

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie  
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. Dr. h.c. N. Roewer

**In-vitro Evaluation des Einflusses der Lokalanästhetika Ropivacain und  
Bupivacain auf die Kontraktilität des humanen Herzmuskels**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Anja Ziegler

aus Kulmbach

Würzburg, November 2019



Referent: apl. Prof. Dr. med. Frank Schuster

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Meyer

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 06.08.2020

Die Promovendin ist Ärztin

Meinen Eltern

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1. Historische Entwicklung .....	1
1.2. Definition und Wirkung der Lokalanästhesie .....	2
1.3. Einteilung und Eigenschaften der Lokalanästhetika.....	5
1.4. Bupivacain und Ropivacain.....	6
1.5. Nebenwirkungen und Toxizität.....	8
1.6. LipidRescue™ als Therapieoption .....	11
1.7. Fragestellung .....	13
2. Material und Methoden.....	14
2.1. Patientenrekrutierung und Materialgewinnung.....	14
2.2. Versuchsaufbau .....	15
2.3. Präparation der Testsubstanzen .....	16
2.4. Versuchsablauf .....	17
2.5. Datenerfassung.....	19
2.6. Statistik .....	19
3. Ergebnisse .....	21
3.1. Biometrische Daten.....	21
3.2. Baseline im Verlauf .....	24
3.3. Twitch im Verlauf.....	28
3.4. Koffeinwirkung.....	33
4. Diskussion .....	35
4.1. Bupivacain versus Ropivacain .....	37
4.2. Ropivacain und Lipofundin.....	40
4.3. Koffein.....	44
4.4. Schlussfolgerung.....	46
5. Zusammenfassung.....	48
Literatur .....	50
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	58

## Abkürzungsverzeichnis

CaCl <sub>2</sub>	Kalziumchlorid
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
g	Gramm
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumdihydrogenphosphat
l	Liter
mg	Milligramm
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
ml	Milliliter
mmol	Millimol
mN	Millinewton
mmol/l	Millimol pro Liter
mosmol	Milliosmol
ms	Millisekunden
mV	Millivolt
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
%	Prozent
V	Volt
μl	Mikroliter
μmol	Mikromol

# 1. Einleitung

## 1.1. Historische Entwicklung

Seit tausenden von Jahren werden verschiedenste Ansätze verfolgt, um Schmerzen zu lindern. Neben dem positiven Effekt eines frühen Warnsignals kann der Schmerz aber auch notwendige medizinische Interventionen behindern oder gar verhindern [1]. Schon Hippokrates zeigte mit seinem Ausspruch „Divinum est opus sedare dolorem“, mit dem er die Schmerzbehandlung als göttliches Werk postulierte, die Wichtigkeit, den Schmerz zu bekämpfen. In der Antike schrieb der römische Gelehrte Gaius Plinius Secundus der Ältere in seinem Buch „Naturgeschichte“ über Mephites, einen farbigen Marmorstein, der zerrieben auf die Haut aufgetragen eine Empfindungslosigkeit bewirkte. Die folgenden Jahrhunderte waren von den Versuchen der Umschnürungsanästhesie, die durch Kompression der Nerven eine Schmerzminderung erzielen sollte, bis zu physikalischen Methoden der Kälteanwendung geprägt [2]. Ab Mitte des 19. Jahrhunderts wurden erste Untersuchungen publiziert, die eine anästhetische Wirkung von Kokain belegten. Der Wiener Arzt Karl Koller führte 1884 erstmalig eine Kataraktoperation in Lokalanästhesie mit verdünnter Kokainlösung bei einem Patienten durch [3]. Im selben Jahr entwickelte William S. Halsted diese Technik weiter, indem er durch intrakutane Injektionen gezielt einzelne Nerven inhibierte [4]. 1885 beschrieb der Neurologe James L. Corning das Prinzip der rückenmarksnahen Leitungsanästhesie durch Instillation von Kokainlösung zwischen die Dornfortsätze der Wirbelsäule [5]. Zu dieser Zeit wurden auch erstmalig synthetisch hergestellte Lokalanästhetika eingesetzt, die sich jedoch aufgrund ihres Nebenwirkungsprofils zunächst nicht etablierten.

August Bier entwickelte die rückenmarksnahen Leitungsanästhesie weiter und wurde 1898 durch seine „Versuche über Cocainisierung des Rückenmarkes“ als Entdecker der Spinalanästhesie bekannt.

Nur zwei Jahre später bewertete er seine eigenen Versuche als kritisch und erläuterte diese Haltung in seinem Vortrag auf dem 30. Kongress der Deutschen

Gesellschaft für Chirurgie: „Ich ziehe aus der großen Zahl von 1200 Operationen, welche man unter Cocainanästhesie des Rückenmarks in der von mir zuerst beschriebenen Form ausgeführt hat, deshalb keinen anderen Schluss, als ich aus meinen ersten 8 Beobachtungen bereits gezogen habe, nämlich, dass das Verfahren in dieser Form für die allgemeine Verwendung unbrauchbar ist“ [6].

Trotz dieser Einschätzungen kam es zu einer steten Weiterentwicklung von lokalanästhetischen Substanzen [7]. Durch die zunehmende Anwendung von Kokain bei lokalen und regionalen Anästhesieverfahren in Europa und Amerika traten allerdings auch immer mehr unerwünschte Nebenwirkungen zutage [8]. Das große Suchtpotential und nicht zuletzt Todesfälle, die auf den Kokaingebrauch zurückzuführen waren, erforderten die Entwicklung neuer und weniger toxischer Substanzen [8, 9].

1905 ließ sich mit Novocain zum ersten Mal eine Substanz mit einer deutlich geringeren Toxizität synthetisieren. Diese erfüllte damit die von August Bier geforderte reduzierte Toxizität bei Lokalanästhetika. Novocain folgten nur wenige Jahre später Tetracain. 1948 löste Lidocain als erster Vertreter der Aminoamide die bis dato angewandten Aminoester ab. Diese neue Substanzklasse vereinte die Vorteile einer geringeren allergenen Potenz mit denen einer verlängerten Wirkdauer und einer geringeren thermischen Instabilität [10].

Mit der Zulassung von Prilocain im Jahre 1960, von Etidocain 1972 und kurz darauf von Mepivacain und Bupivacain sowie von Ropivacain 1996, die sich hinsichtlich Nebenwirkungsprofil und Wirkdauer unterscheiden, wurde das Anwendungsspektrum der Lokalanästhetika stetig erweitert [2, 11, 12].

## 1.2. Definition und Wirkung der Lokalanästhesie

Bei einer Allgemeinanästhesie wird jegliche Empfindung und Schmerzwahrnehmung direkt temporär unterbunden. Im Gegensatz dazu erfolgt bei einer topischen Anästhesie eine Blockade der lokalen Schmerzleitung von einem spezifischen Innervationsgebiet zum Gehirn. Zerebrale Funktionszustände bleiben dadurch weitgehend unbeeinflusst. Es kommt somit bei vollständig erhaltener Bewusstseinslage zu einer isolierten Blockade des

behandelten Nervs und einer fortbestehenden Funktionsfähigkeit nicht innervierter Areale [13].

