

Aus dem Institut für Physiologie  
(Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. med. Markus Bleich)  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**ÜBER DEN EFFEKT VON LOKAL UND INTRAVENÖS  
APPLIZIERTEM LIDOCAIN AUF SPONTANAKTIVITÄT IN  
CHRONISCH GESCHÄDIGTEN MUSKELAFFERENZEN DER RATTE**

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

vorgelegt von  
**VANESSA HANNA RAUSCH**  
aus Hamburg  
Kiel (2011)

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Wilfrid Jänig

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Ralf Baron

Tag der mündlichen Prüfung: 22. August 2012

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 22. August 2012

gez.:

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

# Inhaltsverzeichnis

|            |  |    |
|------------|--|----|
| <b>I</b>   | <b>Einleitung</b>  | 1  |
| I.1        | Neuropathische Schmerzen – Von der Läsion zum Symptom  | 1  |
| I.2        | Spontanaktivität bei neuropathischen Schmerzen? – Ein Überblick über Untersuchungen an Tieren und Patienten                      | 4  |
| I.3        | Muskelschmerz – Seine Bedeutung und Mechanismen  | 5  |
| I.4        | Fragestellung  | 6  |
| <b>II</b>  | <b>Material und Methodik</b>   | 8  |
| II.1       | Durchführung der Nervenläsion  | 8  |
| II.2       | Präparation am Versuchstag (4-8 Tage nach Läsion)  | 8  |
| II.3       | Versuchsaufbau   | 9  |
| II.4       | Identifikation der Muskelafferenzen  | 9  |
| II.5       | Bestimmung der ektop evozierten Eigenschaften  | 12 |
| II.6       | Experimentgruppen und Versuchsablauf   | 12 |
| II.6.1     | <i>Versuchsablauf Gruppe A</i>   | 13 |
| II.6.2     | <i>Versuchsablauf Gruppe B</i>   | 13 |
| II.6.3     | <i>Versuchsablauf Gruppe C</i>   | 13 |
| II.7       | Daten- und statistische Analyse  | 15 |
| <b>III</b> | <b>Ergebnisse</b>  | 16 |
| III.1      | Identifikation und Bestimmung der ektop evozierten Eigenschaften spontanaktiver Afferenzen des N. gastrocnemius-soleus lateralis | 16 |
| III.1.1    | <i>Elektrische Identifikation der Muskelafferenzen</i>   | 16 |
| III.1.2    | <i>Ektop evozierte Eigenschaften der spontanaktiven Muskelafferenzen</i>   | 19 |
| III.1.3    | <i>Entladungsmuster und -raten der spontanaktiven Muskelafferenzen</i>   | 23 |
| III.2      | Untersuchung der Reaktion spontanaktiver Muskelafferenzen auf lokal appliziertes Lidocain (Gruppe A)                             | 27 |
| III.2.1    | <i>Lokale Applikation von Lidocain bei spontanaktiven A-Fasern</i>   | 27 |
| III.2.2    | <i>Lokale Applikation von Lidocain bei spontanaktiven C-Fasern</i>   | 27 |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| III.3      | Untersuchung der Reaktion spontanaktiver Muskelafferenzen auf intravenös appliziertes Lidocain (Gruppe B)                                   | 31        |
| III.3.1    | <i>Intravenöse Applikation von Lidocain bei spontanaktiven A-Fasern</i>   | 31        |
| III.3.2    | <i>Intravenöse Applikation von Lidocain bei spontanaktiven C-Fasern</i>   | 35        |
| III.4      | Ektop evozierte Eigenschaften der spontanaktiven Muskelafferenzen nach Lidocaintestung  | 35        |
| III.5      | Unterschiede zwischen A- und C-Fasern in der Reaktion auf Lidocain  | 35        |
| III.6      | Dauer der Reduktion von Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen nach einmaliger intravenöser Gabe von 9 mg/kg Lidocain (Gruppe C) | 36        |
| <b>IV</b>  | <b>Diskussion</b>   | <b>38</b> |
| IV.1       | Welche spontanen und mechanisch oder thermisch erregten Impulsaktivitäten zeigen geschädigte Muskelafferenzen?                              | 38        |
| IV.1.1     | <i>Geschädigte Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Spontanaktivität.</i>   | 39        |
| IV.1.2     | <i>Geschädigte spontanaktive Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Mechanosensibilität.</i>  | 40        |
| IV.1.3     | <i>Geschädigte spontanaktive Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Hitzesensibilität.</i>  | 41        |
| IV.1.4     | <i>Geschädigte spontanaktive Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Kältesensibilität.</i>  | 42        |
| IV.2       | Wird die ektop erzeugte Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen durch lokal oder intravenös appliziertes Lidocain reduziert?      | 44        |
| IV.2.1     | <i>Wie reduziert Lidocain die Spontanaktivität in geschädigten Afferenzen?</i>  | 44        |
| IV.2.2     | <i>Wo wirkt Lidocain?</i>   | 45        |
| IV.2.3     | <i>Wie lange wirkt Lidocain?</i>  | 49        |
| IV.2.4     | <i>Fazit</i>  | 50        |
| <b>V</b>   | <b>Zusammenfassung</b>  | <b>52</b> |
| <b>VI</b>  | <b>Literaturverzeichnis</b>   | <b>53</b> |
| <b>VII</b> | <b>Anhang</b>   | <b>62</b> |
| VII.1      | Danksagung  | 62        |
| VII.2      | Lebenslauf  | 63        |

## **I Einleitung**

Schmerz ist in der klinischen Praxis einer der häufigsten Gründe für Konsultationen. Unter biologischen Bedingungen stellt der Schmerz einen Warnmechanismus dar, der den Betroffenen auf schädigende oder potentiell schädigende Ereignisse hinweist. Dies gilt für die akuten Schmerzen aller Körpergewebe.

Eine schmerzhafte Empfindung, die hingegen über die Abheilung des Gewebes hinaus persistiert, muss als pathologisch betrachtet werden, weil sie ihre Warnfunktion verloren hat. Dieses trifft für (chronische) neuropathische Schmerzen zu, die als Folge peripherer Nervenschädigungen auftreten können und deren Therapie im klinischen Alltag noch immer eine große Herausforderung darstellt. Klinische Untersuchungen haben eine Linderung neuropathischer Schmerzen durch intravenös appliziertes Lidocain gezeigt, was aber ist der Mechanismus hinter dieser Schmerzreduktion?

### **I.1 Neuropathische Schmerzen – Von der Läsion zum Symptom**

Der neuropathische Schmerz ist Ausdruck einer Chronifizierung von Schmerzen nach Schädigung des neuronalen Systems. Eine grobe Einteilung erfolgt nach dem Ort der Läsion: Einerseits können neuropathische Schmerzsyndrome nach zentralen Läsionen unter anderem im Rahmen einer Multiplen Sklerose, einer Querschnittläsion oder eines Hirninfarktes auftreten. Ihnen gegenüber stehen Läsionen des peripheren Nervensystems. Die daraus resultierenden neuropathischen Schmerzsyndrome können entweder fokal sein, d.h. nur einen peripheren Nerv oder eine Nervenwurzel betreffen wie zum Beispiel im Falle des Karpaltunnelsyndroms und des Komplexen Regionalen Schmerzsyndroms Typ II, oder als generalisierte Polyneuropathien auftreten (alkoholinduzierte oder diabetische Polyneuropathien) (Costigan et al 2009). Ursachen einer Nervenschädigung können unter anderem mechanische Reizung (Trauma, Kompression), Entzündung, Infiltration durch Tumore, immunologische oder metabolische Erkrankungen (Diabetes mellitus) und Neurotoxine (Botulinumtoxin, Sarin) sein (Klusáková und Dubový 2009). Kommt es zur Schädigung eines peripheren Nerven und zur Trennung von seinem Zielgewebe, durchläuft dieser spezifische Phasen bis zur Wiederherstellung seiner ursprünglichen Funktion:

Das distale Ende unterbrochener Axone, also der Nervenfortsatz, der vom Perikaryon im Spinalganglion getrennt wurde, und die distalen Myelinscheiden gehen im Rahmen der Waller'schen Degeneration unter (Lundborg et al 1994). Ihre Überreste werden von Makrophagen abgeräumt. Der Endoneuralschlauch (bestehend aus Bindegewebe und Schwann'schen Zellen) schrumpft, kann aber als Leitschiene für regenerierende Axone dienen (Sunderland 1990).

Die Zellkerne afferenter Neurone durchlaufen nun eine Phase der Chromatolyse und der Zytoplasmaschwellung. Unter physiologischen Bedingungen werden sie retrograd mit neurotrophen Faktoren versorgt, die vom Zielgewebe gebildet, durch das distale Ende des Axons aufgenommen und zum Zellkern transportiert werden, wo sie zur Regulation von metabolischen Prozessen beitragen. In Folge einer Schädigung muss sich das Neuron, das für die Signaltransduktion und -transmission verantwortlich ist, in einen regenerativen Zustand versetzen. Hierzu findet eine Änderung der Expression u.a. von Transkriptionsfaktoren, Ionenkanälen und Zytokinen statt. Die Produktion von Substanz P und Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) wird herab-, die von Galanin, vasoaktivem intestinalem Peptid (VIP) und Neuropeptid Y heraufreguliert, wobei bisher unklar ist, welche Funktion(en) diese Peptide besitzen. Das proximal zur Läsion gelegene Axonende schwillt an. Hier bildet sich der Wachstumskegel aus (Navarro 2009).

Die Phase der Regeneration beginnt. Hierzu übernehmen die distal gelegenen Schwannzellen die Produktion von neurotrophen Faktoren wie zum Beispiel Nerve Growth Factor (NGF), Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF), Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) und Fibroblast Growth Factor (FGF). Man vermutet, dass Makrophagen die Schwannzellen zur Produktion dieser Faktoren stimulieren. Die neurotrophen Faktoren werden mit ihren Rezeptoren auf der Zellmembran der Schwannzellen dem aussprossenden Wachstumskegel des proximalen Axonendes dargeboten. Dieser nimmt jene Faktoren auf, sodass es zur Wiederaufnahme des retrograden Transports von neurotrophen Faktoren zum Zellkern kommt. Auch Wachstumsfaktoren für Neuriten wie zum Beispiel Fibronectin und Laminin, die extrazellulär auf der Basallamina der Schwannzellen sitzen und zum Anheften und Erkennen des Wachstumskegels dienen, tragen dazu bei, dass das Axon entlang der Schwannzellen in die Peripherie auswachsen kann (Lundborg et al 1994). Die Sprossung geschieht mit einer Geschwindigkeit von 1-4,8mm pro Tag (Sunderland 1978).

Ob regenerierende afferente Neurone mit ihren Axonen tatsächlich ihre Zielgewebe erreichen und ihre ursprüngliche Funktion wiedererlangen, hängt von zahlreichen Faktoren ab: Neben der Ausdehnung der Läsion sind Größe, Alter und funktionelle Typen der Neurone

von Bedeutung. So neigen kleine Neurone mit unmyelinisierten Axonen oder unreife Neurone eher zum Untergehen als Neurone mit größeren Durchmessern oder reife Nervenzellen. Die Axone von geschädigten Hautafferenzen schrumpfen (im Gegensatz zu denen der Skelettmuskulatur), unmyelinisierte sterben sogar (Hu und McLachlan 2003). Zudem nimmt die Höhe der Läsion einen Einfluss: Je näher die Schädigung am Spinalganglion liegt, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Neurone erfolgreich regenerieren (Navarro 2009; Klusáková und Dubový 2009).

Im Falle einer ausbleibenden oder unzureichenden Regeneration kann es zu neuropathischen Schmerzen kommen, für deren Entwicklung und Aufrechterhaltung u.a. die *Ausbildung spontaner Aktionspotentialentladungen* verantwortlich gemacht wird. Diese Entladungen sind vermutlich Folge einer veränderten Zusammensetzung spannungsabhängiger Na<sup>+</sup>-Kanäle nach Nervenläsion und werden als *Spontanaktivität* bezeichnet. Diese peripher entstandene Spontanaktivität kann das periphere neuronale Substrat für spontane neuropathische Schmerzen sein, ihr wird aber auch eine Bedeutung bei der zentralen Sensibilisierung zugeschrieben, in deren Folge Signale aus intakten Geweben verstärkt wahrgenommen werden (Devor 2006). Spontanaktivität kann im Neurom, in regenerierenden Afferenzen, im Spinalganglion von geschädigten nozizeptiven und nicht-nozizeptiven Neuronen und in ungeschädigten Nachbarneuronen entstehen (Wu et al 2001; Roza et al 2003; Costigan et al 2009) und über Zeiträume von mehreren Monaten anhalten (Blumberg und Jänig 1984; Gorodetskaya et al 2009). Die Spontanaktivität, die in Hautafferenzen nach Quetschläsion entsteht, ist sehr gut untersucht und charakterisiert (Gorodetskaya et al 2009, Grossmann 2009a,b). Hier nahmen die Häufigkeit von Spontanaktivität in unmyelinisierten (C)-Fasern und die Entladungsraten zu (für eine Zusammenfassung s. Jänig et al 2009).

Neuropathische Schmerzen äußern sich als unterschiedliche Symptome, die auch nebeneinander bestehen können. Patienten beschreiben sie als brennend, stechend oder einschießend. Die Schmerzen treten spontan und als Dysästhesien wie Allodynie und Hyperalgesie sowie als Parästhesien auf. Ein weiterer Aspekt des neuropathischen Schmerzes ist der spontane Schmerz, der ohne äußeren Reiz auftritt. Für diese Komponente wird unter anderem die oben beschriebene Spontanaktivität verantwortlich gemacht, die in den geschädigten afferenten Neuronen entstehen kann (Baron 2006; Costigan et al 2009).

## **I.2 Spontanaktivität bei neuropathischen Schmerzen? – Ein Überblick über Untersuchungen an Tieren und Patienten**

Die Erkenntnisse über Veränderungen des Nervs nach Schädigung stammen vorwiegend aus Tiermodellen, vor allem von Ratten. In diesen Modellen, wie z.B. dem „Chronic Constriction Injury“-Modell (CCI) von Bennett und Xie (1988) und dem „L5/L6 Spinal Nerve Ligation“-Modell (SNL) von Kim und Chung (1992), entwickeln die Tiere quantifizierbare spontan ablaufende oder durch mechanische oder thermische Reize erzeugte Verhaltensweisen, die als Zeichen von neuropathischen Schmerzen interpretiert werden.

Ebenso wurde in diesen und ähnlichen Tiermodellen Spontanaktivität von afferenten Neuronen neurophysiologisch gemessen, die entweder in der Peripherie der geschädigten Afferenzen oder im Spinalganglion entsteht (Chabal et al 1989; Devor et al 1992; Sotgiu et al 1994; Abdi et al 1998; Michaelis et al 2000; Liu, X. et al 2000; Gorodetskaya et al 2003; Roza et al 2003; Gorodetskaya et al 2009; Grossmann et al 2009a,b; Jänig et al 2009). Viele Autoren vertreten die Meinung, dass diese Spontanaktivität für den Spontanschmerz und, durch die Erzeugung von zentraler Übererregbarkeit, für die Entstehung von Allodynie und Hyperalgesie verantwortlich ist (Blenk et al 1997; Woolf und Mannion 1999; Liu, X. et al 2000; Djouhri et al 2006; Costigan et al 2009; Devor 2009; Klusáková und Dubový 2009). In den wenigen mikroneurographischen Studien an Patienten mit chronischen Neuropathien wie Phantomschmerzen (Nyström und Hagbarth 1981) oder Parästhesien (Nordin et al 1984) konnte auch Spontanaktivität nachgewiesen werden, was für ihren Einfluss auf den neuropathischen Schmerz spricht. Folglich scheint es eine vielversprechende Therapieoption zu sein, die Entwicklung oder das Fortbestehen von Spontanaktivität zu verhindern. Da für die Entstehung und Aufrechterhaltung der Spontanaktivität vor allem die veränderte Zusammensetzung der spannungsabhängigen  $\text{Na}^+$ -Kanäle verantwortlich gemacht wird und klinische Studien nach intravenöser oder lokaler Lidocainapplikation Linderung bei Patienten mit neuropathischen Schmerzen zeigen konnten (s.u.), wurden viele Untersuchungen mit dem unspezifischen  $\text{Na}^+$ -Kanalblocker Lidocain durchgeführt. Tatsächlich konnte ein Effekt von Lidocain auf spontanaktive geschädigten Afferenzen oder neuropathische Zustände in den folgenden Untersuchungen nachgewiesen werden:

Neurophysiologische Tierexperimente konnten eine Reduktion der Spontanaktivität in geschädigten afferenten Nervenfasern durch lokale (Tanelian und MacIver 1991) oder intravenöse (Chabal et al 1989; Devor et al 1992; Sotgiu et al 1994; Omana-Zapata et al 1997; Abdi et al 1998) Applikation von Lidocain oder seines Derivates QX-314 zeigen. In



Verhaltensstudien am SNL- und CCI-Modell an Ratten wurde unter systemischer Lidocaingabe eine größere Toleranz für thermische und mechanische Reize beobachtet (Abram und Yaksh 1994; Abdi et al 1998; Sinnott et al 1999; Smith et al 2002; Araujo et al 2003). Die Autoren interpretieren dies als Linderung neuropathischer Schmerzen (s. Abschnitt IV.2.2). Dies deckt sich mit klinischen Untersuchungen an Patienten mit neuropathischen Schmerzsyndromen wie z.B. der diabetischen Polyneuropathie sowie fokalen oder postherpetischen Neuropathien, in denen Lidocain lokal als Gel oder Pflaster auf die Haut (Rowbotham et al 1995; Meier et al 2003) oder intravenös (Boas et al 1982; Edwards et al 1985; Kastrup et al 1987; Bach et al 1990; Marchettini et al 1992; Ferrante et al 1996; Galer et al 1996) appliziert wurde. In diesen Arbeiten konnte bei den Patienten eine Reduktion oder eine Aufhebung der Schmerzsymptomatik ohne Einschränkung ihrer Sensibilität oder Mobilität beobachtet werden.

Verantwortlich hierfür wird die Unterdrückung peripherer Spontanaktivität durch Lidocain gemacht; der genaue Wirkmechanismus ist aber bislang unbekannt.

### **I.3 Muskelschmerz – Seine Bedeutung und Mechanismen**

Die Wirkung von Lidocain auf Spontanaktivität in geschädigten afferenten Neuronen, die als kutan oder muskulär identifiziert wurden, ist bisher nicht systematisch untersucht worden. Solche experimentellen Untersuchungen sind erstrebenswert, da Unterschiede zwischen oberflächlichem und tiefsomatischem Schmerz und den ihnen zugrunde liegenden zentralen und peripheren Mechanismen bestehen:

Im Gegensatz zum oberflächlichen (Haut-)Schmerz wird der tiefe somatische Schmerz, wie etwa der muskuläre, als schlecht lokalisierbar und schwerer zu ertragen empfunden. Er zeigt eine starke Tendenz zur Übertragung in andere tiefsomatische Gewebe oder in die Viszera. Patienten, die an Muskelschmerzen leiden, beschreiben diese als drückend, reißend, krampfend und/oder muskelkaterartig; sie klagen außerdem über spannende und steife Muskeln (Marchettini 1993; Mense 2003). Die aufgeführten Unterschiede legen eine getrennte Untersuchung von Muskel- und Hautafferenzen nahe.

Afferente Nervenfasern leiten Informationen des Muskels über Dehnung und Kraft sowie über Druck, Temperatur, den metabolischen Zustand und potentielle und/oder bestehende Schädigung an das zentrale Nervensystem (ZNS) weiter. Die aktuelle Muskellänge und -dehnung und ihre Veränderungen werden von Muskelspindeln, die Muskelkraft und ihre

Änderung von Golgisehnenorganen gemessen und über dicke myelinisierte ( $A\alpha$ -/ $A\beta$ -) Fasern<sup>1</sup> an das ZNS übertragen. Druck, Dehnung und Kontraktion sowie chemische (z.B. Bradykinin, Kalium, hypertone Kochsalzlösung) und thermische Reize erregen dünne myelinisierte ( $A\delta$ -) und unmyelinisierte (C-)Fasern. Diese Fasern übermitteln aber auch im Rahmen der Nozizeption Informationen über schmerzhaften Druck, unphysiologische und damit schmerzhafte Dehnung und Kontraktion sowie schmerzhafte metabolische Zustände und Temperaturen an das ZNS (für eine Zusammenfassung s. Mense 1993). Muskuläre  $A\delta$ - und C-Fasern sollen auch eine Rolle in der Adaptation des Kreislaufes und der Atmung bei körperlicher Arbeit spielen; hierbei kommt es zu einer Erhöhung des Blutdrucks, des Pulses und der Ejektionsfraktion des linken Ventrikels sowie einer Zunahme der Perfusion der arbeitenden Extremität (Mitchell et al 1983).

Mikroneurographische Untersuchungen von Muskelafferenzen an gesunden Probanden (Simone et al 1994; Marchettini et al 1996) und andere klinische Studien (Laursen et al 1999; Graven-Nielsen et al 2004) legen dar, dass auch beim Menschen die Nozizeption des Muskels über  $A\delta$ - und C-Fasern geleitet wird, deren Aktivierung durch elektrische Reizung, mittelstarken bis starken Druck oder die Injektion von Capsaicin zu krampfartigen Schmerzen führt.

Nimmt man die oben geschilderten Erkenntnisse zusammen, kann davon ausgehen werden, dass die Muskelafferenzen von Mensch und Tier sich wie oben beschrieben im Rahmen eines neuropathischen Schmerzsyndroms verändern und Spontanaktivität entwickeln.

#### **I.4 Fragestellung**

Die vorliegende Arbeit beschreibt Experimente an Ratten, in denen die Wirkung von Lidocain auf die Aktivität von geschädigten Muskelafferenzen *in vivo* untersucht wurde. Hierzu wurde der linke N. gastrocnemius-soleus lateralis (LGS) gequetscht. Vier bis acht Tage nach dieser Läsion wurden Spontanaktivität und mechanisch und thermisch evozierte Aktivität der geschädigten Afferenzen in diesem Nerven neurophysiologisch untersucht. Lidocain wurde

---

<sup>1</sup> Die geläufige Nomenklatur für Muskelafferenzen stammt von Lloyd (1943). In der vorliegenden Arbeit wird aber die Nomenklatur nach Erlanger und Gasser (1937) benutzt: So werden die Gruppe I-, II- und III-Fasern (Nomenklatur nach Lloyd) als  $A\alpha$ -, beziehungsweise  $A\beta$ - und  $A\delta$ -Fasern (Nomenklatur nach Erlanger und Gasser) und zusammenfassend als A-Fasern bezeichnet, die Fasern der Gruppe IV nach Lloyd als C-Fasern (nach Erlanger und Gasser).

entweder lokal am Ort der Schädigung oder intravenös in verschiedenen Konzentrationen appliziert. Folgende Fragen wurden bearbeitet:

1. Welche spontanen Impulsaktivitäten zeigen geschädigte Muskelafferenzen?  
Welche mechanisch und/oder thermisch erregten Impulsaktivitäten zeigen geschädigte Muskelafferenzen?
2. Wird die Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen durch lokal oder intravenös appliziertes Lidocain reduziert?
3. Bleiben die mechanischen und thermischen Eigenschaften der geschädigten Muskelafferenzen nach Applikation von Lidocain unverändert?
4. Reagieren A- und C-Fasern unterschiedlich auf Lidocain?
5. Über welchen Zeitraum wird die Spontanaktivität von Lidocain beeinflusst?

## **II Material und Methodik**

### **II.1 Durchführung der Nervenläsion**

Bei 32 Ratten wurde 4-8 Tage vor dem eigentlichen Experiment unter Narkose mit Pentobarbital (60mg/kg Narkoren, intraperitoneal injiziert) der linke laterale N. gastrocnemius-soleus (LGS) gequetscht. Das Fehlen von Cornealreflex und Flexorreflexen deutete auf eine ausreichende Narkosetiefe hin. Unter aseptischen Bedingungen wurde über einen ca. 4-5 cm langen Hautschnitt am linken Hinterlauf der LGS dargestellt und einige Millimeter vor seinem Eintritt in den M. gastrocnemius-soleus mit einer feinen Uhrmacherpinzette dreimal für einige Sekunden gequetscht (Länge der Läsion ca. 0,5mm). Die Wunde wurde verschlossen und der postoperative Verlauf gestaltete sich unkompliziert.

