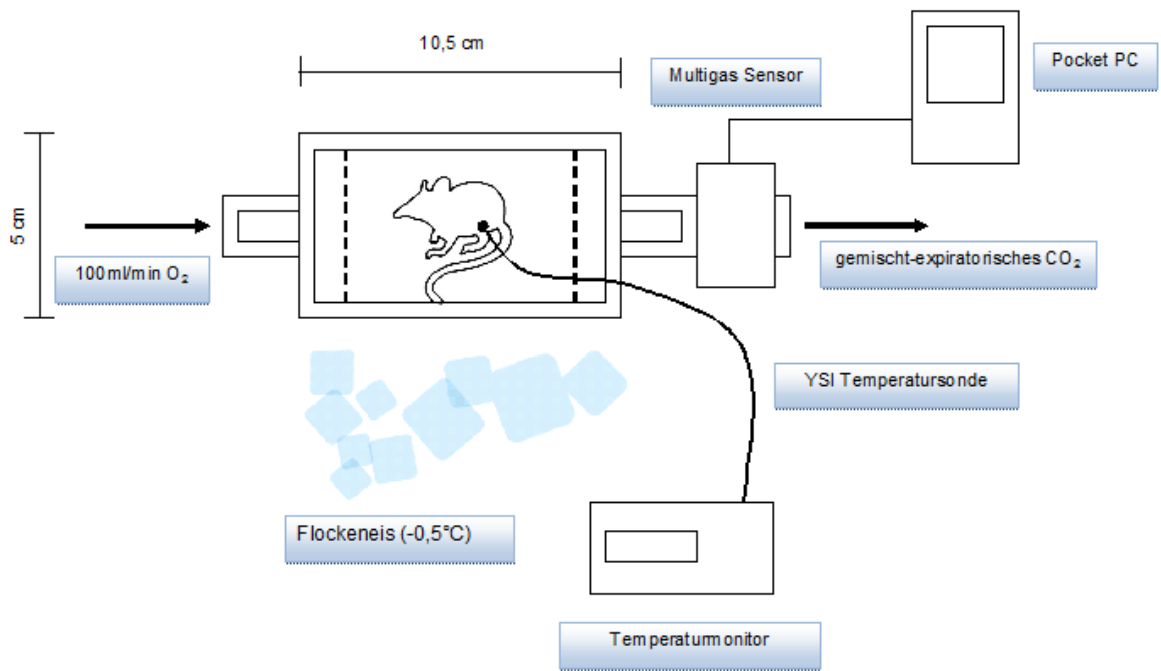


Abb. 2: Schematischer Versuchsaufbau und Photographie des Versuchsaufbaus während der Versuchsdurchführung

Der Beginn der Kühlung des Tieres wurde als  $T_0$  definiert; die zu diesem Zeitpunkt gemessenen Temperatur- und  $\text{CO}_2$ -Werte wurden als Ausgangswerte notiert („Baseline Ende“).

Die Reaktion des Versuchstieres im Sinne einer Temperaturänderung wurde nun beobachtet. Zu jeder Änderung der Körpertemperatur der Maus um  $0,1\text{ }^\circ\text{C}$  wurde der dazugehörige  $\text{CO}_2$ -Wert protokolliert.

Aus Gründen des Tierschutzes wurde eine Minimaltemperatur von  $32\text{ }^\circ\text{C}$  nicht unterschritten.

Nach dem Versuch wurden die Tiere in die Käfige zurückgesetzt und wie bereits beschrieben untergebracht.

## 2.5 Auswertung und Statistik

Aus den in den Versuchen gewonnenen Daten wurden Graphen aus gemischt expiratorischem  $\text{CO}_2$  gegenüber der Zeit (t) erstellt.

Die thermoregulatorische Schwellentemperatur wurde hierbei, in Anlehnung an frühere Studien mit Ratten [32], als die Temperatur definiert, bei der ein anhaltender Anstieg des gemischt expiratorischen  $\text{CO}_2$  gemessen werden konnte (**Abb.1**). Ermittelt wurde sie durch drei geblindete Untersucher aus den Graphen. Der aus den Ergebnissen dieser drei Untersucher gewonnene Mittelwert wurde für die weitere Auswertung verwendet.

Die maximale Reaktionsintensität der Nonshivering-Thermogenese wurde als das Verhältnis des maximalen und des minimalen  $\text{CO}_2$ -Plateaus während der Kühlungsphase definiert (**Abb. 1**).

Daten innerhalb einer Versuchsgruppe wurden mit Hilfe der univariaten Varianzanalyse für wiederholte Messungen (RM-ANOVA) mit anschließendem Dunnet's Test im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Baseline Temperaturwerte vor der Kühlungsphase) analysiert.



Unterschiede zwischen den auszuwertenden Versuchsgruppen wurden mittels unifaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) mit nachfolgender Bonferroni-Korrektur, evaluiert.

