

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B. Pannen

Einfluss von Lidocain auf die sympathisch vermittelte
Vasokonstriktion an der unbehaarten Pfotenhaut der Ratte

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Adam Smok

2020

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. N. Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. P. Lipfert

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. R. Seitz

Gewidmet meiner Frau und meinem Sohn

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von hohen Dosen topisch bzw. systemisch applizierten Lidocains auf die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion an der Pfotenhaut der Ratte untersucht. Ziel der Studie war es herauszufinden, ob die im klinischen Alltag während einer Leitungsanästhesie gelegentlich beobachteten schweren Hypotonien und Herz-Kreislaufstillstände durch eine Einschränkung der neuroeffektorischen Übertragung sympathischer Vasokonstriktorneurone verursacht werden.

Untersuchungen wurden zum einen an Ratten durchgeführt, denen Lidocain in hohen Dosen mittels Iontophorese an der Pfotenhaut appliziert wurde, zum anderen an Tieren, die Lidocain systemisch erhielten.

Mittels Laser-Doppler-Flometrie konnte der Blutfluss an der Pfotenhaut bei verschiedenen Reizfrequenzen gemessen werden, wobei der lumbale sympathische Grenzstrang selektiv gereizt werden konnte.

Es konnte gezeigt werden, dass iontophoretisch appliziertes Lidocain die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion bei Ruhefrequenzen zu hemmen vermag, was mit einer Blutflusszunahme einhergeht.

Nach systemischer Lidocain-Gabe konnte eine ähnliche Gefäßantwort nicht beobachtet werden. Auf jede Reizung folgte eine mit der Kontrollgruppe vergleichbare Vasokonstriktion. Bei den Versuchstieren führten zunehmende systemische Lidocain-Konzentrationen zur myokardialen Depression gefolgt von Hypotonie und Herz-Kreislaufversagen.

Die systemische Lidocain-Applikation in vivo wurde durch den kardiotoxischen Effekt des Lokalanästhetikums limitiert.

In Kenntnis dieser Ergebnisse kann zusammenfassend festgehalten werden, dass Hypotonien und Herz-Kreislaufstillstände im Rahmen von Regionalanästhesien durch den kardiotoxischen Effekt hoher Lidocain-Dosen verursacht werden.

In the present study the influence of high doses of topically or systemically applied lidocaine on the sympathetic mediated vasoconstriction on the paw skin of the rat was investigated. The aim of the work was to find out, whether the severe hypotension and cardiovascular arrests occasionally observed during regional anesthesia are caused by a limitation of the neuroeffector transmission of sympathetic vasoconstrictor neurons.

On the one hand, studies were carried out on rats in which lidocaine was administered in high doses by means of iontophoresis on the paw skin, on the other hand on animals, that received lidocaine systemically.

By means of laser Doppler flowmetry the blood flow at the paw skin could be measured at different stimulation frequencies, whereby the lumbar sympathetic trunk could be selectively stimulated.

It has been shown that iontophoretically applied lidocaine is able to inhibit the sympathetically mediated vasoconstriction at resting frequencies, which is accompanied by a blood flow increase.

On the other hand, a similar vascular response could not be observed after systemic lidocaine administration.

Each stimulation was followed by a vasoconstriction comparable to the control group. Increasing systemic lidocaine concentrations in the experimental animals resulted in myocardial depression followed by hypotension and cardiovascular failure.

The systemic lidocaine application in vivo was limited by the cardiotoxic effect of the local anesthetic.

In knowledge of these results it can be concluded that hypotension and cardiovascular arrest in regional anesthesia are caused by the cardiotoxic effect of high doses of lidocaine.

Abkürzungsverzeichnis

ZNS: Zentrales Nervensystem

CVC-Neurone: "cutaneous vasoconstrictor"-Neurone

NPY: Neuropeptid Y

LSG: Lumbaler sympathischer Grenzstrang

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Mechanismus der sympathisch vermittelten Gefäßregulation	1
1.2	Pharmakologische Eigenschaften von Lidocain.....	4
1.3	Einfluss von Lidocain auf das Gefäßsystem und seine klinische Relevanz.....	6
1.4	Fragestellung.....	7
2	Methoden	8
2.1	Durchführung der Experimente.....	8
2.1.1	Präparation	8
2.1.2	Lidocain-Applikation	10
2.1.3	Elektrische Reizung und Messung.....	14
2.1.4	Datenverarbeitung	17
2.1.5	Statistische Auswertung	17
3	Ergebnisse	18
3.1	Blutflussveränderungen	18
3.1.1	Iontophoretische Applikation von Lidocain an der Hinterpfote	18
3.1.2	Systemische Lidocain-Applikation.....	36
4	Diskussion.....	42
4.1	Hohe lokale Lidocain-Dosierungen schwächen die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion ab.	42
4.2	Systemisch appliziertes Lidocain zeigt in vivo keine Wirkung auf die sympathische Gefäßinnervation	44
4.3	Selektive Reizung des lumbalen sympathischen Grenzstranges: Unterschiedliche Reizfrequenzen in Ruhe und unter Stress	46
4.4	Neuropeptid Y (NPY) – Ein Neuropeptid mit vasokonstriktorischer Wirkung.....	48
4.5	Unterschied zwischen NPY- und Noradrenalin-vermittelter Vasokonstriktion	50
4.6	Aufbau des Gefäßssystems und Einfluss auf die Laser-Doppler-Messung	53
5	Literaturverzeichnis.....	56

1 Einleitung

1.1 Mechanismus der sympathisch vermittelten Gefäßregulation

Claude Bernard (1858) beobachtete bei Kaninchen, dass nach Durchtrennung des zervikalen sympathischen Grenzstranges die Ohren warm und rot wurden und folgerte daraus, dass eine vasokonstriktorische Wirkung des Sympathikus auf Gefäße existiere. Mittlerweile ist es bekannt, dass das sympathische Nervensystem einen bedeutenden Einfluss auf die Regulation des gesamten Kreislaufs hat und auch für die Aufrechterhaltung des systemischen arteriellen Blutdruckes verantwortlich ist.

Der Blutkreislauf des Menschen besteht aus einem in sich geschlossenen System von teils parallel, teils seriell geschalteten Blutgefäßen. Das vom linken Ventrikel in die Aorta ausgetriebene Blut strömt in die großen Arterien, die zu den verschiedenen Organgebieten abzweigen. Hier finden jeweils weitere Aufzweigungen dieser Arterien statt, so dass ihre Gesamtzahl ständig zunimmt, zugleich ihr Durchmesser jedoch immer kleiner wird. Aus den kleinsten arteriellen Gefäßen, den Arteriolen, gehen unter weiterer Aufzweigung die Kapillaren ab, die ein dichtes Gefäßnetz an den Parenchymzellen der jeweiligen Gewebe bilden (Dudel 1997).

In ihrem Review führen Hirst und Edwards (1989) aus, dass bei fast allen Säugetieren das Blutgefäßsystem von postganglionären, sympathisch-adrenergen Nervenaxonen umgeben ist, wobei sich diese in der Adventitia von Arterien und Arteriolen als terminale Axone aufzweigen und nur selten in die Tunica muscularis eindringen. Große Bündel sympathischer Axone folgen häufig dem Verlauf größerer Arterien und geben feinere Axonbündel ab, die sich dann in der Adventitia aufzweigen. Diese terminalen Abschnitte bestehen aus mehreren Hunderten von Varikositäten. Es wird angenommen, dass in Arterien unterschiedlichen Durchmessers und somit auch unterschiedlicher Wanddicke die Varikositätenzahl pro Fläche konstant bleibt oder aber mit zunehmendem Arterienradius leicht abnimmt.

Die terminalen Axone der sympathischen Vasokonstriktorneurone haben ein charakteristisches Aussehen. Feine Axone mit einem Durchmesser von 0,1-0,5 µm weiten sich in regulären Intervallen in Varikositäten aus. Die Varikositäten

enthalten kleine Granulavesikel, eine kleinere Anzahl großer Granulavesikel und Mitochondrien.

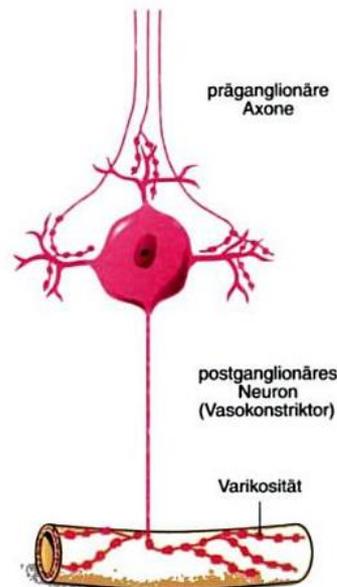


Abbildung 1: Der Weg der neuroeffektorischen Übertragung. Postganglionäres Neuron und sein Effektor (Blutgefäß) (Jänig 2006)

In beiden Vesikeltypen werden der Neurotransmitter Noradrenalin, der in geringen Mengen auch frei im Zytosol vorkommt, und das Neuropeptid Y (NPY) gespeichert.

Auf Depolarisation hin freigesetztes Noradrenalin aktiviert postsynaptische α -Adrenozeptoren, was zu einer Kontraktion der meisten Blutgefäße führt (Tsuru, Tanimitsu & Hirai 2002).

Nach Gabe von α -Adrenozeptor-Agonisten kommt es in einigen Gefäßsystemen zu einer Vasokonstriktion und nach Gabe von β -Adrenozeptor-Agonisten in anderen Gefäßsystemen zu einer Vasodilatation. Beide Rezeptortypen existieren also prinzipiell im Blutgefäßsystem. Da konstringierende α_1 -Adrenozeptoren in den meisten Gefäßen vorherrschend sind, wird der systemische Blutdruck durch die sympathische Aktivität und die adrenerge Sekretion erhöht (Tsuru et al. 2002).

Ein weiterer Neurotransmitter für die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion ist NPY, das auch in den Varikositäten gespeichert wird. Im Gegensatz zu Noradrenalin vermittelt es jedoch seine vasokonstriktorische Wirkung nicht über α -Adrenozeptoren, sondern über zahlreiche heptahelicale Gi/o-gebundene Rezeptoren, Y1-Y6 genannt (Zukowska, Pons, Lee, Edward & Li 2003).

In der Peripherie wird NPY von den sympathischen Nerven und der adrenergen Medulla freigesetzt, wobei sein Plasmaanteil während verschiedener Stresssituationen steigt.

Obwohl NPY gemeinsam mit Noradrenalin freigesetzt wird, ändert sich das Mengenverhältnis beider Neurotransmitter mit dem Muster und der Intensität der Nervaktivierung.

NPY wird hauptsächlich bei intensiver und langandauernder Sympathikusaktivierung freigesetzt, beispielsweise bei schwerem Stress (Zukovska et al. 2003).

Der vasokonstriktorische Einfluss des sympathischen Nervensystems besteht auch an den kutanen Blutgefäßen in der Hinterpfote der Ratte und wird durch unmyelinisierte kutane postganglionäre sympathische Vasokonstriktorneurone vermittelt. Es wird vermutet, dass sich diese Vasokonstriktorneurone in ihrem Aktivitätsmuster unterscheiden, und zwar in Abhängigkeit vom innervierten Gefäßabschnitt (kleine muskuläre Arterie, Arteriole, arteriovenöse Anastomose, Vene) sowie vom Hauttyp (unbehaarte Haut der distalen Extremitäten, behaarte Haut, Haut des Rumpfes und proximaler Extremitäten, Gesichtshaut) (Jänig & Häbler 2003).

Kutane, sympathische Vasokonstriktorneurone, die die behaarte Hinterpfotenhaut der Ratte innervieren, besitzen eine Spontanaktivität, die bei 0,3 – 3,6 Impulsen pro Sekunde liegt (Häbler, Jänig, Krummel & Peters 1994).

Durch die direkte Reizung des lumbalen sympathischen Grenzstranges bei L3/L4 wird die natürlich vorkommende Vasokonstriktoraktivität in der Hinterpfote der Ratte nachgeahmt. Der Reizerfolg kann noninvasiv mittels Flowmetrie gezeigt werden (Häbler et al. 1994).

1.2 Pharmakologische Eigenschaften von Lidocain

Lidocain ist ein Lokalanästhetikum, das bei intravenöser Verwendung auch als Antiarrhythmikum eingesetzt wird. Strukturchemisch gehört es zu den Lokalanästhetika vom Säureamid-Typ und enthält drei charakteristische Abschnitte; eine lipophile Benzolringstruktur, die über eine Amidstruktur mit einem hydrophilen tertiären Amid verbunden ist.

Die Wirkung von Lidocain als Lokalanästhetikum liegt in seiner Fähigkeit, reversibel und örtlich begrenzt die Leitfähigkeit von Nervenfasern herabzusetzen. Durch Interaktion mit einer Bindungsstelle an der Membranınnenseite spannungsabhängiger Natriumkanäle werden diese Ionenkanäle blockiert, was den Einstrom von Natriumionen und damit die zur Erregungsleitung notwendige Ausbildung von Aktionspotentialen verhindert.

Lidocain kann über die Blockade von Natriumkanälen mit der Funktion nahezu aller Organe interferieren. Folglich ergeben sich Effekte auf das zentrale Nervensystem (ZNS), autonome Ganglien, neuromuskuläre Synapsen und alle Formen der Muskulatur, darunter auch glatte Gefäßmuskelzellen (Catterall & Mackie 2011).

Durch die Blockade von Natrium-Kanälen am Herzen entfaltet Lidocain eine antiarrhythmische Wirkung (Sheu & Lederer 1985).

Toxische Wirkungen von Lidocain werden beim Menschen im Rahmen einer Überdosierung beobachtet. Eine versehentliche, intravasale Lidocain-Injektion während der Durchführung einer peripheren Nerven-Blockade oder einer Epiduralanästhesie sind hierfür die häufigsten Ursachen in der klinischen Praxis (Stoelting & Hillier 2006).

Bei systemischer Überdosierung von Lidocain stehen zentralnervöse sowie kardiovaskuläre Wirkungen im Vordergrund.

Zentralnervöse Wirkungen machen sich mit folgenden Symptomen bemerkbar: niedrige Lidocain-Plasmakonzentrationen verursachen ein Taubheitsgefühl der Zunge und der perioralen Region. Bei steigenden Plasmakonzentrationen treten Unruhe, Schwindel und Tinnitus auf. Weitere Konzentrationsanstiege von Lidocain im ZNS führen zu undeutlicher, verwaschener Sprache und Muskelzuckungen, vor allem im Gesicht und an den Extremitäten. Dies sind die direkten Vorboten eines bevorstehenden tonisch-klonischen Krampfanfalls. Die

Anfälle sind häufig gefolgt von einer ZNS-Depression, die sich klinisch als tiefes Koma mit begleitender Apnoe präsentiert (Tabelle 1).

Plasma Lidocain Konzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Wirkung
1-5	Analgesie
5-10	Taubheit perioral Tinnitus Muskelzuckungen Systemische Hypotonie Myocardiale Depression
10 -15	tonisch-klonische Krämpfe Bewusstlosigkeit
15-25	Apnoe Koma
>25	kardiovaskuläre Depression

Tabelle 1: Dosisabhängige Wirkung von Lidocain (Stoelting & Hillier 2006)

Lidocain in hohen Dosen hat am Herzen einen negativ ino-, chrono- und dromotropen Effekt. Lidocain-Überdosierungen manifestieren sich häufig in einer Sinusbradykardie.

Es wird vermutet, dass die negativ inotrope Wirkung durch die Blockade von Calcium-Kanälen und dem resultierenden Abfall des intrazellulären Calciums verursacht wird. Durch die Blockade von Calcium-Kanälen kommt es zu Verlangsamung der diastolischen Depolarisation der kardialen Schrittmacherzellen (negative Chronotropie). Die Blockade von Natrium-Kanälen und ein damit verminderter Natrium-Einstrom in die Herzmuskelzellen führen zur Verlangsamung der atrioventrikulären Überleitung (negative Dromotropie). Elektrokardiographisch lassen sich vor allem verlängerte P-R-Intervalle und ein AV-Block nachweisen. Klinisch können Hypotension mit Kreislaufversagen auftreten (van Rooyen 2010).

1.3 Einfluss von Lidocain auf das Gefäßsystem und seine klinische Relevanz

Um den Mechanismus der fatalen Herz-Kreislaufzusammenbrüche näher zu beleuchten, wurden zahlreichen in vivo- und in vitro-Studien an Tieren durchgeführt, in denen die Verabreichung von Lidocain sowohl systemisch als auch lokal erfolgte. Die Ergebnisse sind jedoch nicht einheitlich, da Nachweise sowohl für einen vasokonstriktorisches als auch für einen vasodilatatorischen Effekt von Lidocain vorliegen.

In einer in vitro-Studie an Präparationen der thorakalen Aorta von Kaninchen wiesen Fukuda, Takeshita und Toda (1980) nach, dass Lidocain die durch elektrische Stimulation von sympathischen Nervenendigungen der Gefäßwand verursachte Vasokonstriktion abschwächt. In der gleichen Präparation wurde die durch zugeführtes, exogenes Noradrenalin verursachte Vasokonstriktion durch Lidocain ebenfalls abgeschwächt, jedoch waren hierfür höhere Lidocain-Konzentrationen erforderlich.

Vergleichbare Ergebnisse lieferte eine weitere Studie von Fukuda, Tsuji, Murakawa, Takeshita und Toda (1982), in der der Einfluss von Mepivacain (ebenfalls ein Lokalanästhetikum vom Amid-Typ) untersucht wurde.

Im Gegensatz zu den oben genannten Ergebnissen beschrieben Gheradini et al. (1998) in einer in vitro-Studie an Präparationen der A. carotis von Kaninchen eine biphasische Gefäßantwort nach topischer Applikation von Lidocain. In niedrigen Konzentrationen verstärkte Lidocain die durch exogenes Noradrenalin erzeugte Vasokonstriktion, höhere Konzentrationen führten zu einer Vasodilatation. In der gleichen Studie wurde in einer in vivo-Untersuchung ebenfalls an Karotiden von Kaninchen gezeigt, dass topisch appliziertes Lidocain in einer 2 % igen Konzentration keinen Einfluss auf den Blutfluss hat. 20 % iges Lidocain hingegen führte zu einer Vasodilatation mit einer signifikanten Blutflusszunahme. Die Messung des Blutflusses erfolgte mittels Laser-Doppler.

In einer in vivo-Studie an Arteriolen des M. cremaster der Ratte beschrieben Johns, DiFazio und Longnecker (1985) ebenfalls eine biphasische, dosisabhängige Gefäßantwort. Durch Umflutung der Muskelpräparation appliziertes Lidocain in niedrigen Konzentrationen sowie intravenös durch die

Femoralvene appliziertes Lidocain führten zu einer Vasokonstriktion. Dieser ähnliche vaskuläre Effekt beider Applikationsformen lässt schlussfolgern, dass der Mechanismus der Vasokonstriktion einen lokalen und nicht zentralen Ursprung hat. Hohe topische Lidocain-Konzentrationen führten zu einer Vasodilatation.

Hogan, Stadnicka, Stekiel, Bosnjak und Kampine (1993) berichteten, dass systemische Lidocain-Applikation (15 mg/kg i.m.) keinen Einfluss auf den Vasotonus hat. Die gemessenen Plasmakonzentrationen lagen bei 3,6 µg/ml. Insbesondere dem beschriebenen vasodilatativen Effekt von Lidocain bei höheren Konzentrationen wird eine enorme klinische Relevanz zugeschrieben.

1.4 Fragestellung

Sind die bei systemischer Lidocain-Überdosierung beobachteten schwerwiegenden Hypotonien und Herz-Kreislaufstillstände Folge einer Einschränkung der neuroeffektorischen Übertragung sympathischer Vasokonstriktorneurone?