### **II.2 Präparation am Versuchstag (4-8 Tage nach Läsion)**

Am Tage des eigentlichen Experiments erfolgte die initiale Narkose wie oben beschrieben. Die Körpertemperatur wurde mit einem elektrischen Thermometer rektal gemessen und durch eine servokontrollierte Thermomatte, auf der das Tier lag, auf ca. 37°C angepasst. Unter Spontanatmung wurde eine Tracheotomie mit Intubation zur späteren Beatmung (70 Atemzüge/Minute mit O<sub>2</sub>-angereicherter Raumluft, Respirator RUS-1301, FMI, Egelsbach) durchgeführt. Danach erfolgte die Präparation der rechten Vena jugularis interna, in die ein Katheter für die Injektion von zusätzlichem Anästhetikum (Narkoren, 10-20mg/kg/h i.v. Erhaltungsdosis), Muskelrelaxans (Pancuronium, Initialdosis 1mg/kg als Bolus, Erhaltungsdosis 0,4mg/kg/h) oder Lidocain (s.u.) eingeführt wurde. Ein weiterer Katheter in der Schwanzarterie ermöglichte mittels Druckwandler (LM-22, List, Darmstadt) die Kontrolle des Blutdrucks, der während des gesamten Experiments über 70 mmHg lag. So konnte auch arterielles Blut zur Kontrolle der Blutgase entnommen werden, welche sich im Bereich von pH = 7,4, P<sub>aco</sub><sub>2</sub> = 35-40 mmHg und P<sub>ao</sub><sub>2</sub> = ≥100 mmHg (ABL5, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) befanden. Darüber hinaus wurde kontinuierlich ein Elektrokardiogramm (EKG) aufgezeichnet.

Bei der erneuten Präparation des LGS stellte sich der Läsionspunkt glasig dar und zeigte Gefäßeinsprossungen. Die Nn. suralis und peroneus communis wurden vorsichtig vom N.

ischiadicus abpräpariert, um leichter die Nervenfasern des LGS auffinden zu können. Des Weiteren wurden die Nn. tibialis und gastrocnemius-soleus medialis gequetscht, um Signale aus diesen Nerven bei der späteren Ableitung zu vermeiden.

Nach Beendigung des Experiments (s. Abschnitte II.3-6) wurde das Tier in tiefer Narkose durch intravenöse Injektion einer gesättigten Kaliumchlorid-Lösung getötet.

### **II.3 Versuchsaufbau**

Durch das Annähen der Hautlappen an einen Metallring entstand ein Pool, der mit 30°C warmen Parafinöl gefüllt wurde. Der N. ischiadicus wurde möglichst proximal auf einer fixierten schwarzen Plexiglasplattform positioniert. Es folgte die Entfernung seines Epineuriums. Daraufhin wurden feine Nervenfilamente mit zwei Uhrmacherpinzetten präpariert und an eine Platindrahtelektrode gelegt, von der elektrische Potentiale abgeleitet werden konnten (*Abb. II.1A*). Als Referenz diente eine weitere Elektrode, die in Kontakt mit dem umliegenden Gewebe stand. Die eingehenden Signale wurden durch einen Verstärker mit niedrigem Rauschen (Eingangswiderstand 10M $\Omega$ , Verstärkungsfaktor x100, Eigenbau des Physiologischen Instituts Kiel) verstärkt und mit einer Bandbreite von 120 Hz bis 40 kHz für myelinisierte, bzw. von 120 Hz bis 1,0-1,2 kHz für unmyelinisierte Fasern gefiltert. Zur audiovisuellen Kontrolle wurden die Signale über ein Speicheroszilloskop (Tektronix, Oregon, USA) sichtbar und über Lautsprecher hörbar gemacht. Zusätzlich erfolgte eine Visualisierung und Sicherung über eine Datenerfassungsschnittstelle (micro1401, Cambridge Electronic Design Ltd, Cambridge, England), die die Daten auf einen Computer übertrug. Dieser stellte sie durch das Programm Spike II (Cambridge Electronic Design Ltd, Cambridge, England) dar und speicherte sie für eine spätere Offline-Analyse (siehe Abschnitt II.7).

### **II.4 Identifikation der Muskelafferenzen**

Zur Identifikation der Nervenfasern wurde, sobald ein Filament mit Spontanaktivität (SA) gefunden war, der LGS auf ein Paar Platinelektroden gelegt (Distanz zur Registrierungselektrode  $14,1 \pm 0,4$ mm) und elektrisch mit Rechteckimpulsen von 0,1 ms für A-Fasern oder 0,5 ms für C-Fasern und einer Frequenz von 3 bzw. 0,3 Hz bei zunehmender

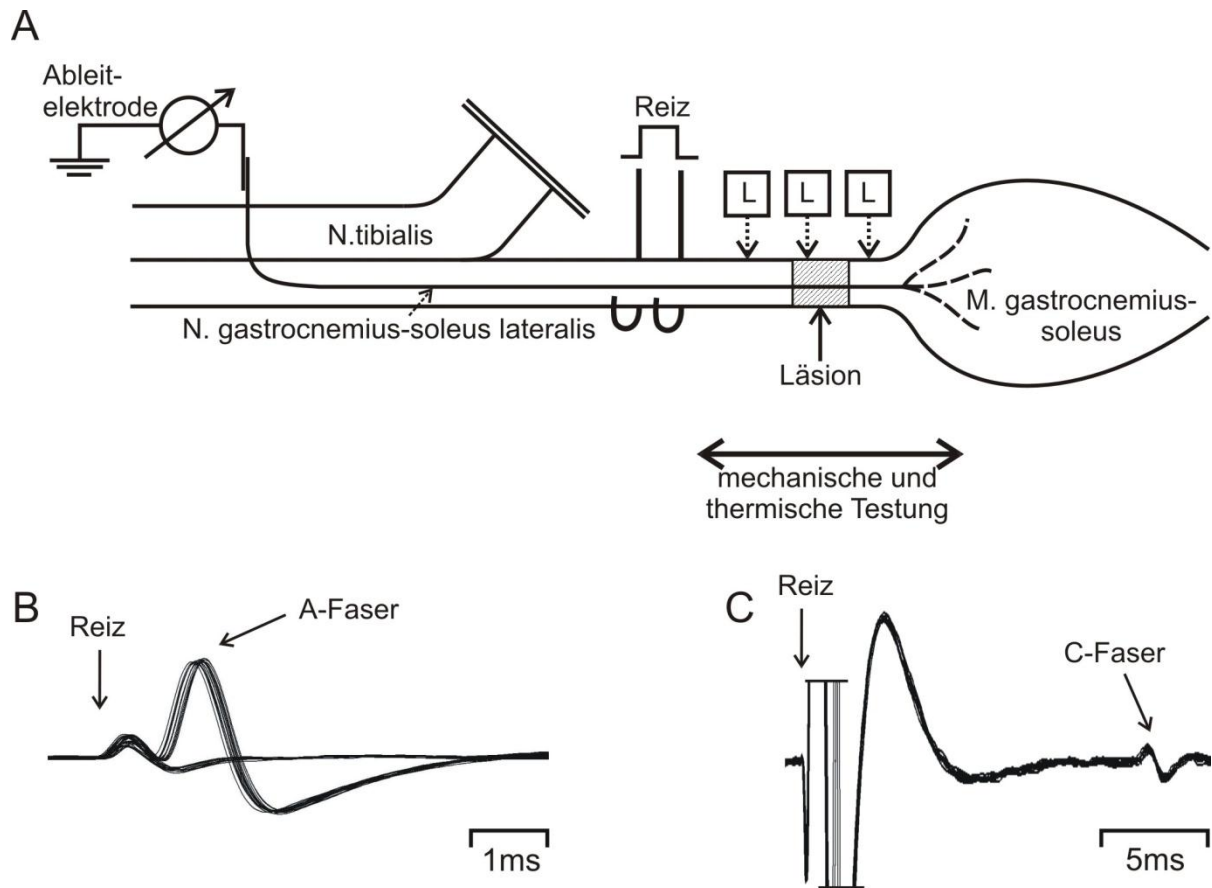


Abb. II.1 Versuchsaufbau und elektrische Reizung.

A Schema des Versuchsaufbaus. Dargestellt ist der M. gastrocnemius-soleus der Ratte, der N. gastrocnemius-soleus lateralis (LGS), der 4-8 Tage zuvor gequetscht wurde (schraffierte Region, *Läsion*), und sein Austritt aus dem Nervus tibialis. Zur Identifikation und Lidocain-Testung wurde ein feines Filament aus dem Nerven präpariert und an die Ableitelektrode gelegt. Zur Illustration ist der Bereich der *mechanischen und thermischen Testung* und der Sitz der Stimulationselektrode (*Reiz*) dargestellt. Die mit *L* beschrifteten Quadrate sollen die mit Lidocain getränkten Filterpapier-Stückchen andeuten, die für die lokale Testung auf den Nerv gelegt wurden. *N.*, Nervus; *M.*, Musculus.

B Beispiel einer durch elektrische Reizung als myelinisiert identifizierten Faser (*A-Faser*) des LGS. Die Faser wurde mit 0,6 Volt mehrmals überschwellig gereizt. Bei einer Distanz von Stimulations- zu Ableitelektrode von 12mm und einer Latenz von 0,8ms ergibt sich eine Leitungsgeschwindigkeit von 15m/s, sodass diese Faser als A $\delta$ -Faser klassifiziert wurde.

C Beispiel einer durch elektrische Reizung als unmyelinisiert identifizierten Faser (*C-Faser*) des LGS. Die Faser wurde mit 14 Volt mehrmals überschwellig gereizt. Bei einer Distanz von Stimulations- zu Ableitelektrode von 14mm und einer Latenz von 16ms ergibt sich eine Leitungsgeschwindigkeit von 0,88m/s, sodass diese Faser als C-Faser klassifiziert wurde. Das Reizartefakt wurde aus graphischen Gründen in positiver und negativer Richtung geschnitten.

Intensität bis 30V gereizt. Für die Ermittlung der Nervenleitgeschwindigkeit der Fasern wurde die Distanz zwischen Stimulations- und Registrierungselektrode (in Millimetern) durch die Latenz des Aktionspotentials zum Reizartefakt (in Millisekunden) dividiert, um so eine Klassifikation in A $\alpha$ -/A $\beta$ -, A $\delta$ - und C-Fasern zu ermöglichen. Richtwerte für die Einteilung von afferenten Nervenfasern von Ratten nach ihrer Leitungsgeschwindigkeit in Metern pro Sekunde (m/s) geben Waddell et al (1989) und Lawson und Waddell (1991): C-Fasern <1,3m/s; A $\delta$ -Fasern 2-12m/s; A $\alpha$ -/A $\beta$ -Fasern >12m/s. Fasern mit Leitungsgeschwindigkeiten im Bereich von 1,3-2,0m/s waren in diesen Untersuchungen selten und werden von den Autoren als „C-/A $\delta$ -Fasern“ bezeichnet (Waddell et al 1989; Lawson und Waddell 1991). Die Werte, gemessen an Neuronen der Spinalganglien L4 und L5 und den dazugehörigen peripheren Nerven, zu denen auch der LGS gehört, stammen von weiblichen Wistarratten, die leichter und jünger (Gewicht 120-190g, Alter 46-51 Tage; Lawson und Waddell [1991]) waren als die der vorliegenden Arbeit (Gewicht 350-560g; Alter 5-6 Monate).<sup>2</sup> Aus diesen Gründen wurden die Grenzwerte von Nervenleitgeschwindigkeiten zur elektrischen Identifikation für die vorliegende Arbeit wie folgt gesetzt: C-Fasern <2m/s; A $\delta$ -Fasern 2-20m/s; A $\alpha$ -/A $\beta$ -Fasern >20m/s. Für Beispiele elektrisch identifizierter A- und C-Fasern siehe *Abb. II.1B* beziehungsweise *C*. Zusätzlich wurden die Fasern eines Filaments anhand der Größe und der Form ihres Aktionspotentials voneinander unterschieden und als myelinisiert oder unmyelinisiert identifiziert. Wie auch in den Beispielen in *Abb. II.1B* und *C* ersichtlich, stellten sich bei den gewählten Filtereinstellungen die Aktionspotentiale myelinisierter Fasern biphasisch und größer als die triphasischen Aktionspotentiale unmyelinisierter Fasern dar, sodass eine zuverlässige Diskriminierung möglich war (Blenk et al 1996). Eine Unterscheidung zwischen dünnmyelinisierten A $\delta$ - und starkmyelinisierten A $\alpha$ -/A $\beta$ -Fasern konnte so allerdings nicht erfolgen.

---

<sup>2</sup> Die Autoren weisen daraufhin, dass die Axone von adulten Ratten höhere Leitungsgeschwindigkeiten aufweisen (Lawson und Waddell 1991).

## II.5 Bestimmung der ektopevozierten<sup>3</sup> Eigenschaften

Kirillova et al (2011) konnten zeigen, dass in geschädigten Muskelafferenzen ektopevozierte Sensibilität für mechanische und thermische Reize besteht. Zur Bestimmung der Eigenschaften „Mechano-“, „Kälte-“ und „Hitzesensibilität“ wurden standardisierte physiologische Reize am Nerven appliziert:

1. Mechanosensibilität: Am Läsionspunkt und distal davon am LGS erfolgte die Ausübung von leichtem Druck durch einen feinen Glasstab mit einer Frequenz von ca. 1/s.
2. Thermosensibilität: Ein ca. 5°C kalter (Kältereiz) bzw. ca. 50°C warmer (Hitzereiz) spitzzulaufender Kupferstab wurde für mehrere Sekunden in die Nähe der Läsion gehalten (*Abb. II.1A*).

Für spontanaktive Fasern wurde(n) eine oder mehrere ektopevozierte Eigenschaft(en) angenommen, wenn während der Reizung eine Zunahme der SA um 100% gemessen werden konnte.

## II.6 Experimentgruppen und Versuchsablauf

Grundlage für die vorliegende Arbeit sind drei Gruppen von Experimenten.

*Gruppe A und B.* In dieser Gruppe wurde an 24 männlichen Wistarratten (Körpergewicht 350-460g) der Effekt von lokal (Gruppe A) und/oder intravenös (Gruppe B) appliziertem Lidocain bei geschädigten spontanaktiven Muskelafferenzen untersucht. Hierzu wurden unterschiedliche Dosisgrößen benutzt, sodass Dosis-Antwortkurven erstellt werden konnten.

*Gruppe C.* In dieser Gruppe wurde drei männlichen Wistarratten und fünf männlichen Sprague-Dawley-Ratten (Körpergewicht 410-560g) einmalig eine hohe Dosis (9mg/kg) Lidocain intravenös verabreicht, um die Dauer der Reduktion von Spontanaktivität bei geschädigten Muskelafferenzen zu untersuchen.

Läsion, Präparation und Versuchsaufbau sowie Identifikation und Bestimmung der ektopevozierten Eigenschaften (s. Abschnitte II.1 bis 5) gestaltete sich für beide Gruppen gleich.

---

<sup>3</sup> Ektopevoziert: Geschädigte Afferenzen können durch physiologische Reize entlang dem Axon erregt werden und nicht wie unter physiologischen Umständen nur am distalen Ende. Die Vorstellung, dies sei nur bei geschädigten Axonen möglich, muss überdacht werden, da Hoffmann et al (2008) und Teliban et al (2011) auch am **unläsionierten** N. suralis Mechano-, Kälte- und Hitzesensibilität entlang dem Nerven beobachten konnten. Der Begriff „ektopevoziert“ wird in dieser Arbeit für Erregbarkeit bei Reizung am Läsionsort und distal davon verwendet.



### *II.6.1 Versuchsablauf Gruppe A*

Sobald ein Filament mit einer bis drei spontanaktiven Faser(n) des LGS gefunden war, erfolgte der weitere Versuchsablauf nach dem Schema, das in *Abb. II.2* dargestellt ist:

Die Registrierung begann mit einer mindestens zehnminütigen Aufzeichnung der SA, gefolgt von der elektrischen Identifikation (*Abb. II.2*, ER) und der Bestimmung der ektopevozierten Eigenschaften (physiologische Reizung, PR). Eine weitere Aufzeichnung der SA von mindestens einer Minute schloss sich an. Zur lokalen Testung erfolgte daraufhin im Wechsel die Applikation von in Lidocain getränkten Stückchen Filterpapier (Konzentrationen: 1, 10, 100, 1000 $\mu$ g pro Milliliter;  $\mu$ g/ml) für zehn Minuten und eine zweiminütige Auswaschphase mit Filterpapierstückchen derselben Art, die zuvor in Tyrodelösung (plasmaähnliche Elektrolytlösung) getränkt wurden (*Abb. II.1A*). Das Volumen der Lösungen in den Filterpapierstückchen betrug  $\geq 5\mu$ L und war ca. fünf bis zehn Mal größer als das Volumen des bedeckten Teils des LGS. Über den gesamten Zeitraum wurde die Spontanaktivität aufgezeichnet. Nach der Lidocaintestung erfolgte eine weitere elektrische und/oder physiologische Testung der Nervenfasern.

### *II.6.2 Versuchsablauf Gruppe B*

Die Aufzeichnung der Spontanaktivität, die elektrische Identifizierung und die Bestimmung der ektopevozierten Eigenschaften gestaltete sich wie in Experimentgruppe A (s. Abschnitt II.6.1 und *Abb. II.2*). Die systemische Testung erfolgte durch Injektion von 0,047, 0,157, 0,47, 1,57 und 4,7mg/kg Lidocain als Bolus von 0,5ml jeweils im Abstand von zehn Minuten in die rechte Vena jugularis interna. Über den gesamten Zeitraum wurde die Spontanaktivität aufgezeichnet. Nach der Lidocaintestung erfolgte eine weitere elektrische und/oder physiologische Testung.

### *II.6.3 Versuchsablauf Gruppe C*

Sobald ein Filament mit einer bis drei spontanaktiven Faser(n) des LGS gefunden war, erfolgte die Registrierung von SA über mindestens zehn Minuten. Im Anschluss wurden 9mg/kg Lidocain intravenös als Bolus injiziert und die Spontanaktivität über einen Zeitraum von mindestens 50 Minuten aufgezeichnet. Die genaue elektrische Identifikation und Bestimmung der weiteren ektopevozierten Eigenschaften der Fasern wurde zu Beginn oder im Anschluss an die gesamte Aufzeichnung durchgeführt.

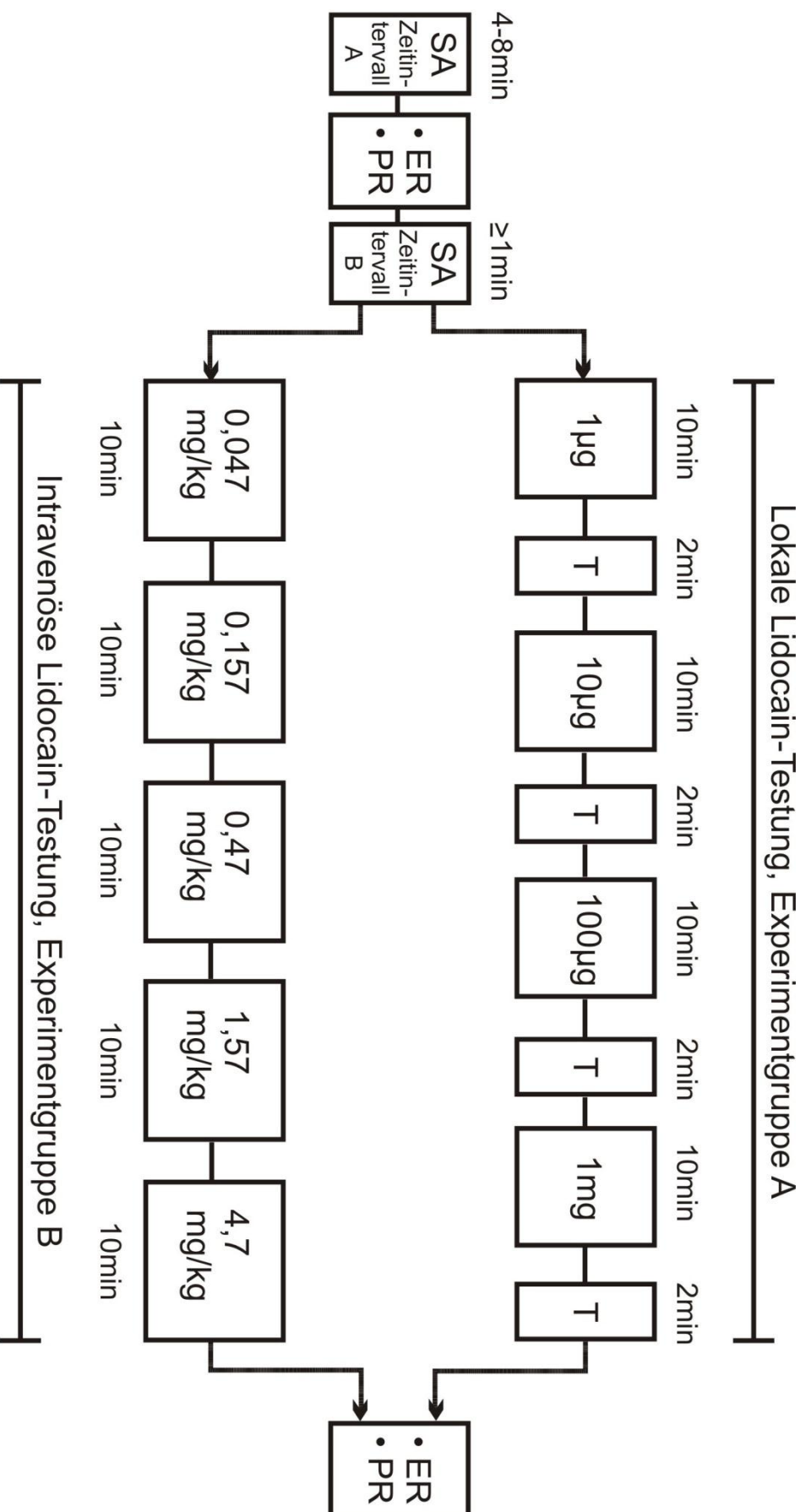


Abb. II.2 Schematische Darstellung des Versuchsablaufs.

Zu Beginn wurden 4-8 Minuten Spontanaktivität (SA) aufgezeichnet. Es schloss sich die elektrische und physiologische Reizung (ER, PR) und die Aufzeichnung weiterer Spontanaktivität an. Daraufhin begann entweder die *lokale* oder die *intravenöse Lidocain-Testung* (s. Text). Nach Abbruch der Spontanaktivität oder nach Applikation der höchsten Konzentration folgte eine erneute elektrische und/oder physiologische Reizung.

$\mu$ g, bzw. mg, Konzentration in  $\mu$ g/ml, bzw. mg/ml.

## II.7 Daten- und statistische Analyse

Aktivität der afferenten Nervenfasern, Blutdruck, EKG und Atemwiderstand wurden simultan über die Datenerfassungsschnittstelle in einen Computer eingespeist, der mit der Analysesoftware Spike II ausgestattet war. Dieses System diente nicht nur der Adhoc-Kontrolle von neuronaler Aktivität und Vitalparametern, sondern auch der nachträglichen Datenanalyse: Das Programm ermöglichte, die einzelnen Aktionspotentiale einer Nervenfaser anhand ihrer Form und ihrer Amplitude einander zuzuordnen und mehrere Fasern in einem Filament unterscheiden zu können. So wurden alle Aktionspotentiale zu einer Nervenfaser zusammengefasst, deren Form mindestens zu 80% übereinstimmten und die in ihrer Amplitude um maximal 5% voneinander abwichen. Auf diese Weise konnten die Nervenfasern eines Filamentes eindeutig unterschieden und Entladungsraten errechnet werden.

Für die Versuchsgruppen A und B gilt: Die Angaben und Abbildungen zur Ruheaktivität (s. Abschnitt III.1.3 und *Abb. III.5* und *III.6*) orientieren sich an der Spontanaktivität, die vor elektrischer und physiologischer Reizung über einen Zeitraum von mindestens zehn Minuten aufgezeichnet wurde (Zeitintervall A). Als Basisaktivität für die Veränderung nach Lidocainapplikation wurde die Spontanaktivität, die direkt vor Beginn der Applikation registriert wurde, mit 100% gleichgesetzt (Zeitintervall B). Für die Darstellung der Dosis-Antwortkurven wurden die Entladungsraten über den Zeitraum von zehn Minuten nach Lidocainapplikation gemittelt und in Relation zur Basisaktivität gesetzt. Dieses Verfahren war für alle Versuchsgruppen (A- und C-Fasern, lokales und intravenöses Lidocain) gleich.

Für die Versuchsgruppe C gilt: Die Spontanaktivität vor Lidocaininjektion wurde über einen Zeitraum von zehn Minuten gemittelt und mit 100% gleichgesetzt.

Sofern nicht anders vermerkt, werden die Ergebnisse als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des arithmetischen Mittels („Standard Error of the Mean“, S.E.M.) dargestellt. Für die statistischen Analysen wurden der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, eine einfaktorielles Varianzanalyse („analysis of variances“, ANOVA) mit Messwiederholung und der Zwei-Stichproben-t-Test verwandt.