Charakteristischerweise wird die Schmerzweiterleitung nach Applikation von Lokalanästhetika in einem umschriebenen Gebiet durch eine reversible und spezifische Interaktion der neuronalen Signaltransduktion gehemmt [14]. Die Blockade von sogenannten schnellen, spannungsgesteuerten Natriumkanälen eines Axons verhindert die Entstehung eines Aktionspotentials, welches für die Erregungsweiterleitung in Nervenendigungen, peripheren Nerven oder Spinalnervenzellen nötig ist.

Eine Nervenmembran besteht aus einer Lipiddoppelschicht, in der Glykoproteine als Kanäle für Ionenströme eingelagert sind und die ein Membranpotential zwischen Innen- und Außenseite von circa -80 mV aufrechterhält. Kommt es zu einer depolarisierenden Reizung der Nervenfasernimmt die Permeabilität für Natriumionen und damit der Einstrom von Natriumionen zu. Das Membranpotential wird positiv. Das Erreichen eines Schwellenwerts von circa -55 mV induziert eine Konformationsänderung des Glykoproteinkanals für Natriumionen. Natriumionen strömen, bedingt durch den elektrochemischen Gradienten, durch die aktivierten und somit geöffneten Ionenkanäle zur Innenseite der Membran und lösen ein Aktionspotential aus. Im zeitlichen Verlauf wird ein Spitzenwert des Potentials von +40 mV erreicht.

Ein Aktionspotential läuft nach Überschreiten des Schwellenwertes nach dem „Alles-oder-Nichts-Prinzip“ unabhängig von der auslösenden Reizstärke der Nervenfasern ab [15, 16].

Nach etwa 0,2 ms beginnt die Inaktivierung und Schließung der Natriumkanäle. Zeitgleich öffnen sich Kaliumkanäle, was zu einer Repolarisation der Nervenzelle durch Ausstrom von Kaliumionen aus dem Zellinneren führt und über eine Hyperpolarisation die Wiederherstellung der ursprünglichen Ionenverteilung des Ruhemembranpotentials mit Hilfe der Natrium-Kalium-Pumpe bewirkt.

Die Aktionspotentiale der verschiedenen Zellen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Dauer: Insgesamt dauert das Aktionspotential einer Nervenzelle etwa 1 bis 2 ms, das einer Skelettmuskelzelle etwa 10 ms und das einer Herzmuskelzelle im Mittel 200 ms [16]. Diesen Vorgang blockieren Lokalanästhetika einerseits,



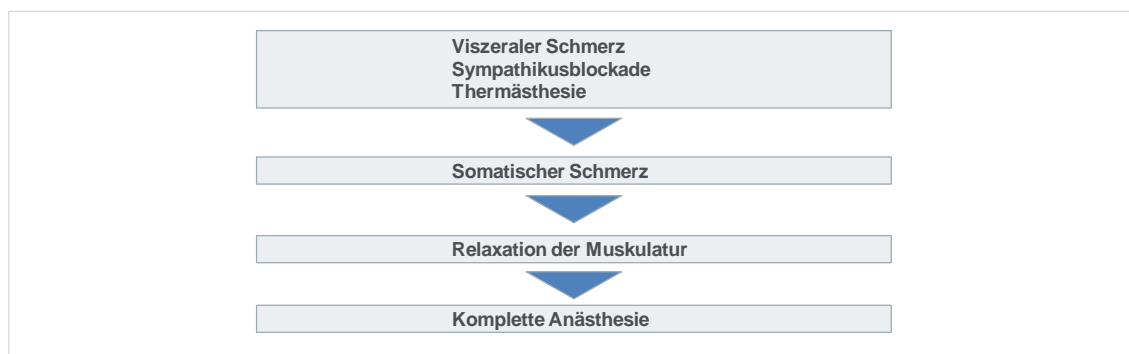
indem sie ungeladen durch die Axonmembran nach intrazellulär diffundieren, dort in die geladene kationische Form dissoziieren, sich an das Natriumkanalprotein binden und diesen in der inaktivierten geschlossenen Form stabilisieren [17].

Andererseits lagert sich das Pharmakon in die Phospholipiddoppelschicht um den Proteinkanal herum ein und führt zu einer ödematösen Schwellung der Lipidschicht, die durch Kompression den Ionenkanal verengt [18].

Dies führt zu einer Membranstabilisierung, die eine Fortleitung von Nervenimpulsen an ihrem Entstehungsort verhindert.

Auch die Konfiguration des Kanals an sich ist für die Affinität der Substanz von Bedeutung. So wirken Lokalanästhetika nur auf inaktivierte geschlossene Natriumkanäle und binden an diese affiner als an ruhende Kanäle [17]. Die Dauer einer Blockade ist umso länger, je höher die Stimulationsfrequenz und je länger die Dissoziation vom Rezeptor dauert [19].

Abhängig von der Dosis und der Nervenfaserdicke erfolgt eine Ausschaltung der Sensibilität, Motorik und der vegetativen Funktionen im innervierten Gebiet eines gemischten Nervens von der Injektionsstelle ausgehend (Abbildung 1) [17].



**Abb. 1:** Schematische Abfolge einer Nervenblockade zur Schmerzausschaltung

Dabei gilt der Zusammenhang:

$$\text{Dosis (D)} = \text{Konzentration (c)} \times \text{Volumen (V)}$$

Eine verlängerte Wirkdauer der Lokalanästhetika ist durch eine Steigerung der Dosis möglich, die wiederum durch eine Erhöhung der Konzentration allein,

durch eine Volumenzunahme bei konstanter Konzentration oder durch Erhöhung beider Variablen zu erreichen ist.

Repetitive Gaben von Lokalanästhetika zum Zeitpunkt des Abklingens der Nervenblockade bewirken schon mit einem Bruchteil der Initialdosis eine vollständige Blockade, da diese auf noch partiell besetzte Bindungsstellen im Nerv treffen [18].

Die lokale Verfügbarkeit der Lokalanästhetika ist neben dem Konzentrationsgefälle von der Diffusionsfähigkeit der einzelnen Pharmaka abhängig [13, 14]. So kann durch die Kombination mit Vasokonstriktoren, wie etwa Adrenalin, die Konzentration des Lokalanästhetikums im Zielgebiet erhöht, die Wirkdauer verlängert sowie eine Dosisreduktion erzielt werden.

### 1.3. Einteilung und Eigenschaften der Lokalanästhetika

Die Einteilung der Substanzklasse der Lokalanästhetika erfolgt nach ihrer molekularen Struktur in Aminoester und Aminoamide [20].