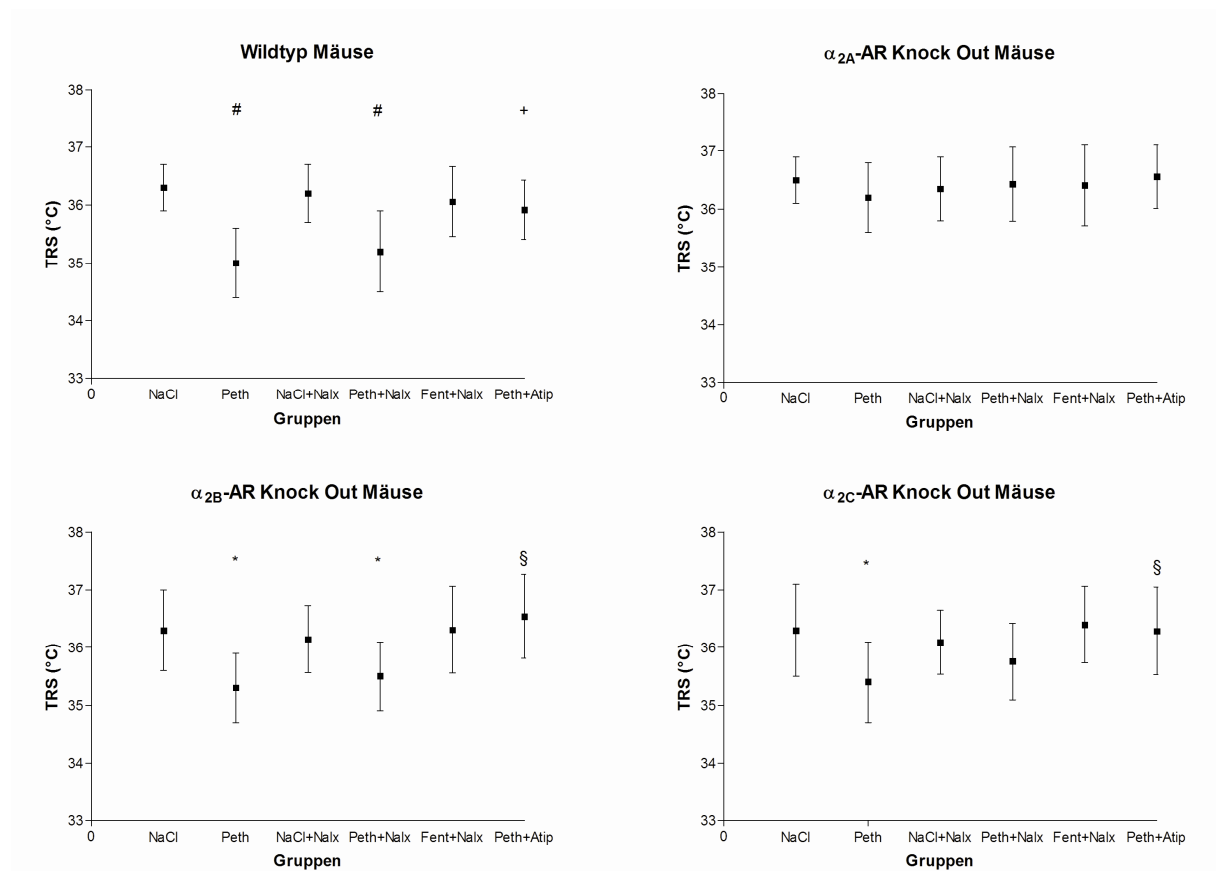
Um Differentialeffekte und Interaktionen zwischen den unterschiedlichen Genotypen zu analysieren, wurde eine sogenannte 4\*6 ANOVA durchgeführt. (Es wurden 4 unterschiedliche Genotypen 6 unterschiedlichen Behandlungen unterzogen.)

Die Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt;  $P < 0,05$  wurde als signifikant erachtet. Die Berechnungen wurden mittels handelsüblicher Statistiksoftware durchgeführt (GraphPad Prism 5.0<sup>®</sup>).

### 3. Ergebnisse

Zwischen den Initialtemperaturen (Baseline) sowie den Körpertemperaturen zu Messbeginn (Baseline Ende) der Tiere einer Versuchsgruppe konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Auch die Körpertemperaturen der Tiere der verschiedenen Genotypen zeigten keine signifikanten Unterschiede.



**Abb. 3: Thermoregulatorische Schwellentemperatur (TRS) nach intraperitonealer Injektion von Natriumchloridlösung (NaCl), Pethidin (Peth), NaCl plus Naloxon (NaCl+Nalx), Pethidin plus Naloxon (Peth+Nalx), Fentanyl plus Naloxon (Fent+Nalx) und Pethidin plus Atipamezol (Peth+Atip) in Wildtyp-, α<sub>2A</sub><sup>-</sup>, α<sub>2B</sub><sup>-</sup>, und α<sub>2C</sub>-Adrenozeptor KO Mäusen (n=10 pro Typ).**

Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt.

#P<0,01; \*P<0,05 vs. NaCl; +P<0,01; §P<0,05 vs. Pethidin.

Bei den Wildtypmäusen, die in der ersten Versuchsgruppe NaCl erhielten (NaCl), zeigte sich eine thermoregulatorische Schwellentemperatur (TRS) von  $36,3 \pm 0,4$  °C. Eine zusätzliche Injektion von Naloxon (NaCl+Nalx) veränderte die thermoregulatorische Schwellentemperatur im Vergleich dazu nicht signifikant ( $36,2 \pm 0,5$  °C). Die Applikation von Pethidin allein (Peth) führte bei den Wildtyp-Mäusen jedoch zu einer Veränderung der thermoregulatorischen Schwellentemperatur. Sie sank auf  $35,0 \pm 0,6$  °C ( $P < 0,01$ ).

Dieser Effekt konnte durch die zusätzliche Gabe von Naloxon (Peth+Nalx), und somit durch die Antagonisierung an Opioidrezeptoren, nicht beseitigt werden ( $35,2 \pm 0,7$  °C) (**Abb. 3**).

Die thermoregulatorischen Schwellentemperaturen waren bei  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen nach Gabe von NaCl (NaCl) vergleichbar ( $36,3 \pm 0,7$  °C bei  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen gegenüber  $36,3 \pm 0,8$  °C bei  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen). Auch im Vergleich mit den oben beschriebenen Ergebnissen der Wildtyp Mäuse nach Injektion von NaCl waren die Werte einheitlich (s.o.:  $36,3 \pm 0,4$  °C). Nach zusätzlicher Gabe von Naloxon (NaCl+Nalx) fanden sich auch bei den  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen keine signifikanten Änderungen der thermoregulatorischen Schwellentemperaturen.

Die Injektion von Pethidin (Peth) senkte die thermoregulatorische Schwellentemperatur bei  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen, analog zu den Versuchen in der Kontrollgruppe an Wildtypmäusen, auf  $35,3 \pm 0,6$  °C ( $P < 0,05$ ) bei  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen, sowie auf  $35,4 \pm 0,7$  °C ( $P < 0,05$ ) bei  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen.