### III Ergebnisse

Insgesamt wurden 37 spontanaktive afferente A- und 28 spontanaktive afferente C-Fasern auf ihre Reaktion auf lokal oder intravenös appliziertes Lidocain untersucht.

In den Experimentgruppen A und B (Dosis-Wirkungsbeziehung) wurden bei 27 spontanaktiven A- und 24 spontanaktiven C-Fasern die ektop evozierten Eigenschaften bestimmt und die Reaktion auf lokal oder intravenös appliziertes Lidocain getestet.

Bei zehn A- und vier C-Fasern wurde die Dauer der Reduktion von Spontanaktivität nach einmaliger intravenöser Injektion von 9mg/kg Lidocain untersucht (Experimentgruppe C). Diese 14 Fasern gehen in die Auswertung unter III.1.1 bis III.5 **nicht** ein, unterscheiden sich aber in ihrer Spontanaktivität, ihren ektop evozierten Eigenschaften und Leitungsgeschwindigkeiten nicht von denen der Experimentgruppen A und B.

#### III.1 Identifikation und Bestimmung der ektop evozierten Eigenschaften spontanaktiver Afferenzen des N. gastrocnemius-soleus lateralis

##### III.1.1 Elektrische Identifikation der Muskelafferenzen

In Versuchsgruppe A wurden 84 A- (50 A $\beta$ -, 34 A $\delta$ -) und 114 C-Fasern des N. gastrocnemius-soleus lateralis (LGS) elektrisch identifiziert; hiervon zeigten 27 A- und 24 C-Fasern Spontanaktivität (s. *Tabelle III.1*). Von diesen 27 spontanaktiven A-Fasern konnten drei nicht elektrisch, aber anhand der biphasischen Form ihres Aktionspotentials eindeutig als myelinisiert erkannt werden (s. Abschnitt II.4 und *Abb. III B* und *C*). Die Verteilung der Leitungsgeschwindigkeiten aller elektrisch erregten Afferenzen des LGS ist in *Abb. III.1* dargestellt. Achtzehn spontanaktiven A- und 18 spontanaktiven C-Fasern, die auf ihre Reaktion auf Lidocain getestet wurden, konnte eine Leitungsgeschwindigkeit eindeutig zugeordnet werden, diese sind in *Abb. III.1* grau unterlegt. Dies war z.B. möglich, wenn in einem Filament eine Faser spontanaktiv war und gleichzeitig nur eine Faser elektrisch vom LGS erregt werden konnte. Die restlichen neun spontanaktiven A- und sechs spontanaktiven C-Fasern, die mit Lidocain getestet wurden, konnten anhand der Größe und der Form ihrer Aktionspotentiale als myelinisiert oder unmyelinisiert identifiziert werden. Die elektrisch identifizierten A-Fasern zeigten eine mittlere Leitungsgeschwindigkeit von  $21,6 \pm 0,8$ m/s

Tabelle III.1

Eigenschaften von A- and C-Fasern mit Spontanaktivität 4-8 Tage nach Quetschläsion des N. gastrocnemius-soleus

|   | A-Fasern   | C-Fasern     |
|---|--|--------------|
| Anzahl spontanaktiver Fasern/<br>Anzahl elektrisch identifizierter Fasern | 27 <sup>1</sup> /84 (32%)<br>beta 50 (59,5%)<br>delta 34 (40,5%) | 24/114 (21%) |

### INDIVIDUELLE EIGENSCHAFTEN

|                     |                          |             |
|---------------------|--------------------------|-------------|
| Mechanosensibilität | 23/27 (85%)              | 11/24 (46%) |
| Thermosensibilität  | 24/26 <sup>2</sup> (92%) | 23/24 (96%) |
| Kältesensibilität   | 19/26 (73%)              | 4/24 (17%)  |
| Hitzesensibilität   | 16/26 (62%)              | 22/24 (92%) |

### KOMBINATION VON EIGENSCHAFTEN

| Anzahl getesteter Fasern:         | 26       | 24       |
|-----------------------------------|----------|----------|
| Nur mechanosensibel               | 2 (8%)   | 0        |
| Nur kältesensibel                 | 2 (8%)   | 0        |
| Nur hitzesensibel                 | 1 (4%)   | 9 (38%)  |
| Kälte- u. hitzesensibel           | 1 (4%)   | 3 (13%)  |
| Mechano- u. kältesensibel         | 6 (23%)  | 1 (4%)   |
| Mechano- u. hitzesensibel         | 4 (15%)  | 10 (42%) |
| Mechano-, kälte- u. hitzesensibel | 10 (39%) | 0        |
| Nur spontanaktiv                  | 0        | 1 (4%)   |

### ENTLADUNGSMUSTER DER SPONTANAKTIVITÄT

|           |   |          |
|-----------|---|----------|
| Regulär   | 8 (30%)                                 | 5 (21%)  |
| Salven    | 13 (48%)<br>+ 6 Doubletten/Tripl. (22%) | 2 (8%)   |
| Irregulär | 0                                       | 17 (71%) |

<sup>1</sup> Drei A-Fasern, die elektrisch nicht gefunden werden konnten, wurden anhand ihrer Form identifiziert.

<sup>2</sup> Eine mechanosensible A-Faser mit Spontanaktivität wurde nicht auf Thermosensitivität getestet.

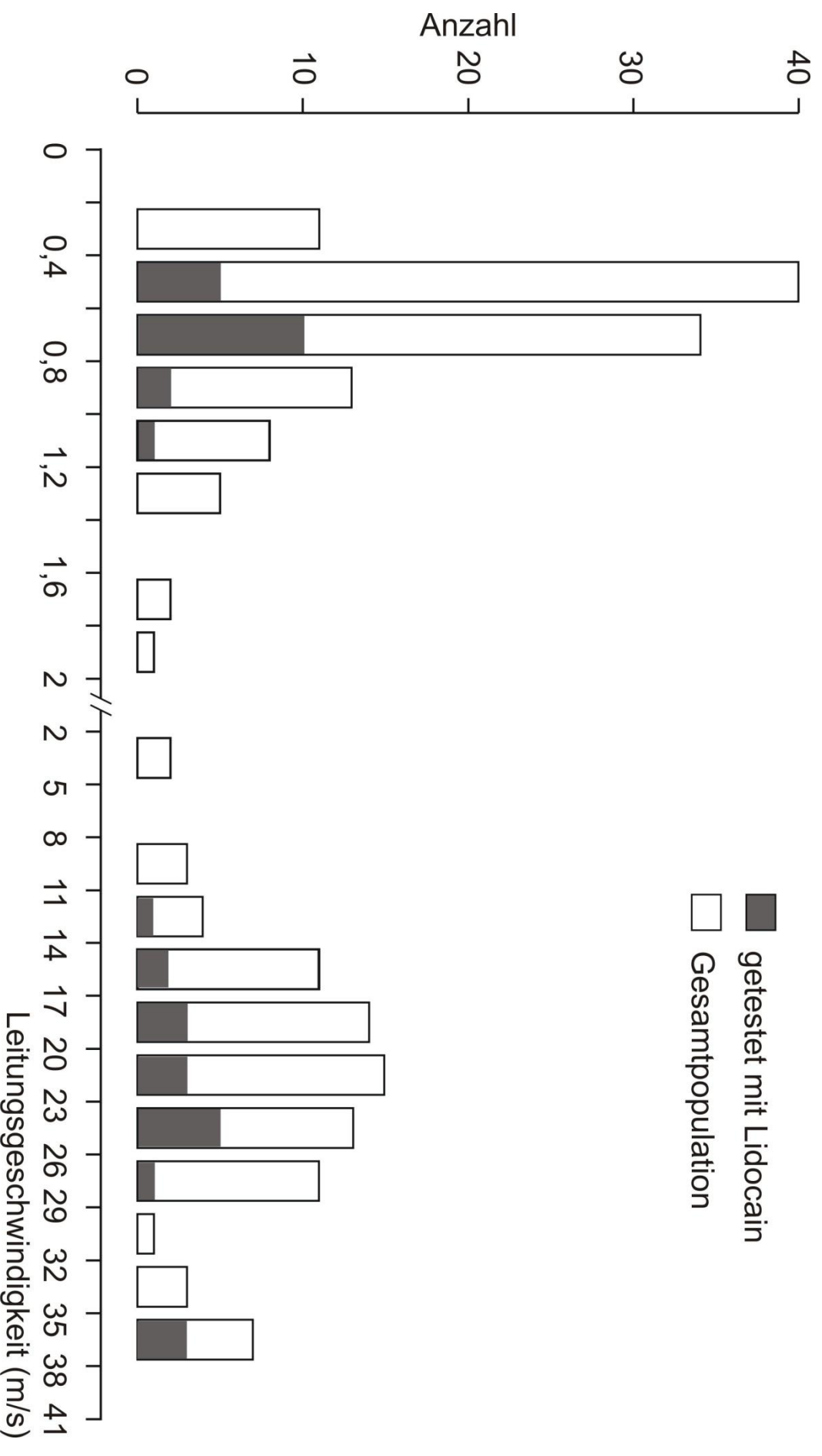


Abbildung III.1 Leitungsgeschwindigkeiten.  
 Verteilung der Nervenleitgeschwindigkeiten aller elektrisch identifizierten A- und C-Fasern des lateralen N. gastrocnemius-soleus 4-8 Tage nach Quetschläsion. Die graunterlegten Anteile der Balken stellen 18 spontanaktive A- und 18 spontanaktive C-Fasern dar, denen eine Leitungsgeschwindigkeit zugeordnet werden konnte und die mit Lidocain getestet wurden.

(Bereich von 2,8 bis 36m/s), die C-Fasern von  $0,69 \pm 0,03\text{m/s}$  (Bereich von 0,22 bis 1,8m/s). Die spontanaktiven A-Fasern, denen eine Leitungsgeschwindigkeit zugeordnet werden konnte, zeigten im Mittel Werte von  $23 \pm 1,6\text{m/s}$  (Bereich von 12 bis 36m/s) und die C-Fasern von  $0,68 \pm 0,04\text{m/s}$  (Bereich von 0,42 bis 1m/s).

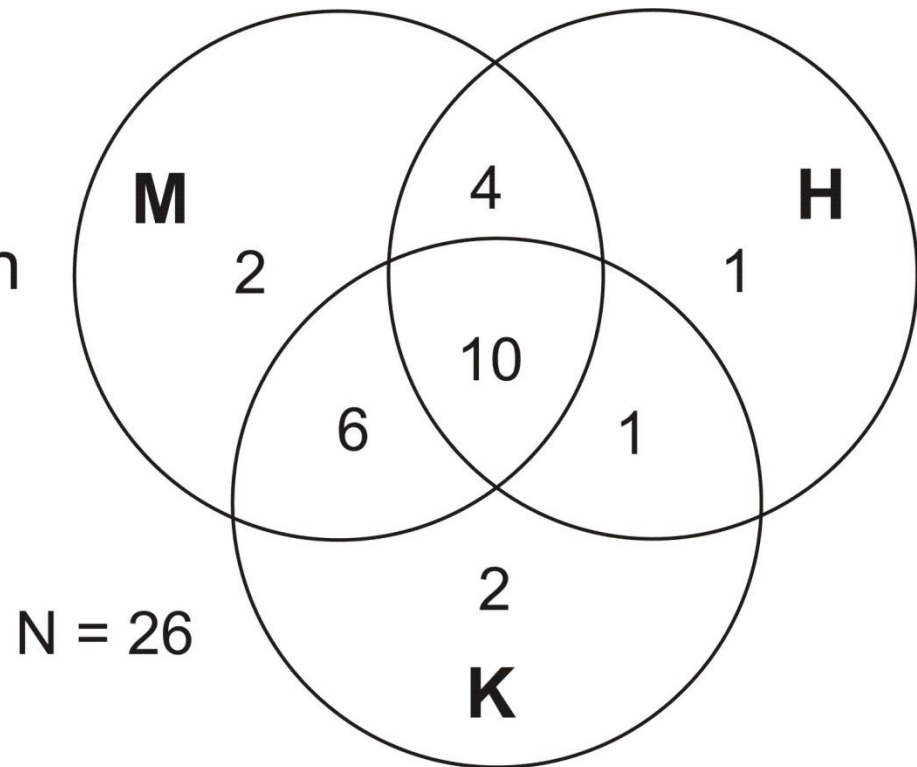
### *III.1.2 Ektop evozierte Eigenschaften der spontanaktiven Muskelfasern*

Alle spontanaktiven A-Fasern besaßen ektop evozierte Eigenschaften (Mechano-, Hitze-, Kältesensibilität), die durch physiologische Reize am Läsionsort beobachtet werden konnten (für eine Übersicht s. *Tabelle III.1* und *Abb. III.2A*). Die überwiegende Zahl der A-Fasern war thermosensibel (92%) und 85% der Fasern waren durch mechanische Reize am Läsionsort erregbar. 20% der spontanaktiven A-Fasern besaßen nur eine ektop evozierte Eigenschaft, 80% wiesen mindestens zwei Eigenschaften in Kombination auf. Am häufigsten wurden die Kombinationen „Mechano-, Hitze- und Kältesensibilität“ (39%) und „Mechano- und Kältesensibilität“ (23%) beobachtet. *Abbildung III.3* zeigt als Beispiel die Reizantworten einer spontanaktiven mechano-, hitze- und kältesensiblen A-Faser. Durch die mechanische Reizung, bei der mit einem feinen Glasstab ca. ein Mal pro Sekunde leichter Druck auf den Läsionsort ausgeübt wurde, änderte sich das Muster der Spontanaktivität und die Entladungsrate stieg an (s. *Abb. III.3A*). Die thermische Reizung führte ebenfalls zur Erhöhung der Entladungsrate. Bei der Faser in *Abbildung III.3* kam es nach Ende des thermischen Reizes vorübergehend zu einer vollständigen Reduktion der Spontanaktivität (*Abb. III.3B,C*).

Eine C-Faser zeigte nur Spontanaktivität (4%), alle anderen wiesen zusätzliche Eigenschaften auf, vor allem Thermosensibilität (96%) und hier im Besonderen Hitzesensibilität (92%; für eine Übersicht s. *Tabelle III.1* und *Abb. III.2B*). Fast die Hälfte der C-Fasern war mechanosensibel (46%). 38% der spontanaktiven C-Fasern zeigten nur eine ektop evozierte Eigenschaft, nämlich Hitzesensibilität, alle anderen wiesen Kombinationen von Eigenschaften auf. Am häufigsten trat die Kombination „Mechano- und Hitzesensibilität“ (42%) auf. Hervorstechend ist eine große Variabilität bei der Verteilung der ektop evozierten Eigenschaften: Bei den A-Fasern wurden alle möglichen Kombinationen der Eigenschaften beobachtet, wohingegen die C-Fasern nur vier Varianten aufwiesen („Nur Hitzesensibilität“, „Mechano- und Hitzesensibilität“, „Kälte- und Hitzesensibilität“, „Mechano- und Kältesensibilität“). *Abbildung III.4* zeigt als Beispiel die Reizantworten von zwei spontanaktiven C-Fasern auf mechanische und thermische Reize: Die Entladungsrate der

A

A-Fasern



B

C-Fasern

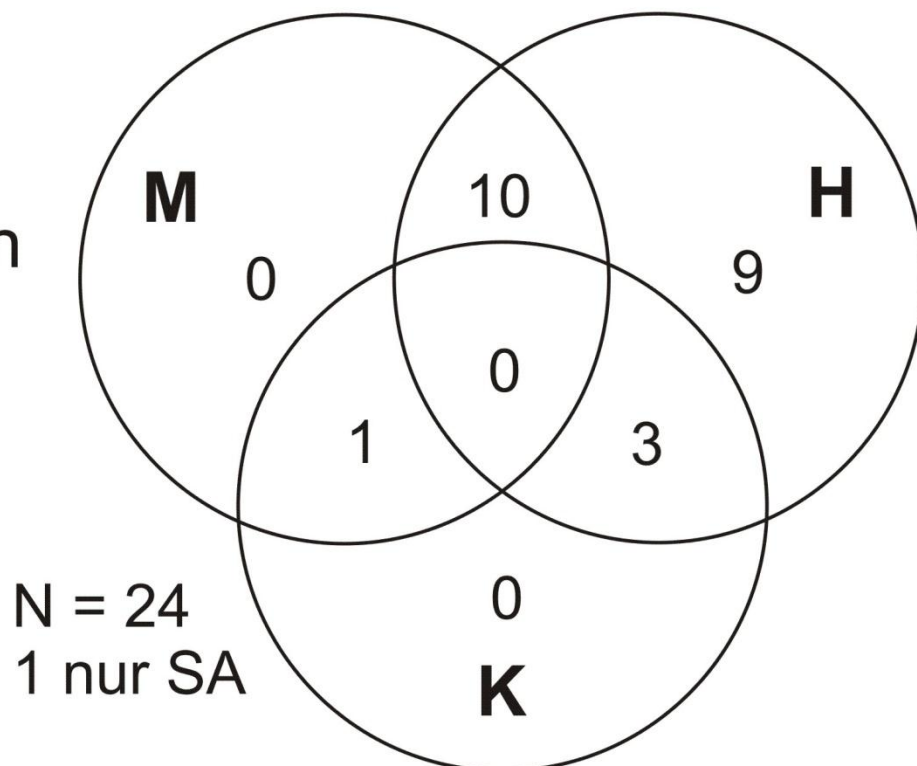


Abb. III.2 Verteilung der ektop evozierten Eigenschaften bei spontanaktiven Afferenzen. Verteilung der Eigenschaften der spontanaktiven (A) A- und (B) C-Fasern, die durch mechanische (M), kalte (K) und/oder heiße (H) Reize am Läsionsort erregt werden konnten. Eine C-Faser war nur spontanaktiv (SA). N, Anzahl der Fasern.



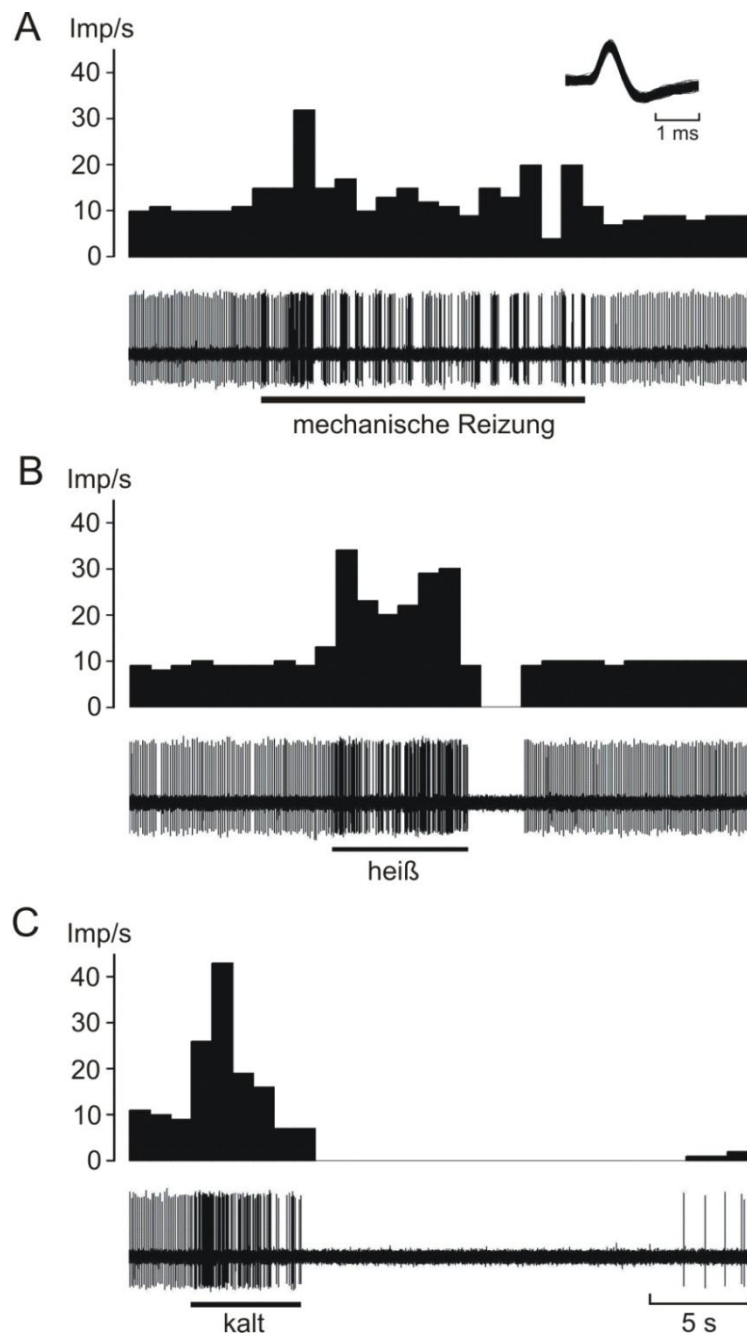


Abb. III.3 Originalaufnahmen einer spontanaktiven A-Faser (Leitungsgeschwindigkeit 22m/s), jeweils 30 Sekunden.

*A* Mechanische Reizung durch leichten Druck mit einem feinen Glasstab am Läsionsort.

*B* Hitzereiz durch Halten eines ca. 48°C heißen Metallstabes in die Nähe des Läsionsortes.

*C* Kältereiz durch Halten eines ca. 3°C kalten Metallstabes in die Nähe des Läsionsortes.

Die schwarzen Balken unter den Originalableitungen zeigen den Zeitraum der Reizung an. Jeweils über den Originalableitungen befinden sich die Histogramme der Entladungsraten in Impulsen/Sekunde (*Imp/s*). Das *Einsatzbild* zeigt die Originalform des Aktionspotentials mehrmals übereinander projiziert.

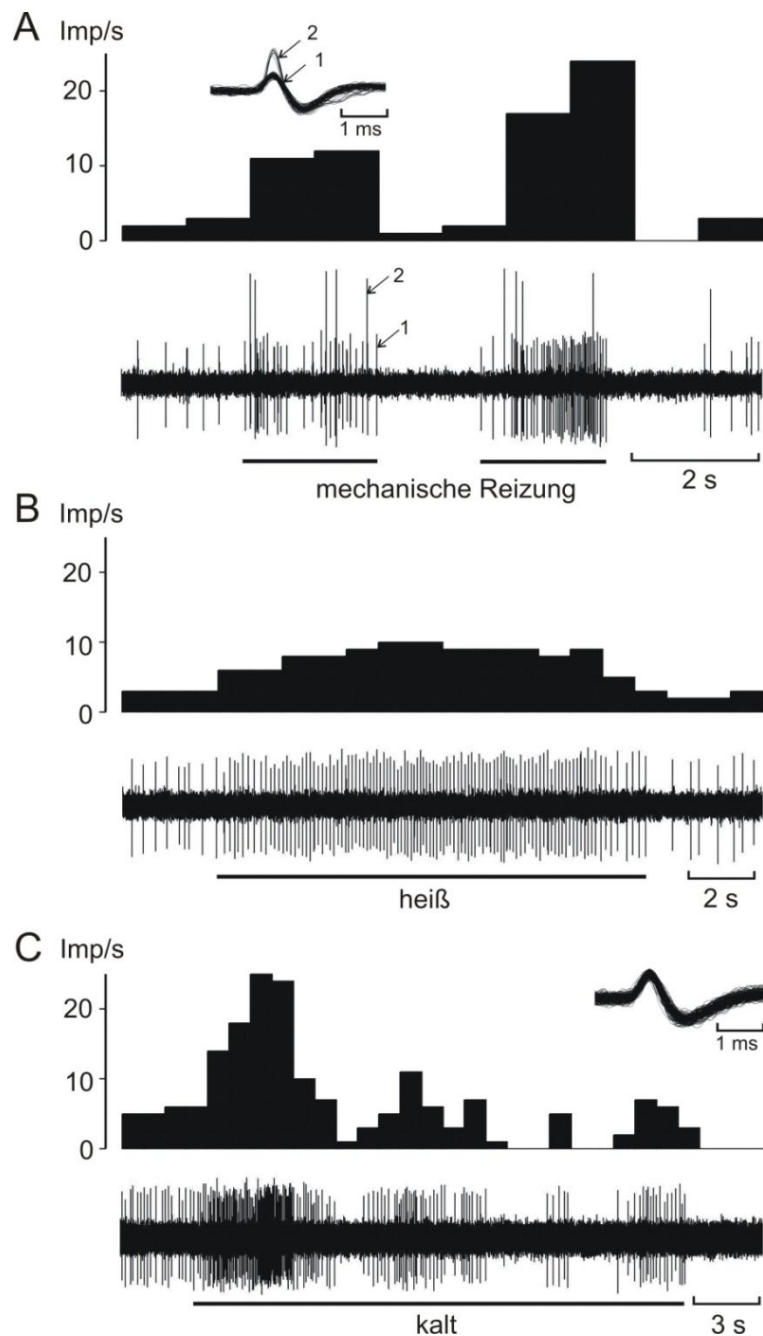


Abb. III.4 Originalaufnahme zweier spontanaktiver C-Fasern.