Gemeinsam ist beiden der Aufbau aus drei miteinander verbundenen Gruppen, die für die Reaktivität, die Pharmakokinetik und die Toxizität verantwortlich sind. Die Wirkung der Aminoamide ist im Vergleich zu den Aminoestern stärker und länger ausgeprägt.

Zwar werden die instabilen Aminoester durch die hydrolytische Spaltung gewebebeständiger Esterasen und durch die Pseudocholinesterase im Vergleich zu den Aminoamiden schneller metabolisiert, jedoch entsteht als Abbauprodukt Paraaminobenzoesäure. Diese wirkt bei disponierten Patienten als Hapten und kann allergische oder anaphylaktische Reaktionen auslösen. Diese relevante Nebenwirkung führte zu einem reduzierten klinischen Gebrauch der Aminoester [19].

Im Gegensatz dazu findet der größte Teil der Dissimilation der stabileren Aminoamide in mehreren Schritten in der Leber statt. Im Vergleich zur Metabolisierung der Aminoester kommt es zu keiner Entstehung von Aminobenzoesäure; diese Substanzen weisen somit nur ein minimales allergenes Potential auf.

Neben den beschriebenen unterschiedlichen chemischen Prozessen können Funktionseinschränkungen einzelner Organsysteme zu weitreichenden Komplikationen führen.

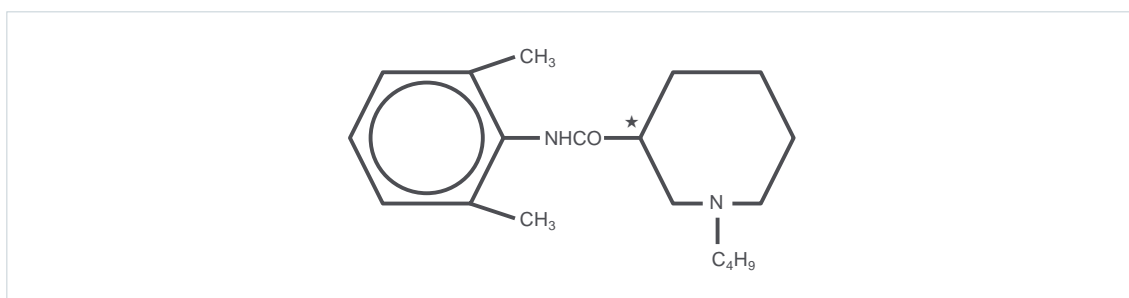
Eine Leberinsuffizienz kann sowohl bei primären Lebererkrankungen als auch bei sekundären Beeinträchtigungen, beispielsweise durch Minderperfusion aufgrund einer Herzinsuffizienz, zu einer Kumulation des Lokalanästhetikums führen. Eine Verlängerung der Wirkdauer sowie die erhöhte Rate an Nebenwirkungen ist die Folge [21].

Eine etwaige Niereninsuffizienz spielt hier eine untergeordnete Rolle, da nur etwa fünf Prozent des Lokalanästhetikums unverändert renal eliminiert werden [22].

Weiterhin kann eine Einteilung nach dem Dichteverhältnis des Lokalanästhetikums zum Liquor cerebrospinalis bei 37°C (Barizität) in hypobare, isobare und hyperbare Lokalanästhetika erfolgen.

#### 1.4. Bupivacain und Ropivacain

Das Aminoamid Bupivacain stellt seit über 30 Jahren die Referenz zu allen verfügbaren Lokalanästhetika in der Regionalanästhesie dar und wird als Racemat am häufigsten von allen langwirksamen Lokalanästhetika eingesetzt (Abbildung 2) [14].



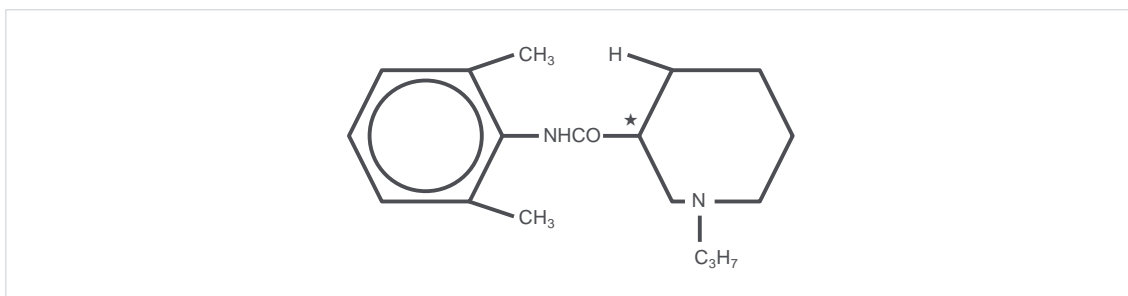
**Abb. 2:** Chemische Strukturformel des Aminoamids Bupivacain mit lipophiler Ringstruktur, Zwischenkette und hydrophiler Aminogruppe.

Klinisch werden Maximaldosierungen von 2 mg/kg Körpergewicht (KG) appliziert. Allerdings sollte eine maximale Einzeldosis von 150 mg bei Erwachsenen nicht

überschritten werden. Aufgrund einer großen individuellen Schwankungsbreite sollte eine entsprechende Dosisanpassung bei Kindern, älteren Patienten, leberinsuffizienten Patienten oder Patienten mit erhöhtem medikamentösen Interaktionsprofil und Komorbiditäten vorgenommen werden.

Aufgrund seiner Lipophilie ist Bupivacain im Blut zu über 90 Prozent an Plasmaproteine gebunden, was die hohe Plasmahalbwertszeit erklärt. Die initiale Bindung an Plasmaproteine bewirkt im Verlauf eine schrittweise Abgabe des Wirkstoffes in den Blutkreislauf. Dadurch tritt eine verzögerte Wirkung ein, die eine Anästhesie auf bis zu zwölf Stunden verlängern kann. Neben dieser Reaktion kann eine Akkumulation des Wirkstoffes in den Hepatozyten und Kardiomyozyten resultieren, die den Stoffwechsel dieser Zellen negativ beeinflusst [14]. Bupivacain weist im Vergleich zu anderen lokalanästhetisch wirksamen Verbindungen die höchste Affinität zu Natriumkanälen auf und blockiert diese nicht nur an Nerven, sondern auch an vielen weiteren erregbaren Strukturen.

Ähnliche Wirkspektren werden für Ropivacain beschrieben. 1996 wurde dieses langwirksame Aminoamid-Anästhetikum klinisch eingeführt (Abbildung 3) [23–26].



**Abb. 3:** Chemische Strukturformel des Aminoamids Ropivacain mit lipophiler Ringstruktur, Zwischenkette und hydrophiler Aminogruppe.

Im direkten Vergleich zu Bupivacain zeigt sich bei Ropivacain eine deutlich niedrigere Lipophilie mit geringerer Kumulation in den Zellen. Der intrazelluläre Energiestoffwechsel wird daher nur gering eingeschränkt.