Nach zusätzlicher Gabe von Naloxon (Peth+Nalx) reagierten die  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäuse mit einem minimalen, aber nicht signifikanten Anstieg der thermoregulatorischen Schwellentemperatur ( $35,5 \pm 0,6$  °C im Vergleich zu  $35,3 \pm 0,6$  °C nach Gabe von Pethidin allein). Bei  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen konnte also die durch Pethidin hervorgerufene Temperaturminderung nicht durch Naloxon antagonisiert werden, wie es auch in der Wildtyp Kontrollgruppe der Fall war.

Bei den  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen hingegen resultierte die Verabreichung von Pethidin gefolgt von Naloxon (Peth+Nalx) in einer weniger ausgeprägten Absenkung der thermoregulatorischen Schwellentemperatur. Diese war nicht mehr signifikant im Vergleich zu der Gabe von NaCl allein (NaCl). Eine mit den Versuchen an Wildtyp- und  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen korrespondierende Tendenz ist jedoch in der **Abbildung 3**

deutlich zu erkennen. Es lässt sich allerdings nicht ausschließen, dass die  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäuse hier eine gewisse Sonderstellung einnehmen.

Einen deutlichen Gegensatz zu den oben beschriebenen Ergebnissen der Wildtyp-,  $\alpha_{2B}$ -AR KO- und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäuse bilden die Ergebnisse der Versuche an  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäusen.

Die thermoregulatorische Schwellentemperatur in den Versuchen mit NaCl (NaCl) lag bei  $36,5 \pm 0,4^\circ\text{C}$ . Im Vergleich dazu ergab die alleinige Applikation von Pethidin (Peth) keinen signifikanten Unterschied ( $36,2 \pm 0,6^\circ\text{C}$ ). Der bei den anderen Maustypen beobachtete Rückgang der thermoregulatorischen Schwellentemperatur nach Gabe von Pethidin blieb hier aus.

Auch in allen weiteren Versuchsgruppen der  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäuse (NaCl+Nalx, Peth+Nalx, Fent+Nalx, Peth+Atip) wurde kein signifikanter Unterschied der thermoregulatorischen Schwellentemperatur festgestellt (**Abb. 3**).

Um eine Aussage über das Verhalten der thermoregulatorischen Schwellentemperatur unter  $\alpha_2$ -Adrenozeptor Blockade und der Gabe von Pethidin treffen zu können, wurden ergänzend Versuche mit Pethidin und dem  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Atipamezol (Peth+Atip) durchgeführt.

Bei allen Genotypen waren die Ergebnisse dieser Versuche vergleichbar mit den Ergebnissen der jeweils ersten Versuchsgruppe (NaCl).

Bei den Versuchen an Wildtyp-,  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen lag die thermoregulatorische Schwellentemperatur nach Pethidin und Atipamezol (Peth+Atip) jedoch signifikant höher als nach Pethidin allein (Peth).

Keinen Effekt hatte die zusätzliche Injektion von Atipamezol allerdings auf  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäuse. Hier konnte keine statistisch signifikante Reaktion auf die Gabe von Pethidin und Atipamezol nachgewiesen werden.

Um ein weiteres Opiat mit der Wirkung von Pethidin vergleichen zu können, wurden zusätzliche Messungen mit Fentanyl und Naloxon durchgeführt (Fent+Nalx).

Dabei zeigte sich jedoch im Vergleich zu den NaCl-Kontrollgruppen in keinem der untersuchten Maustypen (Wildtyp- und sämtlichen  $\alpha_2$ -AR KO Mäusen) nach der Injektion von Fentanyl und Naloxon ein signifikanter Einfluss auf die thermoregulatorische Schwellentemperatur.

Ebenfalls fanden sich innerhalb aller untersuchten Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede der maximalen Reaktionsintensität der non-Shivering Thermogenese. Die maximale Reaktionsintensität war ebenso vergleichbar zwischen Wildtyp-Mäusen und  $\alpha_2$ -AR KO Mäusen jedes Typs (**Tab. 2**).

<b>Gruppe</b> <b>Maustyp</b>	<b>NaCl</b>	<b>Peth</b>	<b>NaCl+Nalx</b>	<b>Peth+Nalx</b>	<b>Fent+Nalx</b>	<b>Peth+Atip</b>
<b>WT</b>	2,4±0,6	2,2±0,8	2,4±0,8	2,3±0,5	2,5±0,7	2,6±0,6
<b><math>\alpha_{2A}</math>-AR KO</b>	2,7±0,5	2,4±0,3	2,2±0,7	2,6±0,4	2,4±0,6	2,6±0,5
<b><math>\alpha_{2B}</math>-AR KO</b>	2,1±0,7	2,4±0,4	2,4±0,5	2,6±0,9	2,3±0,7	2,5±0,4
<b><math>\alpha_{2C}</math>-AR KO</b>	2,0±0,4	2,6±0,5	2,3±0,7	2,3±0,6	2,6±0,8	2,3±0,6

**Tab. 2: Maximale Reaktionsintensität der non-Shivering Thermogenese (das Verhältnis des maximalen und des minimalen CO<sub>2</sub>-Plateaus während der Körperkühlung) in Wildtyp-,  $\alpha_{2A}$ -AR KO,  $\alpha_{2B}$ -AR KO und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen (n=10 pro Typ) nach Injektion von Natriumchloridlösung (NaCl), Pethidin (Peth), Natriumchloridlösung plus Naloxon (NaCl+Nalx), Pethidin plus Naloxon (Peth+Nalx), Fentanyl plus Naloxon (Fent+Nalx) und Pethidin plus Atipamezol (Peth+Atip). Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung angezeigt.**

Eine abschließend durchgeführte 4\*6 ANOVA (Varianzanalyse) zeigte keine signifikante Interaktion zwischen den applizierten Medikamenten und dem Genotyp der Versuchstiere (Interaktionsterminus, P=0,2986).