A Mechanische Reizung durch leichten Druck mit einem feinen Glasstab auf den Läsionsort. Das *Einsatzbild* zeigt die mit 1 beschriftete C-Faser (Leitungsgeschwindigkeit 0,72m/s). Die Faser 2 ist eine mechanosensible A-Faser. Die Bezeichnung der Originalaufnahme entspricht der des *Einsatzbildes*. Das Histogramm stellt nur die Entladungsraten von Faser 1 dar.

B Hitzereiz durch Halten eines ca. 48°C heißen Metallstabes in die Nähe des Läsionsortes. Die abgebildete Faser ist Faser 1 aus A.

C Kältereiz durch Halten eines ca. 3°C kalten Metallstabes in die Nähe des Läsionsortes. Das *Einsatzbild* zeigt die Originalform des Aktionspotentials (Leitungsgeschwindigkeit 0,54m/s) mehrere Male übereinander projiziert.

Die schwarzen Balken unter den Originalableitungen zeigen den Zeitpunkt der Reizung an. Jeweils über den Originalableitungen befinden sich die Histogramme der Entladungsraten in Impulsen/Sekunde (*Imp/s*).

Beachte die unterschiedlichen Zeitachsen.

spontanaktiven C-Faser (in *Abb. III.4A* mit 1 bezeichnet) erhöhte sich durch leichten Druck mit einem feinen Glasstab auf den Läsionsort und nahm nach Ende des Reizes vollständig ab. Das mit 2 bezeichnete Aktionspotential stellt eine nicht-spontanaktive A-Faser dar, die durch den mechanischen Reiz ebenfalls erregt wird. In *Abb. III.4B* sieht man die Zunahme der Entladungsrate der C-Faser aus *Abb. III.4A* bei Hitzereizung am Läsionsort. *Abb. III.4C* zeigt die Reaktion einer anderen C-Faser bei Kältereizung am Läsionsort. Es ist zu erkennen, wie der Kältereiz zunächst die Entladungsrate der Faser erhöht und sich daraufhin das Entladungsmuster verändert.

### *III.1.3 Entladungsmuster und -raten der spontanaktiven Muskelafferenzen*

Bei näherer Betrachtung der Spontanaktivität ließen sich sowohl bei A- als auch bei C-Fasern unterschiedliche Entladungsmuster erkennen. Eine Übersicht über die Verteilung der Entladungsmuster bei A- und C-Fasern geben *Tabelle III.1* und *Abb. III.6A*. Neben einer regelmäßigen Form (N=8), bei der das Intervall zwischen den Aktionspotentialen gleichmäßig blieb (s. *Abb. III.5A*), herrschte bei den A-Fasern ein salvenartiges Muster vor (N=13, s. *Abb. III.5C*): Unterschiedlich viele Aktionspotentiale mit hoher Entladungsrate waren gefolgt von Zeitabschnitten ohne Entladung. Eine Sonderform der Salven waren die Doubletten und Tripletten (N=6, s. *Abb. III.5D*). Dieses nur bei den A-Fasern sichtbare Entladungsmuster zeigte konstant zwei oder drei Aktionspotentiale gleichen Intervalls mit nachfolgender Pause. Die C-Fasern wiesen neben dem regulären (N=5) und dem salvenartigen Muster (N=2) am häufigsten unregelmäßige Entladungen auf (71% s. *Abb. III.6A* „irregulär“, für ein Beispiel einer C-Faser mit unregelmäßigen Entladungen s. *Abb. III.5B*).

Die Entladungsmuster spiegelten sich bei den A-Fasern auch in der Verteilung ihrer Entladungsraten wider: Die Fasern vom salvenartigen Entladungstyp zeigten niedrigere Entladungsraten von über 1 bis 15 Impulsen/Sekunde (Imp/s; Mittelwert  $\pm$  SEM,  $7 \pm 1$  Imp/s), die vom regulären Typ sowie Doubletten und Tripletten von über 10 bis zu über 35 Imp/s (reguläres Muster  $22 \pm 2,8$  Imp/s; Doubletten  $30 \pm 3,1$  Imp/s; *Abb. III.6B*). Bei den C-Fasern, die insgesamt niedrigere Entladungsraten aufwiesen als die A-Fasern (von 0,1 bis über 3 Imp/s), konnte kein Zusammenhang zwischen Entladungsmuster und -raten festgestellt werden (*Abb. III.6C*). Die Spontanaktivität vor Lidocaingabe wurde zu zwei Zeitpunkten aufgezeichnet, nämlich vor (Zeitintervall A) und nach (Zeitintervall B) elektrischer und physiologischer Testung (s. *Abb. II.2*), um zu zeigen, dass durch die Ableitung der Aktionspotentiale und die Testung auf elektrische und ektop evozierte Eigenschaften keine

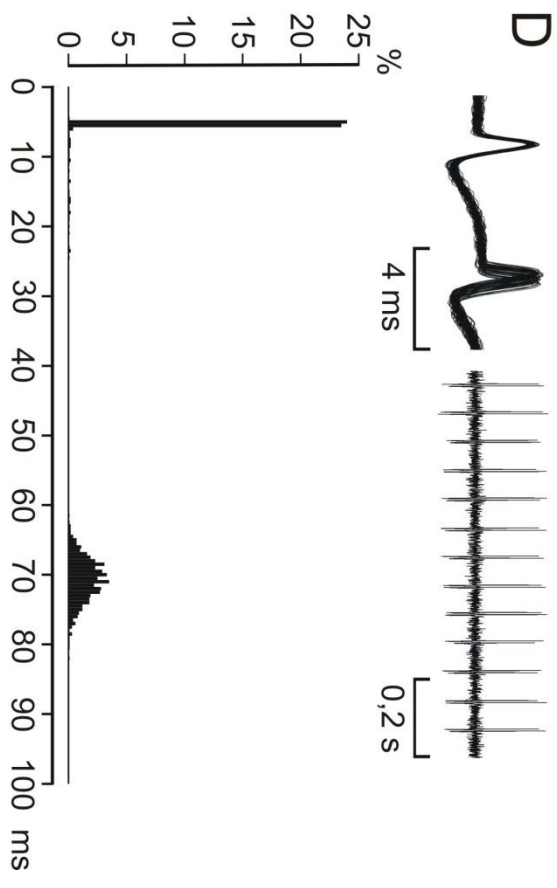
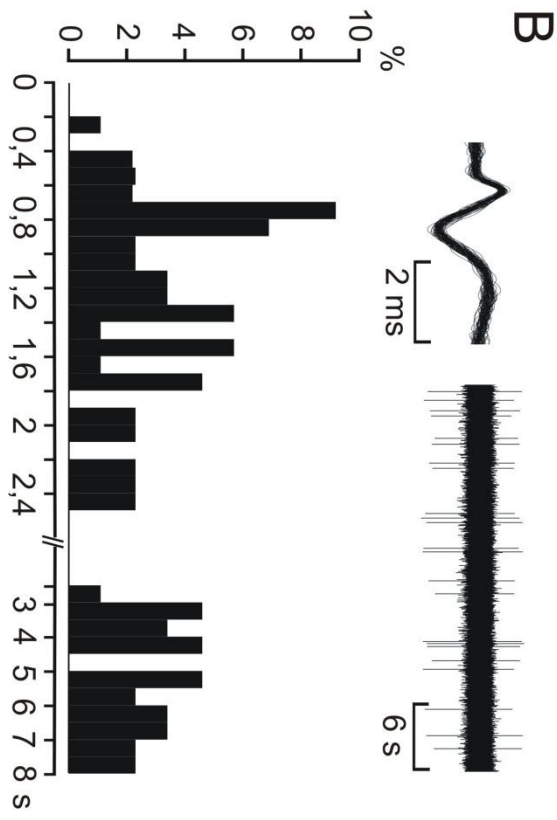
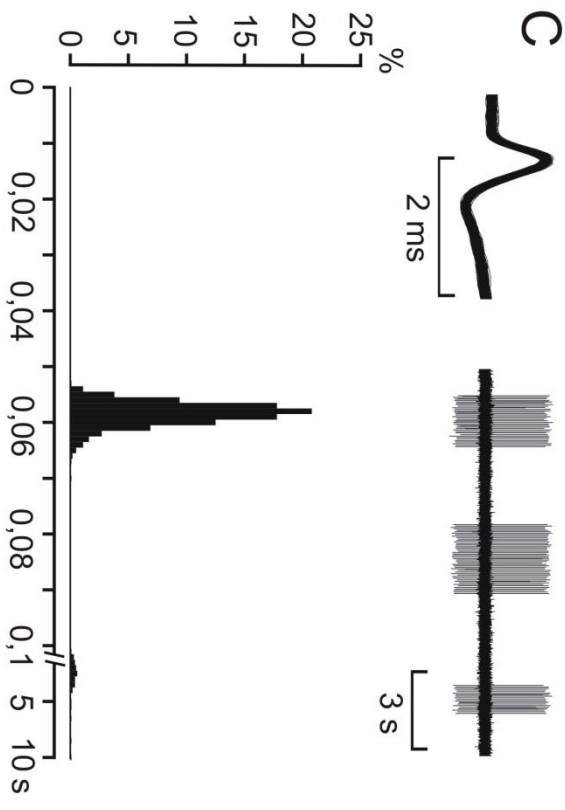
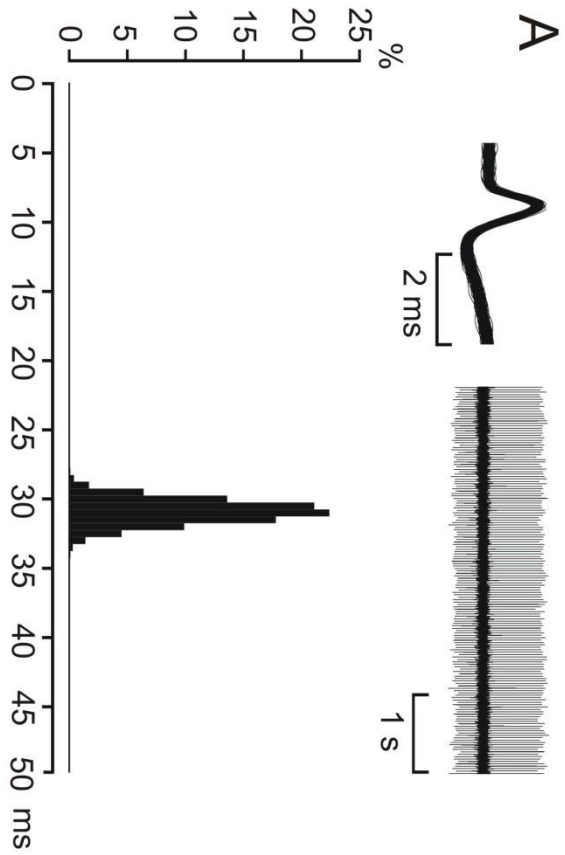
Abb. III.5 Originalaufnahmen und Interspike-Intervall-Histogramme als Beispiele für die verschiedenen Verteilungsmuster.

Originalaufnahmen (*Einsatzbilder rechts*) als Beispiele für die verschiedenen Verteilungsmuster und Interspike-Intervall-Histogramme (III) der jeweiligen Faser. III stellen die Verteilung der Intervalle (d.h. die zeitlichen Abstände) zwischen zwei Aktionspotentialen und deren Verteilung über einen bestimmten Zeitraum dar. Dieser Zeitraum betrug hier für alle III 4 Minuten. Beachte die unterschiedlichen Maßstäbe der III und der Original-aufnahmen. Die *Einsatzbilder links* zeigen die Originalform der Aktionspotentiale mehr-mals übereinander projiziert. A Reguläres Entladungsmuster, A-Faser. Das III zeigt 7724 Intervalle bei einer zeitlichen Auflösung von 0,5ms, d.h. ein Balken des Histogramms stellt 0,5ms dar. Es ist deutlich zu erkennen, dass dieses III nur einen Häufigkeitsgipfel aufweist, nämlich bei Intervallen von 28-34ms. Die Aktionspotentiale folgten also in einem regelmäßigen Abstand auf-einander, wie auch die Originalaufnahme zeigt.

B Irreguläres Entladungsmuster, C-Faser. Das III zeigt 87 Intervalle bei einer zeitlichen Auflösung von 0,1s bei Intervallen im Zeitraum bis 3 Sekunden und von 0,5s bei Intervallen im Zeitraum von 3 bis 8 Sekunden. Zwei Intervalle (2,3%) dauerten länger als 8 Sekunden. Es lässt sich kein eindeutiges Muster bei der Verteilung der Intervalle erkennen.

C Salvenartiges Entladungsmuster, A-Faser. Das III zeigt 1348 Intervalle bei einer zeitlichen Auflösung von 1ms bei Intervallen im Zeitraum bis 0,1 Sekunden und von 500ms bei Intervallen im Zeitraum von 0,1 bis 10 Sekunden. Zwei Intervalle (0,2%) dauerten länger als 10 Sekunden. Das III zeigt deutlich zwei Gipfel bei der Verteilung der Intervalle, nämlich zum einen bei Intervallen zwischen 53 und 67ms und zum anderen bei Intervallen zwischen 0,5 und 4s. Der erste Häufigkeitsgipfel mit 96% der Intervalle zeigt die Dauer zwischen zwei Aktionspotentialen innerhalb einer Salve von Entladungen (Intraburstintervalle). Diese Intervalle sind sehr regelmäßig. Der zweite Häufigkeitsgipfel beschreibt die Dauer zwischen zwei Salven von Entladungen (Interburstintervalle); diese variieren stärker als die Intraburstintervalle. Die Dauer zwischen zwei Salven kann also von einer halben bis zu mehreren Sekunden betragen.

D Doubletten, A-Faser. Das III zeigt 6452 Intervalle bei einer zeitlichen Auflösung von 0,5ms. Wie das III des salvenartigen Entladungsmusters zeigt auch dieses III zwei Häufigkeitsgipfel. Allerdings ist auffällig, dass der erste Gipfel bereits zwischen 5 und 5,5ms (48% der Intervalle) und der zweite Gipfel bereits zwischen 63 und 79ms (47% der Intervalle) zu beobachten ist. Der zeitliche Abstand zwischen den Aktionspotentialen innerhalb einer „Doublette“ (oder „Triplette“) ist also extrem kurz und sehr regelmäßig; auch die Dauer zwischen den „Doubletten“ ist vergleichsweise kurz. Hieraus resultieren die zum Teil sehr hohen Entladungsraten von Fasern dieses Entladungsmusters.



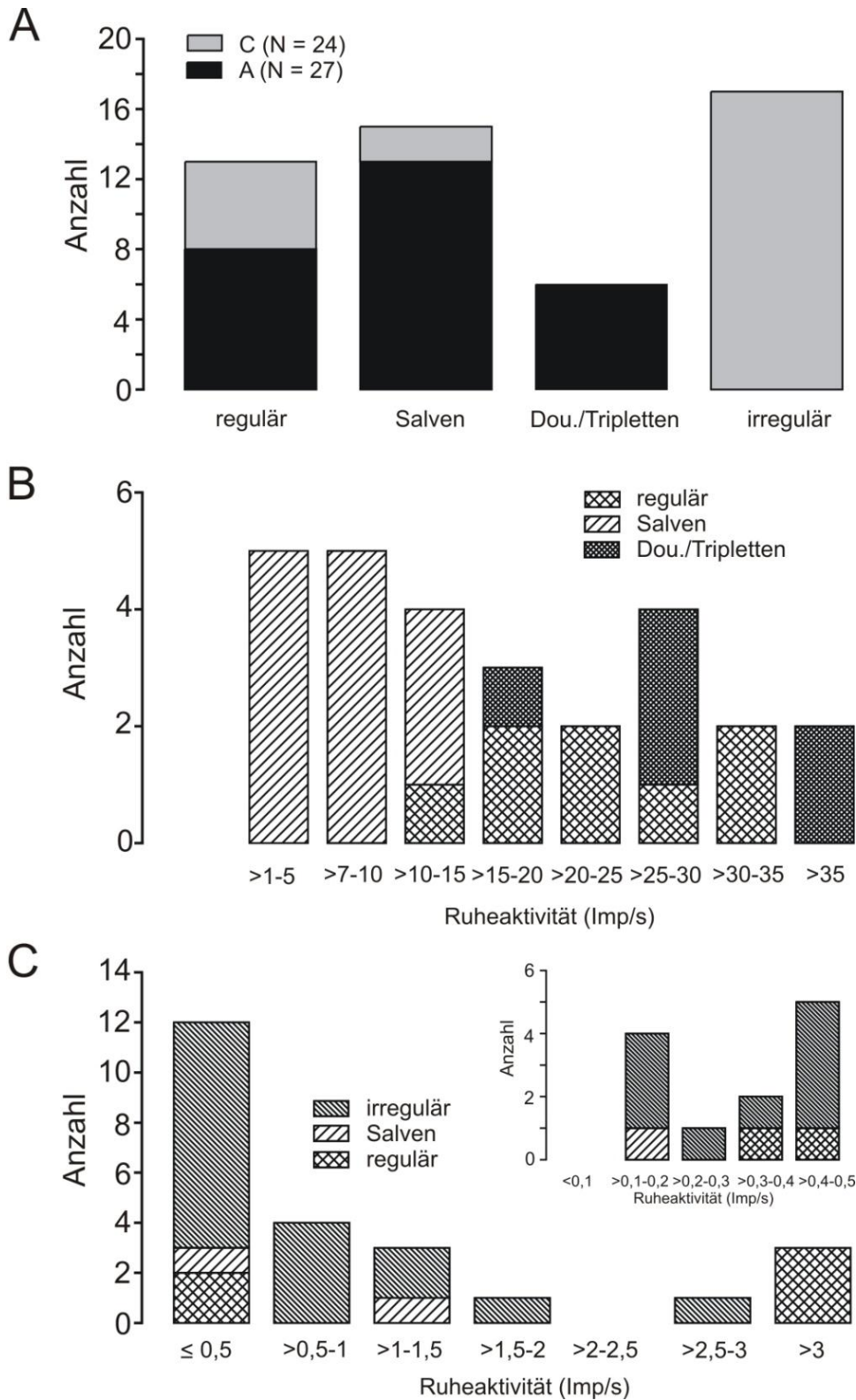


Abb. III.6 Verteilung der Entladungsmuster und Übersicht über die Entladungsraten.  
 A Verteilung der Entladungsmuster bei A- und C-Fasern. *N*, Anzahl der Fasern; *A*, A-Fasern; *C*, C-Fasern; *Dou.*, Doubletten.  
 B A-Fasern, Verteilung der Entladungsraten in Beziehung zu den Entladungsmustern. *Dou.*, Doubletten; *Imp/s*, Impulse/Sekunde.  
 C C-Fasern, Verteilung der Entladungsraten in Beziehung zu den Entladungsmustern. Das *Einsatzbild* zeigt die Verteilung der Entladungsmuster bei C-Fasern, die eine Ruheaktivität von weniger als 0,5 Imp/s aufwiesen.

Beeinflussung der Spontanaktivität stattfindet. Die Angaben zu Entladungsmustern und -raten beziehen sich auf die Spontanaktivität im Zeitintervall A; die Basisaktivität für die Lidocaintestung (s. Abschnitte III.2.1 bis III.5) bezieht sich auf Zeitintervall B (s. auch Abschnitt II.7). Die Entladungsraten beider Zeitintervalle unterschieden sich weder für A- noch für C-Fasern signifikant (Median/Bereich in Imp/s; P-Wert: A-Fasern Zeitintervall A 12,8/2,4-39,2 vs. Zeitintervall B 12,1/2,2-35,5;  $P > 0,05$ ; C-Fasern Zeitintervall A 0,63/0,12-4,02 vs. Zeitintervall B 0,75/0,1-3,62;  $P > 0,05$ ; Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test).

## **III.2 Untersuchung der Reaktion spontanaktiver Muskelafferenzen auf lokal appliziertes Lidocain (Gruppe A)**

### *III.2.1 Lokale Applikation von Lidocain bei spontanaktiven A-Fasern*

Zwölf spontanaktive A-Fasern wurden auf ihre Reaktion bei lokaler Applikation von 1, 10, 100 und 1000  $\mu\text{g/ml}$  Lidocain untersucht (s. *Abb. III.7A,B*). Der Versuchsablauf und die Auswertung der Daten erfolgte wie in den Abschnitten II.6.1 und II.7 beschrieben. *Abb. III.7A* zeigt die Höhe der Spontanaktivität der einzelnen Fasern vor und während der Applikation der verschiedenen Konzentrationen. Hieraus wird ersichtlich, dass die Spontanaktivität nur einer myelinisierten Faser durch die höchste Konzentration nicht gänzlich reduziert wurde; bei allen anderen Fasern war dies, z.T. schon bei 10  $\mu\text{g/ml}$ , der Fall. Die gemittelten Entladungsraten aller A-Fasern, bei denen Lidocain lokal appliziert wurde, sind in *Abb. III.7B* dargestellt. Hier zeigt sich eine relative Entladungsrate von  $4,9 \pm 4,8\%$  bei der höchsten Dosis. Die Reduktion der Spontanaktivität mittels lokal appliziertem Lidocain war dosisabhängig und für A-Fasern ab 10  $\mu\text{g}$  signifikant ( $P < 0,01$ ; ANOVA mit Messwiederholung).

Ein Beispiel für die Reaktion einer myelinisierten Faser auf lokal appliziertes Lidocain zeigt die *Abb. III.8*.

### *III.2.2 Lokale Applikation von Lidocain bei spontanaktiven C-Fasern*

Zwölf spontanaktive C-Fasern wurden auf ihre Reaktion bei Applikation von 1, 10, 100 und 1000  $\mu\text{g/ml}$  Lidocain untersucht (s. *Abb. III.7C,D*). Der Versuchsablauf und die Auswertung der Daten erfolgte wie in den Abschnitten II.6.1 und II.7 beschrieben. *Abb. III.7C* zeigt den Verlauf der Spontanaktivität der einzelnen Fasern vor und während der Applikation der verschiedenen Konzentrationen. Die Spontanaktivität aller Fasern wurde mit 1000  $\mu\text{g/ml}$

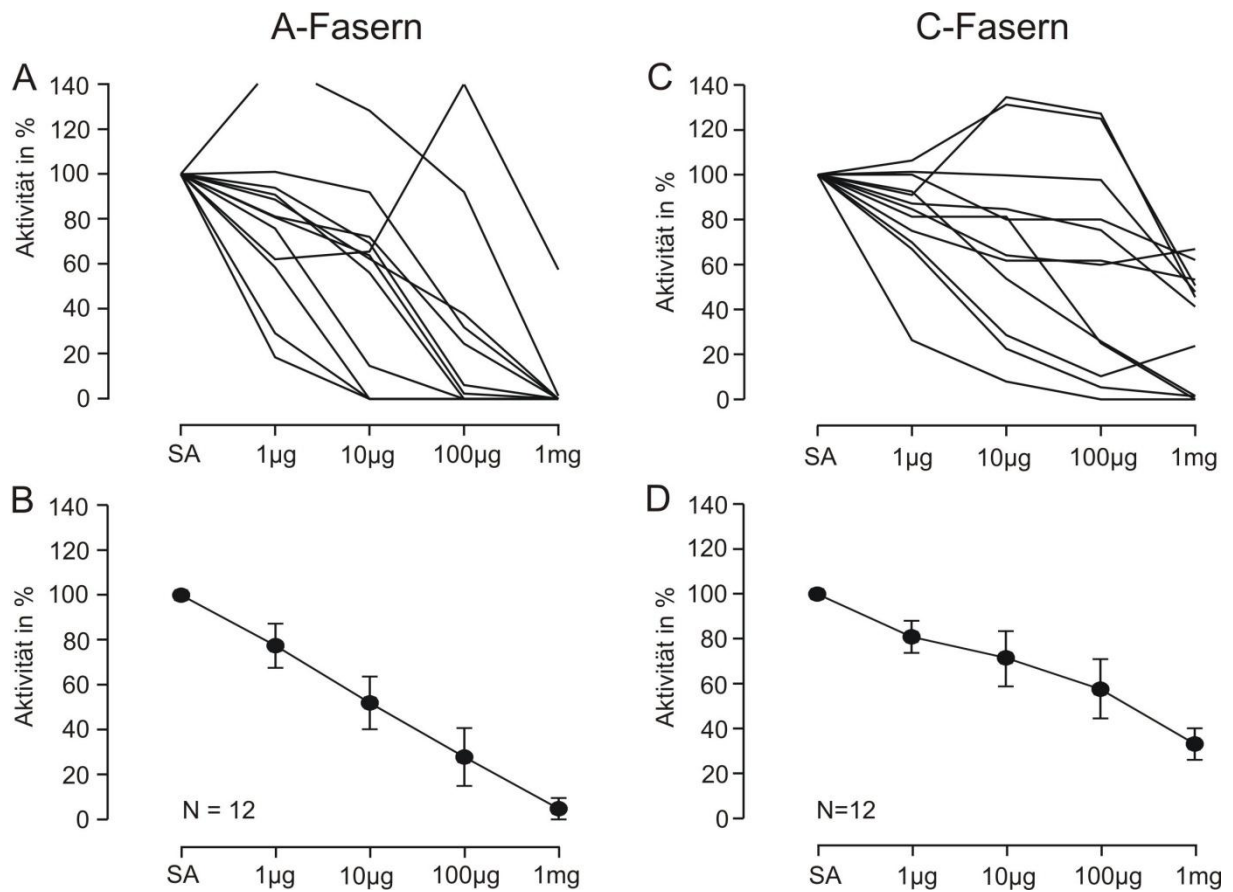


Abb. III.7 Reaktion von A- und C-Fasern auf lokal appliziertes Lidocain.