Der Einsatz von Ropivacain als reines optisches S(-)Isomer anstatt der Verwendung als Racemat unterscheidet die beiden Substanzen voneinander.

Eine geringere Affinität zu den schnellen Natrium- und den Kaliumkanälen am Myokard bewirkt eine niedrigere kardiale Toxizität im Vergleich zu Bupivacain [14, 27–29].

Für Ropivacain sind Dosierungen von bis zu 4 mg/kg KG bei einer maximalen Einzeldosis von 250 mg für Erwachsene möglich.

### 1.5. Nebenwirkungen und Toxizität

Toxische und allergische Nebenwirkungen treten bei etwa einem Prozent aller Regionalanästhesien auf. Allergische Reaktionen durch Aminoamide sind insgesamt selten, allerdings kann es durch eine systemisch-toxische Wirkung zu einer lebensbedrohlichen Situation kommen.

Zu hohe Plasmaspiegel als Zeichen einer relativen oder absoluten Überdosierung, eine zu schnelle Anflutung durch eine rasche Resorption am Injektionsort oder eine direkte intravasale Applikation können zu zerebralen, bei höheren Konzentrationen auch zu kardialen Reaktionen führen [17, 20]. Der klinische Verlauf der Symptomatik resultiert aus Unterschieden in der Schwellenkonzentration. Zentralnervöse Nebenwirkungen treten bereits bei niedrigeren Konzentrationen auf, als kardiovaskuläre Effekte. Dabei ist die Höhe des Plasmaspiegels von der Dosis an sich, dem Ort der Injektion, einem etwaigen vasokonstriktorischem Zusatz, der vorbestehenden Medikation des Patienten und dem Verteilungsvolumen sowie der Metabolisierung abhängig [30].

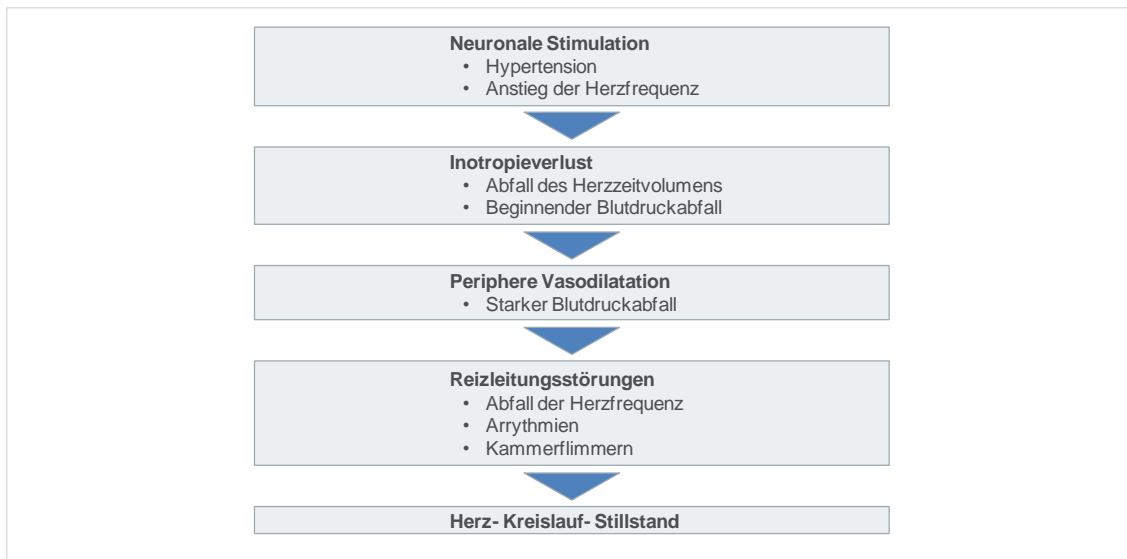
Neben den bereits erwähnten exogenen Einflussfaktoren führen endogene Faktoren, wie die Verringerung des Verteilungsvolumens bei Dehydratation, zu einer relativen Konzentrationserhöhung des Lokalanästhetikums. Ein Proteinmangel lässt den freien ungebundenen Anteil des Wirkstoffes ansteigen. Weiterhin führt eine Azidose zu einer geringeren Bindung an Plasmaproteine und lässt somit den intrazellulären Anteil absolut ansteigen [18]. Dies sind Faktoren, die der Anwender beachten muss und beeinflussen kann.

Besonders bei den zentralnervösen Nebenwirkungen lässt sich eine zeitliche Abfolge der Symptome in Korrelation zum Blutspiegel erkennen [31].

Periorale und linguale Parästhesien sind häufig initiale Warnzeichen für einen drohenden generalisierten Krampfanfall und erfordern die sofortige Einleitung therapeutischer Maßnahmen, um eine Schädigung des Patienten zu vermeiden [31]. Die Dämpfung inhibitorischer Zentren im zentralen Nervensystem führt initial zu einer erhöhten Erregbarkeit (Exzitationsphase), im weiteren Verlauf zu einer generalisierten Dämpfung (Depressionsphase) und kann in ein Koma und einen Atemstillstand übergehen [32].

Wird die kardiotoxische Schwellenkonzentration erreicht, treten Symptome auf, die auf die Bindung der Lokalanästhetika an den Ionenkanälen des Reizbildungs- und Reizleitungssystems des Herzens und an das Myokard zurückzuführen sind. In den ersten Phasen einer Lokalanästhetikaintoxikation kann es zu einer zentralen Aktivierung des Herz-Kreislauf-Systems kommen, die im weiteren Verlauf zu einer kardialen Depression und Vasodilatation mit Hypotension führt. Arrhythmien, Kammertachykardien bis zu Kammerflimmern, ein AV-Block III°, Kontraktilitäts- und Inotropieverlust des Myokards, negativ chronotrope und bathmotrope Wirkungen sowie eine Herzinsuffizienz sind weitere mögliche Komplikationen (Abbildung 4) [18, 20].

Verstärkt werden diese Symptome durch das Vorliegen von Hypoxie, Hyperkapnie oder Hypokaliämie [17].



**Abb. 4:** Mögliche Symptome und zeitlicher Verlauf einer Lokalanästhetikaintoxikation.

Bezogen auf die Lipophilie der Substanz zeigt sich ein differenziertes Bindungsverhalten, welches besonders bei den langwirksamen Substanzen Bupivacain und Ropivacain zu einer frequenzabhängigen Blockade der Ionenkanäle führt [33]. Mit zunehmender Herzfrequenz werden Blockadeeintritt und Blockadedauer beeinflusst.

R(+) Bupivacain und R(+) Ropivacain weisen gegenüber den Enantiomeren S(-) Bupivacain und S(-) Ropivacain eine erhöhte Toxizität auf. Diese ist durch das differenzierte stereoisomerische Verhalten bedingt und führt zu dem gehäuften klinischen Einsatz von reinen S(-) Enantiomeren [34].