2 Methoden

2.1 Durchführung der Experimente

2.1.1 Präparation

2.1.1.1 Allgemeine Präparationen

Die Experimente dieser Arbeit wurden nach Zustimmung der Tierschutzkommission (Az. 23.05-230-22/00, Bezirksregierung Düsseldorf, 22.03.2000) an 15 Wistar-Ratten vorgenommen. Bei 7 Tieren wurde Lidocain iontophoretisch appliziert, bei 8 systemisch.

Nach intraperitonealer Injektion von Pentobarbital (60 mg/kg/KG) wurden die Tiere ventral zwischen Manubrium sterni und Mandibula, dorsal zwischen Darmbeinschaukel und Rippenbogen rasiert. Die Körpertemperatur wurde mittels einer rektalen Temperatursonde gemessen. Um die Körpertemperatur bei 37 °C konstant zu halten, wurden eine Heizplatte und ein Rotlicht-Strahler verwendet. Zur Kontrolle der arteriellen Blutgase sowie des Säure-Basen-Status und zur kontinuierlichen Blutdruckkontrolle wurde die A. caudalis ventralis superficialis im proximalen Teil des Rattenschwanzes dargestellt und kanüliert. Über diesen Zugang wurde der mittlere Blutdruck mittels eines Druckaufnehmers (Schubart Recorder 2800) aufgezeichnet. Nach einem medianen Einschnitt und Mobilisierung der submandibulären Speicheldrüse wurde die linksseitige V. jugularis kanüliert. Über diesen Zugang wurden Pentobarbital zur Aufrechterhaltung der Narkose und Pancuronium zur Relaxierung injiziert, sowie der Flüssigkeitsverlust ausgeglichen. Als Zeichen einer adäquaten Narkose galten ein konstanter Blutdruck und das Fehlen von Flexor- und Kornealreflexen.

Über eine Tracheotomie wurden die Tiere künstlich beatmet. Nach stumpfer Aufspreizung der infrahyoidalen Muskulatur wurde die Trachea von den seitlich anliegenden Nn. recurrentes und dem dorsal anliegenden Oesophagus gelöst. Eine Trachealkanüle mit drei zuführenden Schenkeln wurde in einen Einschnitt unterhalb des Kehlkopfes eingeführt. Die Tiere wurden relaxiert (Pancuronium 0,4 mg pro Kilogramm Körpergewicht [mg/kg/KG] initial, später nach Bedarf) und mit einer Frequenz von 75 Atemzügen pro Minute mit Sauerstoff-angereicherter Raumluft künstlich beatmet (Respirator RUS-1301, FMI.

Egelsbach). Der Trachealdruck wurde im Bereich zwischen 5-12 cm H₂O gehalten.

2.1.1.2 Präparationen des lumbalen sympathischen Grenzstranges

Für die Präparation des lumbalen sympathischen Grenzstranges (LSG) wurde in allen Fällen ein retroperitonealer Zugang gewählt. Nach einem paramedianen Einschnitt in die Haut, der etwa vom elften Brustwirbelkörper bis zum zweiten Sakralwirbelkörper reichte, wurden nach Durchtrennung des Musculus cutaneus maximus die linksseitige autochthone Rückenmuskulatur zwischen L1 und S2 entfernt und die daraufhin hervortretenden Processus transversi von L2 bis L4 reseziert. Die prävertebrale Muskulatur wurde unter Schonung der aus den Foramina intervertebralia austretenden Spinalnerven mit einem fein ausgezogenen Glasstab durchtrennt. Der gleichseitige sowie der kontralaterale lumbale sympathische Grenzstrang wurden zwischen den sympathischen Ganglien L2 und L4 auf dem retroperitonealen Fettgewebe mobilisiert. Die Identifikation des Ganglion L2 gelang über das in gleicher Höhe kreuzende Crus diaphragmaticum mediale (Baron & Jänig 1988). Nach Abschluss der Präparation wurden die Tiere in Seitenlage gelagert. Die durch die Hautinzision entstandenen Hautlappen wurden in einem Metallring aufgespannt und ein Pool geformt, in den körperwarmes Paraffinöl gefüllt wurde, um die nervalen Strukturen bei der späteren elektrischen Stimulation zu isolieren und ein Austrocknen zu verhindern. Anschließend wurden beide LSG unterhalb von L2 durchschnitten. Die erfolgreiche Durchtrennung des Grenzstranges konnte mittels Laser-Doppler-Verfahren durch einen Anstieg des Flusses verifiziert werden.

2.1.1.3 Beendigung der Experimente

Zur Beendigung der Experimente, in denen Lidocain topisch appliziert wurde, wurden die Tiere bei tiefer Narkose durch intravenöse Applikation von 2 ml Eutha 77 (Pentobarbital) getötet. Die Tiere, denen Lidocain systemisch verabreicht wurde, starben unter Narkose aufgrund steigender, zunehmend toxischer Lidocain-Dosen.

2.1.2 Lidocain-Applikation

2.1.2.1 Topische Lidocain-Applikation mittels transdermaler Iontophorese

2.1.2.1.1 Geschichte der Iontophorese

Unter Iontophorese versteht man die transdermale Einbringung von Substanzen in den Körper unter Zuhilfenahme von Gleichstrom (Ernst 1994). Die ersten Vorschläge zur Verwendung von Elektrizität zum Zwecke der Medikamentenapplikation stammen aus der Mitte des achtzehnten Jahrhunderts. In einer Publikation von 1747 berichtet der Italiener Giovanni Francesco Pivati (1689-1764), dass der Geruch von peruanischem Balsam, der sich in einem hermetisch verschlossenen Glaszylinder befand, nach Anlegen von elektrischem Strom im Raum wahrnehmbar wurde und sogar über einen Draht in einen anderen Raum geleitet werden konnte. Ein Patient, der den „geladenen“ Glaszylinder, in dem sich der Balsam befand, in den Händen hielt, atmete Stunden später den typischen Geruch seines Inhaltes aus (Rowbottom & Süsskind 1984).

Helmstädter (2001) führt in seinem Review weitere historische Stationen in der Entwicklung der Iontophorese auf. Um 1870 versuchte der Deutsche Hermann Munk (1839-1912), Kaninchen Strychnin-Hydrochlorid und sich selbst sowohl Chinin-Sulfat als auch Kalium-Jodid mittels Strom zu applizieren. Nach 20-25 Minuten konnten bei den Tieren spontane Krämpfe nachgewiesen werden, deren Intensität mit steigender Stromzufuhr zunahm. Die erfolgreiche Einbringung von Chinin respektive Kalium-Jodid in den Körper von Munk (mittels Elektroden an beiden Seiten eines Armes) konnte durch Nachweis der Stoffe im Urin festgestellt werden.

Besondere Beachtung erlangte schließlich das Experiment des französischen Physikers Stephane Armand Nicholas Leduc (1853-1939) Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts. Zwei Kaninchen wurden in Reihe in einen Gleichstromkreis geschaltet. In das erste Tier trat Strom durch eine positive, mit Strychnin-Sulfat-Lösung getränkte Elektrode (Anode) ein und durch eine negative, mit Salzlösung getränkte Elektrode (Kathode) aus. In das zweite Tier trat Strom durch eine mit Salzlösung getränkte Anode ein und verließ es durch eine mit Strychnin-Sulfat-Lösung getränkte Kathode (Abbildung 2).

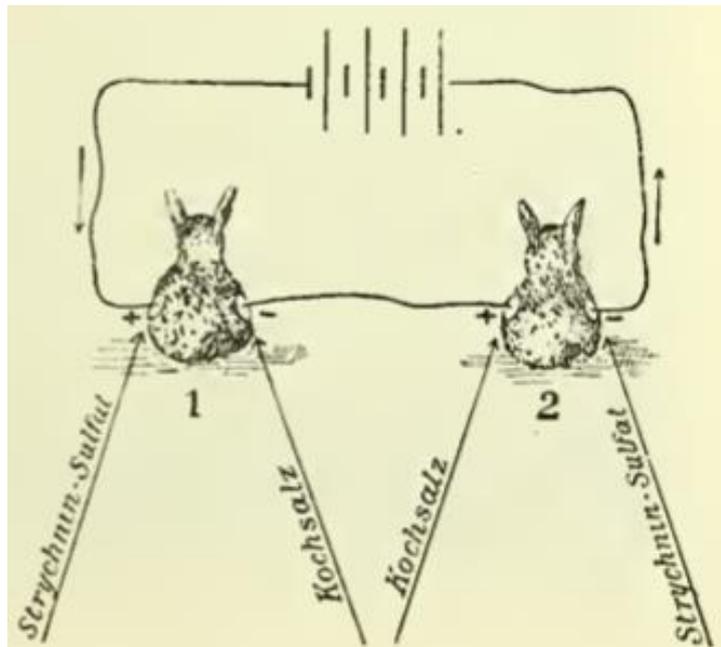


Abbildung 2: Versuchsaufbau von Leduc (Leduc 1905)

Das erste Kaninchen entwickelte bald Krämpfe und verstarb, wohingegen das andere unbeeinflusst blieb. Der Grund hierfür liegt darin, dass das positiv geladene Strychnin-Ion vom negativen Pol in beiden Kaninchen angezogen wurde und auf diese Weise in den Körper gelangen konnte. Im ersten Kaninchen wurde das Strychnin-Ion an der Kathode neutralisiert, so dass eine Wirkung im zweiten Tier ausblieb. Mit diesem Versuch konnte Leduc die elektrolytische Ionenwanderung beweisen.

Fritz Frankenhäuser verwendete vor 1908 erstmals den Begriff „Iontophorese“.

2.1.2.1.2 Technische Grundlagen und Funktionsweise

Ein Iontophoresesystem (Abbildung 3) besteht aus einer Energiequelle, die elektrischen Strom erzeugt und zwei Elektroden, einer positiven (Anode) und einer negativen (Kathode). Bei Verwendung an der Haut wird das zu verabreichende Medikament in seiner ionisierten Form auf die positive „aktive“ Elektrode aufgetragen. Die negative Empfängerelektrode ist auf der gegenüberliegenden Seite platziert, normalerweise an der Haut in der Nähe der

positiven Elektrode. Wird der Strom eingeschaltet, so werden positiv geladene Medikamente durch elektrostatische Abstoßung von der Anode in Richtung Kathode übertragen. Umgekehrt werden negativ geladene Medikamente, die auf die Kathode aufgetragen wurden, in Richtung Anode abgestoßen (Zempsky & Ashburn 1998). Die reine Diffusion wird somit durch elektrischen Strom unterstützt, so dass der einzubringende Stoff vermehrt und rascher durch die Hornschicht der Haut befördert wird (Ernst 1994).

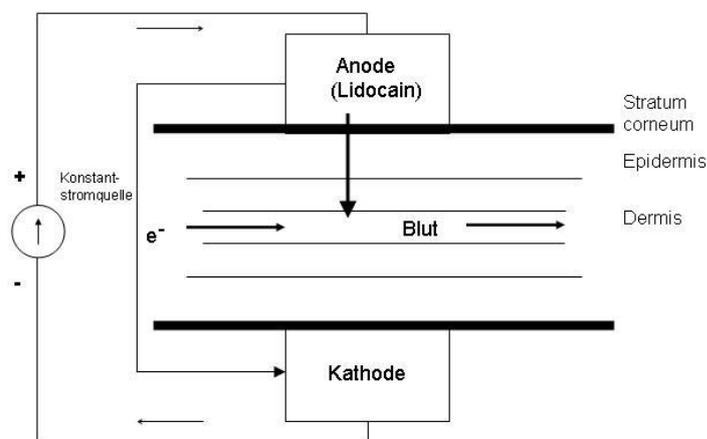


Abbildung 3: Schematische Darstellung der transdermalen Iontophorese

Die Elektroosmose stellt einen weiteren wichtigen Mechanismus der Iontophorese dar.

Mit einem pH-Wert zwischen 3 und 4 unter physiologischen Bedingungen stellt die menschliche Haut eine negativ geladene Membran dar. Dadurch hat sie Eigenschaften einer semipermeablen Membran, die positiv geladenen Molekülen einen geringeren Widerstand bietet als negativ geladenen (Nair, Pillai, Poduri & Panchagnula 1999).

Wird nun elektrische Spannung über der Haut angelegt, so kommt es zu einer Volumenverschiebung von Anode in Richtung Kathode (Elektroosmose) (Pikal 2001). Positiv geladene Lidocain-Ionen gelangen so durch die Haut ins Gewebe.

Nair et al. (1999) beschreiben in ihrem Review weitere Faktoren, die für die transdermale Einbringung von Substanzen von Bedeutung sind.

Beim Anlegen eines elektrischen Potentialgradienten über intakter Haut, erfolgt der Ionenfluss auf dem Weg des geringsten Widerstandes und zwar durch Poren wie Schweißdrüsen, Talgdrüsen und Haarfollikel.

Weiterhin wird ein von Hautanhangsgebilden unabhängiger Transportweg in der Haut vermutet. Hierbei handelt es sich um eine Spannungspotential-abhängige Porenformation im Stratum corneum, der „flip-flop“- Bewegungen in Polypeptid-Helices im Stratum corneum zugeschrieben werden. Das elektrische Potential führt dazu, dass sich Alpha-Helix-Polypeptide in der Hautmembran von ihrer normalen, senkrechten Anordnung nach parallel hin orientieren („flip-flop“), was zur Ausbildung von spannungsabhängigen Poren im Stratum corneum führt, die als Transportrouten dienen (Zempsky & Ashburn 1998).

2.1.2.1.3 Lidocain-Iontophorese im Experiment

Nach Kontrollreizung des lumbalen sympathischen Grenzstranges mit 0,2, 1 und 10 Hz erfolgte die iontophoretische Applikation von Lidocain. Da die physiologische Entladungsfrequenz der CVC (cutaneous vasoconstrictor) - Neurone bei 0,3 - 3,6 Impulsen pro Sekunde liegt (Häbler et al. 1994), wurden Reizfrequenzen von 0,2 und 1 Hz gewählt. Dadurch lassen sich Vasokonstriktionen auslösen, die bei Ratten unter Ruhebedingungen vorherrschen. Reizungen mit 10 Hz wurden durchgeführt, um eine verstärkte Aktivierung von CVC-Neuronen unter Stress zu simulieren. Ein mit 10 % igem Lidocain getränkter Polyurethanschwamm (0,4 cm²) wurde auf der positiv geladenen Anode, einer Platin-Iridium-Elektrode, fixiert und diese auf die unbehaarte Pfotenhaut angebracht. Die negativ geladene Elektrode (Kathode) wurde auf der gegenüberliegenden Seite der Pfote platziert. Eine Konstantstromquelle (Eigenbau, Dipl. Ing. Krossa, Universität-Düsseldorf) mit einer Leistung von 0-10 mA lieferte den für die Iontophorese notwendigen Strom, dessen Stärke auf 0,2 mA festgelegt wurde. Die Lidocain-Applikation erfolgte über 20 Minuten.

2.1.2.2 Systemische intravenöse Lidocain-Applikation

Über den Zugang in der V. jugularis wurde den Tieren nach Kontrollreizung Lidocain (5 %) appliziert. Die Applikation erfolgte mittels eines Perfusors und einer 50 ml Spritze. Die initiale Dosis betrug 10 mg/kg/KG, gefolgt von 20 mg/kg/KG nach 12 Minuten. Danach wurde die Dosis in gleichen Zeitabständen um jeweils 20 mg/kg/KG bis zur Asystolie gesteigert. Zwischen den Applikationen wurde der LSG mit 0,2 und 1 Hz gereizt. Um einen Placeboeffekt auszuschließen, wurde physiologische Kochsalzlösung in gleichem Volumen systemisch appliziert.

2.1.3 Elektrische Reizung und Messung

2.1.3.1 Elektrische Reizung des lumbalen sympathischen Grenzstranges

Nach der Durchschneidung der beiden LSG konnte mittels Laser-Doppler-Flowmetrie eine Zunahme des Blutflusses in der unbehaarten Haut der Pfote gemessen werden. Der dem Blutflussanstieg zugrundeliegende Mechanismus liegt im Verlust der für die Erhaltung des vasalen Ruhetonus mitverantwortlichen sympathischen Efferenzen. In den Experimenten führte die Reizung eines LSG zur Vasokonstriktion und somit zur Abnahme des Blutflusses. Technisch wurde die Reizung durchgeführt, indem der linke LSG auf eine Platinelektrode gelegt wurde. Zuerst erfolgte eine Kontrollreizung (Eigenbau-Konstantstrompulsgeber, Dipl. Ing. Krossa; 0-10 mA, Pulsbreite 0,1-10 ms) mit 0,2, 1 und 10 Hz über einen Zeitraum von 50 Sekunden (0,5 ms Reizdauer; 90 μ A). Die Reizung galt als erfolgreich, wenn mittels Laser-Doppler-Flowmetrie eine deutliche, mit steigender Reizfrequenz zunehmende Blutflussabnahme für die Dauer der Reizung registriert werden konnte. Im Anschluss an die Kontrollreizung wurde Lidocain appliziert. Zwischen den Applikationen wurde der LSG wiederum mit 0,2 und 1 Hz gereizt.

2.1.3.2 Messung des oberflächlichen plantaren Blutflusses mit der Laser-Doppler-Technik

Nach Abschluss der Präparation wurden die Tiere auf dem Bauch gelagert, so dass die plantare Haut frei zugänglich war. Zur Lagerung und zur Wärmeisolation wurde eine Pfote auf einer angepassten Schiene aus Knetmasse gebettet. Der plantare Blutfluss wurde mit einem 2-Kanal-Laser-Doppler-Flussmessgerät registriert (MBF3D, Moor Instruments, Devon, UK).



Abbildung 4: MBF3D, Moor Instruments, 2-Kanal-Laser-Doppler-Flussmessgerät (Quelle: Moor Instruments)

Zu diesem Zweck wurde in einem Abstand von 1-2 mm zur plantaren Haut eine Messsonde angebracht. Über die Messsonde wird polarisiertes Licht der Wellenlänge 770-790 nm ausgesendet und die reflektierte Strahlung über Glasfasern der Sonde gesammelt. Bedingt durch den Doppler-Effekt erfährt das polarisierte Licht an sich bewegenden Teilchen (im Wesentlichen roten Blutkörperchen) in Abhängigkeit von der Geschwindigkeit eine Verschiebung seiner Frequenz. Mittels dieser Technik können Konzentrationen und Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen ermittelt werden (Abbildung 5).

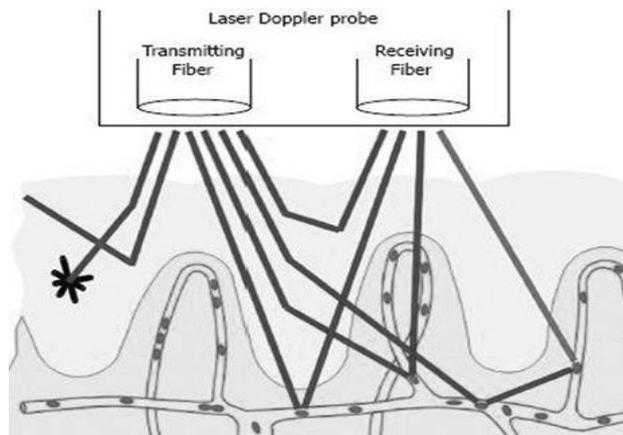


Abbildung 5: Prinzip der Blutflussmessung mittels Laser-Doppler-Flowmetrie (Hoff 2009)

Aus dem Produkt der beiden Werte wird der Blutfluss in willkürlichen „Fluss“-Einheiten [U] errechnet (Abbildung 6).

