

Götz Mißler

Dr. med.

Auswirkungen der Pipecoloxylidid-Lokalanästhetika auf die intrazelluläre Ca^{2+} -Regulation am Skelettmuskel im Hinblick auf Lipophilie und Stereoselektivität

Geboren am 10. 7. 1978 in Mosbach

Staatsexamen am 2. 5. 2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anaesthesiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Bernhard M. Graf

Es wird angenommen, dass ein massiver Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration eine wesentliche Rolle bei dem Pathomechanismus der lokalanästhetikainduzierten Myotoxizität einnimmt. Die Pipecoloxylidid-Lokalanästhetika Bupivacain und Ropivacain verursachen eine Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum (SR) in Skelettmuskelfasern und behindern gleichzeitig die Ca^{2+} -Wiederaufnahme in das SR. Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, welchen Einfluss die Stereoisomerie und die Lipophilie eines Lokalanästhetikums auf die Störung der intrazellulären Ca^{2+} -Regulation in Skelettmuskeln nimmt, um auf diese Weise einen besseren Einblick in den Pathomechanismus der lokalanästhetikainduzierten Myotoxizität zu erlangen.

Sowohl die R(+)- und S(-)-Enantiomere von Bupivacain und Ropivacain als auch die razemischen Gemische von Bupivacain, Mepivacain und Ropivacain wurden in Konzentrationen von 1, 5, 10 und 15 mM untersucht. Saponin-gehäutete Skelettmuskelfasern von Mäusen wurden nach einem standardisierten Protokoll bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 0,41 mM geladen. Um die Effekte auf die Ca^{2+} -Wiederaufnahme zu bestimmen, wurden die Lokalanästhetika der „loading solution“ hinzugefügt und später die durch Koffein (10 mM) induzierten Krafttransienten aufgezeichnet. Um die Effekte auf die Ca^{2+} -Freisetzung aus dem SR zu untersuchen, wurden die Substanzen der „release solution“ hinzugefügt. Die Krafttransienten wurde mit Hilfe der Maximalkraft, die bei einer Ca^{2+} -Konzentration von 24,9 μM Ca^{2+} bestimmt wurde, normalisiert und mathematisch in die entsprechenden Ca^{2+} -Transienten umgewandelt.

Die Effekte der S(-)-Isomere von Bupivacain und Ropivacain waren signifikant deutlicher ausgeprägt als die ihrer racemischen Gemische, die wiederum stärker ausgeprägt waren als die der R(+)-Isomere. Gleiches konnte bei der Hemmung der Ca^{2+} -Wiederaufnahme beobachtet werden. Die S(+)-Isomere führten zu einer signifikant stärkeren Hemmung der Ca^{2+} -Wiederaufnahme als die racemischen Gemische während diese die R(+)-Isomere in ihren Effekten übertrafen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass racemisches Bupivacain sowohl zu einer stärkeren Ca^{2+} -Freisetzung aus dem SR als auch zu einer stärkeren Hemmung der Ca^{2+} -Wiederaufnahme führte als racemisches Ropivacain, während die durch racemisches Mepivacain verursachten Effekte schwächer ausgeprägt waren als die von racemischem Ropivacain.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen zum ersten Mal, dass die Störung der intrazellulären Ca^{2+} -Regulation, die durch Lokalanästhetika in klinisch relevanten Dosen verursacht wird, stereoselektiven Effekten unterliegt. Hierbei scheinen die S(-)-Isomere wirkungsvoller zu sein als die R(+)-Enantiomere, während die racemischen Gemische eine Zwischenstellung einnehmen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Lipophilie der Lokalanästhetika ihre Effekte auf die intrazelluläre Ca^{2+} -Homöostase beeinflusst. Entsprechend der Lipophilie der Lokalanästhetika zeigte racemisches Bupivacain bei Vergleich der racemischen Gemische die stärkste Wirkung auf die intrazelluläre Ca^{2+} -Regulation, gefolgt von racemischem Ropivacain und racemischem Mepivacain.

Die beobachteten Unterschiede lassen sich durch die chemische Struktur der Lokalanästhetika erklären. Die Seitenketten am chiralen C-Atom der Lokalanästhetika könnten über eine Aktivierung des Ryanodin Rezeptors (RyR) zu einer Ca^{2+} -Freisetzung aus dem SR führen und gleichzeitig könnten sie über die Bindung an einem allosterischen Zentrum der Ca^{2+} -ATPasen den Ca^{2+} -Rücktransport behindern. Die unterschiedliche ausgeprägten Effekte der Stereoisomere lässt darauf schließen, dass sowohl die Bindungsstelle am RyR als auch am allosterischen Zentrum optisch aktiv sind. Die mit zunehmender Lipophilie stärker werdende Störung der intrazellulären Ca^{2+} -Homöostase lässt sich auch durch die Länge der Seitenkette erklären. Mit zunehmender Länge dieser kommt es einerseits zu einer Erhöhung der Lipophilie, andererseits steigt die Affinität zu den Bindungsstellen und es kommt zu einer Verstärkung der Effekte auf die intrazelluläre Ca^{2+} -Homöostase.