In diesem Kontext zeigt sich eine negativ korrelierte Kausalkette beim Symptomeintritt. Kardiale Nebenwirkungen können auch ohne die pathognomonischen neuronalen Symptome eintreten und das frühzeitige Erkennen einer Intoxikation erschweren.

Einen weiteren Aspekt stellen mechanisch bedingte Komplikationen dar. Neben dem Risiko von Schädigungen der umliegenden Strukturen bedingen besonders intranervale Injektionen eine Gefahr für persistierende neuralgische Schmerzen und motorische Einschränkungen [23, 35, 32, 36].

Umso wichtiger erscheint das frühzeitige Erkennen möglicher toxischer Effekte während des Einsatzes von Lokalanästhetika, um bereits im Prodromalstadium einen weiteren Progress mit irreversibler Schädigung zu verhindern.

#### 1.6. LipidRescue™ als Therapieoption

Trotz steigendem Gebrauch von Lokalanästhetika und einem damit verbundenen relativen Anstieg der Komplikationsrate bis hin zu potentiell letalen Intoxikationen fehlen zurzeit zufriedenstellende Antidottherapien.

Erste vielversprechende Ansätze zur Therapie einer Lokalanästhetikaintoxikation mittels Lipidemulsionen wurden 1998 publiziert. Hier konnte in einem Tierversuch an Ratten erstmalig nachgewiesen werden, dass eine Lipidvorbehandlung zu einer Reduktion lokalanästhetikainduzierter kardialer Nebenwirkungen führt [37]. 2004 wurden diese Ergebnisse im Großtierversuch bestätigt [38]. Basierend auf Fallberichten, die einen erfolgreichen Einsatz der Lipidemulsionen beim Menschen belegten, veröffentlichte zwei Jahre später die „Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland“ eine offizielle Empfehlung für den therapeutischen Gebrauch von Lipidlösungen [39–41]. Unter dem offiziellen Namen „LipidRescue™“ erfolgte die Vermarktung.

2007 publizierte die „Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland“ die ersten „Guidelines for the management of severe local anaesthetic toxicity“. In Anlehnung an diese Guidelines veröffentlichte die „Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin e.V. (DGAI)“ im Jahre 2009 eine Empfehlung zur Therapie einer Lokalanästhetikaintoxikation, die folgende Vorgehensweise empfiehlt (Abbildung 5):



- Weitere Applikation von Lokalanästhetika terminieren
- Hochdosierte Sauerstoffgabe und Sicherung der Atemwege
- Medikamentöses Durchbrechen eines Krampfanfalles
- Leitliniengerechte kardiopulmonale Reanimation bei Kreislaufstillstand
- Gabe von 20%iger Lipidemulsion
  - 1,5ml/kg/KG/min als Bolus
  - 0,1ml/kg/KG/min über 30 min als Infusion oder
  - 0,5ml/kg/KG/min über 10 min als Infusion
- Bei erfolgreicher Behandlung intensivmedizinische Überwachung

**Abb. 5:** Handlungsalgorithmus bei Verdacht auf eine Lokalanästhetikaintoxikation – modifiziert nach [39, 42].

Trotz der mehrfachen erfolgreichen klinischen Anwendung ist die genaue Wirkweise von Lipiden bezüglich der Antidotwirkung noch immer nicht vollständig geklärt. Die „Lipid-sink-Theorie“ geht von einer vermehrten Lipidbindung der Lokalanästhetika und damit einer Verminderung der intrazellulären Konzentration aus, während bei der „Fat-rush-Theorie“ eine Reaktivierung der Fettsäureoxidation postuliert wird [43]. Zudem variiert der beschriebene antitoxische Effekt von Lipofundin® von einigen Sekunden bis zu mehreren Minuten. Auch die genaue Bedeutung der Zusammensetzung der Fettsäuren im Rahmen einer LipidRescue™-Therapie ist bis heute noch nicht abschließend geklärt.

Studien verglichen die Präparate Intralipid® mit überwiegend langkettigen Fettsäuren und Medialipid® mit gemischt mittel- und langkettigen Fettsäuren. Für Medialipid konnten in vitro zwei- bis dreimal höhere Bindungskapazitäten von Bupivacain und Ropivacain nachgewiesen werden [39, 44].

Die im Handlungsalgorithmus geforderten Dosierungen von Lipidemulsionen liegen deutlich über den vom Hersteller angegebenen Maximaldosen und prädisponieren das Auftreten von unerwünschten Wirkungen, wie Kopfschmerzen und Übelkeit, Rückenschmerzen, Dyspnoe, Temperaturanstieg, Hyper- oder Hypotonie, Thrombophlebitiden und anaphylaktischen Reaktionen, die allerdings aufgrund der möglichen Abwendung einer letal verlaufenden Lokalanästhetikaintoxikation eher zu vernachlässigen sind [45].

## 1.7. Fragestellung

Das Auftreten von kardialen Symptomen im Rahmen einer Intoxikation mit Lokalanästhetika kann neben den zerebralen Effekten zu einer akuten vitalen Bedrohung des Patienten führen. Der Einsatz von Lipidemulsionen ist eine mögliche Option bei der Therapie einer Lokalanästhetikaintoxikation. Unklar ist allerdings, ob eine Präinkubation mit einer Lipidlösung das Auftreten einer kardialen Depression verhindern oder minimieren kann. In der vorliegenden Arbeit wurde daher der Effekt auf die in-vitro-Kontraktion von Herzmuskulatur nach Applikation von Ropivacain und Bupivacain untersucht, um folgende Fragestellungen zu klären:

- Induziert die Inkubation mit Bupivacain im Vergleich zu Ropivacain eine ausgeprägtere negativ inotrope Wirkung bei humanem Myokardgewebe in-vitro?
- Kann die vorherige Inkubation mit Sojabohnenöl (Lipofundin®) den negativen inotropen Effekt von Ropivacain in-vitro aufheben oder verringern?
- Moduliert die Applikation von Koffein die Inotropie von humanem Myokardgewebe in-vitro?

## 2. Material und Methoden

Zur Bearbeitung der Fragestellungen wurden Muskelbündel aus humanen Herzvorhoföhren präpariert und steigenden Konzentrationen von Lokalanästhetika im Organbad ausgesetzt [79]. Im hier beschriebenen Aufbau wurden steigende Konzentrationen der Lokalanästhetika Bupivacain beziehungsweise Ropivacain appliziert und die Auswirkungen auf das Kontraktionsverhalten von humanem Myokardgewebe in-vitro analysiert. Hauptsächlich wurde die Wirkung von Ropivacain mit und ohne Vorbehandlung mit Lipofundin getestet. Der Schwerpunkt der vorliegenden Promotionsarbeit lag in der Datenanalyse und statistischen Evaluation der durch die Laborassistenten im Vorfeld abgeschlossenen Versuchsreihe.