## 4. Diskussion

Die Hauptergebnisse der vorliegenden Studie waren:

**1.** Pethidin senkte die thermoregulatorische Schwellentemperatur in Wildtyp-,  $\alpha_{2B}$ -AR KO- und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen.

Durch die Gabe des  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Atipamezol konnte dieser Effekt antagonisiert werden.

**2.** Naloxon hatte keinen Effekt auf die durch Pethidin induzierte Absenkung der thermoregulatorischen Schwellentemperatur bei Wildtyp- und  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen. Bei  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen wirkte Naloxon der Absenkung der thermoregulatorischen Schwellentemperatur jedoch entgegen. Tendenziell war hier zwar ein Absinken, analog zu den Ergebnissen bei Wildtyp- und  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen, erkennbar, die Ergebnisse waren aber im Vergleich zu den Versuchen mit NaCl allein nicht mehr signifikant.

**3.** Im Gegensatz dazu zeigte Pethidin bei  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäusen keinen statistisch signifikanten Effekt in Bezug auf die thermoregulatorische Schwellentemperatur. Eine zusätzliche Gabe von Naloxon hatte darüber hinaus keine Auswirkungen.

**4.** Die maximale Reaktionsintensität der Nonshivering Thermogenese zwischen Wildtyp-Mäusen und allen  $\alpha_2$ -AR KO Mäusetypen war vergleichbar.

Pethidin ist effektiver in der Behandlung von postoperativem Muskelzittern im Vergleich zu entsprechenden Dosen anderer Opioide, besonders spezifischer  $\mu$ -Rezeptor-Antagonisten [16, 17, 33]. Es scheint neben anderen thermoregulatorisch wirksamen Medikamenten, wie zum Beispiel Clonidin, eine Sonderstellung einzunehmen, da es die Schwellentemperatur für Shivering im Verhältnis fast doppelt so stark senkt wie den Schwellenwert der Vasokonstriktionsgrenze [16].

In einigen Studien wurde angedeutet, dass eine zusätzliche  $\kappa$ -Opioidrezeptor-Aktivierung durch Pethidin hierfür verantwortlich sei [19, 34]. Jedoch waren selbst hohe Naloxon Dosen mit blockierender Wirkung am  $\kappa$ -Rezeptor nicht in der Lage, die

„anti Shivering“ Wirkung von Pethidin komplett aufzuheben. Auch im Vergleich mit Nalbuphin sprechen die Studienergebnisse gegen eine Vermittlung der Wirkung von Pethidin über den  $\kappa$ -Opioidrezeptor [19, 35] und somit für die Beteiligung von nicht-Opioidrezeptor vermittelten Signalwegen.

Pethidin wirkt zusätzlich zu seiner Funktion als Opioidrezeptor-Agonist als Lokalanästhetikum und besitzt zudem anticholinerge Eigenschaften [20, 21]. Aber auch über die Wirkung als Anticholinergikum lässt sich der spezielle Effekt von Pethidin in der Therapie des postoperativen Muskelzitterns nicht erklären [35].

Die Gruppe der  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten, wie beispielsweise Clonidin oder Dexmedetomidin, sind im Rahmen der Behandlung von Shivering in der Lage, die Shivering- und Vasokonstriktionsgrenzen zu senken [13].

Eine vorausgegangene Studie unserer Arbeitsgruppe demonstrierte, dass Pethidin die thermoregulatorische Schwellentemperatur bei Wildtypmäusen senkt. Dieser Effekt konnte durch die Gabe des  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Atipamezol aufgehoben werden und ließ dadurch auf eine  $\alpha_2$ -Adrenozeptor Beteiligung an der Vermittlung der Wirkungen von Pethidin schließen [30], was auch in der jetzigen Studie wiederholt nachgewiesen werden konnte.

Dieser Rückschluss wird durch die Tatsache bestärkt, dass Pethidin in vitro in klinisch relevanten Konzentrationen als potenter  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonist wirkt. Seine höchste Affinität besitzt der Wirkstoff am  $\alpha_{2B}$ -Subtyp [22]. In derselben Studie zeigte sich auch, dass dieser  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonismus nicht signifikant zu der analgetischen Wirkung von Pethidin beiträgt, auch wenn es in anderen Studien Belege dafür gibt, dass Pethidin zumindest bei akutem, thermischem Schmerz  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-vermittelte analgetische Effekte aufweist [27]. Aus diesen Ergebnissen lässt sich jedoch ableiten, dass eine Vermittlung von anderen Wirkungen des Medikamentes über einen  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonismus stattfindet, wie möglicherweise die hier untersuchten Effekte auf die Thermoregulation und auf das postoperative Muskelzittern.

Mäuse mit modifizierten  $\alpha_2$ -Adrenozeptor Genen haben sich als wichtige Hilfsmittel zur Klärung von Subtyp-spezifischen Funktionen der  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren erwiesen und bilden damit die notwendige Erweiterung zu den in vitro durchgeführten Studien.

In Übereinstimmung zu den hier aufgezeigten Ergebnissen mit Pethidin fanden Hunter et al. keine thermoregulatorischen Effekte in Mäusen mit einem funktionellen  $\alpha_{2A}$ -AR Knockout in Reaktion auf unterschiedliche Dosen des selektiven  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Dexmedetomidin. Bei Wildtyp-,  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen wurde im Gegensatz dazu jedoch die Thermoregulation beeinflusst [27]. Lähdesmäki et al. wiesen ebenso eine deutliche Abschwächung der thermoregulatorischen Antwort auf die Gabe von Dexmedetomidin bei  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäusen nach. Die Wirkung wurde jedoch nicht gänzlich aufgehoben, so dass eine Beteiligung von anderen  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren nicht auszuschließen war [36].