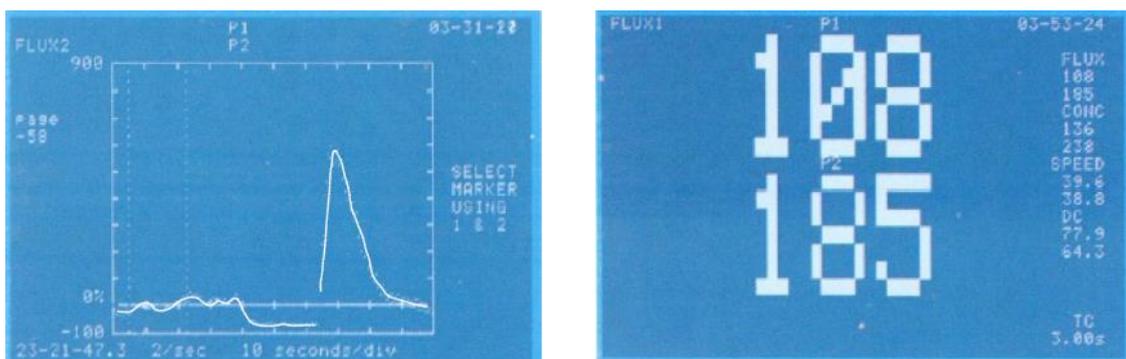


Abbildung 6: Graphische und numerische Darstellung des Blutflusses (Quelle: Moor Instruments)

2.1.3.3 Kontinuierliche Aufzeichnung von EKG und Blutdruck

Um die kardiale Funktion beurteilen zu können, wurde ein EKG kontinuierlich abgeleitet. Hierzu wurden 3 Stichelektroden am Thorax angebracht. Die graphische Aufzeichnung erfolgte mit einem Recorder des Typs Schubart Recorder 2800.

Zur Messung des arteriellen Blutdruckes und zur Kontrolle des Säure-Basen-Haushaltes wurde die Schwanzarterie mit einer 22 G-Kanüle (Braun) kanüliert.

Die Aufzeichnung der Blutdruckkurven erfolgte mit demselben Gerät wie die EKG-Aufzeichnung.

2.1.4 Datenverarbeitung

Alle gemessenen Parameter wurden mit einem Sony Datenrekorder SIR-1000 aufgezeichnet und anschließend via Interface auf einen PC zur Auswertung übertragen. Die gespeicherten Daten wurden mittels des Programmes Chart5 (ADInstruments) ausgewertet.

2.1.5 Statistische Auswertung

Alle statistischen Auswertungen wurden mit IBM SPSS Version 23 durchgeführt, für die grafische Darstellung wurde Microsoft Excel 2010 verwendet. Für die Überprüfung der Normalverteilungsvoraussetzung für die parametrischen Tests wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung angewendet. Waren die Variablen normalverteilt, kam bei den abhängigen Stichproben im Falle eines Vergleichs zwischen zwei Gruppen der T-Test für gepaarte Stichproben zum Einsatz. Beim Vergleich der Mittelwerte von mehr als zwei Gruppen wurde die Varianzanalyse mit Messwiederholung durchgeführt.

Es wurde das Signifikanzniveau von 5 % festgelegt. Bezeichnung: *=signifikant ($p < 0,05$), **=hochsignifikant ($p < 0,01$)

3 Ergebnisse

3.1 Blutflussveränderungen

3.1.1 Iontophoretische Applikation von Lidocain an der Hinterpfote

Die ersten Blutflussdaten wurden bereits bei der Durchschneidung des lumbalen sympathischen Grenzstranges aufgezeichnet. Die durch die Durchschneidung des Grenzstranges hervorgerufene Unterbrechung sympathischer Afferenzen zu den kutanen Gefäßen der Hinterpfote und die daraus resultierende Vasodilatation ließen sich an einem Blutflussanstieg erkennen.

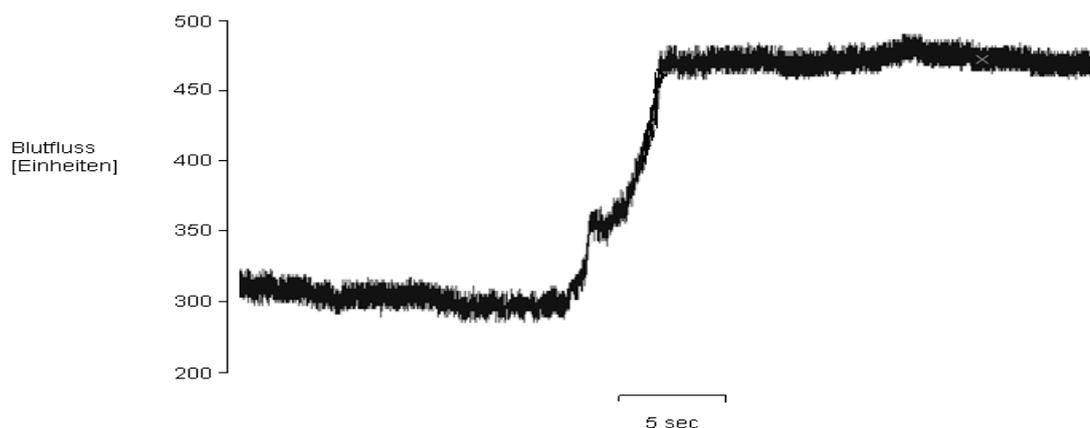


Abbildung 7: Blutflusskurve

In Abbildung 7 wird der Blutfluss in einem der Experimente nach Durchschneidung des LSG veranschaulicht. Es kam zu einem deutlichen Blutflussanstieg.

Nachdem der Blutfluss einen konstanten Wert erreichte, erfolgte über jeweils 50 Sekunden eine Kontrollreizung des LSG mit 0,2, 1 und 10 Hz. Als Kriterium für eine gute Reizung galt ein deutlicher Abfall der Flusswerte für die Dauer der Reizung. Zur Bestimmung des minimalen Blutflusses wurde der geringste

Blutfluss gewählt, unabhängig davon ob er während oder direkt nach der Reizung erreicht wurde.

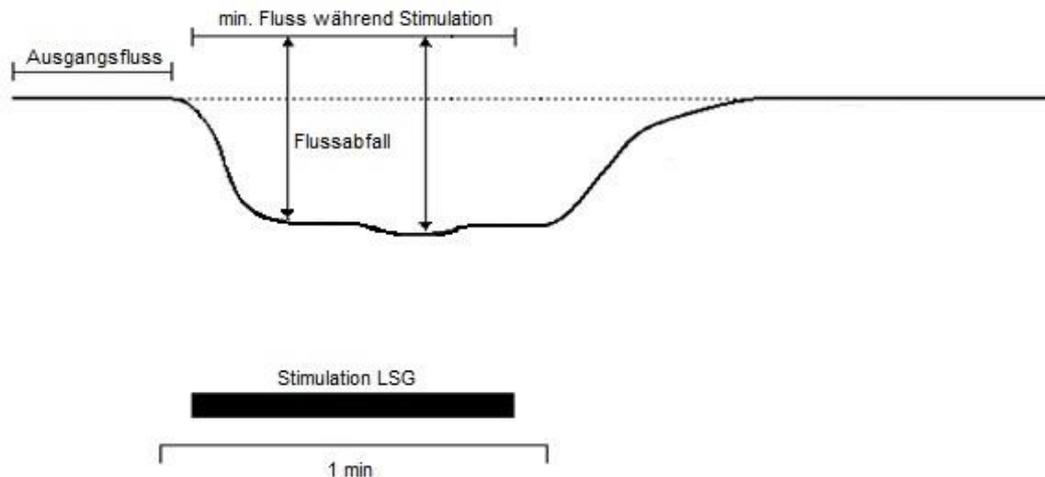


Abbildung 8: Blutfluss vor, während und nach Stimulation des LSG

In Abbildung 8 ist beispielhaft der Blutfluss vor, während und nach Stimulation dargestellt.

In Abhängigkeit von der steigenden Reizfrequenz konnte ein zunehmender Blutflussabfall beobachtet werden, der bei Reizung mit 10 Hz am deutlichsten war. Während der gesamten Reizdauer waren erniedrigte Blutflüsse nachweisbar. Nach Beendigung der Reizung stieg der Blutfluss wieder bis auf annähernd konstante Werte. Da die Blutflussabnahmen bei 0,2 und 1 Hz schwächer waren als bei 10 Hz, erreichte der Blutfluss nach Reizung mit diesen Frequenzen schneller die vor der Reizung gemessenen Ausgangswerte.

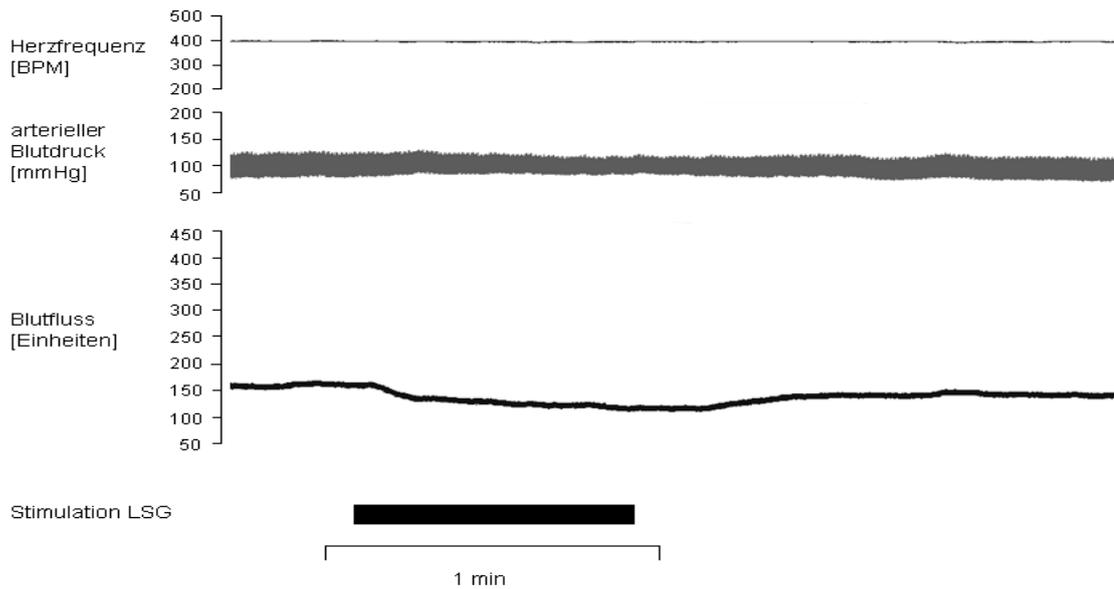


Abbildung 9: Blutflussabfall nach Kontrollreizung mit 0,2 Hz

Abbildung 9 zeigt beispielhaft den Blutflussabfall in einem der Experimente nach Kontrollreizung des LSG mit 0,2 Hz. Der Blutfluss nahm nur schwach ab, gemittelt um 24 % ($p=0,02$).

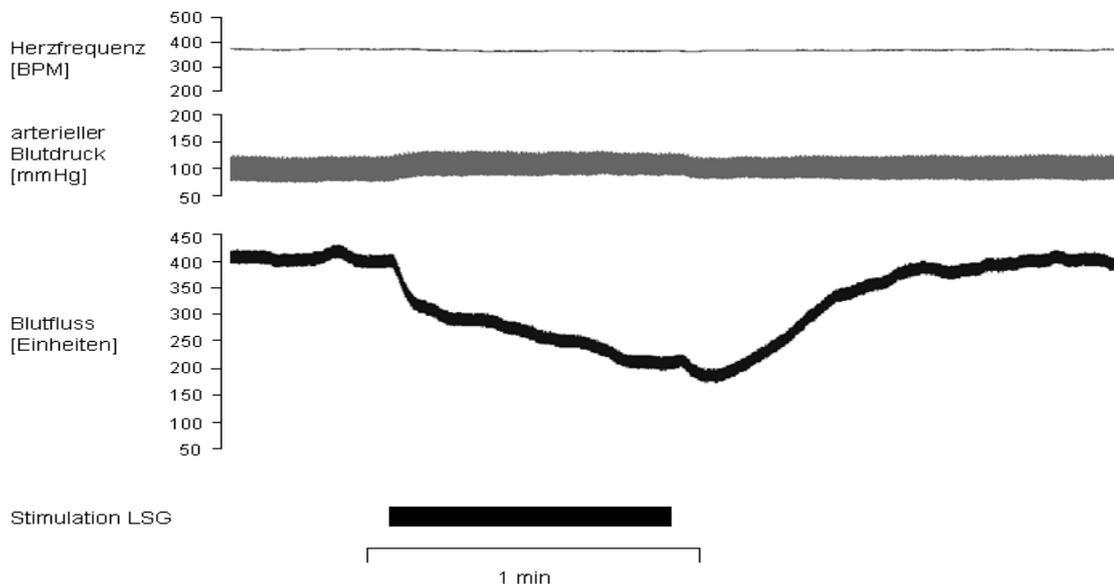


Abbildung 10: Blutfluss nach Kontrollreizung mit 1 Hz

In Abbildung 10 wird der Blutfluss in einem der Experimente nach Kontrollreizung mit 1 Hz dargestellt. Mit steigender Reizfrequenz konnte ein zunehmender Blutflussabfall, gemittelt um 35 % ($p=0,002$), beobachtet werden.

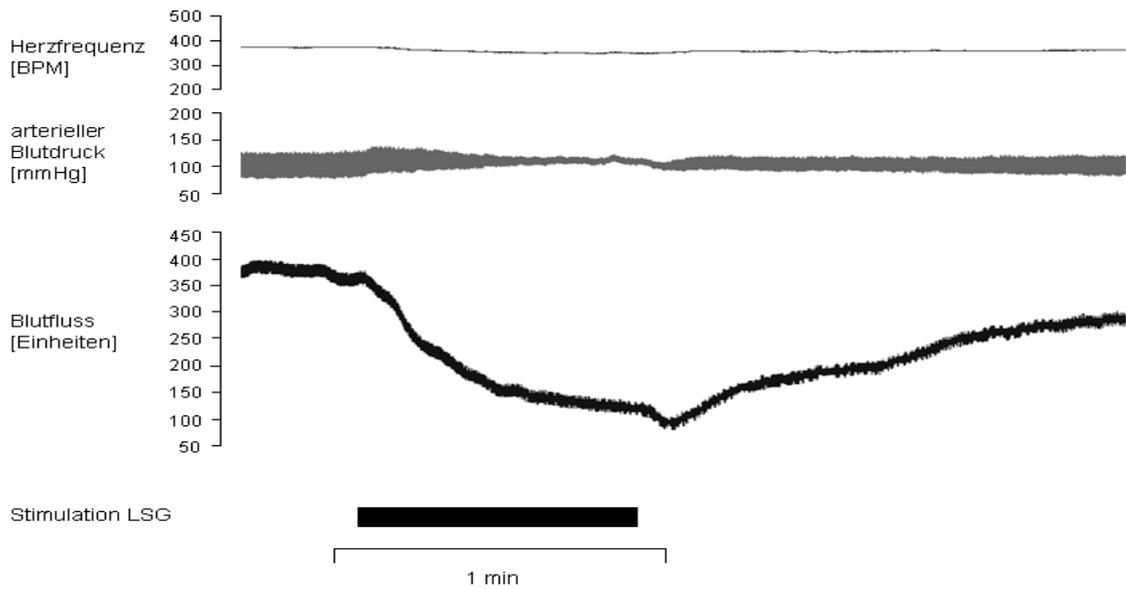


Abbildung 11: Blutfluss nach Kontrollreizung mit 10 Hz

In Abbildung 11 ist nach Kontrollreizung mit 10 Hz der Blutflussabfall am deutlichsten zu sehen. Der Blutfluss nahm gemittelt um 59 % ab ($p=0,002$). Nach der Reizung dauerte der Anstieg auf konstante Ausgangswerte länger als nach Reizung mit 0,2 und 1 Hz.

Es wurde untersucht, ob der Flussabfall in der Kontrollgruppe (vor Iontophorese) vor und nach Stimulation mit 0,2, 1 und 10 Hz signifikant ist (Abbildung 12).

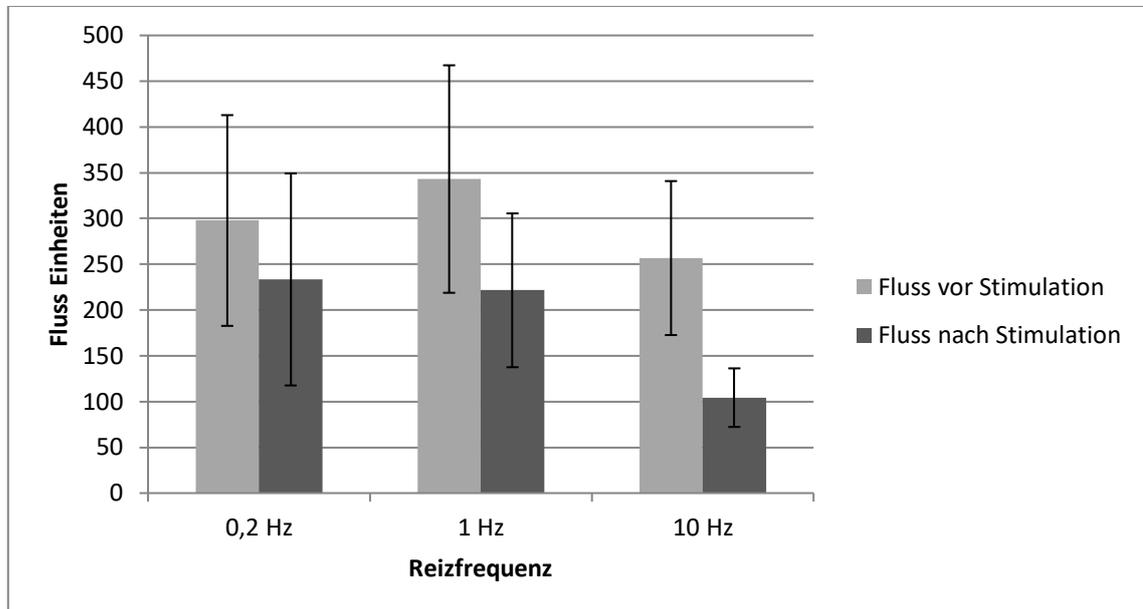


Abbildung 12: Säulendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Blutfluss vor und nach Stimulation vor Iontophorese (Kontrollgruppe) bei unterschiedlichen Reizfrequenzen

Der Kolmogorov-Smirnov-Test zeigt eine Normalverteilung aller Variablen „Fluss vor Iontophorese“, somit kam ein T-Test für gepaarte Stichproben zum Einsatz. Der T-Test für gepaarte Stichproben zeigte einen signifikanten Abfall der Flusswerte in der Kontrollgruppe vor und nach der Stimulation bei 0,2 Hz (von 298 auf 233 Einheiten, $p=0,02$), bei 1 Hz (von 343 auf 222 Einheiten, $p=0,002$) und bei 10 Hz (257 vs. 104 Einheiten, $p=0,002$) (Tabelle 2).

	N	Mittelwert	SD	p-Wert
Fluss vor Stimulation 0,2 Hz	7	297,79	115,11	0,02*
Fluss nach Stimulation 0,2 Hz	7	233,42	115,85	
Fluss vor Stimulation 1 Hz	7	343,08	124,27	0,002**
Fluss nach Stimulation 1 Hz	7	221,54	84,03	
Fluss vor Stimulation 10 Hz	6	256,76	84,1	0,002**
Fluss nach Stimulation 10 Hz	6	104,27	31,99	

Tabelle 2: Blutfluss (Einheiten) bei 0,2, 1 und 10 Hz vor Iontophorese

Der Blutflussabfall in % vor Iontophorese zeigte zwischen den drei Reizfrequenzen einen signifikanten Unterschied (Abbildung 13).