### 2.1. Patientenrekrutierung und Materialgewinnung

Nach Genehmigung durch die örtliche Ethikkommission (Ethikkommission der Universität Würzburg, Antragsnummer: 130/04) wurden insgesamt 46 Herzmuskelbündel untersucht. Diese wurden im Rahmen einer Herzklappenoperation mit intraoperativer Entfernung eines Herzohres zur Thromboembolieprophylaxe an der Klinik für Thorax-, Herz- und Thorakale Gefäßchirurgie der Universitätsklinik Würzburg gewonnen.

Als Einschlusskriterium für die Studie galt jede Herzklappenoperation mit intraoperativer Entfernung eines Herzohres.

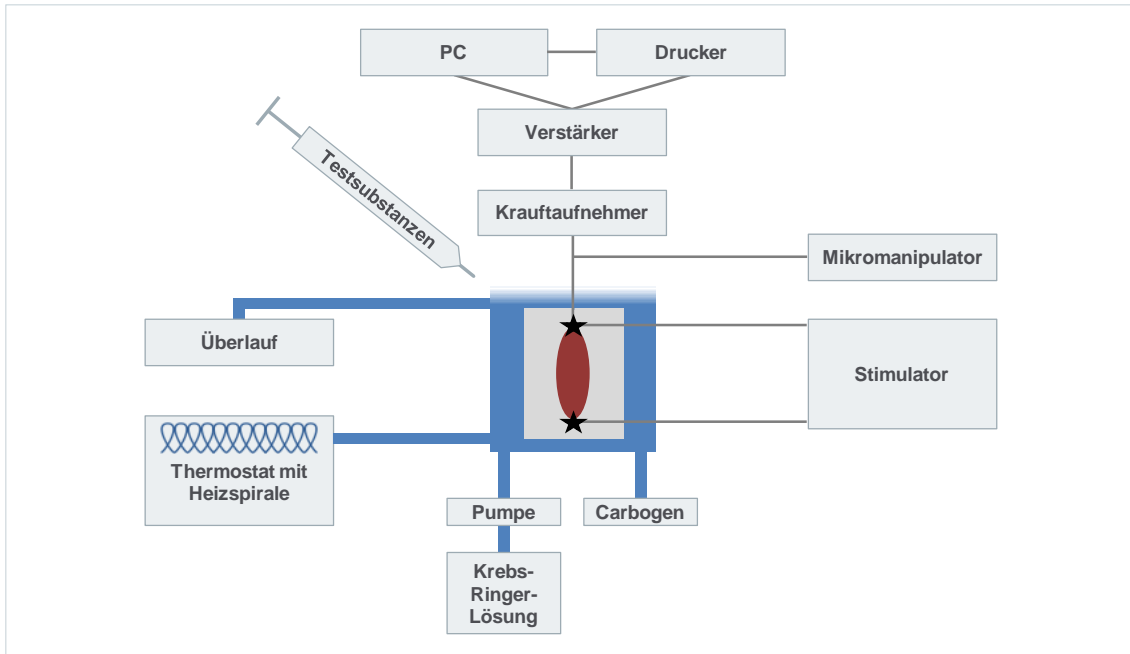
Ausschlusskriterien waren die fehlende Einwilligung des Patienten, eine makroskopische Läsion des Herzohres oder fehlende Spontankontraktionen bei mechanischer Provokation der entnommenen Muskelbündel. Der Operationsablauf blieb durch die Teilnahme an der Studie unbeeinflusst.

Direkt nach Entnahme wurden die Herzohren in einem Probengefäß mit Carbogen (95% Sauerstoff [O<sub>2</sub>] / 5% Kohlenstoffdioxid [CO<sub>2</sub>]) gesättigter Krebs-Ringer-Lösung (1 l enthält Natriumchlorid [NaCl] 118,1 mmol, Magnesiumsulfat [MgSO<sub>4</sub>] 0,8 mmol, Glucose 11,1 mmol, Kalziumchlorid [CaCl<sub>2</sub>] 2,5 mmol, Kaliumchlorid [KCl] 3,4 mmol, Kaliumdihydrogenphosphat [KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] 1,2 mmol

und Natriumhydrogencarbonat  $[\text{NaHCO}_3]$  25,0 mmol, Apotheke der Universitätsklinik Würzburg) in das Versuchslabor verbracht.

## 2.2. Versuchsaufbau

Zu Beginn des Versuches wurden aus den Herzohren einzelne Muskelfaserbündel mit einem definierten Mindestgewicht von 250 mg präpariert. Diese Muskelbündel wurden in einem mit 20 ml sterilfiltrierter Krebs-Ringer-Lösung gefüllten Organbad eingespannt. Die Messkammer wurde mittels einer Dosierpumpe (Typ BVP, Ismatec SA, Glattbrugg-Zürich, Schweiz) kontinuierlich mit Krebs-Ringer-Lösung perfundiert. Ein Überlauf hielt das Volumen im Wasserbad konstant. Um eine suffiziente Oxygenierung und Vitalität der Muskelzellen sicherzustellen, wurde dem Organbad kontinuierlich Carbogen zugeführt. Ein integrierter Wärmekreislauf (Sauer, Würzburg) mit Heizspirale (Typ Assistent 3180, Glaswarenfabrik Karl Hecht KG, Sondheim, Deutschland) stellte die Temperaturkonstanz bei 36,5°C sicher. Durch elektronisch gesteuerte Mikromanipulatoren (Physiologisches Institut der Universität Würzburg) konnten die Muskelbündel vorgedehnt werden. Die jeweiligen Enden der fixierten Muskelbündel wurden mit den Elektroden eines Stimulators (Stimulator Typ 215/I, Hugo Sachs Elektronik, March, Deutschland) verbunden; damit wurde der Reizstrom erzeugt. Die ermittelten Signale wurden durch einen Kraftaufnehmer (Lectromed Isometric Force Transducer T4150, Lectromed Limited, Welwyn Garden City, England) erfasst und über einen Verstärker (Typ Musco, RS Biomed tech, Sinzing, Deutschland) an einen angeschlossenen Computer weitergeleitet und digital gespeichert. Zeitgleich wurde das Signal von einem analogen Multiplex Recorder (Serie R 60, Rikandenki Kogyo Co, Tokio, Japan) aufgezeichnet (Abbildung 6).



**Abb. 6:** Schematische Anordnung der Versuchsapparatur.

### 2.3. Präparation der Testsubstanzen

Vor Versuchsbeginn wurde eine Koffeinlösung aus Koffeintrockensubstanz ( $C_8H_{10}N_4O_2$ ,  $M = 194,20 \text{ g/mol}$ , MERCK KGaA, Darmstadt, Deutschland) mit einer Konzentration von  $100 \text{ mmol/l}$  angesetzt. Dafür wurden  $4,855 \text{ g}$  des Koffeinpulvers in  $250 \text{ ml}$  Aqua dest. (Braun Melsungen AG, Deutschland) unter Rühren gelöst. Die zu untersuchenden Lokalanästhetika Ropivacain (Naropin®,  $7,5 \text{ mg/ml}$ , AstraZeneca, Wedel, Deutschland) sowie Bupivacain (Carbostesin®  $5 \text{ mg/ml}$ , AstraZeneca, Wedel, Deutschland) wurden jeweils sterilen und kommerziell erhältlichen Kunststoffeinzelpullen entnommen.