Sallinen et al. hingegen beschrieben eine statistisch signifikante Abschwächung der Antwort auf Hypothermie in  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen durch den  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Dexmedetomidin [29].

Diese Ergebnisse heben den  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptor-Subtypen als primären Mediator der durch  $\alpha_2$ -Rezeptor-Agonisten ausgelösten Effekte der Thermoregulation hervor, wenngleich auch der  $\alpha_{2C}$ -Adrenozeptor-Subtyp beteiligt sein könnte [26].

Die Ergebnisse unserer Studie decken sich hiermit, allerdings konnte die Rolle des  $\alpha_{2C}$ -Adrenozeptor-Subtyps auch jetzt nicht eindeutig geklärt werden.

Aus der vorliegenden Studie konnte bei  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäusen keine signifikante Abnahme der TRS nach Pethidin Applikation aufgezeigt werden, dagegen allerdings eine signifikante Abnahme der thermoregulatorischen Schwellentemperatur bei Wildtyp-,  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen. Die Tatsache, dass diese Abnahme bei Wildtyp- und  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen nicht durch Naloxon, bei Wildtyp-,  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen jedoch durch Atipamezol aufgehoben werden konnte, weist darauf hin, dass nicht-Opioidrezeptor vermittelte Signalwege beteiligt sind.

Die Ergebnisse unserer Studie bekräftigen die Rolle des  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptor-Subtypen als Mediator dieser Wirkung.

In einer Studie über die Wirkweise des zentral wirksamen Benzoxazinderivats und non-Opioid Analgetikums Nefopam in der Therapie des postoperativen Muskelzitterns zeigte sich, bei hoher Dosierung von Nefopam, eine mit der von Pethidin vergleichbaren Wirkung, die ebenfalls über den  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptor vermittelt wird. Die in derselben Studie durchgeführten Untersuchungen mit dem Acetylcholinesterase Inhibitor Physostigmin konnten jedoch nachweisen, dass die



ebenfalls sehr potente anti-Shivering Wirkung von Physostigmin in diesem Fall nicht durch den  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptor vermittelt wird [37].

Diese Ergebnisse machen deutlich, dass neben der bedeutenden Rolle des  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptors auch andere Signalwege an der Thermoregulation, bzw. an der Entstehung und Therapie von postoperativem Muskelzittern, beteiligt sind.

Dies war ebenfalls in der vorliegenden Studie nachzuvollziehen. Hier führten die Injektionen von Pethidin und Naloxon (Peth+Nalx) bei  $\alpha_{2C}$ -KO Mäusen zu einem leichten Anstieg der thermoregulatorischen Schwellentemperatur im Vergleich zu Pethidin allein (Peth). In  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen war diese Tendenz ebenso erkennbar, jedoch nicht statistisch signifikant. Dies deutet darauf hin, dass auch Opioidrezeptoren, möglicherweise der  $\kappa$ -Subtyp, eine Rolle in den durch Pethidin vermittelten Effekten spielen.

Im Rahmen der vorliegenden Studie ließ sich keine Veränderung der maximalen Reaktionsintensität des Shiverings als Verhältnis des maximalen und des minimalen  $\text{CO}_2$ -Plateaus während der Körperkühlung feststellen (**Tab. 2**).

In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen zeigten Ikeda et al. keine Veränderungen der maximalen Reaktionsintensität des Shiverings nach Pethidin-, und ebenso nach Alfentanil-Gabe [38]. Beide Substanzen waren allerdings in der Lage, die thermoregulatorische Schwellentemperatur zu senken. Das zeigt, dass durch die anti-Shivering Aktivität eines Wirkstoffes nicht notwendigerweise sowohl ein Effekt auf die thermoregulatorische Schwellentemperatur, als auch ein Effekt auf die maximale Reaktionsintensität vorliegen muss.

Ebenso bestätigt sich hier die besondere Rolle von Pethidin, da die spezielle anti-Shivering Aktivität des Medikaments durch eine Reduktion der thermoregulatorischen Schwelle entsteht, die sich nicht proportional zu der maximalen Reaktionsintensität oder auch dem Vasokonstriktionsschwellenwert verhält [16, 38].

Auch im Vergleich mit anderen Opioiden äußert sich die außergewöhnliche Eigenschaft von Pethidin auf die Thermoregulation. Von uns durchgeführte Messungen mit Fentanyl und Naloxon ließen im Vergleich zu den Versuchen mit Pethidin und Naloxon keinen signifikanten Einfluss auf die Thermoregulation erkennen und bekräftigen damit die Einzigartigkeit des Opioids Pethidin in der Therapie des postoperativen Muskelzitterns.

## Studienlimitationen

Möglicherweise bestehende Limitierungen der Aussagekraft dieser Arbeit könnten sich durch die im Folgenden genannten Gründe ergeben:

Naloxon wurde in einer einzigen definierten hohen Dosis appliziert, um sowohl  $\kappa$ -, also auch  $\mu$ -Rezeptoren zu blockieren, entsprechend vorausgegangener Studien an Tieren und Menschen [19]. Die durchschnittliche Dauer eines Versuches nach Naloxon Applikation betrug 45 Minuten, so dass eine wiederholte Injektion nicht notwendig erschien.

Kleine Unterschiede zwischen den Gruppen Pethidin allein (Peth) und Pethidin + Naloxon (Peth+Nalx) könnten, bedingt durch die kleine Gruppengröße, nicht festgestellt worden sein. Aus diesen Gründen kann nicht eindeutig geschlossen werden, dass die Effekte von Pethidin auf die Thermoregulation in Mäusen ausschließlich durch  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren vermittelt werden. Darüber hinaus sollten Ergebnisse aus Tierversuchsstudien nur eingeschränkt auf Menschen übertragen werden. Erwachsene Menschen nutzen vornehmlich Shivering als einen Mechanismus gegen Hypothermie, wohingegen die Nonshivering Thermogenese nur eine untergeordnete Rolle spielt. Im Gegensatz dazu nutzen Nagetiere Nonshivering Thermogenese als ihren primären Mechanismus gegen Hypothermie.