Spontanaktivität der Fasern vor (SA) und bei lokaler Applikation von 1, 10, 100 und 1000µg/ml Lidocain.

*A* Relative Spontanaktivität der einzelnen A-Fasern bei lokaler Applikation von Lidocain.

*B* Mittelwerte der relativen Spontanaktivität aller Fasern aus *A*. Mittelwerte  $\pm$  SEM.

*C* Relative Spontanaktivität der einzelnen C-Fasern bei lokaler Applikation von Lidocain.

*D* Mittelwerte der relativen Spontanaktivität der Fasern aus *C*. Mittelwerte  $\pm$  SEM.

*N*, Anzahl der Fasern.



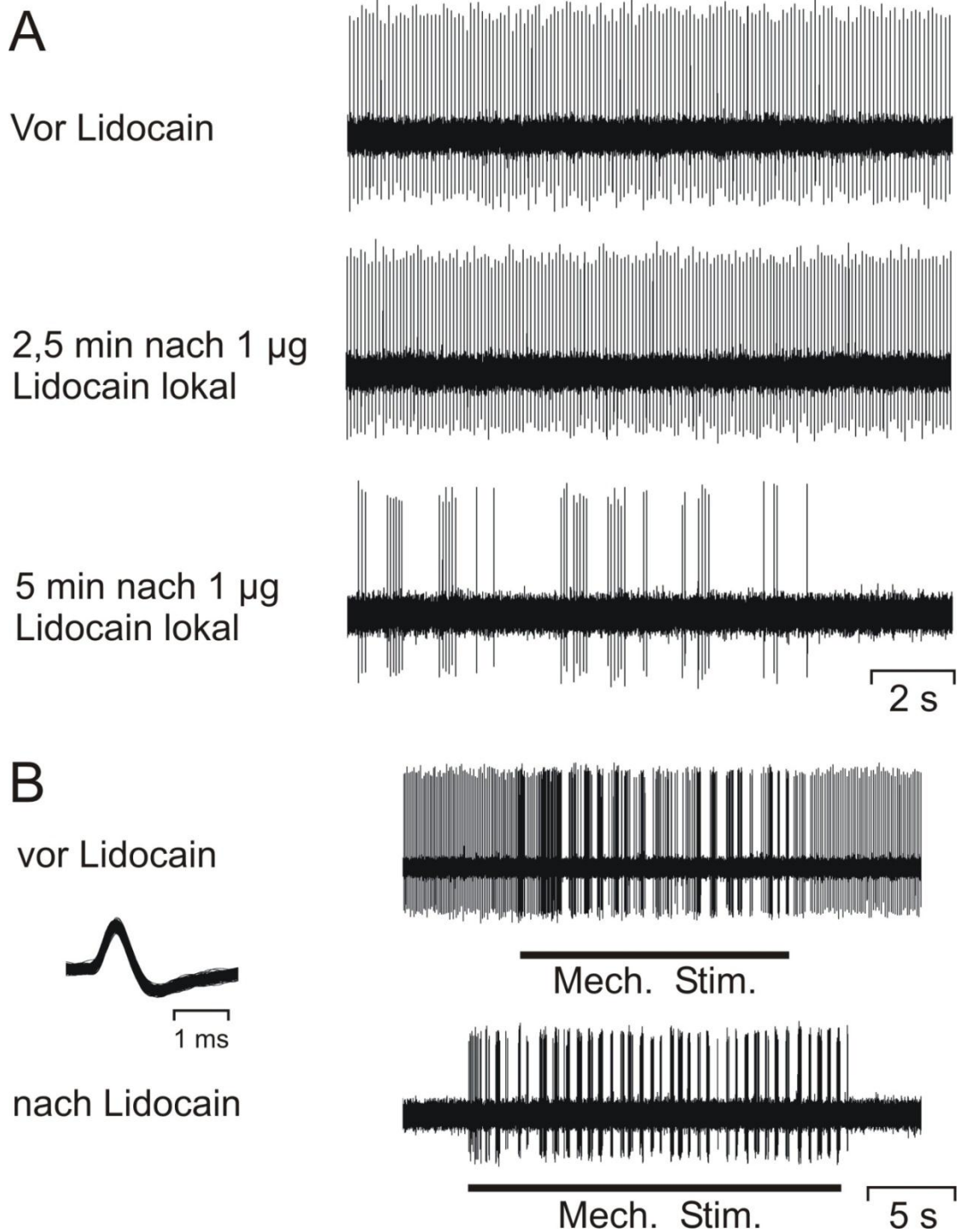


Abb. III.8 Beispiel der Reaktion einer spontanaktiven A-Faser auf lokal appliziertes Lidocain.

*A* Originalaufnahmen einer spontanaktiven A-Faser (Leitungsgeschwindigkeit 22 m/s; Entladungsrate 10,1 Impulse/Sekunde vor Lidocainapplikation) vor sowie 2,5 und 5 Minuten nach lokaler Applikation von 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  Lidocain.

*B* Mechanische Stimulation (*mech. Stim.*, Balken unter den Aufnahmen) mit einem Glasstab durch leichtes Drücken auf den Läsionsort vor und nach Lidocainapplikation. Das *Einsatzbild* zeigt die Originalform des Aktionspotentials mehrmals übereinander projiziert. *Min.*, Minuten.

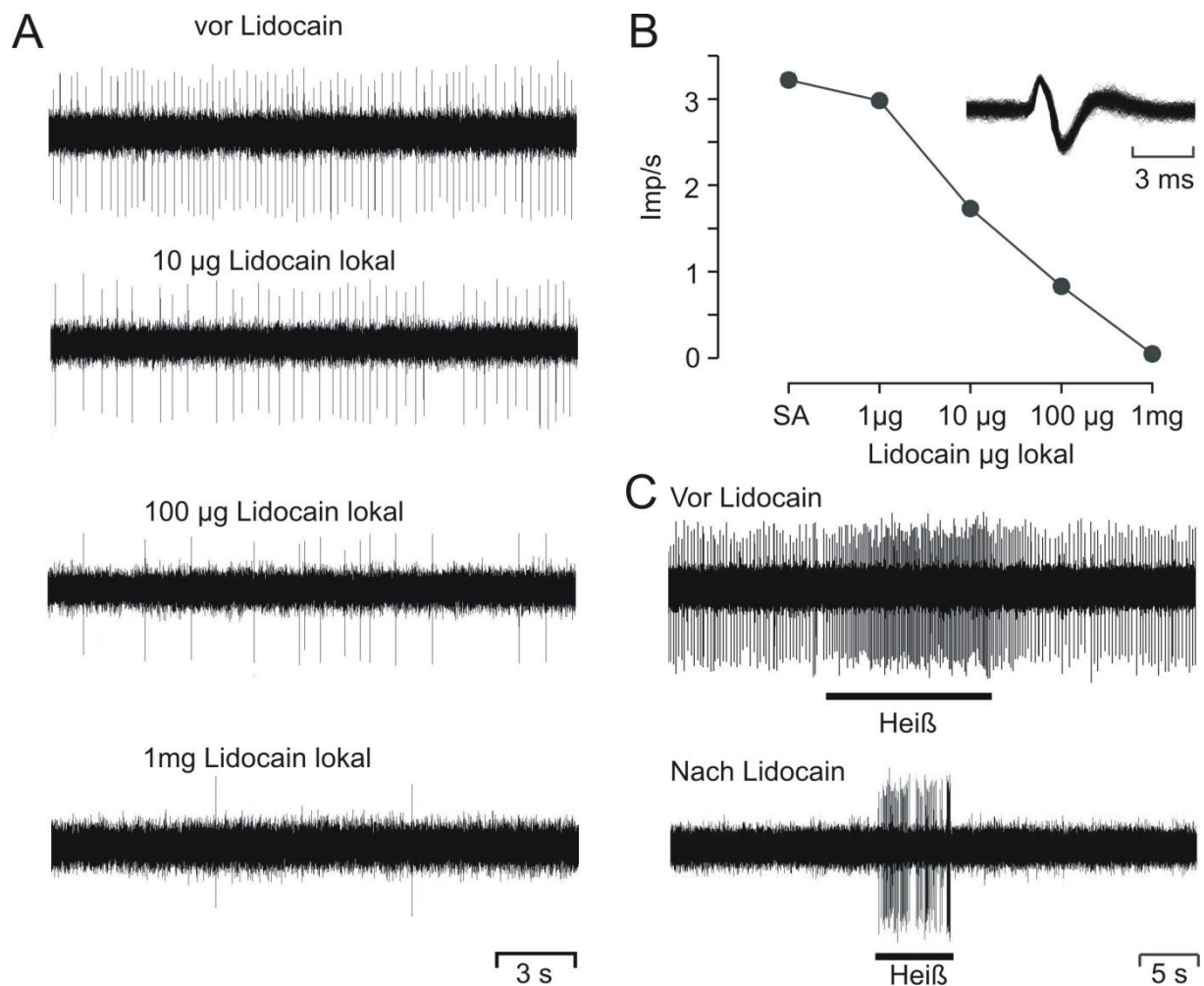


Abb. III.9 Beispiel der Reaktion einer spontanaktiven C-Faser auf lokal appliziertes Lidocain.

A Originalaufnahmen der Faser (Leitungsgeschwindigkeit 0,7m/s; Entladungsrate 3,22 Impulse/Sekunde vor Lidocainapplikation) vor und nach lokaler Applikation von 10, 100 und 1000µg/ml Lidocain.

B Entladungsraten der Faser vor (SA) und nach 1, 10, 100 und 1000µg/ml Lidocain. Das Einsatzbild zeigt die Originalform des Aktionspotentials mehrmals übereinander projiziert. Imp/s, Impulse/Sekunde.

C Hitzereiz am Läsionsort (Heiß, Balken unter den Aufnahmen) vor und nach Lidocainapplikation.

Lidocain um mindestens 30% reduziert; im Mittel betrug die Aktivität nach Applikation der Höchstdosis noch  $33 \pm 7,5\%$  der Ausgangsaktivität. Die mittleren relativen Entladungsraten aller C-Fasern, bei denen Lidocain lokal appliziert wurde, sind in *Abb. III.7D* dargestellt. Die Reduktion der Spontanaktivität mittels lokal appliziertem Lidocain war dosisabhängig und für C-Fasern ab 1mg/ml signifikant ( $P < 0,01$ ; ANOVA mit Messwiederholung).

Ein Beispiel für die Reaktion einer unmyelinisierten Faser auf lokal appliziertes Lidocain zeigt die *Abb. III.9*.

### **III.3 Untersuchung der Reaktion spontanaktiver Muskelafferenzen auf intravenös appliziertes Lidocain (Gruppe B)**

#### *III.3.1 Intravenöse Applikation von Lidocain bei spontanaktiven A-Fasern*

Zwanzig spontanaktive A-Fasern wurden auf ihre Reaktion bei intravenöser Applikation von 0,047, 0,157, 0,47, 1,57 und 4,7 mg/kg Lidocain untersucht (s. *Abb. III.10A,B*). Der Versuchsablauf und die Auswertung der Daten erfolgte wie in den Abschnitten II.6.2 und II.7 beschrieben. *Abb. III.10A* zeigt den Verlauf der Spontanaktivität der einzelnen Fasern vor und während der Applikation der verschiedenen Konzentrationen. Die unterbrochenen Linien stellen hier die Fasern mit den Entladungsmustern „Doubletten/Tripletten“ (N=6) dar, die durch die Gabe von Lidocain nicht beeinflusst wurden. Aus diesem Grund wurden in *Abb. III.10B* neben der Darstellung aller A-Fasern, bei denen Lidocain intravenös appliziert wurde (Kreise mit durchgehender Linie), Fasern mit dem Entladungsmuster „Doubletten/Tripletten“ (Quadrate mit unterbrochener Linie) und alle restlichen Fasern (Dreiecke mit unterbrochener Linie, N=14) getrennt aufgezeichnet. Im Mittel wurde die Spontanaktivität aller getesteten A-Fasern (N=20) durch 4,7 mg/kg Lidocain i.v. auf  $56 \pm 9\%$  reduziert; bei den Fasern der Entladungsmuster „Doubletten/Tripletten“ konnte die Höchstdosis die Aktivität auf maximal  $91 \pm 8,5\%$ , bei allen anderen Fasern auf  $41 \pm 9,9\%$  reduzieren. Die Reduktion der Spontanaktivität mittels intravenös appliziertem Lidocain war dosisabhängig und für die Gesamtpopulation der spontanaktiven A-Fasern ab 1,57 mg/kg signifikant ( $P < 0,05$ ; ANOVA mit Messwiederholung). Für die Fasern des Entladungsmusters „Doubletten/Tripletten“ konnte keine signifikante Reduktion der Spontanaktivität erreicht werden ( $P > 0,05$ ; ANOVA mit Messwiederholung), während die Spontanaktivität der restlichen Fasern schon bei einer Dosis von 0,047 mg/kg signifikant reduziert wurde ( $P < 0,05$ ; ANOVA mit Messwiederholung).

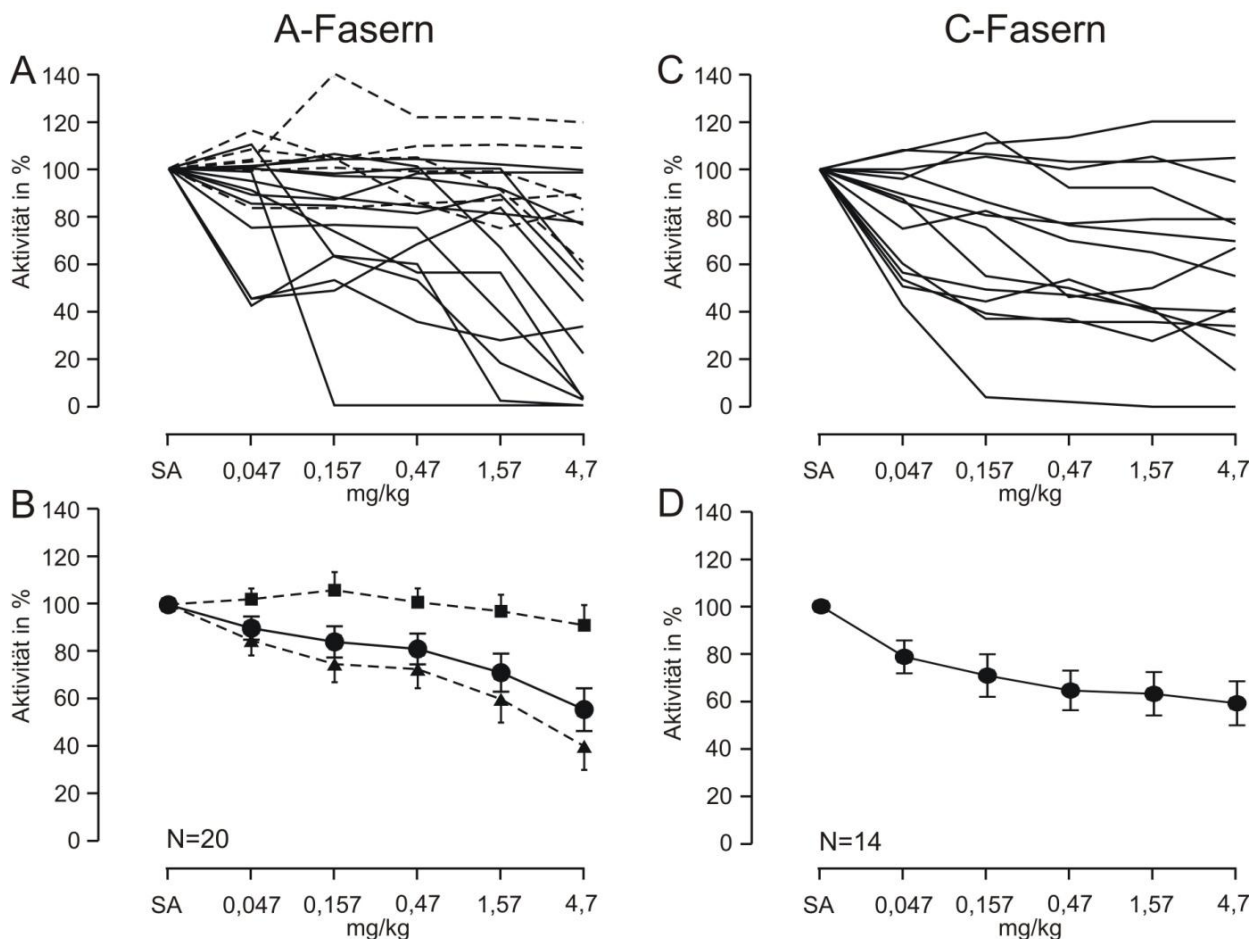


Abb. III.10 Reaktion von A- und C-Fasern auf intravenös appliziertes Lidocain.

Spontanaktivität der Fasern vor (SA) und nach intravenöser Applikation von 0,047, 0,157, 0,47, 1,57 und 4,7 mg/kg Lidocain.

A Relative Spontanaktivität der einzelnen A-Fasern bei intravenöser Applikation von Lidocain. Die unterbrochenen Linien stellen die Fasern dar, die sich in *Doubletten* oder *Tripletten* entluden.

B *Kreise mit durchgehender Linie*: Mittelwerte der relativen Spontanaktivität **aller** Fasern aus A. *Quadrate mit unterbrochener Linie*: Mittelwerte der relativen Spontanaktivität der Fasern, die sich in *Doubletten* oder *Tripletten* entladen haben (N=6). *Dreiecke mit unterbrochener Linie*: Mittelwerte der relativen Spontanaktivität der Fasern, die sich **nicht** in *Doubletten* oder *Tripletten* entladen haben (N=14). Mittelwerte  $\pm$  SEM.

C Relative Spontanaktivität der einzelnen C-Fasern nach intravenöser Applikation von Lidocain.

D Mittelwerte der relativen Spontanaktivität der Fasern aus C. Mittelwerte  $\pm$  SEM.

N, Anzahl der Fasern.

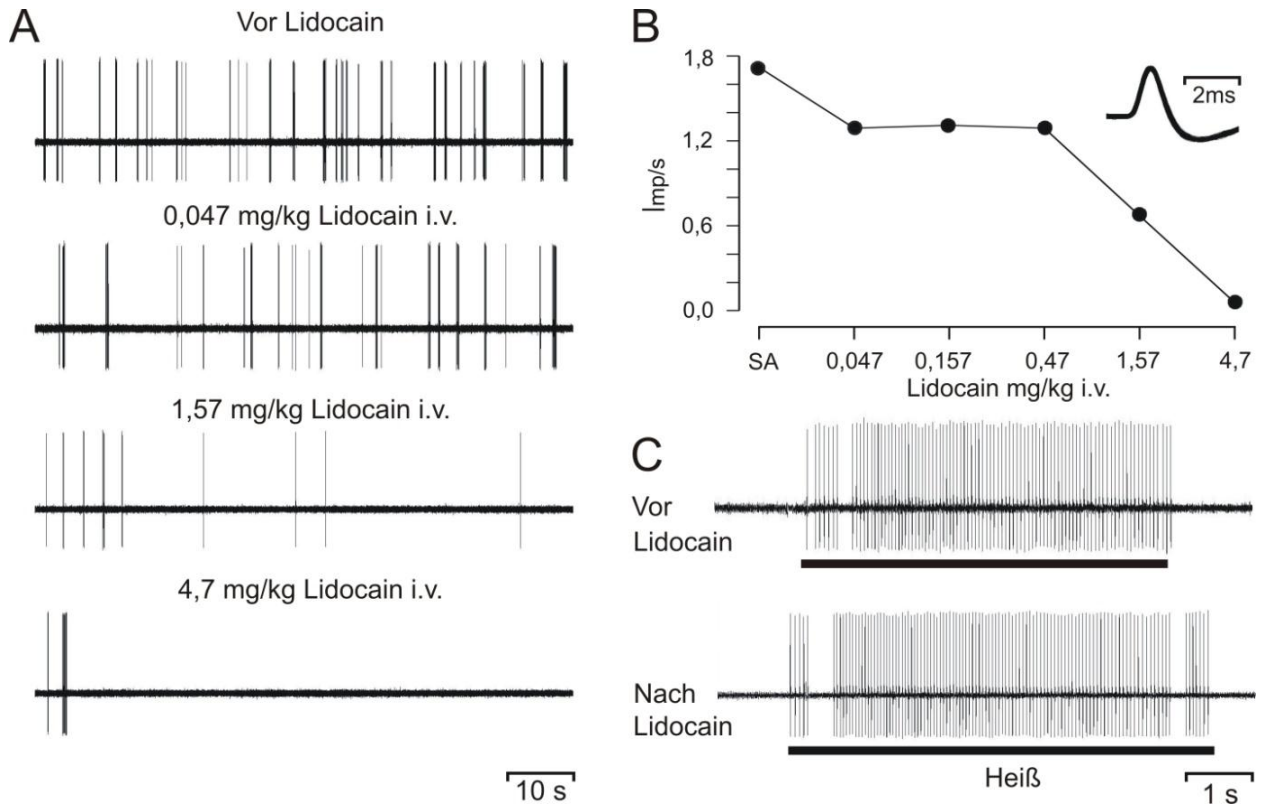


Abb. III.11 Beispiel der Reaktion einer spontanaktiven A-Faser auf intravenös appliziertes Lidocain.

A Originalaufnahmen der Faser (12m/s; 1,72 Impulse/Sekunde vor Lidocainapplikation) vor und nach 0,047, 1,57 und 4,7 mg/kg Lidocain.

B Entladungsraten der Faser vor (SA) und nach 0,047, 0,157, 0,47, 1,57 und 4,7 mg/kg Lidocain. Das *Einsatzbild* zeigt die Originalform des Aktionspotential mehrmals übereinander projiziert. Imp/s, Impulse/Sekunde.

C Hitzereiz am Läsionsort (*Heiß*, Balken unter den Aufnahmen) vor und nach Lidocainapplikation.

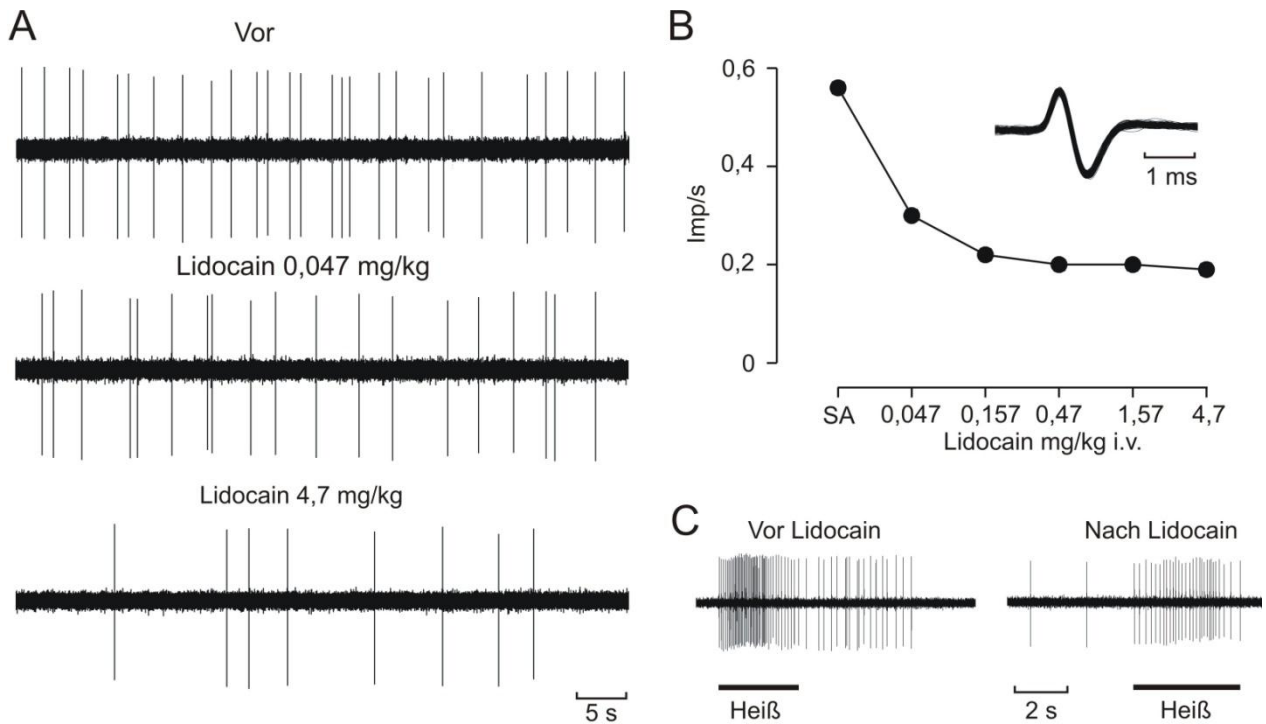


Abb. III.12 Beispiel der Reaktion einer spontanaktiven C-Faser auf intravenös appliziertes Lidocain.