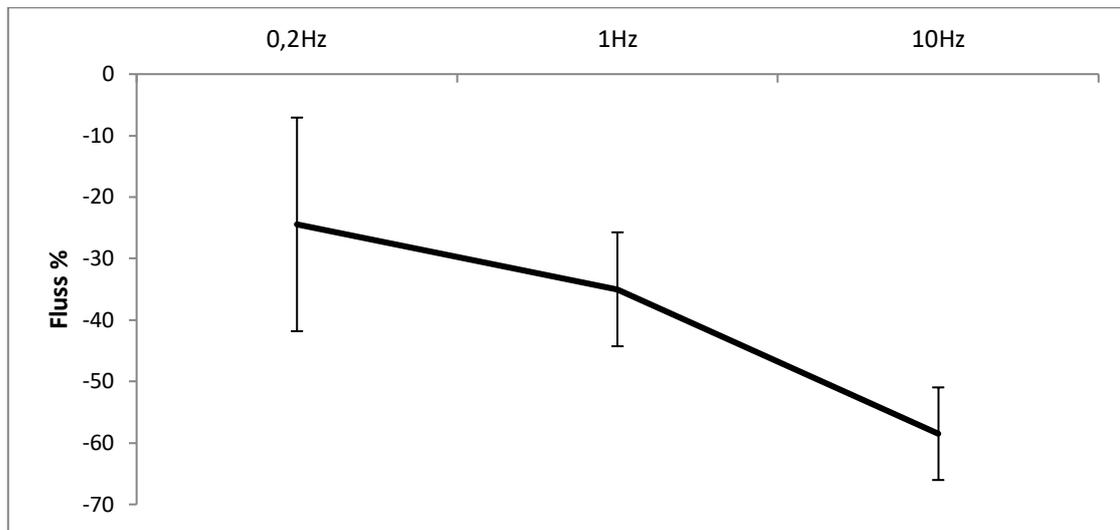


Abbildung 13: Kurvendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Flussabfall in % vor Iontophorese bei 0,2, 1 und 10 Hz

	N	Mittelwert	SD
Flussabfall vor Iontophorese bei 0,2 Hz	6	-24,45	17,37
Flussabfall vor Iontophorese bei 1 Hz	6	-35,00	9,27
Flussabfall vor Iontophorese bei 10 Hz	6	-58,50	7,53

Tabelle 3: Unterschied im Flussabfall in % vor Iontophorese zwischen Reizung mit 0,2, 1 und 10 Hz

Der Unterschied im Blutflussabfall in % vor Iontophorese zwischen Reizung mit 0,2, 1 und 10 Hz wurde nach einem nicht signifikantem Kolmogorov-Smirnov Test mit Hilfe einer Varianzanalyse mit Messwiederholung gemessen. Dieser zeigt einen signifikant höheren Flussabfall bei 10 Hz (59 %) im Vergleich zu 0,2 Hz (24 %, $p < 0,001$) und 1 Hz (35 %, $p = 0,005$) (Tabelle 3).

Während der Reizung stieg bei 0,2 Hz der systemisch arterielle Blutdruck. Bei allen Reizfrequenzen konnte neben dem Anstieg des arteriellen Blutdruckes eine mit steigender Reizfrequenz zunehmende Abnahme der Blutdruckamplitude beobachtet werden. Bei 0,2 Hz war die Änderung der Amplitude nur minimal, bei 10 Hz sehr deutlich ausgeprägt. Die Herzfrequenz war während der gesamten Kontrolle nahezu konstant.

Nach einem positiven Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung wurden die Blutdruckdaten der Versuchsobjekte vor und während Reizung jeweils vor und nach der Iontophorese miteinander verglichen (Abbildung 14).

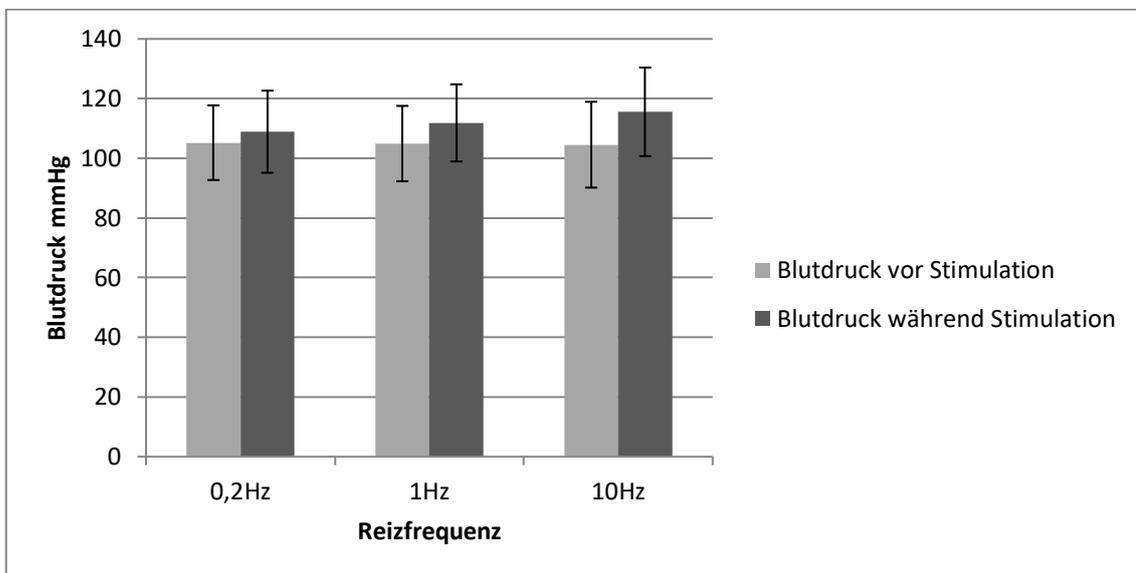


Abbildung 14: Säulendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Blutdruckwerte in der Kontrollgruppe (vor Iontophorese) vor vs. während Stimulation

Ein T-Test für gepaarte Stichproben zeigte einen signifikanten Anstieg der Blutdruckwerte in der Kontrollphase (vor Iontophorese) vor vs. während Stimulation bei allen drei Frequenzen ($p=0,001$, $p<0,001$ und $p=0,002$ entsprechend) (Tabelle 4).

	N	Mittelwert	SD	p-Wert
Blutdruck vor Stimulation 0,2 Hz	7	105,23	12,51	0,001**
Blutdruck während Stimulation 0,2 Hz	7	108,90	13,76	
Blutdruck vor Stimulation 1 Hz	7	104,93	12,62	<0,001**
Blutdruck während Stimulation 1 Hz	7	111,86	12,92	
Blutdruck vor Stimulation 10 Hz	6	104,56	14,38	0,002**
Blutdruck während Stimulation 10 Hz	6	115,57	14,84	

Tabelle 4: Blutdruckwerte (mmHg) vor Iontophorese vor vs. während Stimulation

Nach den Kontrollversuchen wurde Lidocain 10 % mittels Iontophorese appliziert. Es konnten deutliche Unterschiede im Blutfluss beobachtet werden.

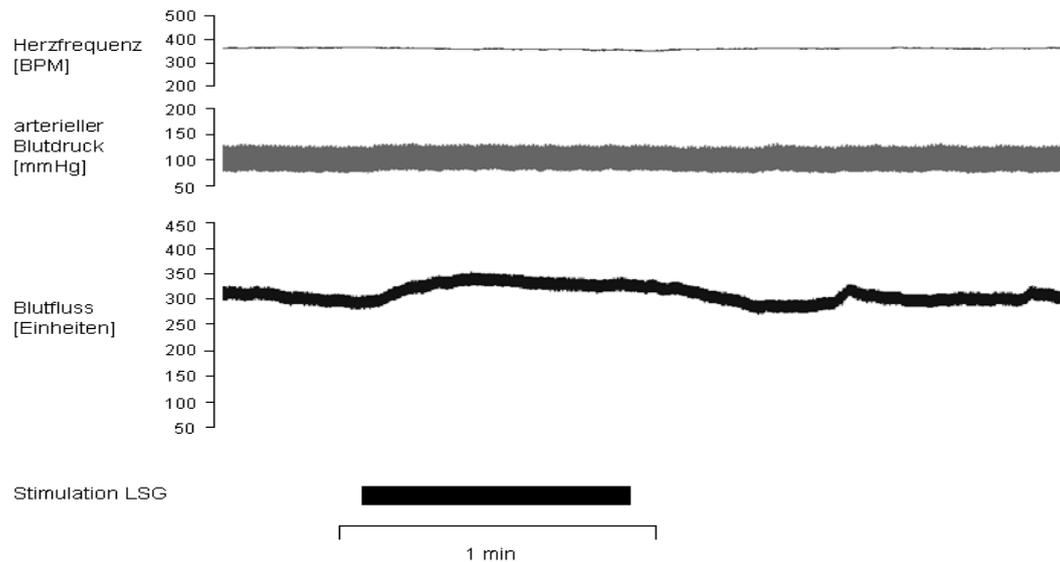


Abbildung 15: Blutflussverlauf nach Reizung des LSG mit 0,2 Hz nach Iontophorese

Abbildung 15 veranschaulicht, dass sich bei Reizung mit 0,2 Hz die Flussabnahme in eine druckpassive Flusszunahme umkehrte. Annähernd während der gesamten Reizdauer lagen die Blutflusswerte plateauartig über den Werten, die vor der Reizung gemessen wurden.

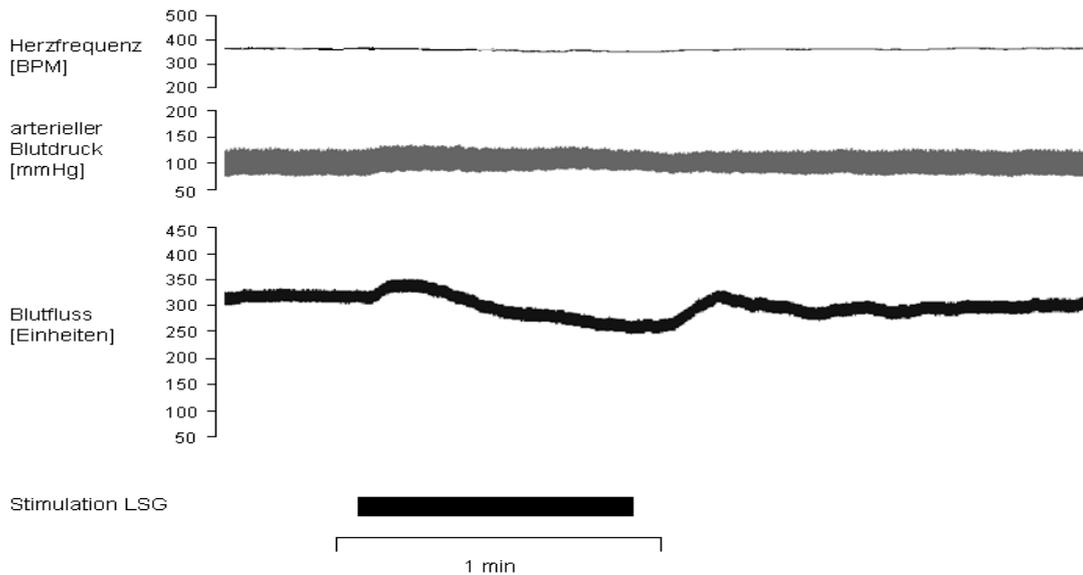


Abbildung 16: Blutflussverlauf nach Reizung mit 1 Hz nach Iontophorese

Während der Reizung mit 1 Hz stieg der Blutfluss in 6 von 7 Experimenten ebenfalls initial an und nahm in 5 von den genannten 6 Experimenten im Verlauf der Reizung ab (Abbildung 16), allerdings nicht so deutlich wie bei der Kontrollmessung. Die Blutflussabnahme war nahezu aufgehoben. In einem Experiment lagen die Blutflusswerte nach dem initialen Blutflussanstieg plateauartig über den vor der Reizung gemessenen Werten, ähnlich dem Blutfluss bei Reizung mit 0,2 Hz. Ein Experiment wies einen kaum sichtbaren, initialen Blutflussanstieg auf.

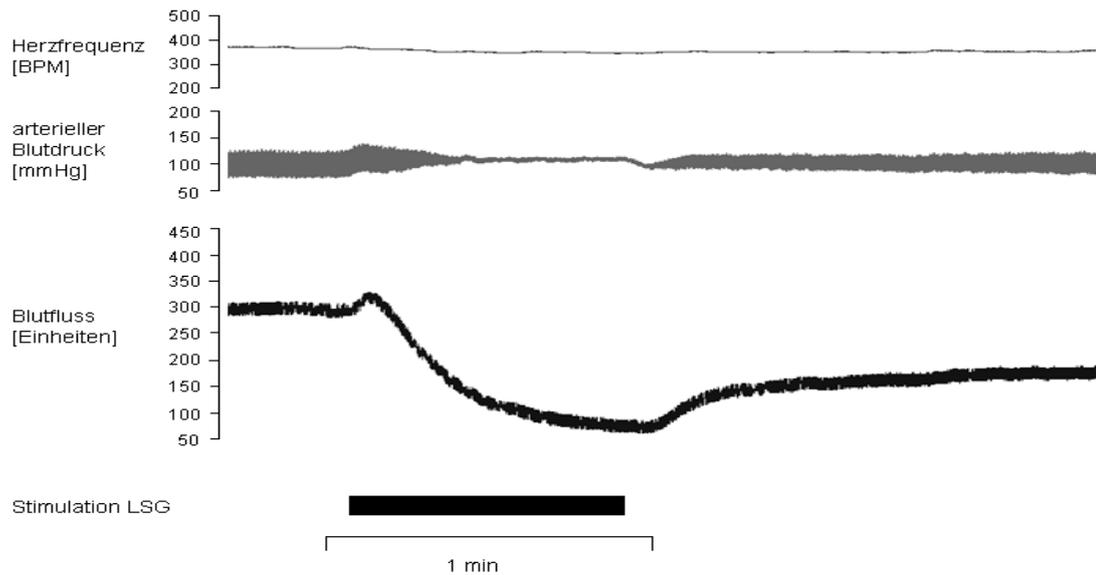


Abbildung 17: Blutflussverlauf nach Reizung mit 10 Hz nach Iontophorese

Abbildung 17 zeigt, dass auch bei 10 Hz ein initialer Blutflussanstieg beobachtet werden konnte, gefolgt von einer deutlichen Blutflussabnahme, die sich nicht signifikant von der Kontrolle unterschied. Nach Reizende stieg der Blutfluss nur langsam wieder an. Der Ausgangswert wurde später erreicht als nach Reizung mit 0,2 und 1 Hz.

Nach der gleichen statistischen Methode wie bereits oben in der Kontrollgruppe beschrieben wurde die Gruppe nach Iontophorese verglichen (Abbildung 18).

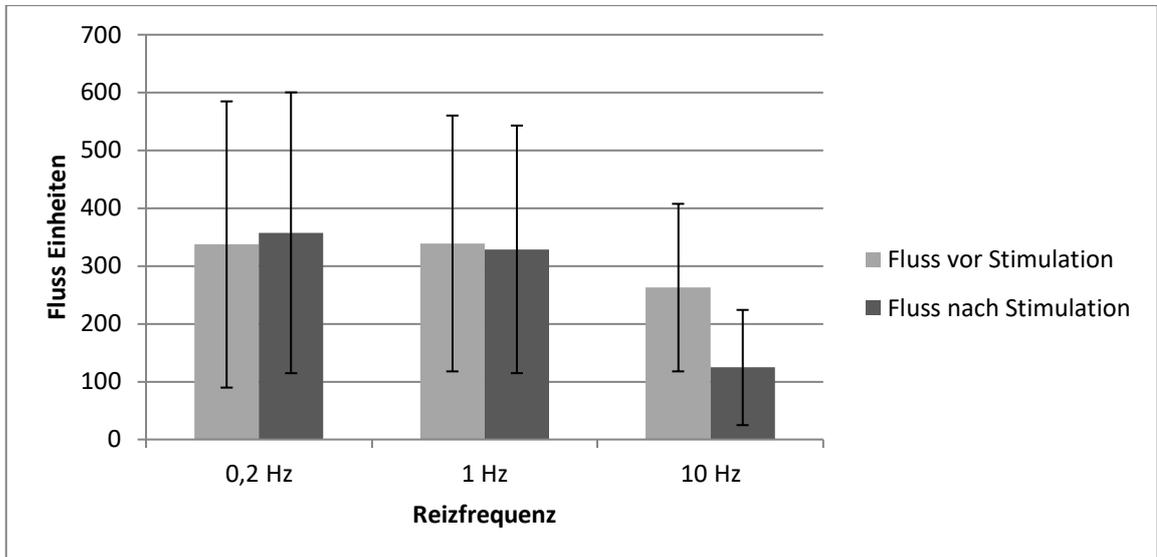


Abbildung 18: Säulendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Blutfluss nach Iontophorese

Der Kolmogorov-Smirnov-Test zeigt eine Normalverteilung aller Variablen „Fluss nach Iontophorese“. Der T-Test für gepaarte Stichproben zeigt einen signifikanten Blutflussabfall bei 10Hz (von 263 auf 124 Einheiten, $p=0,005$). Bei 0,2 und 1 Hz war der Unterschied nicht signifikant (Tabelle 5).

	N	Mittelwert	SD	p-Wert
Fluss vor Stimulation 0,2 Hz	7	337,21	247,51	0,072
Fluss nach Stimulation 0,2 Hz	7	357,47	242,85	
Fluss vor Stimulation 1 Hz	7	338,96	221,25	0,507
Fluss nach Stimulation 1 Hz	7	328,80	214,08	
Fluss vor Stimulation 10 Hz	6	262,65	144,89	0,005**
Fluss nach Stimulation 10 Hz	6	124,43	99,63	

Tabelle 5: Blutfluss (Einheiten) nach Iontophorese bei 0,2, 1 und 10 Hz

Nach Iontophorese konnte zwischen den drei Reizfrequenzen ein deutlicher Unterschied im Fluss nachgewiesen werden. Neben einer Blutflussabnahme bei 1 und 10 Hz konnte bei 0,2 Hz sogar eine Blutflusszunahme beobachtet werden (Abbildung 19).