## 5. Zusammenfassung

Pethidin hat sich in der Behandlung des postoperativen Muskelzitterns effektiver erwiesen als andere Opioide. Ein Erklärungsansatz dafür ist die Eigenschaft von Pethidin, auch an nicht Opioidrezeptoren, z.B. am  $\alpha_2$ -Adrenozeptor, agonistische Effekte auszulösen.

Daher bestanden die Ziele der vorliegenden Studie darin, den Effekt von Pethidin auf die  $\alpha_2$ -Adrenozeptor vermittelte Thermoregulation zu untersuchen und für diese Wirkung von Pethidin eine  $\alpha_2$ -Adrenozeptor Subtypspezifizierung durchzuführen.

Zu diesem Zweck führten wir Versuche mit Natriumchloridlösung, Pethidin, Natriumchloridlösung und dem Opioidrezeptor-Antagonisten Naloxon, Pethidin und Naloxon, Fentanyl und Naloxon, sowie Pethidin und dem  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Atipamezol an Wildtypmäusen und  $\alpha_{2A}$ -,  $\alpha_{2B}$ - und  $\alpha_{2C}$ -Adrenorezeptor Knockout Mäusen durch.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass die Eigenschaft von Pethidin, die thermoregulatorische Schwelle zu senken, nicht durch zusätzliche Gabe des Opioid-Antagonisten Naloxon rückgängig zu machen ist, jedoch durch Gabe des  $\alpha_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Atipamezol.

Dieser Effekt wird besonders bei Wildtypmäusen und  $\alpha_{2B}$ -AR KO Mäusen deutlich. Bei  $\alpha_{2C}$ -AR KO Mäusen ist dieselbe Tendenz erkennbar, diese war in unseren Versuchen aber nicht mehr statistisch signifikant nachzuweisen, so dass sich eine Beteiligung des  $\alpha_{2C}$ -Adrenozeptor-Subtyps auf die Thermoregulation in der vorliegen Studie weder ausschließen noch bestätigen lässt.

Bei  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäusen hatte die Gabe von Pethidin hingegen überhaupt keinen statistisch signifikanten Effekt auf die thermoregulatorische Schwellentemperatur. Auch die in den übrigen Versuchsgruppen applizierten Medikamente resultierten bei  $\alpha_{2A}$ -AR KO Mäusen in keiner signifikanten Änderung der thermoregulatorischen Schwellentemperatur.

Dies weist auf eine bedeutende Rolle des  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptor-Subtyps in der Modulation der thermoregulatorischen Antwort in Mäusen hin.

Auch die besondere Eigenschaft von Pethidin auf die Thermoregulation konnte in der vorliegenden Studie bestätigt werden, indem vergleichende Messungen mit einem weiteren Opiat durchgeführt wurden. Die Versuche mit Fentanyl und Naloxon zeigten, im Gegensatz zu den Versuchen mit Pethidin und Naloxon, keinen signifikanten Einfluss auf die thermoregulatorische Schwellentemperatur.

Darüber hinaus war Pethidin auch in unserer Studie in der Lage, unabhängig von der maximalen Reaktionsintensität des Shiverings, die thermoregulatorische Schwellentemperatur isoliert zu senken.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Alfonsi, P., *Postanaesthetic shivering: epidemiology, pathophysiology, and approaches to prevention and management*. *Drugs*, 2001. 61(15): p. 2193-205.
2. Sessler, D.I., *Perioperative thermoregulation and heat balance*. *Ann N Y Acad Sci*, 1997. 813: p. 757-77.
3. Sessler, D.I., *Perioperative heat balance*. *Anesthesiology*, 2000. 92(2): p. 578-96.
4. Soliman, M.G. and D.M. Gillies, *Muscular hyperactivity after general anaesthesia*. *Can Anaesth Soc J*, 1972. 19(5): p. 529-35.
5. Horn, E.P., F. Schroeder, S. Wilhelm, D.I. Sessler, T. Standl, K. von dem Busche, and J. Schulte am Esch, *Postoperative pain facilitates nonthermoregulatory tremor*. *Anesthesiology*, 1999. 91(4): p. 979-84.
6. Sessler, D.I., D. Israel, R.S. Pozos, M. Pozos, and E.H. Rubinstein, *Spontaneous post-anesthetic tremor does not resemble thermoregulatory shivering*. *Anesthesiology*, 1988. 68(6): p. 843-50.
7. Sessler, D.I., E.H. Rubinstein, and A. Moayeri, *Physiologic responses to mild perianesthetic hypothermia in humans*. *Anesthesiology*, 1991. 75(4): p. 594-610.
8. Frank, S.M., L.A. Fleisher, M.J. Breslow, M.S. Higgins, K.F. Olson, S. Kelly, and C. Beattie, *Perioperative maintenance of normothermia reduces the incidence of morbid cardiac events. A randomized clinical trial*. *Jama*, 1997. 277(14): p. 1127-34.