Als Fettlösung wurde Lipofundin® 20% N verwendet ( $1000 \text{ ml}$  der Emulsion enthalten  $200 \text{ g}$  Sojaöl,  $12 \text{ g}$  Eilecithin,  $25 \text{ g}$  Glycerol, sowie alpha-Tocopherol, Natriumoleat und Wasser für Injektionszwecke (Braun, Melsungen AG, Deutschland). Die Osmolalität betrug  $350 - 380 \text{ mosmol/kg}$ .

## 2.4. Versuchsablauf

Zu Beginn wurden die Muskelbündel eingespannt und durch eine kontinuierlich zunehmende Dehnung (1,5 mm/min) vorgedehnt, bis eine resultierende Muskelbündelspannung von 60 - 70 mN erreicht war (gemessen:  $63,3 \pm 15,9$  mN).

Während des Versuches wurden alle fünf Sekunden maximale Kontraktionen durch elektrische Reizung ausgelöst (Reizparameter: Frequenz 12/min, Stimulationsdauer 50 ms, Spannung 50 V).

Die Kraftentwicklung der elektrisch induzierten muskulären Kontraktionen (Twitch) sowie die Ruhespannung (Baseline) zwischen den einzelnen Kontraktionen wurden aufgezeichnet (Abbildung 7). Muskelbündel, die zum Zeitpunkt der erreichten Vordehnung auf Elektrostimulation mit einer Kontraktion unter 4 mN reagierten, wurden von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen. Ein Anstieg der Baseline im Verlauf wurde als Kontraktur bezeichnet. Nach Erreichen einer konstanten Ruhespannung (Variabilität < 2 mN über 10 min) wurde die Zufuhr von Krebs-Ringer-Lösung gestoppt, und die Testsubstanzen mit einer 1 ml Einmalspritze (Omnifix®-F 1 ml, Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland) in das Wasserbad appliziert.

Im Abstand von jeweils drei Minuten wurden alle Muskelbündel zunächst mit Koffein in steigenden Konzentrationen (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 mmol/l) im Organbad inkubiert.

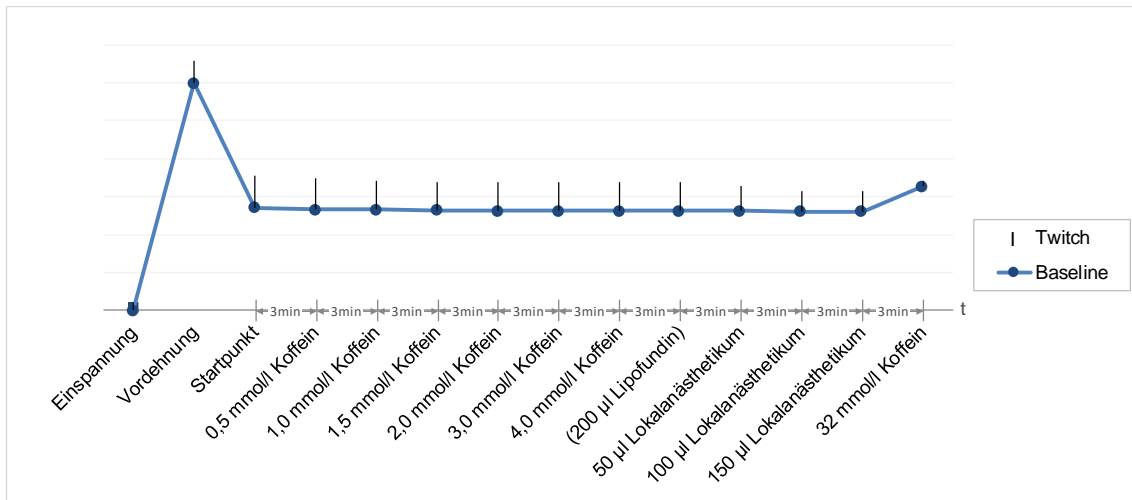
Anschließend erfolgte die dreimalige Applikation eines Volumens von 50 µl der Lösung der Testsubstanzen (was kumulativ zu 50 – 100 – 150 µl appliziertem Gesamtvolumen führte). In der Gruppe Bupivacain entsprach dies einer Einzeldosis von 0,25 mg Bupivacain und kumulativen Gesamtmengen von 0,25, 0,5 und 0,75 mg. In der Gruppe Ropivacain war die entsprechende Einzeldosis 0,375 mg, die zu kumulativen Dosen von 0,375, 0,75 und 1,125 mg führte. Tabelle 1 stellt die verwendeten Testsubstanzen den entsprechenden Volumina gegenüber.

<b>Messzeitpunkt</b>	<b>Volumen [<math>\mu</math>l]</b>	<b>Dosis [mg]</b>	<b>Konzentration</b>
<b>Bupivacain</b>	50	0,250	0,04 mmol/l
	100	0,500	0,09 mmol/l
	150	0,750	0,13 mmol/l
<b>Ropivacain</b>	50	0,375	0,07 mmol/l
	100	0,750	0,14 mmol/l
	150	1,125	0,20 mmol/l
<b>Lipofundin</b>	200	40,00	2,00 g/l

**Tab. 1:** *Verwendete Testsubstanzen Bupivacain und Ropivacain mit Angabe von Volumina, Dosen und Konzentrationen im Organbad von 20 ml. Angaben in  $\mu$ l, mg, mmol/l und mg/l.*

In der dritten Gruppe (Gruppe Ropivacain plus Lipofundin) erfolgte nach Koffeinexposition der Muskelbündel erst eine Inkubation mit 200  $\mu$ l Lipofundin® und anschließend die dreimalige Gabe von jeweils 50  $\mu$ l Ropivacain entsprechend der Gruppe Ropivacain.

Am Untersuchungsende wurde zur Überprüfung der postinterventionellen Vitalität der Muskelbündel in allen drei Gruppen die Koffeinkonzentration um 32 mmol/l erhöht (Abbildung 7). Kam es hier zu keinem Anstieg der Baseline von mindestens 2 mN im Vergleich zum Startpunkt, wurde dies als Anzeichen einer unzureichenden Vitalität gedeutet, weshalb das Muskelbündel nicht in die Auswertung einbezogen wurde.



**Abb. 7:** Schematische Darstellung des Versuchsablaufs mit Twitch und Baseline bei Applikation der Testsubstanzen im Abstand von drei Minuten und Darstellung der Messzeitpunkte.