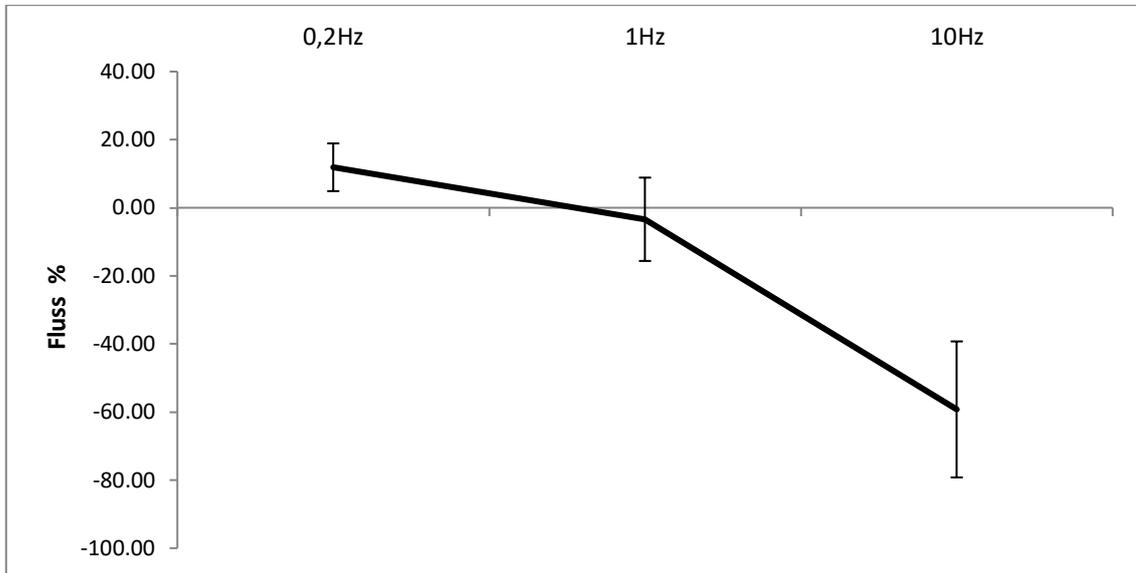


Abbildung 19: Kurvendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Veränderung Fluss in % bei 0,2, 1 und 10 Hz nach Iontophorese

	N	Mittelwert	SD
Flusszunahme nach Iontophorese bei 0,2 Hz	6	11,89	7,01
Flussabfall nach Iontophorese bei 1 Hz	6	-3,39	12,24
Flussabfall nach Iontophorese bei 10 Hz	6	-59,24	19,97

Tabelle 6: Unterschied Fluss in % zwischen 0,2 und 1 Hz und 10 Hz nach Iontophorese

Die Veränderung im Fluss in % nach Iontophorese zwischen 0,2, 1 und 10 Hz wurde, wie bei der Kontrolle, nach einem nicht signifikantem Kolmogorov-Smirnov Test mit Hilfe einer Varianzanalyse mit Messwiederholung gemessen. Dieser zeigte auch einen signifikant höheren Flussabfall bei 10 Hz (59 %). Bei 0,2 Hz stieg der Fluss um 12 % an ($p < 0,001$), bei 1 Hz kam es zu einem Abfall um 3 % ($p = 0,001$) (Tabelle 6).

Mit Hilfe eines T-Tests für gepaarte Stichproben wurde die Veränderung des Flusses in % zwischen den Gruppen vor und nach Iontophorese verglichen (Abbildung 20).

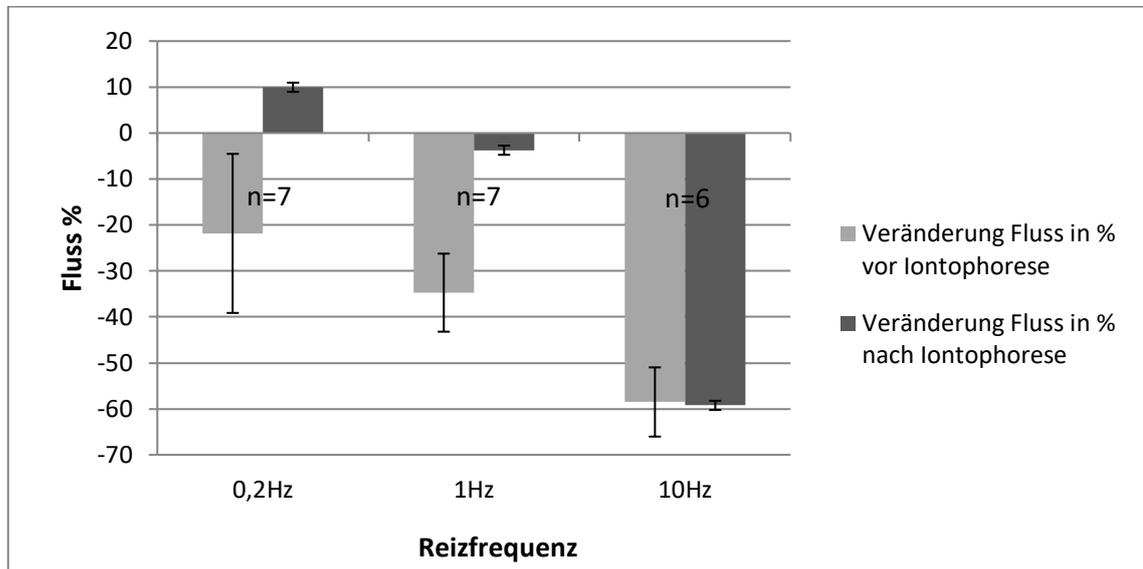


Abbildung 20: Säulendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Veränderung Fluss in % in den Gruppen vor und nach Iontophorese

Bei 0,2 Hz (22 % vs -10 %, $p=0,007$) und 1 Hz (35 % vs 4 %, $p=0,001$) unterschied sich der Fluss signifikant, bei 10 Hz gab es keinen signifikanten Unterschied (Tabelle 7).

	N	Mittelwert	SD	p-Wert
Flussabfall vor Iontophorese 0,2 Hz	7	-21,83	17,3	0,007**
Flusszunahme nach Iontophorese 0,2Hz	7	9,96	8,2	
Flussabfall vor Iontophorese 1 Hz	7	-34,72	8,49	0,001**
Flussabfall nach Iontophorese 1 Hz	7	-3,73	11,21	
Flussabfall vor Iontophorese 10 Hz	6	-58,50	7,53	0,934
Flussabfall nach Iontophorese 10 Hz	6	-59,24	19,97	

Tabelle 7: Unterschied Fluss in % zwischen den Gruppen vor und nach Iontophorese

Abbildung 21 veranschaulicht die Zunahme des Blutdruckes in der Phase nach Iontophorese vor vs. während Reizung.

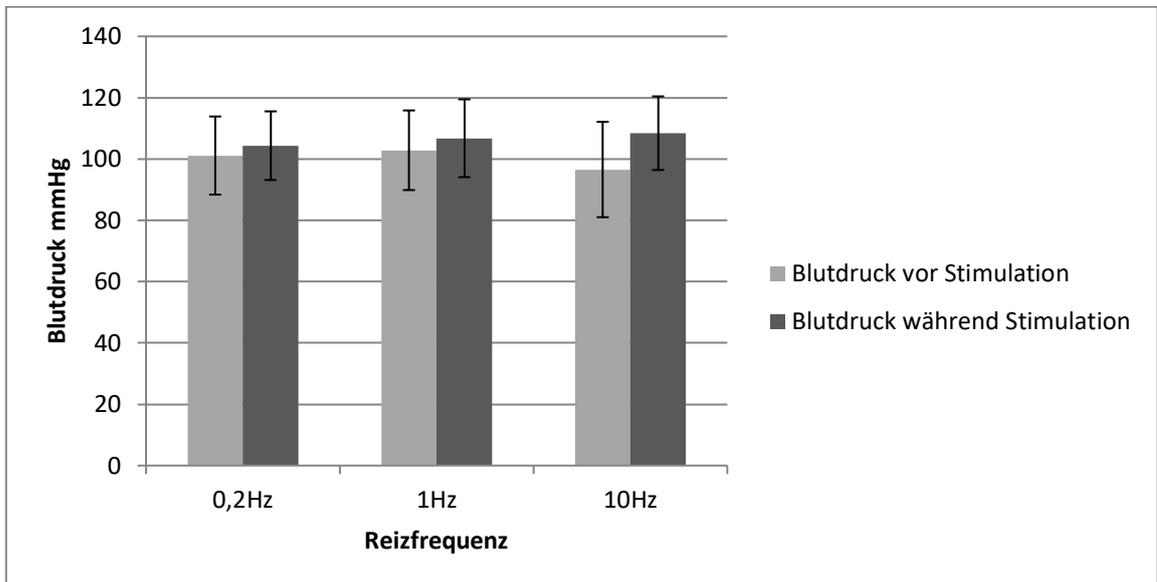


Abbildung 21: Säulendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Blutdruckwerte nach Iontophorese vor vs. während Stimulation

Bei allen drei Frequenzen nahm der Blutdruck signifikant zu ($p=0,021$, $p=0,043$ und $p=0,011$ entsprechend) (Tabelle 8).

	N	Mittelwert	SD	p-Wert
Blutdruck vor Stimulation 0,2 Hz	7	101,12	12,74	0,021*
Blutdruck während Stimulation 0,2 Hz	7	104,35	11,19	
Blutdruck vor Stimulation 1 Hz	7	102,85	12,99	0,043*
Blutdruck während Stimulation 1 Hz	7	106,77	12,69	
Blutdruck vor Stimulation 10 Hz	6	96,56	15,56	0,011*
Blutdruck während Stimulation 10 Hz	6	108,41	12,01	

Tabelle 8: Blutdruckwerte (mmHg) nach Iontophorese vor vs. während Stimulation

Der Unterschied im Blutdruck vor und nach Iontophorese war nur bei 10 Hz vor Stimulation signifikant (105 vs. 97 Einheiten, $p=0,019$) (Tabelle 9 und Abbildung 22).

	N	Mittelwert	SD	p-Wert
Blutdruck vor Stimulation vor Iontophorese 0,2 Hz	7	105,22	12,51	0,2
Blutdruck vor Stimulation nach Iontophorese 0,2 Hz	7	101,12	12,74	
Blutdruck während Stimulation vor Iontophorese 0,2 Hz	7	108,9	13,76	0,149
Blutdruck während Stimulation nach Iontophorese 0,2 Hz	7	104,35	11,19	
Blutdruck vor Stimulation vor Iontophorese 1 Hz	7	104,93	12,62	0,579
Blutdruck vor Stimulation nach Iontophorese 1 Hz	7	102,85	12,99	
Blutdruck während Stimulation vor Iontophorese 1 Hz	7	111,86	12,92	0,112
Blutdruck während Stimulation nach Iontophorese 1 Hz	7	106,77	12,69	
Blutdruck vor Stimulation vor Iontophorese 10 Hz	6	104,56	14,38	0,019*
Blutdruck vor Stimulation nach Iontophorese 10 Hz	6	96,56	15,56	
Blutdruck während Stimulation vor Iontophorese 10 Hz	6	115,57	14,84	0,105
Blutdruck während Stimulation nach Iontophorese 10 Hz	6	108,41	12,01	

Tabelle 9: Blutdruckwerte (mmHg) vor und nach Iontophorese (vor und während Stimulation)

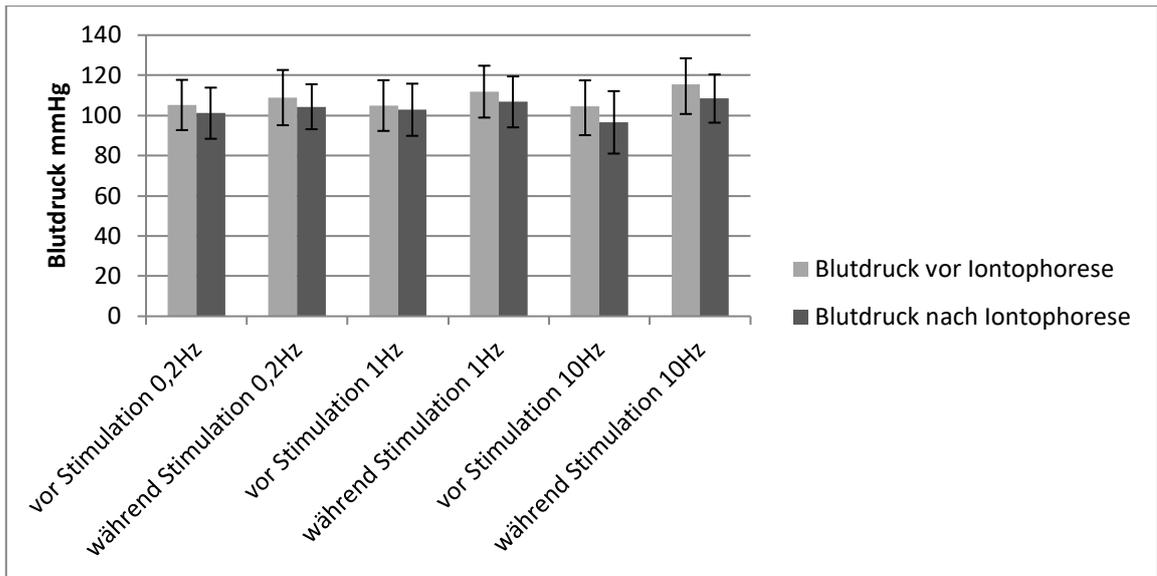


Abbildung 22: Säulendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Blutdruckwerte vor und nach Iontophorese (vor und während Stimulation)

Im Verlauf der Experimente kam es zu keiner messbaren Einschränkung des Gasaustausches. Es gab keine Anzeichen für Hypoxie und Azidose. Die Werte der nach Iontophorese durchgeführten arteriellen Blutgasanalysen (BGA) sind in Tabelle 10 abgebildet.

Tier	pH	pCO ² [mmHg]	pO ² [mmHg]
1	7,4	57,4	105,1
2	7,4	43,3	96,2
3	7,4	39,3	138,2
4	7,3	27,1	137
5	7,4	45	115,4
6	7,5	50,8	128,7
7	7,3	46,7	114,9

Tabelle 10: Werte der nach Iontophorese durchgeführten arteriellen Blutgasanalysen (BGA)

3.1.2 Systemische Lidocain-Applikation

Vor der systemischen wie auch vor der iontophoretischen Lidocainapplikation wurde eine Kontrollreizung des lumbalen sympathischen Grenzstranges mit 0,2 und 1 Hz durchgeführt. Auf eine Reizung mit 10 Hz wurde verzichtet, da der Lidocain-Effekt nur kurz andauert und somit ein begrenztes Zeitfenster zu Verfügung stand. Aus den Experimenten mit 10 Hz Reizung war bekannt, dass die Ausgangsflusswerte im Vergleich zur Reizung mit 0,2 und 1 Hz später erreicht wurden. Beide Frequenzen führten zu einem vergleichbaren Verhalten von Blutfluss, systemisch arteriellen Blutdruck und Herzfrequenz. Während der Reizung stieg der systemisch arterielle Blutdruck bei 0,2 Hz und 1 Hz an.

Der Blutflussabfall in % bei systemischer Lidocain-Applikation (Abbildung 23) unterschied sich bei Reizung mit 0,2 und 1 Hz nicht signifikant von der Kontrolle in Bezug auf die Menge an Lidocain (ANOVA mit Messwiederholung).

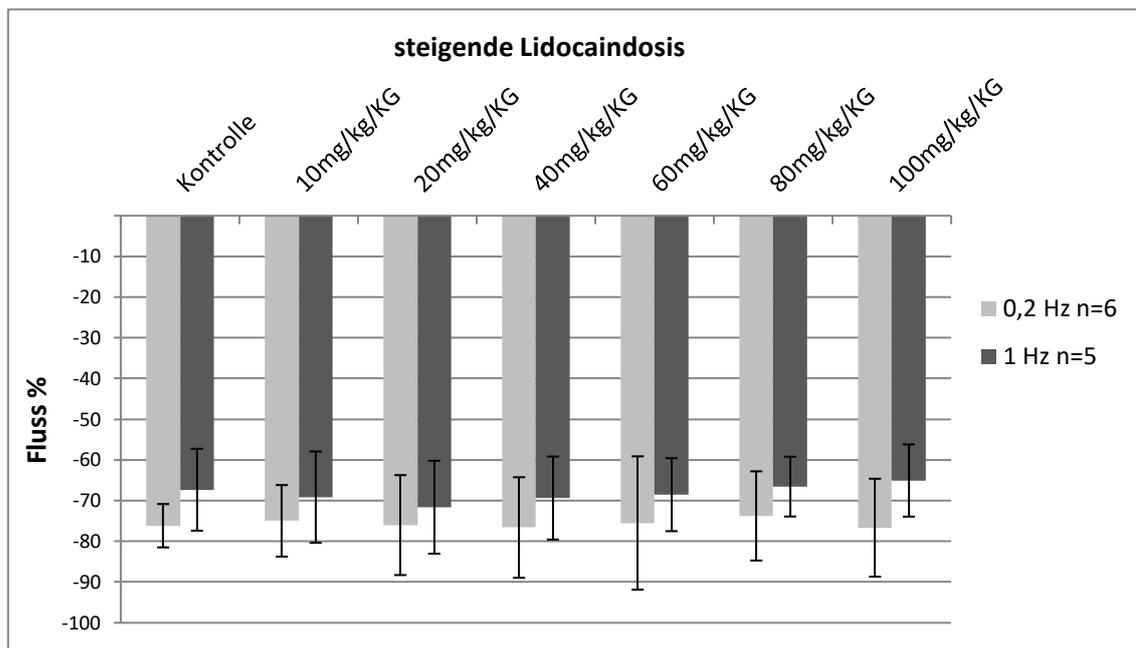


Abbildung 23: Säulendiagramm (Mittelwerte, Standardabweichung): Blutflussabfall in % bei steigender Lidocain-Dosierung und Reizung mit 0,2 und 1 Hz

	N	Mittelwert	SD
% Abnahme Blutfluss Kontrolle	6	76,15	5,33
% Abnahme Blutfluss 10 mg/kg/KG	6	74,95	8,79
% Abnahme Blutfluss 20 mg/kg/KG	6	76,00	12,28
% Abnahme Blutfluss 40 mg/kg/KG	6	76,59	12,35
% Abnahme Blutfluss 60 mg/kg/KG	6	75,49	16,38
% Abnahme Blutfluss 80 mg/kg/KG	6	73,75	10,96
% Abnahme Blutfluss 100 mg/kg/KG	6	76,64	12,03

Tabelle 11: Blutflussabnahme in % bei steigender Lidocain-Dosierung und Reizung mit 0,2 Hz

	N	Mittelwert	SD
% Abnahme Blutfluss Kontrolle	5	67,31	10,06
% Abnahme Blutfluss 10 mg/kg/KG	5	69,12	11,22
% Abnahme Blutfluss 20 mg/kg/KG	5	71,61	11,42
% Abnahme Blutfluss 40 mg/kg/KG	5	69,36	10,20
% Abnahme Blutfluss 60 mg/kg/KG	5	68,53	8,97
% Abnahme Blutfluss 80 mg/kg/KG	5	66,55	7,34
% Abnahme Blutfluss 100 mg/kg/KG	5	65,05	8,87

Tabelle 12: Blutflussabnahme in % bei steigender Lidocain-Dosierung und Reizung mit 1 Hz

Nach Infusion von Lidocain konnte bei beiden Reizfrequenzen bei jeder Dosisstufe ein mit der Kontrolle vergleichbarer Blutflussverlauf beobachtet werden, die Vasokonstriktion war auslösbar (Tabelle 11 und 12).