9. Zwischenberger, J.B., M.M. Kirsh, R.E. Dechert, D.K. Arnold, and R.H. Bartlett, *Suppression of shivering decreases oxygen consumption and improves hemodynamic stability during postoperative rewarming*. *Ann Thorac Surg*, 1987. 43(4): p. 428-31.
10. Jamieson, W.R., K.W. Turnbull, A.J. Larrieu, W.A. Dodds, J.C. Allison, and G.F. Tyers, *Continuous monitoring of mixed venous oxygen saturation in cardiac surgery*. *Can J Surg*, 1982. 25(5): p. 538-43.
11. Macario, A., M. Weinger, S. Carney, and A. Kim, *Which clinical anesthesia outcomes are important to avoid? The perspective of patients*. *Anesth Analg*, 1999. 89(3): p. 652-8.
12. Delaunay, L., F. Bonnet, N. Liu, L. Beydon, P. Catoire, and D.I. Sessler, *Clonidine comparably decreases the thermoregulatory thresholds for vasoconstriction and shivering in humans*. *Anesthesiology*, 1993. 79(3): p. 470-4.
13. Talke, P., F. Tayefeh, D.I. Sessler, R. Jeffrey, M. Noursalehi, and C. Richardson, *Dexmedetomidine does not alter the sweating threshold, but comparably and linearly decreases the vasoconstriction and shivering thresholds*. *Anesthesiology*, 1997. 87(4): p. 835-41.
14. Kurz, A., J.C. Go, D.I. Sessler, K. Kaer, M.D. Larson, and A.R. Bjorksten, *Alfentanil slightly increases the sweating threshold and markedly reduces the vasoconstriction and shivering thresholds*. *Anesthesiology*, 1995. 83(2): p. 293-9.
15. Piper, S.N., W.H. Maleck, J. Boldt, S.W. Suttner, C.C. Schmidt, and D.G. Reich, *A comparison of urapidil, clonidine, meperidine and placebo in preventing postanesthetic shivering*. *Anesth Analg*, 2000. 90(4): p. 954-7.
16. Kurz, A., T. Ikeda, D.I. Sessler, M.D. Larson, A.R. Bjorksten, M. Dechert, and R. Christensen, *Meperidine decreases the shivering threshold twice as much as the vasoconstriction threshold*. *Anesthesiology*, 1997. 86(5): p. 1046-54.

17. Alfonsi, P., D.I. Sessler, B. Du Manoir, J.C. Levron, J.P. Le Moing, and M. Chauvin, *The effects of meperidine and sufentanil on the shivering threshold in postoperative patients.* [pascal.alfonsi@apr.ap-hop-paris.fr](mailto:pascal.alfonsi@apr.ap-hop-paris.fr). *Anesthesiology*, 1998. 89(1): p. 43-8.
18. Pauca, A.L., R.T. Savage, S. Simpson, and R.C. Roy, *Effect of pethidine, fentanyl and morphine on post-operative shivering in man.* *Acta Anaesthesiol Scand*, 1984. 28(2): p. 138-43.
19. Kurz, M., K.G. Belani, D.I. Sessler, A. Kurz, M.D. Larson, M. Schroeder, and D. Blanchard, *Naloxone, meperidine, and shivering.* *Anesthesiology*, 1993. 79(6): p. 1193-201.
20. Horn, E.P., T. Standl, D.I. Sessler, G. von Knobelsdorff, C. Buchs, and J. Schulte am Esch, *Physostigmine prevents postanesthetic shivering as does meperidine or clonidine.* *Anesthesiology*, 1998. 88(1): p. 108-13.
21. Wagner, L.E., 2nd, M. Eaton, S.S. Sabnis, and K.J. Gingrich, *Meperidine and lidocaine block of recombinant voltage-dependent Na<sup>+</sup> channels: evidence that meperidine is a local anesthetic.* *Anesthesiology*, 1999. 91(5): p. 1481-90.
22. Takada, K., D.J. Clark, M.F. Davies, P.H. Tonner, T.K. Krause, E. Bertaccini, and M. Maze, *Meperidine exerts agonist activity at the alpha(2B)-adrenoceptor subtype.* *Anesthesiology*, 2002. 96(6): p. 1420-6.
23. Joris, J., M. Banache, F. Bonnet, D.I. Sessler, and M. Lamy, *Clonidine and ketanserin both are effective treatment for postanesthetic shivering.* *Anesthesiology*, 1993. 79(3): p. 532-9.
24. Macintyre, P.E., E.G. Pavlin, and J.F. Dwersteg, *Effect of meperidine on oxygen consumption, carbon dioxide production, and respiratory gas exchange in postanesthesia shivering.* *Anesth Analg*, 1987. 66(8): p. 751-5.
25. Aantaa, R., A. Marjamaki, and M. Scheinin, *Molecular pharmacology of alpha 2-adrenoceptor subtypes.* *Ann Med*, 1995. 27(4): p. 439-49.

26. Kable, J.W., L.C. Murrin, and D.B. Bylund, *In Vivo Gene Modification Elucidates Subtype-Specific Functions of alpha 2-Adrenergic Receptors*. J Pharmacol Exp Ther, 2000. 293(1): p. 1-7.
27. Hunter, J.C., D.J. Fontana, L.R. Hedley, J.R. Jasper, R. Lewis, R.E. Link, R. Secchi, J. Sutton, and R.M. Eglen, *Assessment of the role of alpha2-adrenoceptor subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice*. Br J Pharmacol, 1997. 122(7): p. 1339-44.
28. Link, R.E., K. Desai, L. Hein, M.E. Stevens, A. Chruscinski, D. Bernstein, G.S. Barsh, and B.K. Kobilka, *Cardiovascular regulation in mice lacking alpha2-adrenergic receptor subtypes b and c*. Science, 1996. 273(5276): p. 803-5.
29. Sallinen, J., R.E. Link, A. Haapalinna, T. Viitamaa, M. Kulatunga, B. Sjöholm, E. Macdonald, M. Pelto-Huikko, T. Leino, G.S. Barsh, B.K. Kobilka, and M. Scheinin, *Genetic alteration of alpha 2C-adrenoceptor expression in mice: influence on locomotor, hypothermic, and neurochemical effects of dexmedetomidine, a subtype-nonselective alpha 2-adrenoceptor agonist*. Mol Pharmacol, 1997. 51(1): p. 36-46.
30. Paris, A., C. Ohlendorf, M. Marquardt, B. Bein, J.M. Sonner, J. Scholz, and P.H. Tonner, *The Effect of Meperidine on Thermoregulation in Mice: Involvement of {alpha}2-Adrenoceptors*. Anesth Analg, 2005. 100(1): p. 102-106.
31. Altman, J.D., A.U. Trendelenburg, L. MacMillan, D. Bernstein, L. Limbird, K. Starke, B.K. Kobilka, and L. Hein, *Abnormal Regulation of the Sympathetic Nervous System in alpha 2A-Adrenergic Receptor Knockout Mice*. Mol Pharmacol, 1999. 56(1): p. 154-161.
32. Maurer, A.J., D.I. Sessler, E.I. Eger, 2nd, and J.M. Sonner, *The nonimmobilizer 1,2-dichlorohexafluorocyclobutane does not affect thermoregulation in the rat*. Anesth Analg, 2000. 91(4): p. 1013-6.