A Originalaufnahmen der Faser (0,56 Imp/s vor Lidocainapplikation) vor und nach 0,047 und 4,7 mg/kg Lidocain.

B Entladungsraten der Faser vor (SA) und nach 0,047, 0,157, 0,47, 1,57 und 4,7mg/kg Lidocain. Das *Einsatzbild* zeigt die Originalform des Aktionspotential mehrmals übereinander projiziert. Imp/s, Impulse/Sekunde.

C Hitzereiz am Läsionsort (*Heiß*, Balken unter den Aufnahmen) vor und nach Lidocainapplikation.

Ein Beispiel für die Reaktion einer myelinisierten Faser auf intravenös appliziertes Lidocain zeigt die *Abb. III.11*.

### *III.3.2 Intravenöse Applikation von Lidocain bei spontanaktiven C-Fasern*

Vierzehn spontanaktive C-Fasern wurden auf ihre Reaktion bei intravenöser Applikation von 0,047, 0,157, 0,47, 1,57 und 4,7 mg/kg Lidocain untersucht (s. *Abb. III.10C,D*). Der Versuchsablauf und die Auswertung der Daten erfolgte wie in den Abschnitten II.6.2 und II.7 beschrieben. *Abb. III.10C* zeigt den Verlauf der Spontanaktivität der einzelnen Fasern vor und während der Applikation der verschiedenen Konzentrationen. Bei 60% der Fasern wurde mit 4,7 mg/kg Lidocain eine Reduktion ihrer Spontanaktivität um mindestens 30% erreicht; im Mittel betrug die relative Aktivität nach Injektion der Höchstdosis noch  $59 \pm 9,3\%$  der Ausgangsaktivität. Die gemittelten Entladungsraten aller C-Fasern, bei denen Lidocain intravenös appliziert wurde, sind in *Abb. III.10D* dargestellt. Die Reduktion der Spontanaktivität mittels intravenös appliziertem Lidocain war dosisabhängig und für C-Fasern ab 0,047 mg/kg signifikant ( $P < 0,05$ ; ANOVA mit Messwiederholung).

Ein Beispiel für die Reaktion einer unmyelinisierten Faser auf intravenös appliziertes Lidocain zeigt die *Abb. III.12*.

## **III.4 Ektop evozierte Eigenschaften der spontanaktiven Muskelafferenzen nach Lidocaintestung**

Bei allen untersuchten Fasern blieben die ektop evozierten Eigenschaften nach Lidocaintestung bestehen, auch wenn eine vollständige Reduktion der Spontanaktivität erfolgt war. Beispiele für die physiologische Reizung vor und nach Lidocainapplikation geben die *Abb. III.8, 9, 11* und *12*.

## **III.5 Unterschiede zwischen A- und C-Fasern in der Reaktion auf Lidocain**

Bei lokaler Lidocainapplikation zeigt sich eine signifikant stärkere Reduktion der Spontanaktivität bei A-Fasern im Gegensatz zu den C-Fasern ( $P < 0,01$  bei 1mg; Zwei-Stichproben-t-Test). Hinsichtlich der intravenösen Applikation von Lidocain bestand kein signifikanter Unterschied zwischen A- und C-Fasern.

### **III.6 Dauer der Reduktion von Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen nach einmaliger intravenöser Gabe von 9 mg/kg Lidocain (Gruppe C)**

Die zehn A-Fasern und vier C-Fasern der Versuchsgruppe C wurden elektrisch und hinsichtlich ihrer ektop evozierten Eigenschaften ebenso identifiziert und charakterisiert wie unter II.4 und II.5 beschrieben, gehen aber in die Auswertung in III.1.1 und 2 nicht mit ein. Sie entstammten alle dem LGS und zeigten Spontanaktivität.

Nach intravenöser Applikation von 9 mg/kg Lidocain wurde bei allen zehn A-Fasern die Spontanaktivität um mindestens 30% reduziert (s. *Abb. III.13A*). Diese Reduktion trat bei sieben von zehn Fasern innerhalb von drei Minuten nach Applikation auf (Zeitpunkt der Injektion = SA). Die Aktivität zweier von zehn A-Fasern blieb über die Dauer ihrer Aufzeichnung (25 und 50 Minuten) unter 70% der Ausgangsaktivität. Die mittlere Dauer für eine Reduktion der Spontanaktivität von mindestens 30% bei A-Fasern (N=8) betrug  $15,8 \pm 3,6$  min.

Mit einem intravenösen Bolus von 9 mg/kg Lidocain wurden vier C-Fasern getestet (s. *Abb. III.13B*); alle erfuhren eine Reduktion ihrer Spontanaktivität von mindestens 30%. Diese Reduktion trat bei drei C-Fasern innerhalb von drei Minuten nach Applikation (Zeitpunkt Injektion = SA) auf. Eine C-Faser erlangte innerhalb von 30 Minuten über 70% ihrer Ausgangsaktivität, bei den restlichen Fasern dauerte die Reduktion von mindestens 30% über einen Zeitraum von 50 Minuten oder mehr an. Hiernach wurde die Aufzeichnung angehalten. Eine starke Reduktion der Spontanaktivität (<50% der Ausgangsaktivität) ließ sich aber nur für maximal 30 Minuten nachweisen, danach stiegen die Entladungsraten wieder an.



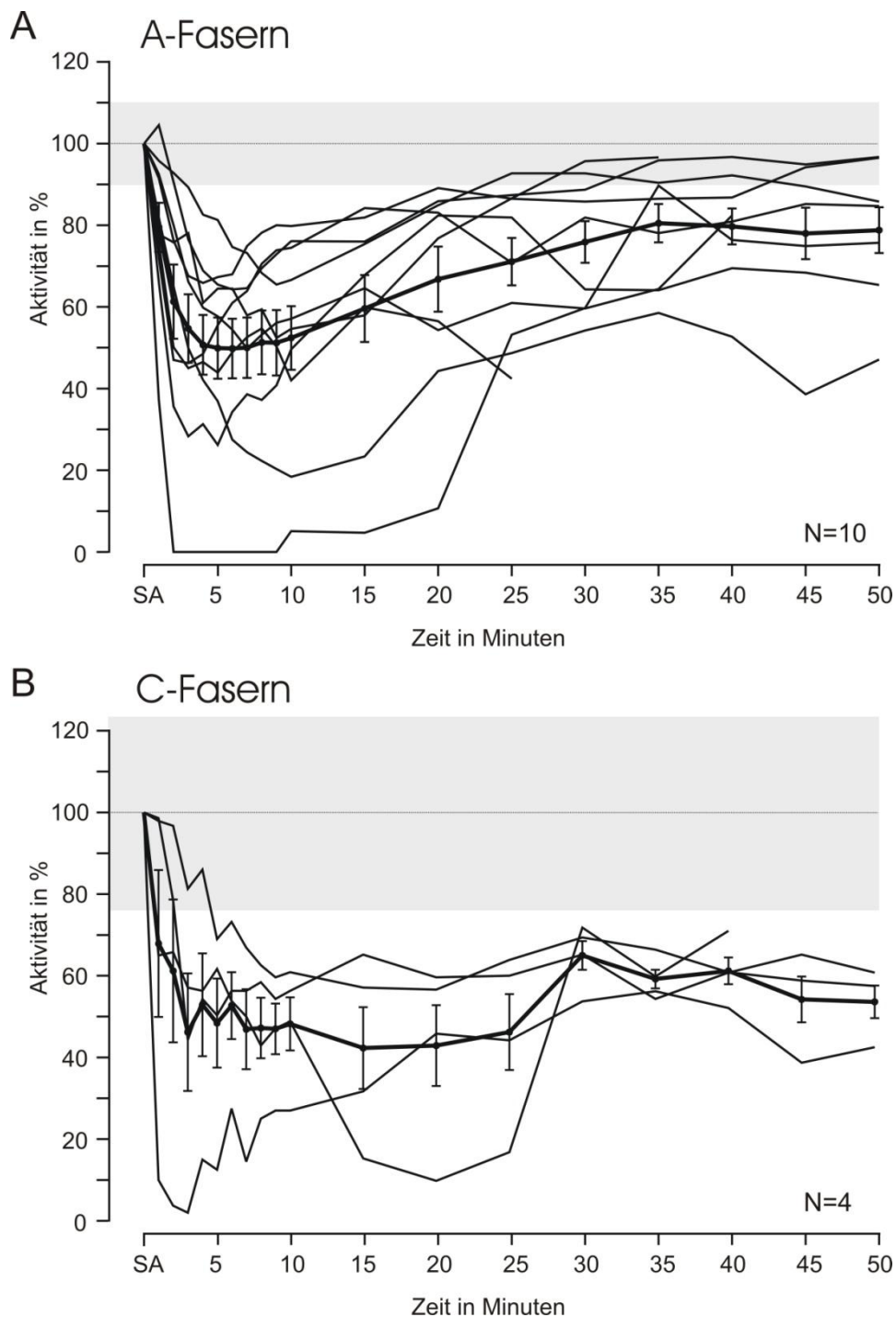


Abb. III.13 Dauer der Reduktion von Spontanaktivität nach intravenöser Lidocaininjektion. Reduktion der Spontanaktivität von zehn A-Fasern (A) und vier C-Fasern (B) nach einmaliger intravenöser Injektion von 9 mg/kg Lidocain. Die Spontanaktivität vor Injektion wurde über zehn Minuten gemittelt und gleich 100% gesetzt (SA). Desweiteren wurden die Entladungsraten zehn Minuten vor Injektion für *jedes* Minutenintervall errechnet, gemittelt und ebenfalls in Relation zu 100% gesetzt (waagerechte Linie). In dem grau unterlegten Bereich befinden sich 95,4% (Mittelwert  $\pm$  2 Standardabweichungen) aller für die Minutenintervalle errechneten Entladungsraten zehn Minuten vor Injektion. Die fettgedruckte Linie zeigt die gemittelten Werte aller A-/C-Fasern über Intervalle von einer beziehungsweise fünf Minuten nach Lidocaininjektion; der Fehlerindikator stellt den SEM dar.

## IV Diskussion

Klinische Untersuchungen an Patienten mit neuropathischen Schmerzzuständen haben gezeigt, dass der Einsatz von lokal appliziertem Lidocain als Gel oder Pflaster (Rowbotham et al 1995; Meier et al 2003) oder intravenös appliziertem Lidocain (Boas et al 1982; Edwards et al 1985; Kastrup et al 1987; Bach et al 1990; Marchettini et al 1992; Ferrante et al 1996; Galer et al 1996) eine Linderung der Schmerzen bewirken kann. Es wird vermutet, dass Lidocain zu einer Reduktion von Spontanaktivität, die in geschädigten afferenten Nervenfasern auftreten kann, führt, aber der genaue Mechanismus ist bislang unbekannt. Die vorliegende Arbeit sollte durch neurophysiologische Experimente an einem chronischen Nervenläsionsmodell der Ratte bestehende Erkenntnisse systematisch überprüfen und erweitern; ihre Ergebnisse sind:

1. Muskelafferenzen entwickeln 4-8 Tage nach Schädigung Spontanaktivität und Mechano- und Thermosensibilität am Läsionsort.
2. Sowohl lokal als auch intravenös appliziertes Lidocain kann die Spontanaktivität in geschädigten myelinisierten und unmyelinisierten Muskelafferenzen reduzieren, ohne einen Leitungsblock zu verursachen.
3. Die einmalige intravenöse Lidocaininjektion als Bolus kann die Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen für die Dauer von 16-30 Minuten reduzieren.

### IV.1 Welche spontanen und mechanisch oder thermisch erregten Impulsaktivitäten zeigen geschädigte Muskelafferenzen?

Zunächst mussten die Afferenzen, die Spontanaktivität und ektop evozierte mechanische und/oder thermische Sensibilität am Läsionsort zeigten, anhand der Größe und der Form ihres Aktionspotentials voneinander unterschieden und als myelinisiert oder unmyelinisiert identifiziert werden. Zusätzlich wurden ihre Leitungsgeschwindigkeiten mit Hilfe der elektrischen Reizung des N. gastrocnemius-soleus lateralis (LGS) ermittelt (s. *Abb. III.1*). Bemerkenswerterweise lassen sich, wie auch Waddell et al (1989) herausarbeiteten, bei den Leitungsgeschwindigkeiten über 2m/s nicht mehrere Gipfel feststellen (s. *Abb. III.1*). Dies wäre bei Vorliegen von weniger ( $A\delta$ -) und stärker myelinisierten ( $A\alpha$ -/ $A\beta$ -) Fasern zu erwarten, da mit zunehmender Myelinisierung auch die Leitungsgeschwindigkeit ansteigen

sollte. Eine eindeutige Unterscheidung zwischen A $\delta$ - und A $\alpha$ -/A $\beta$ -Fasern ergibt sich also auch durch die elektrische Reizung und die daraus folgende Ermittlung der Leitungsgeschwindigkeiten nicht, sodass die myelinisierten Fasern in dieser Arbeit weiterhin als A-Fasern zusammengefasst werden.

#### IV.1.1 Geschädigte Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Spontanaktivität.

Von allen durch die elektrische Testung identifizierten LGS-Afferenzen zeigten 32% der A- und 21% der C-Fasern 4-8 Tage nach Läsion Spontanaktivität. Bei Kirillova et al (2011) weisen 25% der Fasern des LGS 4-7 Tage nach Läsion Spontanaktivität auf. In der vorliegenden Arbeit wurden nur Filamente mit 1-3 spontanaktiven Fasern für die Untersuchung berücksichtigt. Damit weicht das Verfahren der Datengewinnung etwas von Kirillova et al (2011) ab, die jedes Filament mit Nervenfasern vom LGS untersucht haben. Dies kann den höheren Anteil von spontanaktiven A-Fasern an der Gesamtpopulation in der vorliegenden Untersuchung erklären, nicht jedoch die niedrigeren Zahlen bei den C-Fasern.

Im Vergleich zu intakten Muskelafferenzen ändern sich nach Nervenläsion die Häufigkeit von Spontanaktivität und die spontanen Entladungsraten. Spontanaktivität wird in intakten Muskelnerven bei unmyelinisierten und dünnen myelinisierten Afferenzen, nicht jedoch bei dicken myelinisierten Afferenzen beobachtet (Kumazawa und Mizumura 1977; Berberich et al 1988; Diehl et al 1993; Adreani et al 1997); die Angaben der Autoren zur Häufigkeit variieren allerdings stark (17-88%). Somit ist nicht klar, ob es im Vergleich zu intakten Muskelafferenzen zu einer Zunahme von Spontanaktivität bei unmyelinisierten und dünnen myelinisierten Afferenzen 4-8 Tage nach Läsion kommt. Unter den spontanaktiven A-Fasern fanden sich zwölf Afferenzen mit Leitungsgeschwindigkeiten über 20 m/s (s. Abb. III.1). Bei diesen Fasern muss von einer stärkeren Myelinisierung ausgegangen werden, obwohl nicht bewiesen werden kann, dass es sich hierbei um A $\alpha$ -/A $\beta$ -Fasern handelt. In diesem Fall wäre es 4-8 Tage nach Schädigung zur Ausbildung von Spontanaktivität in dicken myelinisierten Afferenzen gekommen, die in dieser Form in intakten Muskelafferenzen nicht nachzuweisen ist.

Die spontanen Entladungsraten in dünnen myelinisierten Muskelafferenzen scheinen 4-8 Tage nach Schädigung zuzunehmen. Die Untersuchungen an intakten Muskelafferenzen zeigen niedrige Entladungsraten für A $\delta$ - und C-Fasern, die nur selten über 1 Imp/s hinausgehen (Kumazawa und Mizumura 1977; Berberich et al 1988; Diehl et al 1993; Adreani et al 1997). Im Gegensatz dazu weisen die A-Fasern der vorliegenden Population

Entladungsraten von 2,3-38,7 Imp/s (Median 14,1 Imp/s) und die C-Fasern von 0,1-4,3 Imp/s (Median 0,55 Imp/s) auf.

Darüber hinaus zeigen die geschädigten Muskelafferenzen unterschiedliche Entladungsmuster nach Quetschläsion des LGS, die sich auch im CCI-Modell („chronic constriction injury-Modell“ von Bennett und Xie [1988]) entwickeln (Kajander und Bennett 1992) und deren Verteilung der von Kirillova et al (2011) ermittelten gleicht: Bei den A-Fasern trat am häufigsten ein reguläres Entladungsmuster auf, welches die höchsten Entladungsraten zeigte. Ebenso wies das reguläre Entladungsmuster bei den unmyelinisierten Fasern die höchsten Entladungsraten auf. In den meisten Fällen entlud sich die Spontanaktivität der C-Fasern ohne bestimmbares Muster („irregulär“). Unterschiedliche Entladungsformen bei geschädigten spontanaktiven Afferenzen sind nicht unbekannt: Viele Autoren haben reguläre, irreguläre und salvenartige Entladungen v.a. in myelinisierten Afferenzen nach Schädigung oder bei Myositis beschrieben (Berberich et al 1988; Devor et al 1992; Kajander und Bennett 1992; Diehl et al 1993; Liu, X., et al 2000; Kirillova et al 2011).

Ob die erhöhten Entladungsraten in dünnen myelinisierten Muskelafferenzen nach Nervenläsion und die verschiedenen Entladungsmuster einen Einfluss auf die Entwicklung von neuropathischen Schmerzsyndromen haben, z.B. durch zentrale Sensibilisierung durch salvenartige Spontanaktivität aus geschädigten Afferenzen, wie Liu, X., et al (2000) postulieren, bleibt weiterhin zu untersuchen. Spontanaktivität in dicken myelinisierten geschädigten Afferenzen und ihre potentielle Bedeutung für die Ausbildung und Unterhaltung von neuropathischen Schmerzen werden in Abschnitt IV.2.2 diskutiert.

#### *IV.1.2 Geschädigte spontanaktive Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Mechano-sensibilität.*

*A-Fasern.* Dicke myelinisierte Fasern innervieren Muskelspindeln und Golgisehnenorgane, über die sie an der Steuerung von Muskeldehnung und -kraft beteiligt sind. Dünne myelinisierte A $\delta$ -Fasern werden einerseits von leichter Berührung, leichtem Druck und physiologischer Kontraktion, andererseits aber auch von noxischen Reizen wie starkem Druck und unphysiologischer Dehnung oder Kontraktion erregt (Paintal 1960; Kumazawa und Mizumura 1977; Mense und Stahnke 1983; Mense und Meyer 1985; Diehl et al 1993; Mense 1993; Adreani et al 1997; Adreani und Kaufman 1998; Hayes et al 2005). So ist es nicht verwunderlich, dass 4-8 Tage nach Läsion 85% der spontanaktiven myelinisierten Muskelafferenzen Mechano-sensibilität zeigen. Dies entspricht den Angaben von Kirillova et

al (2011), die 4-7 Tage nach Läsion des LGS bei 91% der spontanaktiven A-Fasern Mechanosensibilität nachwiesen.

*C-Fasern.* 19% der unmyelinisierten Afferenzen des N. gastrocnemius sind empfindlich für nicht-noxische Berührung und 43% der afferenten unmyelinisierten Fasern gelten als nozizeptive Fasern (Mense und Meyer 1985). Letztere reagieren zum einen auf schmerzhaft mechanische Reize wie starken Druck, maximale Kontraktion oder unphysiologische Dehnung, zum anderen aber auch auf chemische Reize wie Bradykinin, Serotonin, Kalium und Adrenalin sowie auf hypertone Kochsalz-Lösung und Hypoxie (Mense und Meyer 1985; Adreani et al 1997; Mense 1993). In der Untersuchung von Mense und Meyer (1985) wurden alle nozizeptiven Fasern durch starke mechanische Reize erregt. Es muss also davon ausgegangen werden, dass mindestens 62% (19% nicht-nozizeptive und 43% nozizeptive Neurone, s.o.) der unmyelinisierten intakten Muskelafferenzen auf mechanische Reize reagieren. Betrachtet man die Daten von Kirillova et al (2011), so waren zu einem akuten Zeitpunkt (4-13 Stunden) nach Läsion des LGS 75% der afferenten C-Fasern am Läsionsort mechanosensibel, während es 4-7 Tage nach Läsion nur noch 50% waren. Darüberhinaus reagierten 4-7 Tage nach Läsion 44% der spontanaktiven C-Fasern auf mechanische Reize (Kirillova et al 2011); in der vorliegenden Arbeit waren es 46%. Da in der vorliegenden Untersuchung allerdings keine Reizschwellen ermittelt wurden, kann keine Aussage über den Anteil von nozizeptiven und nicht-nozizeptiven Fasern getroffen werden. *Es scheint also zu einer vorübergehenden Zunahme von Mechanosensibilität wenige Stunden nach Schädigung in unmyelinisierten Muskelafferenzen zu kommen*, die mehrere Tage nach Schädigung nachlässt oder sogar ihren Ausgangswert unterschreitet. Die Mechanismen für diese Zunahme an Mechanosensibilität, z.B. durch eine veränderte Ionenkanalzusammensetzung, und ihre potentielle Bedeutung für neuropathische Schmerzzustände sind unklar.

#### *IV.1.3 Geschädigte spontanaktive Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Hitzesensibilität.*

*A-Fasern.* In der vorliegenden Untersuchung waren 4-8 Tage nach Läsion des LGS 62% der spontanaktiven A-Fasern hitzesensibel, bei Kirillova et al (2011) waren es zum gleichen Zeitpunkt 70%. Ob intakte myelinisierte Muskelafferenzen Hitzesensibilität aufweisen, ist unklar: Kumazawa und Mizumura (1977) untersuchten sechs myelinisierte Afferenzen des N. gastrocnemius-soleus des Hundes, die alle von Hitzereizen bis 50°C erregt wurden. Mense und Meyer (1985) hingegen konnten bei der Katze keine myelinisierten hitzesensiblen Afferenzen im N. gastrocnemius-soleus nachweisen. Es könnten also spezie-spezifische

Unterschiede bestehen; Daten zur Hitzesensibilität bei intakten myelinisierten Muskelafferenzen der Ratte sind bisher nicht vorhanden. 4-13 Stunden nach Läsion des LGS der Ratte sehen Kirillova et al (2011) noch keine Hitzesensibilität in afferenten A-Fasern, dagegen lassen sich 52% der myelinisierten Afferenzen 4-7 Tage nach Läsion durch Hitzereize erregen. *Es scheint im Verlauf von Schädigung und Regeneration zu einer Zunahme von Hitzesensibilität in myelinisierten Muskelafferenzen zu kommen*, allerdings sind die Mechanismen (wie z.B. eine veränderte Zusammensetzung von Ionenkanälen) und eine potentielle Bedeutung für neuropathische Schmerzsymptome bisher unbekannt.

*C-Fasern.* 92% der spontanaktiven C-Fasern waren hitzesensibel. Taguchi et al (2005) sahen Hitzesensibilität in 41% der intakten C-Fasern des N. peroneus der Ratte, wobei allerdings angemerkt werden muss, dass Mechanosensibilität am Muskel Voraussetzung für die Auswahl der Fasern war, sodass Fasern, die ausschließlich thermosensibel waren, von der Untersuchung ausgeschlossen wurden und die Gesamtzahl der intakten unmyelinisierten Muskelafferenzen mit Hitzesensibilität größer sein könnte. Kirillova et al (2011) konnten keine signifikante Zunahme von Hitzesensibilität in geschädigten unmyelinisierten Afferenzen feststellen (53% 4-13 Stunden vs. 66% 4-7 Tage nach Schädigung des LGS). Betrachtet man die Hitzesensibilität bei spontanaktiven Afferenzen, sieht man zu einem frühen Zeitpunkt (4-13 Stunden) nach Schädigung, dass 56% der spontanaktiven C-Fasern auf Hitzereize reagieren; nach 4-7 Tagen sind es 74% (Kirillova et al 2011). *Spontanaktive unmyelinisierte Muskelafferenzen scheinen also, jedenfalls in Folge einer Läsion, einen größeren Anteil an Hitzesensibilität aufzuweisen als Fasern ohne spontane Entladungen.* Ob dieses Phänomen eine Bedeutung für die Entstehung oder Aufrechterhaltung von neuropathischen Schmerzsymptomen wie Hitzehyperalgesie hat, ist bislang unklar.