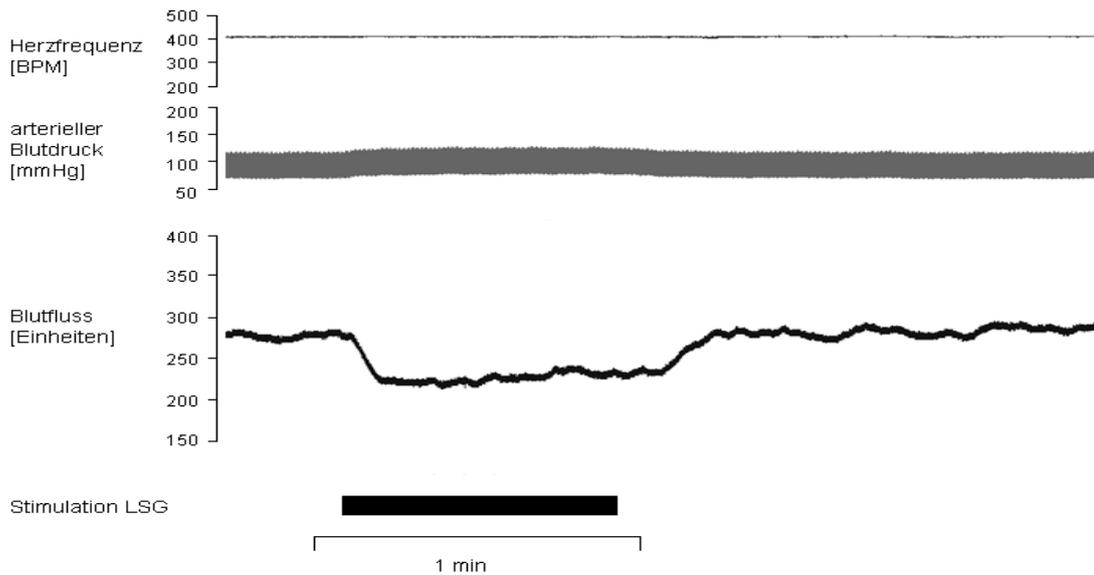


Abbildung 24: Blutfluss in einem der systemischen Experimente nach Kontrollreizung mit 0,2 Hz

Abbildung 24 zeigt eine Vasokonstriktion mit resultierendem Blutflussabfall nach Kontrollreizung mit 0,2 Hz. Der Blutflussabfall unterschied sich nicht signifikant von der Gruppe, in der Lidocain systemisch appliziert wurde. Selbst bei hohen Lidocain-Dosen (100 mg/kg/KG) waren Vasokonstriktionen auslösbar (Abbildung 25).

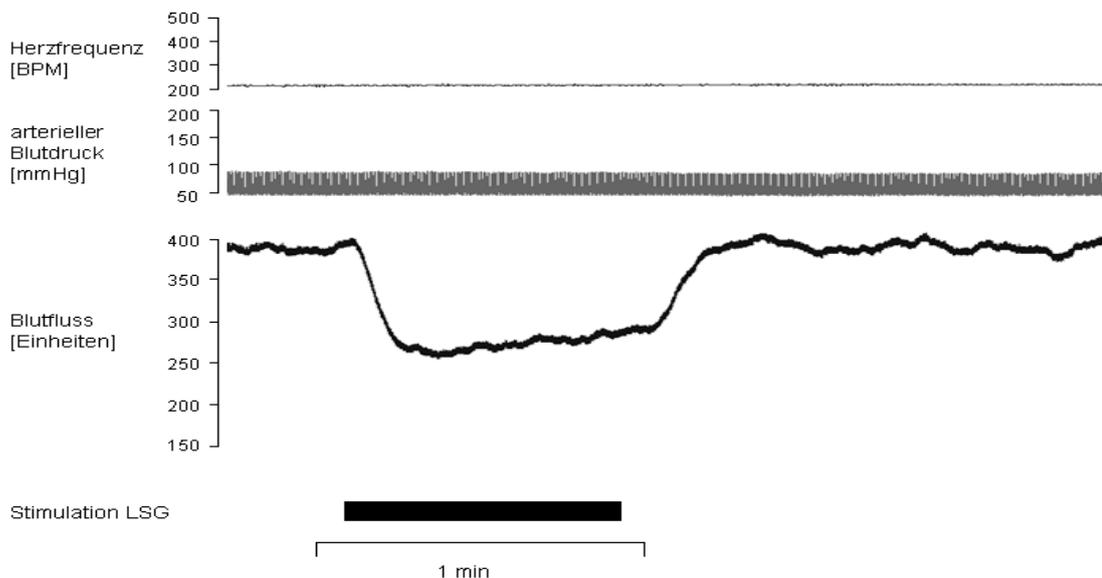


Abbildung 25: Blutfluss nach Reizung mit 0,2 Hz und systemischer Applikation von 100 mg/kg/KG Lidocain (5 %)

Ein ähnlicher Blutflussverlauf konnte bei Kontrollreizung mit 1 Hz beobachtet werden (Abbildung 26). Gemittelt nahm der Blutfluss um 67 % ab.

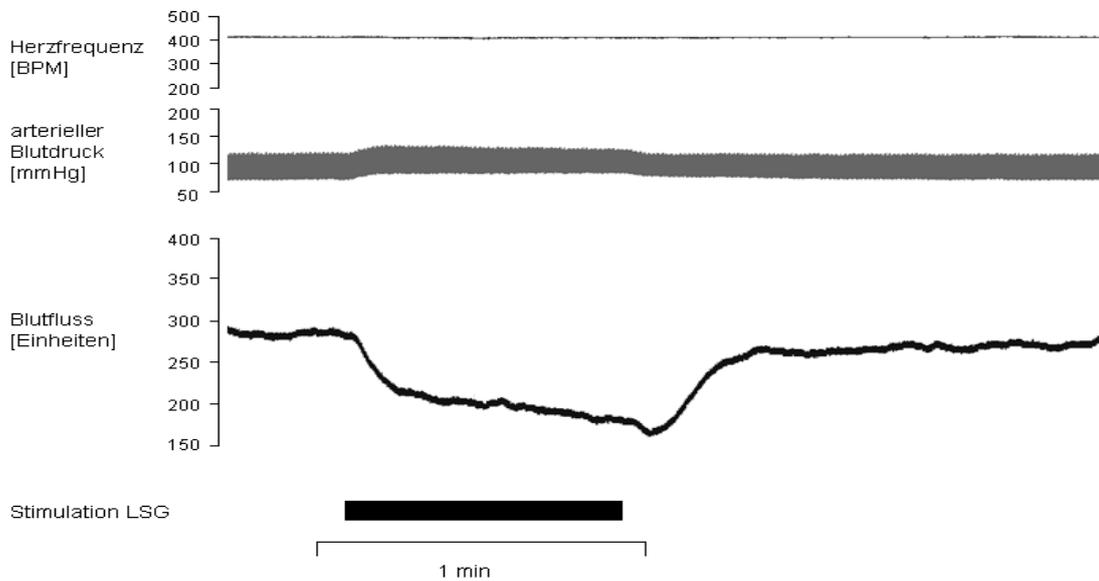


Abbildung 26: Blutfluss nach Kontrollreizung mit 1 Hz

Auch unter steigender systemischer Lidocain-Konzentration ließen sich bei 1 Hz Vasokonstriktionen auslösen.

Nach Gabe vom 100 mg/kg/KG Lidocain nahm der Blutfluss gemittelt um 65 % ab und unterschied sich nicht signifikant von der Kontrolle (Abbildung 27).

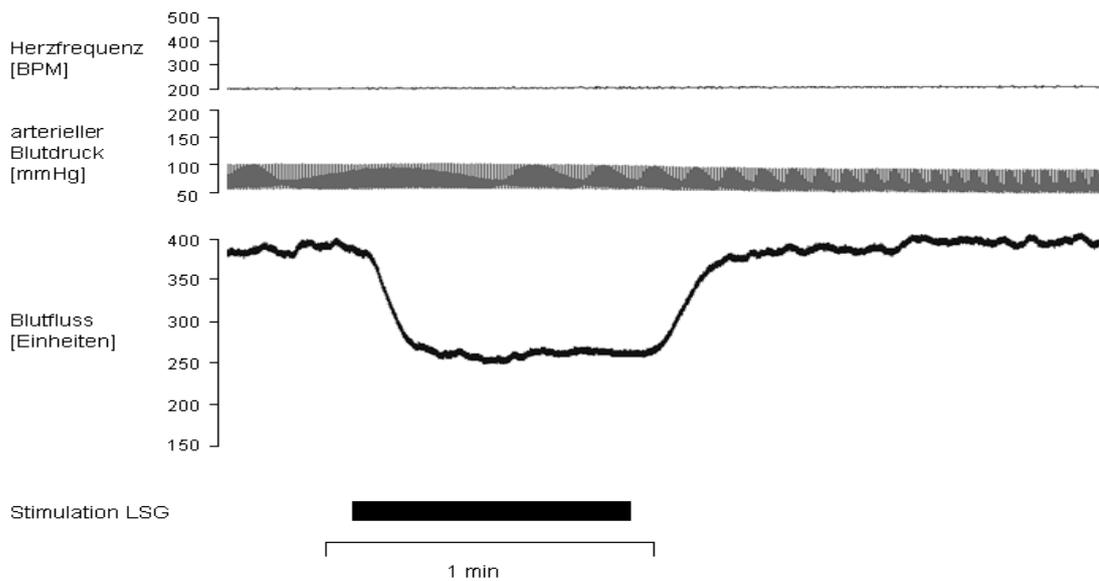


Abbildung 27: Blutfluss nach Reizung mit 1 Hz und systemischer Applikation von 100 mg/kg/KG Lidocain (5 %)

Alle 8 Versuchstiere überlebten eine Dosissteigerung bis 60 mg/kg/KG. An 7 Tieren konnten die Versuche bis zu einer Dosierung von 80 mg/kg/KG, an 6 bis 100 mg/kg/KG durchgeführt werden. Eine Infusion von 120 mg/kg/KG überlebten 4 Tiere, 140 mg/kg/KG nur noch 2. Nur einem Versuchstier wurde die Dosis von 160 mg/kg/KG appliziert. Die steigende Lidocain-Dosierung führte zunehmend zu Herzrhythmusstörungen und einem Abfall der Herzfrequenz. Der arterielle Mitteldruck fiel mit steigender Lidocain-Dosis signifikant ab (Tabelle 13). Alle Versuche endeten mit Asystolie.

	N	Mittelwert	SD	p-Wert
Blutdruck vor Stimulation Kontrolle 0,2 Hz	8	98,03	19,46	0,011*
Blutdruck während Stimulation Kontrolle 0,2 Hz	8	102,83	17,30	
Blutdruck vor Stimulation Kontrolle 1 Hz	8	102,43	13,21	0,001**
Blutdruck während Stimulation Kontrolle 1 Hz	8	109,77	12,87	
Blutdruck vor Stimulation 10mg/kg/KG 0,2 Hz	8	94,66	18,90	0,006**
Blutdruck während Stimulation 10mg/kg/KG 0,2 Hz	8	99,10	18,23	
Blutdruck vor Stimulation 10mg/kg/KG 1 Hz	8	91,48	19,07	0,003**
Blutdruck während Stimulation 10mg/kg/KG 1 Hz	8	99,40	18,13	
Blutdruck vor Stimulation 20mg/kg/KG 0,2 Hz	8	93,11	11,10	0,003**
Blutdruck während Stimulation 20mg/kg/KG 0,2 Hz	8	97,62	11,58	
Blutdruck vor Stimulation 20mg/kg/KG 1 Hz	8	90,67	15,45	0,003**
Blutdruck während Stimulation 20mg/kg/KG 1 Hz	8	96,19	15,59	
Blutdruck vor Stimulation 40mg/kg/KG 0,2 Hz	8	82,96	12,42	0,005**
Blutdruck während Stimulation 40mg/kg/KG 0,2 Hz	8	87,43	10,60	
Blutdruck vor Stimulation 40mg/kg/KG 1 Hz	8	82,67	9,02	0,001**
Blutdruck während Stimulation 40mg/kg/KG 1 Hz	8	91,19	8,17	
Blutdruck vor Stimulation 60mg/kg/KG 0,2 Hz	8	71,91	8,75	0,002**
Blutdruck während Stimulation 60mg/kg/KG 0,2 Hz	8	75,18	8,20	
Blutdruck vor Stimulation 60mg/kg/KG 1 Hz	8	69,84	13,03	0,004**
Blutdruck während Stimulation 60mg/kg/KG 1 Hz	8	75,49	13,22	
Blutdruck vor Stimulation 80mg/kg/KG 0,2 Hz	7	67,54	10,28	0,017*
Blutdruck während Stimulation 80mg/kg/KG 0,2 Hz	7	68,65	11,01	
Blutdruck vor Stimulation 80mg/kg/KG 1 Hz	7	65,98	9,63	0,014*
Blutdruck während Stimulation 80mg/kg/KG 1 Hz	7	69,15	9,81	
Blutdruck vor Stimulation 100mg/kg/KG 0,2 Hz	6	70,27	6,65	0,790
Blutdruck während Stimulation 100mg/kg/KG 0,2 Hz	6	70,36	6,46	
Blutdruck vor Stimulation 100mg/kg/KG 1 Hz	6	68,19	4,77	0,026*
Blutdruck während Stimulation 100mg/kg/KG 1 Hz	6	70,36	4,48	

Tabelle 13: Blutdruckwerte (mmHg) vor und während Stimulation mit 0,2 und 1 Hz und steigender systemischer Lidocain-Dosierung.

Ein T-Test für gepaarte Stichproben zeigt mit Ausnahme von 100mg/kg/KG und 0,2 Hz überall einen signifikanten Blutdruckanstieg vor zu während Stimulation (Tabelle 13).

4 Diskussion

4.1 Hohe lokale Lidocain-Dosierungen schwächen die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion ab

In der vorliegenden Arbeit konnte nach iontophoretischer Applikation von Lidocain eine Abschwächung der sympathisch vermittelten Vasokonstriktion beobachtet werden.

Topisch, mittels Iontophorese, appliziertes Lidocain schwächt die Blutflussabnahme bei Ruhefrequenzen von 0,2 und 1 Hz ab. Nach Stimulation des lumbalen sympathischen Grenzstranges mit 0,2 Hz kam es bei der Kontrollreizung ohne Lidocain zu einer Abnahme des Blutflusses um 24 % ($p < 0,001$), nach Iontophorese hingegen zu einer Zunahme um 12 %. Annähernd während der gesamten Reizdauer lagen die Blutflusswerte plateauartig über den Werten, die vor der Reizung gemessen wurden. Nach Stimulation mit 1 Hz wurde bei der Kontrollreizung eine Blutflussabnahme um 35 % ($p = 0,005$), nach Iontophorese um 3 % ($p = 0,001$) gemessen.

Die nach Kontrollreizung mit 10 Hz gemessene Blutflussabnahme unterschied sich nicht signifikant von der Messung nach Lidocain-Iontophorese.

Bei allen Reizfrequenzen stieg der arterielle Mitteldruck an und unterschied sich nicht signifikant von der Kontrolle. Die Blutdruckamplitude nahm mit steigender Frequenz ab. Der systolische Blutdruck nahm ab, der diastolische hingegen zu. Die Zunahme des arteriellen Mitteldruckes sowie die Abnahme der Blutdruckamplitude waren bei 10 Hz am deutlichsten ausgeprägt.

Diese Beobachtungen lassen sich durch eine vasokonstriktorisch bedingte Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes erklären.

Über die drei verwendeten Reizfrequenzen ließ sich ein frequenzabhängiger Blutdruckanstieg feststellen.

Da die Reizung am ipsilateralen lumbalen Grenzstrang zwischen L2 und L4 erfolgte und nicht an einem peripheren Nerv, kann man davon ausgehen, dass im gesamten sympathisch innervierten Gefäßsystem der unteren Extremität eine Vasokonstriktion ausgelöst wurde, was die Erhöhung des arteriellen Mitteldruckes erklärt.

Bei 10 Hz konnte eine sehr deutliche Abnahme des Blutflusses beobachtet werden. Die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion konnte hier auch nach iontophoretischer Applikation von Lidocain ausgelöst werden. Bei 0,2 und 1 Hz war die Vasokonstriktion nach Lidocain-Applikation aufgehoben.

Man könnte auf Grund dieser Beobachtung schließen, dass die Wirkung von Lidocain frequenzabhängig ist.

Die Tatsache, dass in der vorliegenden Arbeit nach iontophoretischer Lidocain-Applikation bei 10 Hz die Vasokonstriktion unbeeinflusst blieb und sich von der Kontrolle nicht unterschied, steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Fukuda et al. (1980), wo vor allem bei hohen Reizfrequenzen eine stark ausgeprägte Abschwächung der Vasokonstriktion beobachtet wurde.

Die Ergebnisse von Fukuda et al. (1980) sind hinsichtlich des Versuchsaufbaus kritisch zu bewerten. Im Gegensatz zu den in vivo-Versuchen dieser Arbeit führten Fukuda et al. (1980) in vitro-Versuche durch, in denen Präparationen von Arterien untersucht wurden. Eine Verfälschung der Messergebnisse durch das Gewebetrauma bei der Präparation der Gefäßabschnitte ist denkbar.

Die Wahl des Laser-Dopplers stellt ein noninvasives und differenziertes Verfahren zur Messung des arteriellen Blutflusses dar. Andere Verfahren wie bspw. intrakutane Injektionen neutraler Kochsalzlösungen zur Flussmessung können hingegen die Messwerte erheblich verfälschen (Graf & Niesel 2003).

Die Applikation von Lidocain mittels Iontophorese hat vermutlich eine direkte Wirkung auf die Gefäßmuskulatur der kutanen Gefäße. Jorfeldt, Löffström, Pernow und Wahren (1970) beobachteten, dass eine intraarterielle Injektion des Lokalanästhetikums Mepivacain zu einer Herabsetzung des Blutflusses im Vorderarm führte. Da selbst nach einer Sympathikusblockade diese Vasokonstriktion auftrat, schlussfolgerten Jorfeldt et al. (1970), dass es sich hierbei um einen lokalen Effekt handelt.

Neben dem direkten Effekt auf die Gefäßmuskulatur haben Lokalanästhetika auch eine indirekte Wirkung auf das Gefäßsystem. Über eine Sympathikusblockade im Rahmen von neuroaxialen und rückenmarksnahen Techniken werden überwiegend die vasokonstriktorisch innervierten Arteriolen

(Skelettmuskulatur, Haut, Splanchnikusgebiet) beeinflusst. Durch die resultierende Vasodilatation kommt es zu einer Mehrperfusion von Muskeln, Haut und Gastrointestinaltrakt (Graf & Niesel 2003).

Zusammenfassend kann man sagen, dass Lidocain in hohen Dosen frequenzabhängig die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion abschwächt, wobei dieser Effekt nur bei 0,2 und 1 Hz beobachtet werden konnte.

Da in der vorliegenden Arbeit hohe Lidocain-Konzentrationen lokal appliziert wurden und an gleicher Stelle die Blutflussmessung erfolgte, ist es sehr wahrscheinlich, dass die direkte Wirkung von Lidocain auf die Gefäßmuskulatur der Pfote den größten Einfluss auf die Gefäßantwort hatte.

Bei hohen Reizfrequenzen ließ sich eine Abschwächung der sympathisch vermittelten Vasokonstriktion durch Lidocain nicht beobachten. Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, dass bei 10 Hz neben Noradrenalin ein weiterer Neurotransmitter eine starke Vasokonstriktion auslöst – das Neuropeptid Y (NPY). Auf dieses Neuropeptid wird weiter unten in dieser Arbeit eingegangen.

4.2 Systemisch appliziertes Lidocain zeigt in vivo keine Wirkung auf die sympathische Gefäßinnervation

Wie bei den Experimenten, in denen Lidocain topisch appliziert wurde, erfolgte auch bei der systemischen Applikationsform eine Reizung des lumbalen sympathischen Grenzstranges mit 0,2 und 1 Hz. Auf eine Reizung mit 10 Hz wurde verzichtet, da der Lidocaineffekt nur kurz andauert (s. o.) und somit ein begrenztes Zeitfenster zu Verfügung stand. Nach Reizung mit 10 Hz wurde der Ausgangsflusswert später erreicht als bei 0,2 und 1 Hz.

Initial wurden 10 mg/kg/KG Lidocain intravenös appliziert, gefolgt nach 12 Minuten von 20 mg/kg/KG. Die Dosis wurde in gleichen Zeitabständen um jeweils 20 mg/kg/KG bis zur Asystolie gesteigert.