33. Alfonsi, P., J.M. Hongnat, C. Lebrault, and M. Chauvin, *The effects of pethidine, fentanyl and lignocaine on postanaesthetic shivering*. *Anaesthesia*, 1995. 50(3): p. 214-7.
34. Magnan, J., S.J. Paterson, A. Tavani, and H.W. Kosterlitz, *The binding spectrum of narcotic analgesic drugs with different agonist and antagonist properties*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1982. 319(3): p. 197-205.
35. Greif, R., S. Laciny, A.M. Rajek, M.D. Larson, A.R. Bjorksten, A.G. Doufas, M. Bakhshandeh, M. Mokhtarani, and D.I. Sessler, *Neither nalbuphine nor atropine possess special antishivering activity*. *Anesth Analg*, 2001. 93(3): p. 620-7.
36. Lahdesmaki, J., J. Sallinen, E. MacDonald, J. Sirvio, and M. Scheinin, *Alpha2-adrenergic drug effects on brain monoamines, locomotion, and body temperature are largely abolished in mice lacking the alpha2A-adrenoceptor subtype*. *Neuropharmacology*, 2003. 44(7): p. 882-92.
37. Höcker, J., M. Gruenewald, P. Meybohm, C. Schaper, J. Scholz, M. Steinfath, and B. Bein, *Nefopam but not physostigmine affects the thermoregulatory response in mice via alpha2-adrenoceptors*. *Neuropharmacology*, 2009. in press.
38. Ikeda, T., D.I. Sessler, F. Tayefeh, C. Negishi, M. Turakhia, D. Marder, A.R. Bjorksten, and M.D. Larson, *Meperidine and alfentanil do not reduce the gain or maximum intensity of shivering*. *Anesthesiology*, 1998. 88(4): p. 858-65.

## 7. Tabellen und Abbildungen

Abb. 1: Versuchsablauf und Datenanalyse.....	8
Abb. 2: Schematischer Versuchsaufbau und Photographie des..... Versuchsaufbaus während der Versuchsdurchführung	11
Abb. 3: Thermoregulatorische Schwellentemperatur.....	14
Tab. 1: Einteilung der Versuchsgruppen und der in den Versuchsabschnitten applizierten Medikamente.....	7
Tab. 2: Maximale Reaktionsintensität der non-Shivering Thermogenese.....	17

## Danksagungen

Die vorliegende Arbeit entstand im Zeitraum von Herbst 2006 bis Winter 2009 an der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Bedanken möchte ich mich für die Unterstützung bei Prof. Dr. med. Jens Scholz, sowie bei Prof. Dr. med. Markus Steinfath.

Priv.-Doz. Dr. med. Berthold Bein danke ich für die intensive Betreuung.

Dr. med. Jan Höcker danke ich ganz besonders herzlich für die zeitintensive, immer motivierende Betreuung und insbesondere für die freundschaftliche Zusammenarbeit.

Maria Kiosz möchte ich für ihre große Hilfe bei der gemeinsamen Versuchsdurchführung in der zentralen Tierhaltung danken.

Um meinen Eltern angemessen zu danken reicht diese Arbeit nicht aus. Ich möchte es dennoch auch auf diesem Wege tun, geht doch mit dieser Arbeit ein entscheidender Lebensabschnitt zu Ende.

Ein weiterer besonderer Dank gilt meiner Freundin Bine und den vielen wunderbaren Freunden, die die gemeinsamen letzten Jahre entscheidend geprägt haben.

**DANKE!**

## Lebenslauf

Martin Olaf Nielsen

### Persönliche Daten:

Geburtsdatum	30.07.1981
Geburtsort	Preetz / Kreis Plön
Konfession	katholisch
Familienstand	ledig

### Ausbildung:

1988-1992	Matthias-Claudius-Grundschule, Kiel
1992-2001	Gymnasium Elmschenhagen, Kiel
26.06.2001	Abitur
01.08.2001-15.11.2001	Ausbildung zum Rettungssanitäter DRK-Bildungswerk Thüringen
01.08.2001-30.06.2002	Zivildienst als Rettungssanitäter DRK-Rettungswache, Kiel
01.10.2002	Beginn des Studiums der Humanmedizin Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

August 2004	Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
10/2004-01/2009	Klinischer Teil des Humanmedizinstudiums
08/2005-07/2006	Auslandsstudium an der „University of Turku“ (Turun Yliopisto) in Turku/Finnland im Rahmen eines ERASMUS-Stipendiums
02/2008	Wechsel an die Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen/Nürnberg
02/2008-01/2009	Praktisches Jahr 1.Tertial: Klinikum Nürnberg Nord, Innere Medizin 2.Tertial: Uniklinikum Erlangen, Anästhesiologie 3.Tertial: PPSHP Oulu/Finnland, Chirurgie
26.05.2009	Staatsexamen
28.05.2009	Approbation als Arzt
seit Oktober 2006	Doktorand am Klinikum für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin des UKSH Campus Kiel
seit Oktober 2009	Immatrikuliert an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel mit dem Studienziel „Promotion“

### **Veröffentlichung:**

*Differential effects of alpha 2-adrenoceptors in the modulation of the thermoregulatory response in mice induced by meperidine.*

Höcker J, Paris A, Scholz J, Tonner PH, Nielsen M, Bein B

Anesthesiology. 2008 Jul; 109(1):95-100