

Philipp Henle
Dr. med.

Wirkorte von Lokalanästhetika im Signalübertragungsweg der muskarinergen Azetylcholin-Rezeptoren m1 und m3

Geboren am 03. 11. 1976
Reifeprüfung am 18. 06. 1996
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1996/97 bis WS 2002/03
Physikum am 08. 09. 1998 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Zürich und Heidelberg
Staatsexamen am 07. 05. 2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anästhesiologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Dr. rer. nat. M. Hollmann

Alternative Lokalanästhetika-Wirkungen abseits von analgetischen und antiarrhythmischen Effekten sind schon seit langem bekannt. Sie reichen von bakterieller Proliferationshemmung über Abmilderung bronchialer Hyperreaktivität bis zur antithrombotischen und antiinflammatorischen Wirksamkeit. Die wenigsten dieser Beobachtungen können durch die wissenschaftlich gut dokumentierte Interaktion von Lokalanästhetika mit zellmembranständigen Natriumkanälen erklärt werden. Auf der Suche nach bislang unbekanntem Wirkmechanismen konnten wir einen hemmenden Einfluss von Lokalanästhetika auf die Aktivität unterschiedlicher G Protein gekoppelter Rezeptoren nachweisen. Aufgrund der weiten Verbreitung dieses Rezeptortypes erhält hiermit eine Vielzahl von Wirkungen zumindest eine theoretische Erklärungsgrundlage. Wir untersuchten unter anderem die muskarinergen Rezeptoren der Typen m1 und m3. Beide zeigten eine signifikante Hemmung durch Lidocain in klinisch relevanten Konzentrationen. Trotz der engen Sequenz- und Strukturverwandtschaft zeigt der m1-Rezeptor jedoch eine um den Faktor 20 potentere Hemmung als der m3-Rezeptor (IC_{50} : 18 nM versus 370 nM), wofür eine zusätzliche extrazelluläre Bindungsstelle am m1-Rezeptor verantwortlich ist. Die intrazelluläre Hemmbarkeit mit geladenen Lokalanästhetika ist bei den beiden genannten Rezeptoren sowie bei einigen anderen in unserem Labor untersuchten Rezeptoren erstaunlich ähnlich, sodass hier ein gemeinsamer Wirkort diskutiert werden muss.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Lokalisierung des zusätzlichen, extrazellulären Wirkortes am m1-Rezeptor sowie die Identifikation des gemeinsamen intrazellulären Wirkortes.

An Material und Methoden bedienen wir uns dem in unserem Labor etablierten RNA-Expressions-Modell in *Xenopus laevis*-Oozyten sowie 2-Elektroden-Voltage-Clamp-Technik. Hierzu erstellten wir auf DNA-Ebene, sowohl aus Teilen des m1- als auch des m3-Rezeptors bestehende, chimäre Rezeptorkonstrukte. Knock-down-Experimente zur Elimination bestimmter G Protein Untereinheiten wurden durch Mikroinjektion entsprechender Anti-Sense-RNA-Oligonukleotide vorgenommen.

Es gelang uns zu zeigen, dass die volle Hemmbarkeit am m1-Rezeptor von extrazellulär nur unter der Voraussetzung vorliegt, dass sowohl N-Terminal als auch die dritte extrazelluläre Schleife unverändert vorliegen. Ein Austausch der dritten extrazellulären Schleife gegen die korrespondierende Domäne des m3-Rezeptors erhöhte die errechnete IC_{50} für geladene und extrazellulär applizierte Lokalanästhetika um mehr als drei Größenordnungen, bei Austausch des N-Terminals war keine Hemmung mehr möglich.

Des Weiteren konnten wir durch mRNA-Knock-down-Experimente die Kopplung des m3-Rezeptors an G Proteine der Untereinheiten α_q und α_{11} nachweisen. In Zusammenschau mit Ergebnissen aus vorangegangenen Rezeptorstudien, werteten wir dies als Hinweis auf einen Wirkort an der G Protein-Untereinheit α_q . Den Beweis hierfür konnten wir durch die Untersuchung der Wirkung von Lokalanästhetika an bereits $G\alpha_q$ und $G\alpha_{11}$ depletierten Zellen erbringen. Während bei $G\alpha_{11}$ depletierten Zellen die intrazelluläre Lokalanästhetika-Injektion zu einer weiteren Hemmung des nach Stimulation gemessenen Ionenstromes führte, blieb diese nach Knock-down von $G\alpha_q$ aus. Offensichtlich wurde hierdurch der Wirkort aus der Signalkaskade entfernt. Anhand dieser Ergebnisse müssen wir postulieren, dass geladene Lokalanästhetika offensichtlich nicht nur spezifisch einige wenige Rezeptoren selbst hemmen, sondern dass darüber hinaus eine Wirkung am nachgeschalteten Signalweg stattfindet, der alle an $G\alpha_q$ koppelnden Rezeptoren betrifft. Bezüglich der bereits erwähnten, bislang durch Wirkungen an Natrium-Kanälen nicht erklärbaren Effekte, stellt dies eine elegante Erklärungsmöglichkeit dar. Gerade die Wirkung an den in dieser Studie untersuchten muskarinergen Rezeptoren mag ein Grund für die beobachteten zentralnervösen und bronchodilatatorischen Effekte sein. Um entsprechende erwünschte Wirkungen klinisch nutzbar zu machen, sind weitere Untersuchungen vonnöten. Klärungsbedarf besteht insbesondere in der Frage, welche strukturellen Anteile des Lokalanästhetikum-Moleküls für die unterschiedlichen Effekte verantwortlich zeichnen. Eventuell ließen sich hierdurch auf molekularer Ebene anästhetische und alternative Wirkungen trennen und unabhängig voneinander nutzen.