Nach Infusion von Lidocain konnte bei jeder Dosisstufe ein mit der Kontrolle vergleichbarer Flussverlauf beobachtet werden, die Vasokonstriktion war stets auslösbar. Der Blutflussrückgang unterschied sich nicht signifikant von der Kontrolle.

Während der Reizung stieg der systemisch arterielle Blutdruck bei 0,2 Hz um 4,1 % und bei 1 Hz um 7,2 % an.

Die steigende Lidocain-Dosierung verursachte zunehmend Herzrhythmusstörungen und einen Abfall von Herzfrequenz sowie arteriellem Mitteldruck, was schließlich zu Asystolie führte.

Zink und Ulrich (2018) gehen in ihrem Review auf den pathophysiologischen Mechanismus der negativ chronotropen und dromotropen Wirkung von Lokalanästhetika ein.

Lokalanästhetika blockieren kardiale Na⁺-Kanäle, wobei die Blockadedauer substanzspezifisch ist. Lidocain und Bupivacain zeigen dabei einen sehr raschen Wirkeintritt, die Kanalblockade bildet sich bei Lidocain jedoch nach ca. 0,1 s zurück, bei Bupivacain hingegen nach ca. 1,5 s.

Weiterhin unterliegt die Blockade kardialer Na⁺-Kanäle stereoselektiven Einflüssen wobei R (+) -Ropivacain den Einstrom von Natriumionen stärker als das S (-) -Enantiomer unterdrückt.

Darüber hinaus gibt es zahlreiche Hinweise dafür, dass die Hemmung einer Vielzahl biologischer Prozesse und Enzyme (bspw. Eingriff in den mitochondrialen Stoffwechsel) durch Lokalanästhetika für die kardiale Toxizität verantwortlich sein könnte (Butterworth 2010).

Groban, Deal, Vernon, James und Butterworth (2001) verabreichten anästhesierten und normoventilierten Hunden intravenös Lidocain in steigenden Dosen bis zur Überdosierung. Aus einer myokardialen Depression resultierten drastische Hypotonien, unter denen es zu Herz-Kreislaufversagen kam. Eine hohe Inzidenz kardialer Arrhythmien bei hohen, toxischen Lidocain-Dosierungen wurde nicht beobachtet.

Diese Beobachtungen stimmen mit denen von Liu, Feldman, Covino, B. M., Giasi und Covino, B. G. (1982) überein. In den ebenfalls an anästhesierten Hunden durchgeführten Versuchen führten hohe Lidocain-Dosen zu kardialem Pumpversagen und schließlich zum Tod der Versuchstiere. Eine erhöhte Inzidenz kardialer Arrhythmien wurde vor Auftreten des Herz-Kreislaufstillstandes ebenfalls nicht beobachtet. Selbst nachdem Blutdruck

sowie Herzzeitvolumen nicht mehr messbar waren, war die Herzaktivität im EKG noch nachweisbar. Liu et al. (1982) schlossen daraus, dass kardiales Pumpversagen im Sinne einer Sinusbradykardie für den Tod der Versuchstiere verantwortlich war.

Kardiales Pumpversagen durch Lokalanästhetika-Überdosierungen wird bei Patienten mit einer Kardiomyopathie durch ihre schwache linksventrikuläre Funktion begünstigt. Zudem kann der negativ-inotrope Effekt von Lokalanästhetika vor allem im Beisein einer metabolischen Azidose und Hyperkapnie eine signifikante hämodynamische Instabilität herbeiführen (Tanawuttiwat, Thisayakorn & Viles-Gonzalez 2014).

4.3 Selektive Reizung des lumbalen sympathischen Grenzstranges: Unterschiedliche Reizfrequenzen in Ruhe und unter Stress

Nach Darstellung des lumbalen sympathischen Grenzstranges wurde dieser selektiv gereizt und die dadurch ausgelöste Vasokonstriktion an der freipräparierten Schwanzarterie mittels Laserdoppler-Flowmetrie gemessen. Die Präparation war aufwendig, jedoch schonend. Keine relevanten Organsysteme wurden beeinträchtigt.

In vitro Studien an isolierten Gefäßabschnitten (Szocik, Gardner & Webb 1993, Gheradini et al. 1998) sind hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz kritisch zu bewerten. Durch die Präparation ist von einem erheblichen Gewebetrauma auszugehen, so dass Ergebnisse hierdurch verfälscht werden könnten.

Szocik et al. (1993) lösten Vasokonstriktionen durch direkte Elektrostimulation von isolierten Gefäßabschnitten oder durch Applikation von exogenem Noradrenalin aus. Die Reizung erfolgte somit weiter distal, also am Endorgan Gefäß.

In der vorliegenden Arbeit konnte der Weg der neuroeffektorischen Übertragung unter Ruhebedingungen und unter Stress sehr exakt simuliert werden. Zusammengenommen handelt es sich wohl um einen lebensnahen in-vivo Ansatz.

Häbler et al. (1994) wiesen nach Reizung des lumbalen Grenzstranges Aktionspotentiale an kutanen Vasokonstriktorneuronen in Präparationen des N.

saphenus der Ratte nach. Durch Gabe von Hexamethonium, eines Acetylcholin-Rezeptoren-Antagonisten und Ganglienblockers, konnten diese Aktionspotentiale gehemmt werden, was darauf hindeutet, dass die ausgelösten Vasokonstriktionen sympathisch vermittelt wurden.

Da der Versuchsaufbau in dieser Arbeit dem von Häbler et al. (1994) gleicht, ist davon auszugehen, dass die durch selektive Stimulation des lumbalen Grenzstranges ausgelösten Vasokonstriktionen ebenfalls sympathisch vermittelt wurden.

Es gibt Hinweise darauf, dass die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Reizfrequenzen von 0,2 und 1 Hz der Spontanaktivität kutaner sympathischer Vasokonstriktorneurone entsprechen.

Häbler et al. 1994 untersuchten an anästhesierten Ratten den Einfluss verschiedener Stimuli auf die Entladungsfrequenz kutaner Vasokonstriktorneurone. Diese lag 5 - 10 min nach Stimulation zwischen 0,3 und 3,6 Hz (gemittelt 1,0 Hz). Die Versuche wurden unter drei unterschiedlichen Narkosearten, darunter Pentobarbital, Chloralose und Urethan, durchgeführt, um einen möglichen Einfluss der Narkose auf die Vasokonstriktion zu finden. Da sich die Entladungsfrequenzen voneinander nicht unterschieden und die Art der Narkose keinen Einfluss auf sie hatte, ist anzunehmen, dass es sich um Ruhefrequenzen handelt.

Da während der Messungen pH-Wert und Blutdruck normwertig waren, kann zu Recht von Ruhefrequenzen ausgegangen werden.

Auch in der vorliegenden Arbeit wurde eine Pentobarbital-Narkose (Nembutal) vergleichbarer Dosierung verwendet. Reizfrequenzen von 0,2 und 1 Hz simulierten Ruhebedingungen. Der arterielle Blutdruck stieg lediglich um 3,5 respektive 6,6 % an. Die Abnahme der Blutdruckamplitude war minimal.

In Häblers Studie (1994) lag nach Reizung arterieller Barorezeptoren, Chemorezeptoren, kutaner Nozizeptoren sowie Kälte- und viszeraler Rezeptoren die Entladungsfrequenz der kutanen Vasokonstriktorneurone zwischen 5 und 15 Hz. Der arterielle Mitteldruck stieg an. Es ist anzunehmen, dass es sich hierbei um Frequenzen, die unter Stress auftreten, handelt.

In Kenntnis dieser Ergebnisse kann postuliert werden, dass 10 Hz-Reizungen in der vorliegenden Arbeit Bedingungen unter Stress simulierten. Es kam es zu einem Anstieg des arteriellen Blutdruckes um gemittelt 10,5 % sowie zu einer deutlichen Abnahme der Blutdruckamplitude, was für eine Zunahme der sympathischen Aktivität, wie es bei Stress der Fall ist, spricht.

Anders als bei Reizung mit 0,2 und 1 Hz dauerte es bei 10 Hz länger, bis der Ausgangsflusswert wieder erreicht wurde. Es ist denkbar, dass nach Reizung mit 10 Hz eine anhaltende Konstriktion der Gefäße stattgefunden hat, und der Ausgangsflusswert deswegen erst später erreicht wurde. War diese Vasokonstriktion Noradrenalin-vermittelt? Eine mögliche Antwort auf diese Frage wird weiter unten gegeben.

Noradrenalin gehört zu den am besten untersuchten Neurotransmittern. Nach seiner Freisetzung aus sympathischen Nervenendigungen diffundiert es zu Zielzellen an der glatten Gefäßmuskulatur, wo es α 1-Adrenozeptoren aktiviert und eine Kontraktion der glatten Muskelzellen mit resultierender Vasokonstriktion auslöst.

Neben α 1-Adrenozeptoren aktiviert Noradrenalin auch α 2-Adrenozeptoren, wodurch es seine eigene, als auch die Freisetzung anderer Co-Transmitter hemmt (Macarthur, Wilken, Westfall & Kolo 2011).

4.4 Neuropeptid Y (NPY) – Ein Neuropeptid mit vasokonstriktorischer Wirkung

Einst wurde angenommen, dass Noradrenalin als einziger Neurotransmitter bei der neuroeffektorischen Übertragung eine Rolle spielt. Studien, in denen die sympathische neuroeffektorische Übertragung nicht durch Noradrenalin-Antagonisten gehemmt wurde, führten zu der Annahme, dass einige Nerven mehr als nur einen Transmitter verwenden (Stjärne 1999).

Lundberg und Tatemoto (1982) konnten durch elektrische Stimulation des zervikalen Grenzstranges der Katze mit 10 Hz eine Speichelsekretion der Glandula submandibularis sowie eine Vasokonstriktion mit Blutflussabfall auslösen. Nach Ende der Stimulation nahm der Blutfluss schlagartig wieder zu,

der Ausgangswert wurde jedoch nicht erreicht, vielmehr folgte eine zweite Phase der Vasokonstriktion. Diese war prolongiert und war nur langsam rückläufig mit einem langsamen Blutflussanstieg bis zum Ausgangswert vor Stimulation. Eine ähnliche Form der Vasokonstriktion konnte nach lokaler Infusion von Noradrenalin nicht beobachtet werden. Der Blutfluss erreichte hier nach initialer Blutflusszunahme (Vasodilatation) schnell wieder den Ausgangswert.

Die durch sympathische Stimulation ausgelöste, α -Blocker resistente, langandauernde Vasokonstriktion wurde durch Hexamethonium, einen Ganglienblocker, aufgehoben.

Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass neben Noradrenalin eine weitere Substanz, die aus postganglionären Neuronen freigesetzt wird, eine vasokonstriktorische Wirkung auf das Gefäßsystem hat.

Tatemoto isolierte 1982 aus Schweinehirn Neuropeptid Y (NPY), ein aus 36 Aminosäuren bestehendes Peptid. Lundberg und Tatemoto (1982) konnten erstmals NPY-ähnliche Immunreaktivität in zahlreichen peripheren Neuronen nachweisen. Sehr hohe Spiegel von NPY-ähnlicher Immunreaktivität wurden in sympathischen Ganglien sowie in Geweben mit dichter sympathischer Innervation, darunter Blutgefäßen, gefunden. NPY scheint somit ein wichtiges Peptid im sympathischen Nervensystem zu sein (Lundberg, Terenius, Hökfelt & Goldstein 1983).

Lundberg und Tatemoto (1982) wiesen einen eindeutigen vasokonstriktorischen Effekt von NPY nach. Nach lokaler Injektion von isoliertem NPY in die Arteria lingualis von Katzen konnte eine langsam zunehmende und langanhaltende Vasokonstriktion beobachtet werden.

Obwohl Noradrenalin einen rascheren Wirkeintritt der Vasokonstriktion zeigt, ist auf molarer Basis NPY der potentere Vasokonstriktor (Abbildung 28).

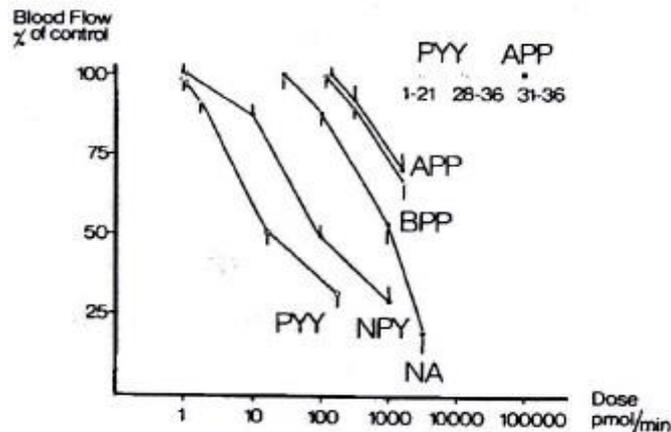


Abbildung 28: Unterschiedliche Vasokonstriktion nach lokaler Injektion von NPY und Noradrenalin (Lundberg & Tatemoto 1982)

NPY wird hauptsächlich bei intensiver und langandauernder Sympathikusaktivierung freigesetzt, wie zum Beispiel bei schwerem Stress (Zukovska et al. 2003).

Die Freisetzung von NPY wird vor allem bei hohen Reizfrequenzen beobachtet. Han et al. (1998) wiesen nach sympathischer Reizung mit 16 Hz einen maximalen Anstieg des Perfusionsdruckes in mesenterialen Gefäßen von Ratten nach. Mittels der Radioimmunoassay-Methode konnten bei 16 Hz ein deutlicher Anstieg von NPY nachgewiesen werden.

4.5 Unterschied zwischen NPY- und Noradrenalin-vermittelter Vasokonstriktion

Klassische Neurotransmitter wie Noradrenalin werden in terminalen Nervenendigungen synthetisiert und zwar in kleinen und in großen (elektronendichten) Vesikeln. Die für die Synthese erforderlichen Enzyme werden aus dem Zellkörper der Nervenzelle zu den Nervenendigungen transportiert. Die Neurotransmittersynthese erfolgt schnell, und große Neurotransmitterreserven werden in den Endigungen gespeichert, so dass auch bei längerer Nervenaktivität Neurotransmitter stets in ausreichend großer Menge zur Verfügung stehen. Über einen Aktionspotential-getriggerten Einstrom von Kalzium-Ionen kommt es zu einer sehr schnellen Freisetzung von Noradrenalin aus den kleinen Vesikeln und rascher Bindung an die prä- und postsynaptischen Adrenozeptoren (Strand 1999).

Die Neurotransmitterfreisetzung ist auf einen kleinen Abschnitt der präsynaptischen Membran der terminalen Nervenendigungen beschränkt. Da dieser Abschnitt elektronendichtes Material enthält, wurde ihm die Bezeichnung „aktive Zone“ gegeben (Abbildung 29).

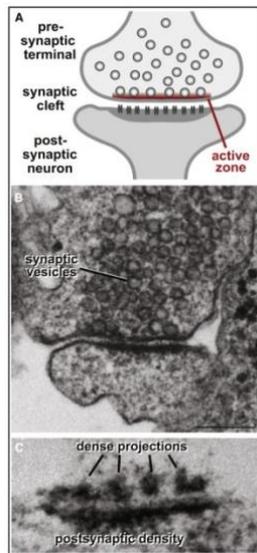


Abbildung 29: Lokalisation der aktiven Zone (Südhof 2012)

Man kann annehmen, dass die in der vorliegenden Arbeit beobachtete initial starke und schnell einsetzende Vasokonstriktion Noradrenalin-vermittelt war. Die schnelle Freisetzung klassischer Neurotransmitter wie Noradrenalin ist durch die enge Verknüpfung von spannungsgesteuerten Calcium-Kanälen mit den synaptischen kleinen Vesikeln in der aktiven Zone an der präsynaptischen Membran möglich (Levitan & Kaczmarek 1991).

In den sympathischen Nervenendigungen ist Noradrenalin häufig mit NPY kolokalisiert. Man nimmt jedoch an, dass im Gegensatz zu Noradrenalin NPY ausschließlich in großen, elektronendichten Vesikeln (large dense-core vesicles) gespeichert wird (Kennedy, Shen & Ziegler 1997).

Die großen Vesikel, aus denen NPY freigesetzt wird, sind von der aktiven Zone weiter entfernt, was eine langsamere neuroeffektorische Übertragung erklärt (Barg et al. 2002).

Der aufgezeichnete Blutflusskurvenverlauf spiegelt dies wieder. Nach einer initial starken Vasokonstriktion mit einer deutlichen Blutflussabnahme konnte eine zweite Phase der Vasokonstriktion mit prolongiertem Verlauf beobachtet werden. Die Blutflusswerte vor Reizung wurden nur langsam wieder erreicht. Dieser typische Verlauf der Vasokonstriktion lässt sich durch einen nur langsamen enzymatischen Abbau von „freiem“ NPY erklären. Noradrenalin hingegen wird durch einen Re-Uptake-Mechanismus sowie die Katechol-O-Methyl-Transferase deutlich schneller abgebaut, was die Vasokonstriktion entsprechend schneller aufhebt (Hodges, Jackson, Mattar, Johnson & Shoemaker 2009).

Da oben postuliert wurde, dass 10 Hz-Reizungen Bedingungen unter Stress simulieren, ist anzunehmen, dass in der vorliegenden Arbeit bei hohen Reizfrequenzen tatsächlich eine langsame NPY-vermittelte Nachkonstriktion stattgefunden hat.

Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen von Kennedy et al. 1997 überein. Bei in vivo-Versuchen an Ratten wurde nach Reizung des sympathischen Nervensystems mit 20 Hz eine erhöhte NPY-Plasmakonzentration nachgewiesen. Reizungen mit 3 Hz veränderten die Plasmakonzentration von NPY nicht.

Ein weiterer Beweis für NPY-Aktivität bei hohen Reizfrequenzen wurde dadurch erbracht, dass der mittlere arterielle Blutdruck, der während der 20-Hz Reizung anstieg und nach Reizende wieder um die Hälfte gefallen war, nochmals für 1-2 Minuten anstieg, dann wieder abfiel und schließlich innerhalb von ca. 10 min den Ausgangswert wieder erreichte.

In der vorliegenden Arbeit unterschied sich der Blutfluss nach Iontophorese und Stimulation mit 10 Hz nicht signifikant von der Kontrolle, so dass man daraus schlussfolgern kann, dass Lidocain keinen Einfluss auf die Freisetzung und Wirkung von NPY hat.

4.6 Aufbau des Gefäßsystems und Einfluss auf die Laser-Doppler-Messung

Das Hautgefäßsystem besteht aus einem dreidimensionalen Netzwerk mit mehrschichtigem Aufbau (Abbildung 27).