#### *IV.1.4 Geschädigte spontanaktive Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Kältesensibilität.*

*A-Fasern.* 73% der spontanaktiven A-Fasern konnten durch Kältereize erregt werden, was sich von den 69%, die Kirillova et al (2011) beschreiben, nicht wesentlich unterscheidet. Kältesensibilität in intakten myelinisierten Muskelafferenzen konnte bei der Katze gar nicht (Mense und Meyer 1985) und beim Hund in einer von sieben untersuchten Fasern nachgewiesen werden (14%, Kumazawa und Mizumura 1977); Daten von Ratten fehlen hier bislang. Kirillova et al (2011) weisen allerdings eine signifikante Zunahme von Kältesensibilität bei myelinisierten Muskelafferenzen im Laufe einer Schädigung nach: So konnte 4-13 Stunden nach Läsion des LGS noch keine afferente A-Faser durch Kältereize

erregt werden, 4-7 Tage nach Läsion waren es hingegen 63%. Ursächlich hierfür könnte vermehrte Expression und Einbau in die Zellmembran von Ionenkanälen wie TRPM8 oder TRPA1 sein, die für die Transduktion von Kältereizen verantwortlich sein sollen (Belmonte und Viana 2008).

*C-Fasern.* 17% der spontanaktiven C-Fasern waren kältesensibel. Obwohl die Bedeutung von Kältesensibilität für den Muskel unter physiologischen Umständen nicht bekannt ist, zeigten Taguchi et al (2005), dass 17% der intakten unmyelinisierten Muskelafferenzen durch Kältereize erregt werden konnten. Wie schon in Abschnitt IV.1.3 erwähnt, muss in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, dass rein thermosensible Fasern mit der angewandten Methodik (es wurden nur Fasern für die Untersuchung berücksichtigt, die mechanosensibel waren, Taguchi et al [2005]) nicht erfasst werden konnten und deshalb die Anzahl der intakten unmyelinisierten Muskelafferenzen mit Kältesensibilität größer sein könnte. Die Häufigkeit der afferenten C-Fasern, die kältesensibel sind, scheint nach Schädigung signifikant zuzunehmen, wie Kirillova et al (2011) zeigen: Zu einem frühen Zeitpunkt (3-14 Stunden) nach Schädigung des LGS sind 23% der afferenten C-Fasern kältesensibel, nach 4-7 Tagen 40%. Eine ähnliche Entwicklung der Kältesensibilität scheint für die spontanaktiven C-Fasern zu bestehen, da 3-14 Stunden nach Schädigung 12% der spontanaktiven C-Fasern von Kältereizen erregt werden können, während es nach 4-7 Tagen 39% sind (Kirillova et al 2011). Die Diskrepanz bei der Häufigkeit von Kältesensibilität in spontanaktiven geschädigten C-Fasern zwischen den Daten von Kirillova et al (2011) und der vorliegenden Arbeit (39% vs. 17%) kann in der größeren Stichprobe bei Kirillova et al (2011) begründet sein. Ursächlich für das *häufigere Auftreten von Kältesensibilität bei geschädigten unmyelinisierten Muskelafferenzen* kann, *wie auch bei den myelinisierten*, eine vermehrte Expression und ein gesteigerter Einbau von Ionenkanälen wie TRPM8 oder TRPA1 sein.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass durch Schädigung von Muskelafferenzen vermutlich die Häufigkeit und die Entladungsraten von Spontanaktivität ansteigen und, vor allem myelinisierte, Afferenzen zunehmend Thermosensibilität entwickeln; allerdings fehlen bislang Kontrolluntersuchungen an Ratten mit größeren Stichproben von intakten Muskelafferenzen.

## **IV.2 Wird die ektop erzeugte Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen durch lokal oder intravenös appliziertes Lidocain reduziert?**

*Lokal appliziertes Lidocain reduziert die Spontanaktivität von myelinisierten und unmyelinisierten geschädigten Afferenzen.* Dies wurde zuvor bereits durch Tanelian und MacIver (1991) nachgewiesen, die durch den Einsatz von lokalem appliziertem Lidocain an einem In-vitro-Präparat der Kaninchenkornea eine Reduktion von spontanen Entladungen erreichen konnten, die nach akuter Nervendurchtrennung registriert wurden. Desweiteren konnte mit der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass *intravenös appliziertes Lidocain die Spontanaktivität in geschädigten myelinisierten* (abgesehen von denen, die ein Doubletten/Tripletten-Entladungsmuster aufwiesen) und *unmyelinisierten Muskelafferenzen reduziert*. Dies bestätigt die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen, in denen nach intravenöser oder intraarterieller Gabe von Lidocain eine Reduktion von Spontanaktivität in geschädigten Afferenzen nachgewiesen wurde (Chabal et al 1989; Devor et al 1992; Sotgiu et al 1994; Omana-Zapata et al 1997; Abdi et al 1998). Allerdings muss darauf hingewiesen werden, dass die Afferenzen in diesen Untersuchungen größtenteils weder auf ihr Zielorgan (Haut oder tiefsomatische Gewebe) und ihre Leitungsgeschwindigkeit (es wurden nur wenige C-Fasern untersucht) noch auf ektop evozierte Eigenschaften getestet wurden. Die vorliegende Arbeit zeigt zum ersten Mal systematisch die dosisabhängige Reaktion von geschädigten myelinisierten und unmyelinisierten Muskelafferenzen, deren Mechano- und Thermosensibilität und Leitungsgeschwindigkeit zuvor bestimmt wurden, auf lokal und intravenös appliziertes Lidocain.

### *IV.2.1 Wie reduziert Lidocain die Spontanaktivität in geschädigten Afferenzen?*

Der genaue Mechanismus für das Entstehen von Spontanaktivität in geschädigten Afferenzen ist unbekannt; sicher scheint aber, dass eine *veränderte Zusammensetzung von spannungsabhängigen Natriumkanälen* ( $\text{Na}_V$ ; V, Voltage), die in der Membran von nozizeptiven Neuronen für die Vermittlung von noxischen Reizen verantwortlich sind, von großer Bedeutung ist (Waxman et al 2000; Wood et al 2004; Amir et al 2006; Cummins et al 2007; Navarro et al 2007). Nach Axotomie wird die Expression der Tetrodotoxin (TTX)-resistenten  $\text{Na}_V1.8$  und  $1.9$  und des TTX-sensiblen  $\text{Na}_V1.7$  im Spinalganglion herabreguliert, die des TTX-sensiblen  $\text{Na}_V1.3$  heraufreguliert (Waxman et al 2000; Wood et al 2004; Amir et al 2006; Cummins et al 2007; Navarro et al 2007). Der zuletzt genannte Kanal wird unter physiologischen Bedingungen ausschließlich auf Neuronen exprimiert, die sich in der



Entwicklung befinden, nach Axotomie ist er aber auch in der Membran von adulten Neuronen zu finden (Amir et al 2006; Cummins et al 2007). Auch Kaliumkanäle wie der KCNQ (ein neuronaler spannungsabhängiger Kalium-Kanal der Unterfamilie Q) sollen eine Rolle in der Entwicklung von Spontanaktivität in geschädigten Neuronen spielen (Navarro et al 2007). Unklar ist bislang, ob für die Entstehung und Aufrechterhaltung von Spontanaktivität ein einzelner Kanal oder eine Kombination von mehreren Kanälen nötig ist. Für mehr Klarheit könnte die Entwicklung selektiver Ionenkanal-Blocker sorgen. Lidocain ist hingegen nur ein unselektiver Natriumkanal-Blocker, dessen Wirkmechanismus bisher noch nicht vollständig geklärt ist. Vermutlich *bindet Lidocain an die spannungsabhängigen Natriumkanäle (s.o.), verringert ihre Öffnungswahrscheinlichkeit, verhindert so eine folgende Depolarisation* (Nau und Wang 2004) und kann auf diesem Wege die Spontanaktivität unterdrücken.

#### IV.2.2 *Wo wirkt Lidocain?*

Spontanaktivität kann, wie schon erwähnt, im Neurom, in den Spinalganglien geschädigter nozizeptiver und nicht-nozizeptiver Afferenzen und in intakten Nachbarneuronen von geschädigten Neuronen entstehen (Wu et al 2001; Roza et al 2003; Costigan et al 2009). *Neuropathische Tiermodelle* konnten zeigen, dass bei geschädigten afferenten Neuronen sowohl die *aus dem Spinalganglion* (Devor et al 1992; Sotgiu et al 1994; Omana-Zapata et al 1997; Abdi et al 1998) *als auch die periphere, vom Läsionsort ausgehende Spontanaktivität* (Chabal et al 1989; Devor et al 1992; Omana-Zapata et al 1997) durch die *intravenöse Gabe von Lidocain reduziert werden*. Devor et al (1992) konnten nachweisen, dass die Sensibilität für Lidocain im Spinalganglion fünf Mal so hoch ist wie in der Peripherie und dass die Reaktion auf Lidocain schon 5-20 Sekunden nach intravenöser Bolusgabe von Lidocain beginnt. Die Autoren erklären diesen schnellen Wirkeintritt mit einer fehlenden Bluthirnschranke am Spinalganglion und einer durchlässigen am Neurom (Devor et al 1992).

*Welche Spontanaktivität, ob die aus dem Spinalganglion oder die vom Läsionsort ausgehende, für die Entwicklung und Aufrechterhaltung von neuropathischen Schmerzen verantwortlich ist, wird ebenso kontrovers diskutiert wie die Frage, an welchem der beiden Orte intravenös appliziertes Lidocain seine schmerzlindernde Wirkung entfaltet. Desweiteren ist nicht auszuschließen, dass Lidocain über eine Wirkung im zentralen Nervensystem Schmerzen reduzieren kann* (Boas et al 1982; Abram und Yaksh 1994; Sotgiu et al 1994; Chaplan et al 1995; Puig und Sorkin 1995; Abdi et al 1998). Hierzu sollen einige Überlegungen folgen:

- Viele neurophysiologische Untersuchungen (Sotgiu et al 1994; Abdi et al 1998) und Verhaltensstudien (Abram und Yaksh 1994; Chaplan et al 1995; Abdi et al 1998, Sinnott et al 1999; Smith et al 2002; Araujo et al 2003) zum neuropathischen Schmerz wurden an Tiermodellen, nämlich dem „L5/L6 Spinal Nerve Ligation“- (SNL, Kim und Chung [1992]) und dem „Chronic Constriction Injury“-Modell (CCI, Bennett und Xie [1988]), durchgeführt. In diesen Untersuchungen wurde durch intravenöse Gabe von Lidocain entweder die Spontanaktivität reduziert oder es wurden die Anzeichen für neuropathische Schmerzsymptome (mechanische Allodynie, Hitzehyperalgesie, s.u.) vermindert: Im SNL-Modell konnte gezeigt werden, dass nach Läsion im Vergleich zum gesunden Tier schon ein geringerer mechanischer Reiz an der betroffenen Pfote des Tieres reicht, damit es die Pfote wegzieht. Die Autoren deuten dies als mechanische Allodynie (Kim und Chung 1992). Ähnliches gilt für das CCI-Modell, bei dem die Tiere im Vergleich zur Kontrolle einen starken thermischen Reiz (Hitze) kürzere Zeit an der betroffenen Pfote dulden. Die Autoren deuten dies als Hitzehyperalgesie (Bennett und Xie 1988). Nach intravenöser Gabe von Lidocain zeigte sich im SNL-Modell eine signifikant höhere mechanische Schwelle; es musste also mehr Kraft auf die betroffene Pfote ausgeübt werden, damit das Tier sie wegzog (Chaplan et al 1995; Abdi et al 1998; Sinnott et al 1999; Araujo et al 2003). Im CCI-Modell duldeten die Tiere den Hitzereiz an der betroffenen Pfote signifikant länger nach der intravenösen Injektion von Lidocain als im Vergleich zu NaCl-Lösung (Abram und Yaksh 1994; Smith et al 2002). Diese Phänomene (Erhöhung der mechanischen Schwelle und Zunahme der Hitzetoleranz) werden von den Autoren als Linderung der neuropathischen Schmerzsymptomatik (mechanische Allodynie und Hitzehyperalgesie) gewertet. *Für das SNL-Modell konnte nachgewiesen werden, dass nur myelinisierte Fasern Spontanaktivität entwickeln* (Liu, C.N., et al 2000; Liu, X., et al 2000). *Auch im CCI-Modell fanden Kajander und Bennett (1992) nur 3% (2 von 60 C-Fasern) unmyelinisierte Fasern mit Spontanaktivität.* Die Autoren erklären dies mit dem frühen Zeitpunkt der Untersuchung (1-3 Tage nach Läsion, Kajander und Bennett [1992]). *Trotzdem muss man die Frage stellen, ob die in diesen Modellen ausschließlich in A-Fasern auftretende Spontanaktivität für die Entwicklung von Verhaltensmustern, die als Zeichen für neuropathische Schmerzen gedeutet werden, verantwortlich sein kann.* Dies scheint bei der hohen Zahl von nozizeptiven und thermosensiblen unmyelinisierten Muskelafferenzen (43% nozizeptiv, 19% thermosensibel; Mense und Meyer [1985]) unwahrscheinlich, aber nicht ausgeschlossen:

Devor (2009) vertritt die Theorie, dass afferente A $\beta$ -Fasern, die unter physiologischen Umständen durch leichte Berührung erregt werden, nach Axotomie eine Phänotypänderung durchlaufen und so Spontanaktivität generieren und Substanz P synthetisieren können, welches normalerweise von nozizeptiven Neuronen als Neurotransmitter benutzt wird. Der Autor glaubt, dass die dicken myelinisierten Afferenzen auf diese Weise Schmerz und zentrale Übererregbarkeit hervorrufen können (Devor 2009). Hierzu kann es durch Veränderung von Strukturen des zentralen Nervensystems nach peripherer Nervenschädigung kommen, wodurch weitere Schmerzen induziert und aufrechterhalten werden.

- Liu, C.N., et al (2000) und Liu, X., et al (2000) zeigten, dass die Spontanaktivität, die im SNL-Modell entsteht, aus dem Spinalganglion stammt. Devor et al (1992) konnten die Spontanaktivität aus dem Spinalganglion (hier an einem Nervus-Ischiadikusläsionsmodell) mit intravenös appliziertem Lidocain reduzieren und benötigten hierfür sogar geringere Dosen als für die identische Reduktion der vom Läsionsort ausgehenden Spontanaktivität. Die Frage nach der Relevanz der Spontanaktivität aus dem Spinalganglion für die Entwicklung von neuropathischen Schmerzen wird hierdurch allerdings nicht geklärt und muss diskutiert werden: 1. Die intrathekale und lokale Applikation von Lidocain am Spinalganglion konnte die Anzeichen von mechanischer Allodynie im SNL-Modell (s.o.) nicht reduzieren (Chaplan et al 1995), wobei hier angemerkt werden muss, dass das Lidocain in beiden Fällen zu einem Leitungsblock führte, der ca. eine halbe Stunde andauerte und die Hinterläufe der Tiere so immobilisierte, dass eine Testung der mechanischen Reizschwelle an der betroffenen Pfote nicht möglich war (Chaplan et al 1995). Eine Schmerzreduktion während dieser Zeit ist also nicht auszuschließen und in Anbetracht der Dauer, für die die Spontanaktivität in myelinisierten Afferenzen durch intravenöses Lidocain in der vorliegenden Untersuchung (ca. 16 min) reduziert wird, nicht unwahrscheinlich. 2. Es bestehen gegensätzliche Erkenntnisse bezüglich des Verhaltens von Tieren, deren L5-Hinterwurzel nach Ausbildung von neuropathischem Schmerzverhalten im SNL-Modell durchtrennt wurde. Yoon et al (1996) sahen eine vollständige Aufhebung des Verhaltens, welches als neuropathische Schmerzen gedeutet wird. Eschenfelder et al (2000) konnten dies nicht bestätigen und beobachteten sogar neuropathisches Schmerzverhalten bei alleiniger Rhizotomie der L5-Hinterwurzel ohne Läsion des peripheren Nervens. Nach Rhizotomie der Hinterwurzel L5 kann die Spontanaktivität, die im SNL-Modell aus dem Spinal-

ganglion kommt, keine Rolle mehr spielen und ein Fortbestehen der Symptomatik, wie Eschenfelder et al (2000) sie fanden, könnte daraufhin deuten, dass *die Spontanaktivität im SNL-Modell nicht von entscheidender Bedeutung ist oder das Modell nicht für ein peripheres neuropathisches Schmerzsyndrom steht.*

- *Für eine wichtige Rolle der Spontanaktivität, die von einem peripheren Läsionsort stammt, und ihre Reduktion durch Lidocain im Rahmen von neuropathischen Schmerzsyndromen sprechen zum einen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und anderer neurophysiologischer Untersuchungen (Chabal et al 1989; Tanelian und MacIver 1991; Devor et al 1992; Omana-Zapata et al 1997) und zum anderen klinische Studien, die Lidocain-Pflaster oder -Gel erfolgreich in der Therapie der postherpetischen Neuralgie einsetzten (Rowbotham et al 1995; Galer et al 2002; Meier et al 2003; Davies und Galer 2004). In der vorliegenden Arbeit wurde das Lidocain direkt auf den Läsionsort appliziert und führte zu einer Reduktion von Spontanaktivität in myelinisierten und unmyelinisierten Muskelafferenzen. Wenn Lidocain als Gel oder Pflaster auf die Haut aufgetragen wird, die von postherpetischer Neuralgie betroffen ist, erscheint es denkbar, dass das Lidocain zum Läsionsort, der bei dieser Erkrankung in der Haut liegt, diffundiert. Mit Diffusion kann aber nicht der schmerzlindernde Effekt von 5%-Lidocain-Pflastern bei Patienten mit anderen neuropathischen Erkrankungen wie diabetischer Polyneuropathie und fokalen Neuropathien (Meier et al 2003; Argoff et al 2004) oder bei solchen mit nicht-neuropathischen Erkrankungen wie Arthrose (Gammaitoni et al 2004) oder chronischen Rückenschmerzen (Argoff et al 2004) erklärt werden, sondern durch eine systemische Wirkung des Lidocains. Allerdings muss daraufhin gewiesen werden, dass die erwähnten Untersuchungen keine Randomisierung, Verblindung und Placebokontrolle (Argoff et al 2004; Gammaitoni et al 2004) oder recht kleine Stichprobengrößen aufwiesen (nur 18 Patienten zeigten periphere neuropathische Schmerzsyndrome, deren Ursache keine postherpetische Neuralgie war; Meier et al [2003]).*

Um im Tiermodell eine signifikante Reduktion des neuropathischen Verhaltens durch intravenös appliziertes Lidocain zu bewirken, benötigt man Blutplasmaspiegel von 1,2 – 2,1µg/ml (Mao und Chen 2000); durch die Applikation 5%-Lidocain-Pflaster über mehrere Stunden werden aber nur Werte von 0,13 – 0,23µg/ml erreicht (Xiao und Bennett 2008). Mit Hilfe von Infusionspumpen erzeugten Xiao und Bennett (2008) ähnlich niedrige Lidocain-Blutplasmaspiegel (ca. 0,21µg/ml), die über sieben

Tage konstant aufrecht erhalten wurden. Sie zeigten anhand eines chronischen Entzündungsmodells (Injektion von komplettem Freund's Adjuvans in die Plantarfläche der Rattenpfote), dass auch bei diesen niedrigen Lidocain-Blutplasmaspiegeln die Anzeichen für neuropathische Schmerzen vermindert werden (Xiao und Bennett 2008). Es ist bisher unbekannt, wie es über einen längeren Zeitraum zur Reduktion von neuropathischen und nicht-neuropathischen Schmerzen mit Lidocain-Blutplasmaspiegeln kommen kann, die ein Zehntel der Werte betragen, die bei Bolus-Gabe oder Kurzinfusion zur Schmerzlinderung führen.

- *Einige Autoren halten es auch für möglich, dass der Grund für die schmerzlindernde Wirkung von Lidocain z.T. im zentralen Nervensystem liegen könnte* (Boas et al 1982; Sotgiu et al 1994; Amir et al 2006). Sotgiu et al (1994) fanden im CCI-Modell nicht nur Spontanaktivität aus dem Spinalganglion sondern auch in Zellen des zentralen Nervensystems im Hinterhorn, deren Entladungsraten nach Rhizotomie weiter zunahm und durch intravenöses Lidocain reduziert werden konnte. Nebenwirkungen von Lidocain, die schon bei geringen Blutplasmaspiegeln auftreten können (0,13µg/ml, Gammatoni et al 2003), wie z.B. Schläfrigkeit, Benommenheit, Verwirrtheit und Schwindel (Benowitz und Meister 1978), weisen darauf hin, dass das amphiphile Molekül Lidocain die Blut-Hirn-Schranke passieren kann.

#### *IV.2.3 Wie lange wirkt Lidocain?*

Die vorliegende Arbeit und andere Untersuchungen haben gezeigt, dass *intravenös appliziertes Lidocain für maximal eine halbe Stunde nach Injektion Spontanaktivität in geschädigten Afferenzen reduziert* (Devor et al 1992; Sotgiu et al 1994; Omana-Zapata et al 1997; Abdi et al 1998). Für eine kurze Wirkdauer spricht auch, dass bei Ratten der Blutplasmaspiegel von *Lidocain 5-10 Minuten nach Ende der intravenösen Injektion um die Hälfte sinkt und nach ca. 120 Minuten kein Lidocain im Blut mehr nachweisbar* ist (Kawai et al 1985). Benowitz und Meister (1978) weisen daraufhin, dass durch gleichzeitige Gabe von Pentobarbital hepatische Enzyme induziert werden und somit die Metabolisierung von Lidocain beschleunigt wird. Kawai et al (1985), die ihre Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Lidocain an anästhesierten Ratten durchgeführt haben, machen allerdings keine Angaben zur Wahl des Narkosemittels, sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass die Metabolisierung von intravenös appliziertem Lidocain durch Pentobarbital beschleunigt wurde und dass dadurch zu kurze Halbwertszeiten bestimmt wurden. *Für Menschen* ist eine *Halbwertszeit von 1,5-2 Stunden für Lidocain* beschrieben (Benowitz und Meister 1978).

Die Zeichen von neuropathischen Schmerzen, die sich nach peripherer Nervenschädigung in tierexperimentellen Verhaltensstudien mit neuropathischen Schmerzmodellen wie dem SNL- und dem CCI-Modell entwickeln (mechanische Allodynie, Hitzehyperalgesie, s. Abschnitt IV.2.2), nahmen nach intravenöser Gabe von Lidocain ab (Abram und Yaksh 1994; Chaplan et al 1995; Abdi et al 1998; Sinnott et al 1999; Smith et al 2002; Araujo et al 2003). *Interessanterweise dauerte diese mögliche Linderung neuropathischen Schmerzverhaltens bis zu 48 Stunden* (Abram und Yaksh 1994; Abdi et al 1998; Sinnott et al 1999) und bei Chaplan et al (1995) *bis zu drei Wochen nach Ende der Lidocaininfusion an*. Araujo et al (2003) untersuchten die Wirkdauer von Lidocain im SNL-Modell und fanden drei Phasen der Reduktion der Schmerzsymptomatik: 1. Die akute Phase (30 Minuten, was auch der Dauer der Infusion entspricht); 2. die späte Phase (bis sechs Stunden nach Infusion); 3. die anhaltende Phase (Beginn an Tag 3, bis zu 21 Tage nach Infusion anhaltend). Betrachtet man die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Arbeit, kann die verringerte Symptomatik nur in der akuten Phase mit der Reduktion von Spontanaktivität am Läsionsort durch Lidocain erklärt werden. *Bei Patienten mit unterschiedlichen peripheren neuropathischen Schmerzsyndromen findet man ebenso eine anhaltende Besserung ihrer Schmerzsymptomatik von bis zu drei Wochen nach Gabe von 5 mg/kg Lidocain i.v.* (Edwards et al 1985; Kastrup et al 1987). Auch dieser andauernde Effekt kann nicht mit der alleinigen Reduktion von Spontanaktivität in der Peripherie afferenter Nervenfasern erklärt werden. Die klinischen Untersuchungen, in denen intravenös appliziertes Lidocain neuropathische Schmerzen bei Patienten gelindert hat, besaßen entweder keine Randomisierung, Verblindung und Placebokontrolle (Edwards et al 1985) oder nur kleine Stichprobengrößen (Boas et al 1982; Kastrup et al 1987; Bach et al 1990; Marchettini et al 1992; Ferrante et al 1996; Galer et al 1996). Eine große randomisierte Doppelblindstudie könnte mehr Klarheit über den tatsächlichen Effekt von intravenös verabreichtem Lidocain bei neuropathischen Schmerzsyndromen bringen.