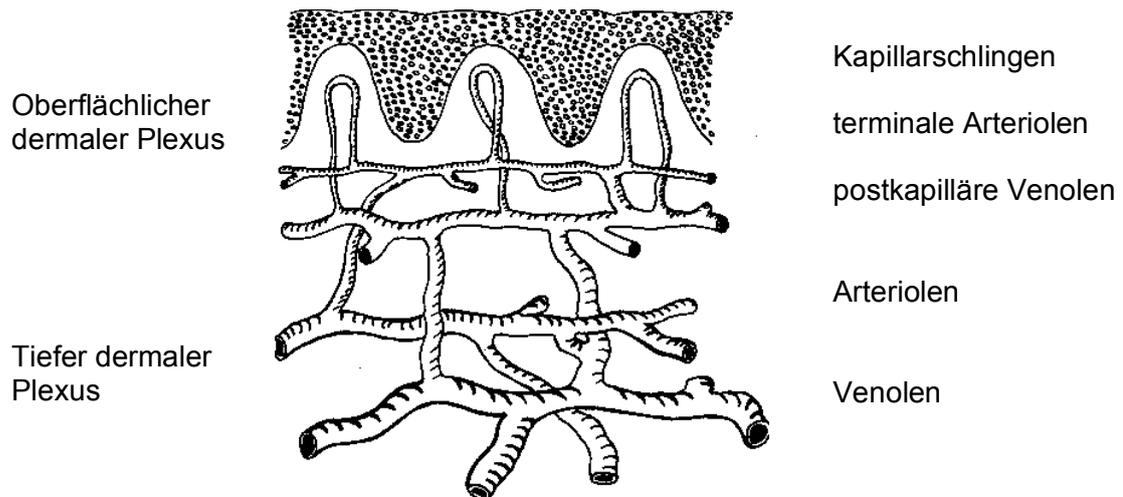


Abbildung 27: Aufbau des kutanen Gefäßsystems (modifiziert nach Nilsson 1980)

Arteriolen und Venolen bilden in der Dermis zwei Plexus. Oberflächlich, im Stratum papillare, liegt ein horizontaler Plexus, aus dem Kapillarschlingen zu den dermalen Papillen führen. Zwischen Dermis und Subkutis liegt ein weiterer, tiefer, ebenfalls horizontal ausgerichteter Plexus, der von Gefäßen aus der tiefen Muskulatur und Subkutis gebildet wird. Vom tiefen Plexus verzweigen sich Arteriolen und Venolen und weisen eine Verbindung zum oberflächlichen Plexus auf. Die Arteriolen des oberflächlichen Plexus werden auch terminale Arteriolen genannt und stellen die Hauptwiderstandsgefäße der Mikrovaskulatur dar. Von den terminalen Arteriolen wird Blut über Metarteriolen zu den Kapillaren weitergeleitet. Die meisten Gefäße befinden sich im Stratum papillare 1-2 mm unterhalb der epidermalen Oberfläche (Braverman 2000). Größere Arterien kommen nur in der Subkutis vor (Schiebler 1997).

Laser-Doppler-Messungen an menschlicher Haut führen zu der Annahme, dass vor allem der Blutfluss in dermalen Papillen mit dieser Messmethode erfasst wird (Nilsson, Tenland und Oberg 1980; Obeid, Boggett, Barnett, Dougherty und Rolfe 1988).

Mittels Laser-Doppler konnte der Blutfluss in Gefäßen der Darmwand in bis zu 6 mm Tiefe (Johansson et al. 1987) sowie auch in der Pulpa intakter Zähne des Menschen, wo die Dicke von Schmelz und Dentin 2–3 mm beträgt, erfasst werden (Gazelius, Olgart, Edwall & Edwall 1986; Olgart, Gazelius & Lindh-Strömberg 1988; Gazelius, Olgart & Edwall 1988).

Die optischen Eigenschaften unterschiedlicher Gewebearten variieren, so dass dementsprechend das bei der Laser-Doppler-Messung von tiefer liegenden Gefäßen erfasste Signal ebenfalls variiert. Eine maximale Tiefe für eine mögliche Blutflussmessung mittels Laser-Doppler kann nicht bestimmt werden. Vielmehr nimmt die Empfindlichkeit der Messung mit zunehmender Dicke der darüberliegenden Gewebeschichten ab (Vongsavan & Matthews 1993).

Die Laser-Doppler-Messung in der vorliegenden Arbeit erfolgte oberflächlich, an einem nur kleinen Hautareal. Es ist anzunehmen, dass der Blutfluss in kutanen Arteriolen und Kapillaren erfasst wurde.

Grundsätzlich werden nahezu alle Arterien und Arteriolen von Säugetieren sympathisch adrenerg innerviert (Hirst & Edwards 1989), jedoch scheint es organspezifische Unterschiede zu geben. Furness (1973) konnte mittels Fluoreszenzmikroskopie nachweisen, dass im Mesenterium der Ratte sowohl größere als auch kleine Arterien sowie terminale Arteriolen sympathisch innerviert werden, präkapilläre Arteriolen hingegen nicht. Erikson und Lissander (1972) beobachteten, dass größere Arteriolen (Durchmesser > 15 µm) in der Skelettmuskulatur (*M. tenuissimus*) der Katze auf adrenerge Stimulation reagierten (Vasokonstriktion), kleinere Gefäße jedoch nicht. Andererseits konnte Rhodin (1967) an der Faszie von Kaninchenschenkeln adrenerge Nervenfasern an präkapillären Sphinktern (Durchmesser 7-15 µm) nachweisen. Prinzipiell scheint der efferente sympathische Tonus in den Arteriolen der Haut und der (inaktiven) Skelettmuskulatur am höchsten zu sein (Arndt & Lipfert 1993).

In dieser Arbeit kann nicht eindeutig geklärt werden, an welchem Gefäßabschnitt genau die Vasokonstriktion tatsächlich stattgefunden hat. Fest steht, dass die beobachtete Flussabnahme durch eine α -adrenerg vermittelte Vasokonstriktion bedingt ist, und dass sie bei Reizung mit 0,2 und 1 Hz durch iontophoretisch appliziertes Lidocain abgeschwächt wurde.

5 Literaturverzeichnis

Altura, B. M. (1971): Chemical and humoral regulation of blood flow through the precapillary sphincter. In: Microvascular research 3 (4), S. 361–384.

Arndt JO, Lipfert P (1993): Cardiovascular function during spinal and epidural anaesthesia: pathogenesis, prophylaxis and therapy of complications. Hrsg.: H. Van Aken. London, Bailliere Tindall, S. 641-662.

Barg, Sebastian; Olofsson, Charlotta S.; Schriever-Abeln, Jenny; Wendt, Anna; Gebre-Medhin, Samuel; Renström, Erik; Rorsman, Patrik (2002): Delay between fusion pore opening and peptide release from large dense-core vesicles in neuroendocrine cells. In: Neuron 33 (2), S. 287–299.

Bernard, Claude (1858): Lecons Sur La Physiologie Et La Pathologie Du Système Nerveux.

Braverman, I. M. (1989): Ultrastructure and organization of the cutaneous microvasculature in normal and pathologic states. In: The Journal of investigative dermatology 93 (2 Suppl), 2S-9S.

Braverman, I. M. (2000): The cutaneous microcirculation. In: The journal of investigative dermatology. Symposium proceedings 5 (1), S. 3–9.

Braverman, I. M.; Sibley, J. (1990): Ultrastructural and three-dimensional analysis of the contractile cells of the cutaneous microvasculature. In: The Journal of investigative dermatology 95 (1), S. 90–96.

Butterworth, J. F. (2010): Models and Mechanisms of Local Anesthetic Cardiac Toxicity: A Review. In: Regional Anesthesia & Pain Medicine 35: S. 167-176.

Catterall, W.; Mackie, K. (2011): Local Anesthetics. In: Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. New York: McGraw-Hill (McGraw-Hill international editions), S. 565-582.

Dudel, J. (1997): Erregungsübertragung von Zelle zu Zelle. In: Schmidt, R. F.; Thews, G., Hrsg. Physiologie des Menschen. Siebenundzwanzigste, korrigierte und aktualisierte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 43-66.

- Eriksson, E.; B. Lisander (1972): Changes in precapillary resistance in skeletal muscle vessels studied by intravital microscopy. In: *Acta physiol. scand.* 84. S. 295–305.
- Ernst, E. (1994): Iontophorese: ein altes Therapieprinzip in neuem Licht. In: *Acta medica Austriaca* 21 (3), S. 69–73.
- Fukuda, S.; Takeshita, H.; Toda, N. (1980): Modifications by lidocaine and its N-dealkylated metabolites of the response of the isolated rabbit aorta to transmural electrical stimulation. In: *Anesthesiology* 53 (2), S. 106–112.
- Fukuda, S.; Tsuji, T.; Murakawa, T.; Takeshita, H.; Toda, N. (1982): Effects of Mepivacaine on adrenergic neuroeffector junction of the isolated rabbit aorta. In: *Anesthesia and analgesia* 61 (9), S. 756–762.
- Furness, J. B. (1973): Arrangement of blood vessels and their relation with adrenergic nerves in the rat mesentery. In: *Journal of anatomy* 115 (Pt 3), S. 347–364.
- Furness, J. B.; Marshall, J. M. (1973b): Constrictor responses and flow changes in the rat mesenteric microvasculature resulting from the stimulation of paravascular nerves. In: *Bibliotheca anatomica* 12, S. 404–409.
- Furness, J. B.; Marshall, J. M. (1973a): The role of individual sections of the mesenteric microvasculature in constrictor responses. In: *The Journal of physiology* 230 (1), 14P-15P.
- Gazelius, B.; Olgart, L.; Edwall, B. (1988): Restored vitality in luxated teeth assessed by laser Doppler flowmeter. In: *Endodontics & dental traumatology* 4 (6), S. 265–268.
- Gazelius, B.; Olgart, L.; Edwall, B.; Edwall, L. (1986): Non-invasive recording of blood flow in human dental pulp. In: *Endodontics & dental traumatology* 2 (5), S. 219–221.
- Gherardini, G.; Gürlek, A.; Cromeens, D.; Joly, G. A.; Wang, B. G.; Evans, G. R. (1998): Drug-induced vasodilation: in vitro and in vivo study on the effects of lidocaine and papaverine on rabbit carotid artery. In: *Microsurgery* 18 (2), S. 90–96.

- Groban, L.; Deal, D. D.; Vernon, J. C.; James, R. L.; Butterworth, J. (2001): *Cardiac resuscitation after incremental overdosage with lidocaine, bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine in anesthetized dogs*. In: *Anesthesia and analgesia* 92 (1), S. 37–43.
- Häbler, H. J.; Jänig, W.; Krummel, M.; Peters, O. A. (1994): *Reflex patterns in postganglionic neurons supplying skin and skeletal muscle of the rat hindlimb*. In: *Journal of neurophysiology* 72 (5), S. 2222–2236.
- Han, S.; Yang, C. L.; Chen, X.; Naes, L.; Cox, B. F.; Westfall, T. (1998): *Direct evidence for the role of neuropeptide Y in sympathetic nerve stimulation-induced vasoconstriction*. In: *The American journal of physiology* 274 (1 Pt 2), H290-4.
- Helmstädter, A. (2001): *The history of electrically-assisted transdermal drug delivery ("iontophoresis")*. In: *Die Pharmazie* 56 (7), S. 583–587.
- Hirst, G. D.; Edwards, F. R. (1989): *Sympathetic neuroeffector transmission in arteries and arterioles*. In: *Physiological reviews* 69 (2), S. 546–604.
- Hodges, Gary J.; Jackson, Dwayne N.; Mattar, Louis; Johnson, John M.; Shoemaker, J. Kevin (2009): *Neuropeptide Y and neurovascular control in skeletal muscle and skin*. In: *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 297 (3), R546-55.
- Hoff, Dag Arne Lihaug; Gregersen, Hans; Hatlebakk, Jan Gunnar (2009): *Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring*. In: *World journal of gastroenterology* 15 (2), S. 198–203.
- Hogan, Q. H.; Stadnicka, A.; Stekiel, T. A.; Bosnjak, Z. J.; Kampine, J. P. (1993): *Effects of epidural and systemic lidocaine on sympathetic activity and mesenteric circulation in rabbits*. In: *Anesthesiology* 79 (6), S. 1250–1260.
- Jänig, W. (2006): *Vegetatives Nervensystem*. In: Schaible, Hans-Georg, Hrsg.; Schmidt Robert F. Hrsg. *Neuro- und Sinnesphysiologie*. 5. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin. S. 132-181.
- Jänig, W.; Häbler, H-J (2003): *Neurophysiological analysis of target-related sympathetic pathways--from animal to human: similarities and differences*. In: *Acta physiologica Scandinavica* 177 (3), S. 255–274.

- Johansson, K.; Ahn, H.; Lindhagen, J.; Lundgren, O. (1987): Tissue penetration and measuring depth of laser Doppler flowmetry in the gastrointestinal application. In: *Scandinavian journal of gastroenterology* 22 (9), S. 1081–1088.
- Johns, R. A.; DiFazio, C. A.; Longnecker, D. E. (1985): Lidocaine constricts or dilates rat arterioles in a dose-dependent manner. In: *Anesthesiology* 62 (2), S. 141–144.
- Jorfeldt, L.; Löfström, B.; Pernow, B.; Wahren, J. (1970): The effect of mepivacaine and lidocaine on forearm resistance and capacitance vessels in man. In: *Acta anaesthesiologica Scandinavica* 14 (3), S. 183–201.
- Kennedy, B.; Shen, G. H.; Ziegler, M. G. (1997): Neuropeptide Y-mediated pressor responses following high-frequency stimulation of the rat sympathetic nervous system. In: *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 281 (1), S. 291–296.
- Levitan, Irwin B.; Kaczmarek, Leonard K. (1991): *The neuron. Cell and molecular biology*. New York: Oxford University Press.
- Leduc, S.: *Die Ionen- oder elektrolytische Therapie*. Leipzig 1905
- Liu, P.; Feldman, H. S.; Covino, B. M.; Giasi, R.; Covino, B. G. (1982): Acute cardiovascular toxicity of intravenous amide local anesthetics in anesthetized ventilated dogs. In: *Anesthesia and analgesia* 61 (4), S. 317–322.
- Lundberg, J. M.; Tatemoto, K. (1982): Pancreatic polypeptide family (APP, BPP, NPY and PYY) in relation to sympathetic vasoconstriction resistant to alpha-adrenoceptor blockade. In: *Acta physiologica Scandinavica* 116 (4), S. 393–402.
- Lundberg, J. M.; Terenius, L.; Hökfelt, T.; Goldstein, M. (1983): High levels of neuropeptide Y in peripheral noradrenergic neurons in various mammals including man. In: *Neuroscience letters* 42 (2), S. 167–172.
- Macarthur, H.; Wilken, G. H.; Westfall, T. C.; Kolo, L. L. (2011): Neuronal and non-neuronal modulation of sympathetic neurovascular transmission. In: *Acta physiologica (Oxford, England)* 203 (1), S. 37–45.

- Nair, V.; Pillai, O.; Poduri, R.; Panchagnula, R. (1999): *Transdermal iontophoresis. Part I: Basic principles and considerations. In: Methods and findings in experimental and clinical pharmacology 21 (2), S. 139–151.*
- Graf, B. M.; Niesel, H. C. (2003): *Pharmakologie der Lokalanästhetika. In: Niesel, H. C.; Van Aken, H., Lokalanästhesie, Regionalanästhesie, regionale Schmerztherapie. 2., neubearb. Aufl. Stuttgart: Thieme. S. 33-119.*
- Nilsson, G. E.; Tenland, T.; Oberg, P. A. (1980): *Evaluation of a laser Doppler flowmeter for measurement of tissue blood flow. In: IEEE transactions on bio-medical engineering 27 (10), S. 597–604.*
- Obeid, A. N.; Boggett, D. M.; Barnett, N. J.; Dougherty, G.; Rolfe, P. (1988): *Depth discrimination in laser Doppler skin blood flow measurement using different lasers. In: Medical & biological engineering & computing 26 (4), S. 415–419.*
- Olgart, L.; Gazelius, B.; Lindh-Strömberg, U. (1988): *Laser Doppler flowmetry in assessing vitality in luxated permanent teeth. In: International endodontic journal 21 (5), S. 300–306.*
- Pikal, M. J. (2001): *The role of electroosmotic flow in transdermal iontophoresis. In: Advanced drug delivery reviews 46 (1-3), S. 281–305.*
- Rhodin JA (1967): *The ultrastructure of mammalian arterioles and precapillary sphincters. In: J Ultrastruct Res. Apr;18(1): S. 181-223.*
- Schiebler, Theodor Heinrich; Arnold, Gottfried (op. 1997): *Haut und Hautanhangsgebilde. In: Anatomie. Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen 7., korr. Aufl. Berlin: Springer, S. 205 – 218.*
- Sheu, S. S.; Lederer, W. J. (1985): *Lidocaine's negative inotropic and antiarrhythmic actions. Dependence on shortening of action potential duration and reduction of intracellular sodium activity. In: Circulation research 57 (4), S. 578–590.*
- Stjärne, L. (1999): *Catecholaminergic neurotransmission: flagship of all neurobiology. In: Acta physiologica Scandinavica 166 (4), S. 251–259.*

- Stoelting, Robert K.; Hillier, Simon C. (2006): *Local Anesthetics*. In: *Pharmacology and physiology in anesthetic practice*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, S. 179 – 207.
- Strand, Fleur L. (1999): *Neuropeptides as Neurotransmitters, Neuromodulators and Neurohormones*. In: *Neuropeptides: Regulators of physiological processes*. Cambridge, MA: MIT Press, S.121-140.
- Südhof, Thomas C. (2012): *The presynaptic active zone*. In: *Neuron* 75 (1), S. 11–25.
- Szocik, J. F.; Gardner, C. A.; Webb, R. C. (1993): *Inhibitory effects of bupivacaine and lidocaine on adrenergic neuroeffector junctions in rat tail artery*. In: *Anesthesiology* 78 (5), S. 911-917.
- Tanawuttiwat, Tanyanan; Thisayakorn, Piyapon; Viles-Gonzalez, Juan F. (2014): *LAST (local anesthetic systemic toxicity) but not least: systemic lidocaine toxicity during cardiac intervention*. In: *The Journal of invasive cardiology* 26 (1), E13-5.
- Tatemoto, K. (1982): *Neuropeptide Y: complete amino acid sequence of the brain peptide*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 79 (18), S. 5485-5489.
- Tsuru, Hiromichi; Tanimitsu, Noriaki; Hirai, Tomohisa (2002): *Role of perivascular sympathetic nerves and regional differences in the features of sympathetic innervation of the vascular system*. In: *Japanese journal of pharmacology* 88 (1), S. 9–13.
- van Rooyen, H. (2014): *Local anaesthetic agent toxicity*. In: *Southern African Journal of Anaesthesia and Analgesia* 16 (1), S. 83-88.
- Vongsavan, N.; Matthews, B. (1993): *Some aspects of the use of laser Doppler flow meters for recording tissue blood flow*. In: *Experimental physiology* 78 (1), S. 1–14.
- Yen, A.; Braverman, I. M. (1976): *Ultrastructure of the human dermal microcirculation: the horizontal plexus of the papillary dermis*. In: *The Journal of investigative dermatology* 66 (3), S. 131–142.

Zempsky, W. T.; Ashburn, M. A. (1998): Iontophoresis: noninvasive drug delivery. In: *The American journal of anesthesiology* 25 (4), S. 158–162.

Zink W, Ulrich M. (2018): Klinische Anwendung und Toxizität von Lokalanästhetika. In: *Anästhesiologie und Intensivmedizin* 59, S. 716-728.

Zukowska, Zofia; Pons, Jennifer; Lee, Edward W.; Li, Lijun (2003): Neuropeptide Y: a new mediator linking sympathetic nerves, blood vessels and immune system? In: *Canadian journal of physiology and pharmacology* 81 (2), S.89–94.

Danksagung

Danken möchte ich meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. P. Lipfert für seine Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Co-Betreuer Herrn Dr. J.-U. Stegmann, der mich bei dieser Arbeit begleitete und stets zum fachlichen Gedankenaustausch bereit war.

Meinen Eltern möchte ich dafür danken, dass sie mich auf meinem Weg durch das Studium begleitet haben.

Auch möchte ich meinen Schwiegereltern für ihre moralische Unterstützung danken.

Zu allerletzt geht mein Dank an meine Frau Corinne, die mich unterstützt und in einigen Phasen bei der Erstellung dieser Arbeit ertragen hat, sowie an meinen Sohn Laurenz. Sein „Papa, du schaffst das!“ war ein großer Antrieb für mich.