#### *IV.2.4 Fazit*

Neuropathische Schmerzen bei Patienten und neuropathisches Schmerzverhalten im Tiermodell werden durch intravenöse Gabe von 1,5-5 mg/kg Lidocain, welche vorübergehend zu Blutplasmakonzentrationen von 1,2 – 2,1 µg/ml führen, z.T. für Tage bis Wochen gelindert. Dieser positive Effekt von Lidocain wird häufig mit der Abnahme von Spontanaktivität in peripher geschädigten Afferenzen erklärt. Die vorliegende Arbeit zeigt in der Tat eine Reduktion von Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen, es sprechen jedoch

zwei Punkte dagegen, dass diese Reduktion hauptverantwortlich für eine anhaltende Schmerzreduktion ist: Einerseits beträgt die Halbwertszeit von Lidocain maximal zwei Stunden, sodass die oben genannten Blutplasmakonzentrationen nur kurz anhalten und Lidocain nach spätestens zehn Stunden aus dem Blut verschwunden sein sollte. Andererseits zeigt die vorliegende Arbeit zum ersten Mal systematisch, dass die Spontanaktivität in geschädigten Afferenzen nur für 16-30 Minuten reduziert wird. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und die diskutierten Gesichtspunkte zusammennehmend, lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

Schmerzreduktion durch Lidocain kann nur für eine frühe Phase (von ca. 30 Minuten nach intravenöser Injektion) durch eine Reduktion von peripherer Spontanaktivität erklärt werden. Einer anhaltenden Schmerzlinderung müssen noch andere, eventuell zentrale Mechanismen zugrunde liegen, die noch unbekannt sind. Um diese zu untersuchen, sollten weitere Verhaltensstudien an Tieren durchgeführt werden; allerdings besteht die Notwendigkeit für die Entwicklung anderer neuropathischer Schmerzmodelle, die die klinische Situation besser abbilden. Die Bedeutung des SNL-Modells, an dem die meisten der bestehenden Erkenntnisse gewonnen wurden, als Modell für periphere neuropathische Schmerzen ist kritisch zu betrachten. Desweiteren muss die Effektivität von intravenös oder lokal appliziertem Lidocain bei der Behandlung von Patienten mit peripheren neuropathischen Schmerzsyndromen wie für die mit nichtneuropathischen Erkrankungen (z.B. Arthrose und chronische Rückenschmerzen) in randomisierten Doppelblindstudien gesichert werden.

## V Zusammenfassung

Neuropathische Schmerzen können nach Schädigung des neuronalen Systems entstehen und chronisch verlaufen. Die intravenöse oder lokale Applikation von Lidocain kann neuropathische Schmerzen für Zeiträume von bis zu mehreren Tagen lindern, wie klinische Studien gezeigt haben. Verantwortlich für diesen positiven Effekt von Lidocain wird die Reduktion spontaner Aktionspotentialentladungen (Spontanaktivität) gemacht, die in den peripheren Afferenzen nach axonaler Schädigung entstehen kann. Unterstützt wird diese These durch die Ergebnisse tierexperimenteller elektrophysiologischer Untersuchungen und Verhaltensstudien. Die vorliegende Arbeit sollte diese Erkenntnisse erweitern, indem zum ersten Mal systematisch die Wirkung von lokal und intravenös appliziertem Lidocain auf die Spontanaktivität in geschädigten myelinisierten und unmyelinisierten Muskelafferenzen untersucht wurde. Die Ergebnisse dieser In-vivo-Untersuchung an Muskelafferenzen der Ratte 4-8 Tage nach Nervenläsion sind:

1. Geschädigte Muskelafferenzen zeigen 4-8 Tage nach Läsion Spontanaktivität und Mechano- und Thermosensibilität vom Läsionsort.
2. Spontanaktivität aus geschädigten Muskelafferenzen wird durch lokal und intravenös appliziertes Lidocain signifikant reduziert.
3. Die Reduktion der Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen erfolgt ohne Beeinträchtigung der Sensibilität für mechanische oder thermische Reize.
4. Die Spontanaktivität in myelinisierten Fasern wird durch lokales Lidocain signifikant stärker reduziert als die der unmyelinisierten Fasern.
5. Die mittlere Dauer der Reduktion der Spontanaktivität in geschädigten Muskelafferenzen durch die intravenöse Gabe von Lidocain beträgt für A-Fasern 16 Minuten, für C-Fasern ca. 30 Minuten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen die Theorie, dass Lidocain durch die Reduktion von Spontanaktivität in geschädigten Afferenzen zu einer Linderung von neuropathischen Schmerzen führen kann. Allerdings bestehen Zweifel, dass diese Lidocainwirkung für einen langfristigen schmerzlindernden Effekt verantwortlich ist, da die Reduktion der Spontanaktivität nur für kurze Zeit andauert. Um einen möglichen zentralen Wirkort oder andere Mechanismen der Lidocainwirkung erkennen zu können, werden weitere tierexperimentelle Verhaltensstudien mit besseren Modellen für neuropathische Schmerzsyndrome sowie große randomisierte Blindstudien an Patienten mit neuropathischen Schmerzen benötigt.



## VI Literaturverzeichnis

- Abdi S, Lee DH, Chung JM (1998) The anti-allodynic effects of amitriptyline, gabapentin, and lidocaine in a rat model of neuropathic pain. *Anesth Analg* 87:1360-1366.
- Abram SE, Yaksh TL (1994) Systemic lidocaine blocks nerve injury-induced hyperalgesia and nociceptor-driven spinal sensitization in the rat. *Anesthesiology* 80:383-391.
- Adreani CM, Hill JM, Kaufman MP (1997) Responses of group III and IV muscle afferents to dynamic exercise. *J Appl Physiol* 82:1811-1817.
- Adreani CM, Kaufman MP (1998) Effect of arterial occlusion on responses of group III and IV afferents to dynamic exercise. *J Appl Physiol* 84:1827-1833.
- Amir R, Argoff CE, Bennett GJ, Cummins TR, Durieux ME, Gerner P, Gold MS, Porreca F, Strichartz GR (2006) The role of sodium channels in chronic inflammatory and neuropathic pain. *J Pain* 7:S1-29.
- Araujo MC, Sinnott CJ, Strichartz GR (2003) Multiple phases of relief from experimental mechanical allodynia by systemic lidocaine: responses to early and late infusions. *Pain* 103:21-29.
- Argoff CE, Galer BS, Jensen MP, Oleka N, Gammaitoni AR (2004) Effectiveness of the lidocaine patch 5% on pain qualities in three chronic pain states: assessment with the Neuropathic Pain Scale. *Curr Med Res Opin* 20 Suppl 2:S21-S28.
- Bach FW, Jensen TS, Kastrup J, Stigsby B, Dejgard A (1990) The effect of intravenous lidocaine on nociceptive processing in diabetic neuropathy. *Pain* 40:29-34.
- Baron R (2006) Mechanisms of disease: neuropathic pain--a clinical perspective. *Nat Clin Pract Neurol* 2:95-106.
- Belmonte C, Viana F (2008) Molecular and cellular limits to somatosensory specificity. *Mol Pain* 4:14.
- Bennett GJ, Xie YK (1988) A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33:87-107.

- Benowitz NL, Meister W (1978) Clinical pharmacokinetics of lignocaine. *Clin Pharmacokinet* 3:177-201.
- Berberich P, Hoheisel U, Mense S (1988) Effects of a carrageenan-induced myositis on the discharge properties of group III and IV muscle receptors in the cat. *J Neurophysiol* 59:1395-1409.
- Blenk KH, Michaelis M, Vogel C, Jänig W (1996) Thermosensitivity of acutely axotomized sensory nerve fibers. *J Neurophysiol* 76:743-752.
- Blenk KH, Häbler HJ, Jänig W (1997) Neomycin and gadolinium applied to an L5 spinal nerve lesion prevent mechanical allodynia-like behaviour in rats. *Pain* 70:155-165.
- Blumberg H, Jänig W (1984) Discharge pattern of afferent fibers from a neuroma. *Pain* 20:335-353.
- Boas RA, Covino BG, Shahnarian A (1982) Analgesic responses to i.v. lignocaine. *Br J Anaesth* 54:501-505.
- Chabal C, Russell LC, Burchiel KJ (1989) The effect of intravenous lidocaine, tocainide, and mexiletine on spontaneously active fibers originating in rat sciatic neuromas. *Pain* 38:333-338.
- Chaplan SR, Bach FW, Shafer SL, Yaksh TL (1995) Prolonged alleviation of tactile allodynia by intravenous lidocaine in neuropathic rats. *Anesthesiology* 83:775-785.
- Costigan M, Scholz J, Woolf CJ (2009) Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu Rev Neurosci* 32:1-32.
- Cummins TR, Sheets PL, Waxman SG (2007) The roles of sodium channels in nociception: Implications for mechanisms of pain. *Pain* 131:243-257.
- Davies PS, Galer BS (2004) Review of lidocaine patch 5% studies in the treatment of postherpetic neuralgia. *Drugs* 64:937-947.
- Devor M, Wall PD, Catalan N (1992) Systemic lidocaine silences ectopic neuroma and DRG discharge without blocking nerve conduction. *Pain* 48:261-268.
- Devor M (2006) Sodium channels and mechanisms of neuropathic pain. *J Pain* 7:S3-S12.

Devor M (2009) Ectopic discharge in A $\beta$  afferents as a source of neuropathic pain. *Exp Brain Res* 196:115-128.

Diehl B, Hoheisel U, Mense S (1993) The influence of mechanical stimuli and of acetylsalicylic acid on the discharges of slowly conducting afferent units from normal and inflamed muscle in the rat. *Exp Brain Res* 92:431-440.

Djoughri L, Koutsikou S, Fang X, McMullan S, Lawson SN (2006) Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors. *J Neurosci* 26:1281-1292.

Edwards WT, Habib F, Burney RG, Begin G (1985) Intravenous Lidocaine in the Management of Various Chronic Pain States: A Review of 211 Cases. *Regional Anesth* 10:1-31.

Erlanger J, Gasser HS (1937) *Electrical signs of nervous activity*. Philadelphia: University of Pennsylvania Press.

Eschenfelder S, Häbler HJ, Jänig W (2000) Dorsal root section elicits signs of neuropathic pain rather than reversing them in rats with L5 spinal nerve injury. *Pain* 87:213-219.

Ferrante FM, Paggioli J, Cherukuri S, Arthur GR (1996) The analgesic response to intravenous lidocaine in the treatment of neuropathic pain. *Anesth Analg* 82:91-97.

Galer BS, Harle J, Rowbotham MC (1996) Response to intravenous lidocaine infusion predicts subsequent response to oral mexiletine: a prospective study. *J Pain Symptom Manage* 12:161-167.

Galer BS, Jensen MP, Ma T, Davies PS, Rowbotham MC (2002) The lidocaine patch 5% effectively treats all neuropathic pain qualities: results of a randomized, double-blind, vehicle-controlled, 3-week efficacy study with use of the neuropathic pain scale. *Clin J Pain* 18:297-301.

Gammaitoni AR, Alvarez NA, Galer BS (2003) Safety and tolerability of the lidocaine patch 5%, a targeted peripheral analgesic: a review of the literature. *J Clin Pharmacol* 43:111-117.

Gammaitoni AR, Galer BS, Onawola R, Jensen MP, Argoff CE (2004) Lidocaine patch 5% and its positive impact on pain qualities in osteoarthritis: results of a pilot 2-week, open-label study using the Neuropathic Pain Scale. *Curr Med Res Opin* 20 Suppl 2:S13-S19.

Gorodetskaya N, Grossmann L, Constantin C, Jänig W (2009) Functional properties of cutaneous A- and C-fibers 1-15 months after a nerve lesion. *J Neurophysiol* 102:3129-3141.

Graven-Nielsen T, Mense S, Arendt-Nielsen L (2004) Painful and non-painful pressure sensations from human skeletal muscle. *Exp Brain Res* 159:273-283.

Grossmann L, Gorodetskaya N, Baron R, Jänig W (2009) Enhancement of ectopic discharge in regenerating A- and C-fibers by inflammatory mediators. *J Neurophysiol* 101:2762-2774.

Grossmann L, Gorodetskaya N, Teliban A, Baron R, Jänig W (2009) Cutaneous afferent C-fibers regenerating along the distal nerve stump after crush lesion show two types of cold sensitivity. *Eur J Pain* 13:682-690.

Hayes SG, Kindig AE, Kaufman MP (2005) Comparison between the effect of static contraction and tendon stretch on the discharge of group III and IV muscle afferents. *J Appl Physiol* 99:1891-1896.

Hoffmann T, Sauer SK, Horch RE, Reeh PW (2008) Sensory transduction in peripheral nerve axons elicits ectopic action potentials. *J Neurosci* 28:6281-6284.

Hu P, McLachlan EM (2003) Selective reactions of cutaneous and muscle afferent neurons to peripheral nerve transection in rats. *J Neurosci* 23:10559-10567.

Jänig W, Grossmann L, Gorodetskaya N (2009) Mechano- and thermosensitivity of regenerating cutaneous afferent nerve fibers. *Exp Brain Res* 196:101-114.

Kajander KC, Bennett GJ (1992) Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A $\beta$  and A $\delta$  primary afferent neurons. *J Neurophysiol* 68:734-744.

Kastrup J, Petersen P, Dejgard A, Angelo HR, Hilsted J (1987) Intravenous lidocaine infusion--a new treatment of chronic painful diabetic neuropathy? *Pain* 28:69-75.

- Kawai R, Fujita S, Suzuki T (1985) Simultaneous quantitation of lidocaine and its four metabolites by high-performance liquid chromatography: application to studies on in vitro and in vivo metabolism of lidocaine in rats. *J Pharm Sci* 74:1219-1224.
- Kim SH, Chung JM (1992) An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 50:355-363.
- Kirilova I, Rausch VH, Tode J, Baron R, Jänig W (2011) Mechano- and thermosensitivity of injured muscle afferents. *J Neurophysiol* 105:2058-2073.
- Klusáková I, Dubový P (2009) Experimental models of peripheral neuropathic pain based on traumatic nerve injuries - an anatomical perspective. *Ann Anat* 191:248-259.
- Kumazawa T, Mizumura K (1977) Thin-fibre receptors responding to mechanical, chemical, and thermal stimulation in the skeletal muscle of the dog. *J Physiol* 273:179-194.
- Laursen RJ, Graven-Nielsen T, Jensen TS, Arendt-Nielsen L (1999) The effect of differential and complete nerve block on experimental muscle pain in humans. *Muscle Nerve* 22:1564-1570.
- Lawson SN, Waddell PJ (1991) Soma neurofilament immunoreactivity is related to cell size and fibre conduction velocity in rat primary sensory neurons. *J Physiol* 435:41-63.
- Liu CN, Wall PD, Ben-Dor E, Michaelis M, Amir R, Devor M (2000) Tactile allodynia in the absence of C-fiber activation: altered firing properties of DRG neurons following spinal nerve injury. *Pain* 85:503-521.
- Liu X, Eschenfelder S, Blenk KH, Jänig W, Häbler H (2000) Spontaneous activity of axotomized afferent neurons after L5 spinal nerve injury in rats. *Pain* 84:309-318.
- Lloyd DPC (1943) Neuron patterns controlling transmission of ipsilateral hind limb reflexes in cat. *J Neurophysiol* 6:293-315.
- Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, Zhao Q (1994) Trophism, tropism, and specificity in nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 10:345-354.
- Mao J, Chen LL (2000) Systemic lidocaine for neuropathic pain relief. *Pain* 87:7-17.

Marchettini P, Lacerenza M, Marangoni C, Pellegata G, Sotgiu ML, Smirne S (1992) Lidocaine test in neuralgia. *Pain* 48:377-382.

Marchettini P (1993) Muscle pain: animal and human experimental and clinical studies. *Muscle Nerve* 16:1033-1039.

Marchettini P, Simone DA, Caputi G, Ochoa JL (1996) Pain from excitation of identified muscle nociceptors in humans. *Brain Res* 740:109-116.

Meier T, Wasner G, Faust M, Kuntzer T, Ochsner F, Hueppe M, Bogousslavsky J, Baron R (2003) Efficacy of lidocaine patch 5% in the treatment of focal peripheral neuropathic pain syndromes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Pain* 106:151-158.

Mense S, Stahnke M (1983) Responses in muscle afferent fibres of slow conduction velocity to contractions and ischaemia in the cat. *J Physiol* 342:383-397.

Mense S, Meyer H (1985) Different types of slowly conducting afferent units in cat skeletal muscle and tendon. *J Physiol* 363:403-417.

Mense S, Meyer H (1988) Bradykinin-induced modulation of the response behaviour of different types of feline group III and IV muscle receptors. *J Physiol* 398:49-63.

Mense S (1993) Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. *Pain* 54:241-289.

Mense S (2003) [What is different about muscle pain?]. *Schmerz* 17:459-463.

Michaelis M, Liu X, Jänig W (2000) Axotomized and intact muscle afferents but no skin afferents develop ongoing discharges of dorsal root ganglion origin after peripheral nerve lesion. *J Neurosci* 20:2742-2748.

Mitchell JH, Kaufman MP, Iwamoto GA (1983) The exercise pressor reflex: its cardiovascular effects, afferent mechanisms, and central pathways. *Annu Rev Physiol* 45:229-242.

Nau C, Wang GK (2004) Interactions of local anesthetics with voltage-gated Na<sup>+</sup> channels. *J Membr Biol* 201:1-8.

Navarro X, Vivo M, Valero-Cabre A (2007) Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. *Prog Neurobiol* 82:163-201.

Navarro X (2009) Chapter 27: Neural plasticity after nerve injury and regeneration. *Int Rev Neurobiol* 87:483-505.

Nordin M, Nyström B, Wallin U, Hagbarth KE (1984) Ectopic sensory discharges and paresthesiae in patients with disorders of peripheral nerves, dorsal roots and dorsal columns. *Pain* 20:231-245.

Nyström B, Hagbarth KE (1981) Microelectrode recordings from transected nerves in amputees with phantom limb pain. *Neurosci Lett* 27:211-216.

Omana-Zapata I, Khabbaz MA, Hunter JC, Bley KR (1997) QX-314 inhibits ectopic nerve activity associated with neuropathic pain. *Brain Res* 771:228-237.

Paintal AS (1960) Functional analysis of group III afferent fibres of mammalian muscles. *J Physiol* 152:250-270.

Puig S, Sorkin LS (1996) Formalin-evoked activity in identified primary afferent fibers: systemic lidocaine suppresses phase-2 activity. *Pain* 64:345-355.

Rowbotham MC, Davies PS, Fields HL (1995) Topical lidocaine gel relieves postherpetic neuralgia. *Ann Neurol* 37:246-253.

Roza C, Laird JM, Souslova V, Wood JN, Cervero F (2003) The tetrodotoxin-resistant Na<sup>+</sup> channel Na<sub>v</sub>1.8 is essential for the expression of spontaneous activity in damaged sensory axons of mice. *J Physiol* 550:921-926.

Simone DA, Marchettini P, Caputi G, Ochoa JL (1994) Identification of muscle afferents subserving sensation of deep pain in humans. *J Neurophysiol* 72:883-889.

Sinnott CJ, Garfield JM, Strichartz GR (1999) Differential efficacy of intravenous lidocaine in alleviating ipsilateral versus contralateral neuropathic pain in the rat. *Pain* 80:521-531.

Smith LJ, Shih A, Miletic G, Miletic V (2002) Continual systemic infusion of lidocaine provides analgesia in an animal model of neuropathic pain. *Pain* 97:267-273.

- Sotgiu ML, Biella G, Castagna A, Lacerenza M, Marchettini P (1994) Different time-courses of i.v. lidocaine effect on ganglionic and spinal units in neuropathic rats. *Neuroreport* 5:873-876.
- Sunderland S (1978) *Nerves and nerve injuries*. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Sunderland S (1990) The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve* 13:771-784.
- Taguchi T, Sato J, Mizumura K (2005) Augmented mechanical response of muscle thin-fiber sensory receptors recorded from rat muscle-nerve preparations in vitro after eccentric contraction. *J Neurophysiol* 94:2822-2831.
- Tanelian DL, MacIver MB (1991) Analgesic concentrations of lidocaine suppress tonic A-delta and C fiber discharges produced by acute injury. *Anesthesiology* 74:934-936.
- Teliban A, Bartsch F, Struck M, Baron R, Janig W (2011) Axonal thermosensitivity and mechanosensitivity of cutaneous afferent neurons. *Eur J Neurosci* 33:110-118.
- Waddell PJ, Lawson SN, McCarthy PW (1989) Conduction velocity changes along the processes of rat primary sensory neurons. *Neuroscience* 30:577-584.
- Waxman SG, Cummins TR, Dib-Hajj SD, Black JA (2000) Voltage-gated sodium channels and the molecular pathogenesis of pain: a review. *J Rehabil Res Dev* 37:517-528.
- Wood JN, Boorman JP, Okuse K, Baker MD (2004) Voltage-gated sodium channels and pain pathways. *J Neurobiol* 61:55-71.
- Woolf CJ, Mannion RJ (1999) Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet* 353:1959-1964.
- Wu G, Ringkamp M, Hartke TV, Murinson BB, Campbell JN, Griffin JW, Meyer RA (2001) Early onset of spontaneous activity in uninjured C-fiber nociceptors after injury to neighboring nerve fibers. *J Neurosci* 21:RC140.
- Xiao WH, Bennett GJ (2008) C-fiber spontaneous discharge evoked by chronic inflammation is suppressed by a long-term infusion of lidocaine yielding nanogram per milliliter plasma levels. *Pain* 137:218-228.



Yoon YW, Na HS, Chung JM (1996) Contributions of injured and intact afferents to neuropathic pain in an experimental rat model. *Pain* 64:27-36.

## VII Anhang

### VII.1 Danksagung

Diese Arbeit entstand von Februar 2007 bis September 2011 im Labor von Herrn Professor Dr. Wilfrid Jänig.

Zunächst möchte ich Prof. Jänig danken für die Überlassung des Themas und die beispielhafte Betreuung. Er hat zu jeder Zeit Gelegenheit gefunden für einen fachlichen Austausch, die Durchsicht von Dissertationsabschnitten oder „goldwerte Tipps“. Zudem brachte er mir über die Arbeit hinaus immer ein offenes Ohr entgegen und hat es geschafft, mich für die Wissenschaft zu begeistern. Dafür möchte ich ihm sehr herzlich danken.

Ein weiterer Dank gebührt Irina Kirillova und Jan Tode für die produktive und kameradschaftliche Zusammenarbeit sowie Alina Teliban, Fabian Bartsch und Marek Struck für die kollegiale Arbeitsatmosphäre. Frau Eike Tallone danke ich für die Hilfe bei der Erstellung der Abbildungen.

Meinen Eltern, Marthe und Jürgen Rausch, sowie meinem Großvater, Paul Fischer, gebührt Dank für ihre Unterstützung und ihren Rückhalt, die sie mir auf unterschiedlichste Weise zukommen ließen. Zuletzt, aber nicht weniger herzlich, möchte ich Felix John danken für seine Geduld und seinen großen Einsatz beim Korrekturlesen.

## VII.2 Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Vanessa Hanna Rausch  
Klaus-Groth-Str. 51  
22926 Ahrensburg

Am 03. April 1984 in Hamburg geboren

Ledig, deutsche Staatsangehörigkeit

### Bildungsgang:

|                   |   |
|-------------------|---|
| 2007-2011         | Dissertation „Über den Effekt von lokal und intravenös appliziertem Lidocain auf Spontanaktivität in chronisch geschädigten Muskelfasern der Ratte“ im Institut für Physiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel |
| seit SS 2011      | Promotionsstudentin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  |
| 08. Dezember 2010 | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  |
| 23. August 2006   | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung   |
| 2004-2010         | Studium der Humanmedizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel   |
| 2003-2004         | Freiwilliges Soziales Jahr bei der AWO Baden, Einsatzstelle: La Cité des Fleurs, Neuilly-sur-Seine, Frankreich  |
| 2003              | Abitur am Gymnasium des Schulzentrums am Heimgarten, Ahrensburg   |

Kiel, den 6. September 2011