## 2.5. Datenerfassung

Vor Versuchsbeginn erfolgte die Erfassung von Gewicht und Länge der einzelnen Muskelbündel. Vor Gabe der ersten Koffeindosis (Startpunkt) wurden die Werte von Baseline und Twitch gemessen und für die folgenden Messungen als Referenzwert festgelegt.

Ein Anstieg der Baseline wurde als Kontraktorentwicklung definiert und eine Veränderung des Twitch als Ausdruck einer veränderten Kontraktionsfähigkeit der Muskelfasern, welche im Verlauf des Versuches nach dreiminütiger Inkubation mit der jeweiligen Testsubstanz erfasst wurde. Der letzte Messpunkt entsprach der Wirkung von 32 mmol/l Koffein.

## 2.6. Statistik

Die statistische Auswertung wurde mit der Software SPSS (Statistical Package for Social Science, IBM®, Version 24, Armonk, NY, USA) durchgeführt. Die Daten sind als Mittelwerte und Standardabweichung angegeben. Der t-Test für abhängige Stichproben wurde für Vergleiche zwischen den Messzeitpunkten im zeitlichen Verlauf innerhalb jeder Gruppe, der t-Test für unabhängige



Stichproben für den Vergleich der Messpunkte zwischen den Gruppen verwendet. Die Homogenität der beiden Gruppen wurde durch einfaktorielle Varianzanalysen mit Messwiederholungen (ANOVA) als hinreichend nachgewiesen. Die gemessenen Kontraktionsparameter (Baseline, Twitch) wurden mit dem t-Test für gepaarte Stichproben innerhalb des gesamten Kollektivs verglichen. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

### 3. Ergebnisse

Insgesamt wurden 46 atriale Muskelbündel untersucht und ausgewertet, davon 7 in der Gruppe Bupivacain, 26 in der Gruppe Ropivacain und 13 in der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin®.

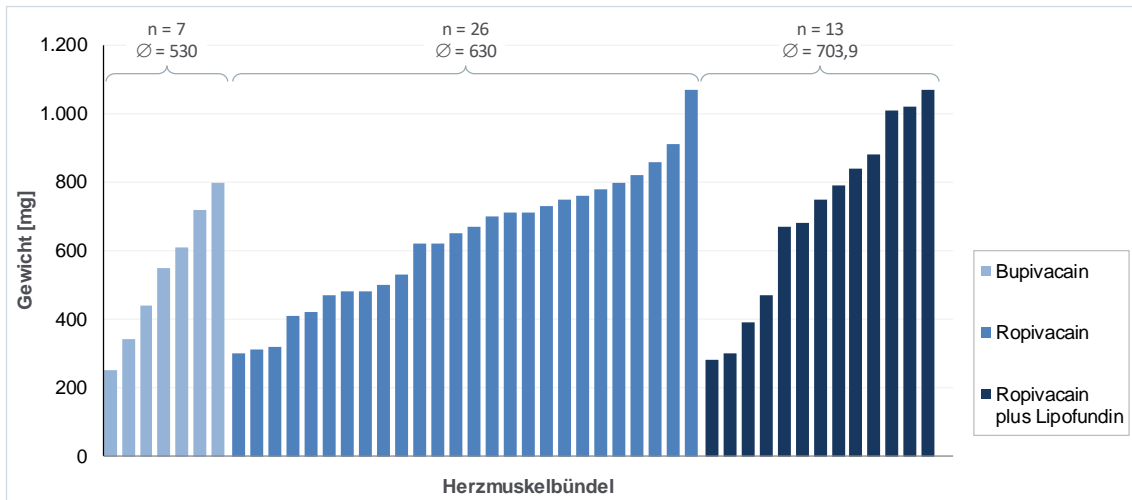
#### 3.1. Biometrische Daten

Das Gewicht der untersuchten Muskelbündel variierte zwischen 250 mg und 1070 mg bei einem Mittelwert von  $635,7 \pm 222,8$  mg (Tabelle 2).

<b>Gruppe</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standard- abweichung</b>	<b>Minimum</b>	<b>–</b>	<b>Maximum</b>
Bupivacain [mg]	530,0	199,3	250,0	–	800,0
Ropivacain [mg]	630,0	197,1	300,0	–	1070,0
Ropivacain plus Lipofundin [mg]	703,9	271,5	280,0	–	1070,0
<b>Gesamt Herzmuskelbündel [mg]</b>	<b>635,7</b>	<b>222,8</b>	<b>250,0</b>	<b>–</b>	<b>1070,0</b>

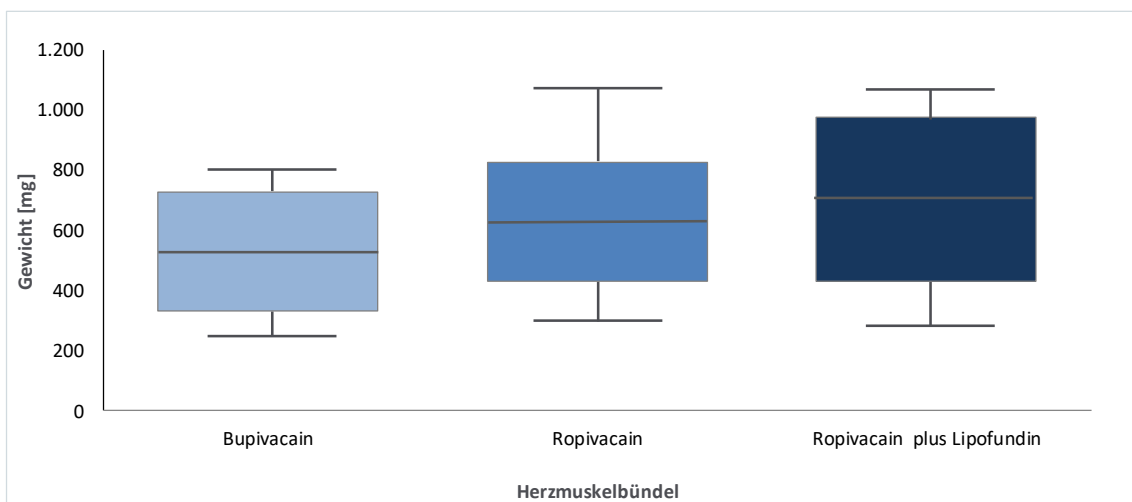
**Tab. 2:** Mittleres Gewicht mit Standardabweichung und Minimum sowie Maximum der Herzmuskelbündel innerhalb der einzelnen Gruppen und im Gesamtdurchschnitt. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in mg.

Die Gewichtsverteilung der Muskelbündel in den drei untersuchten Gruppen war vergleichbar (Abbildung 8).



**Abb. 8:** Gewichtsverteilung der Herzmuskelbündel. Bupivacain  $n=7$ , Ropivacain  $n=26$ , Ropivacain plus Lipofundin  $n=13$ , Angaben in mg.

Das Gewicht der untersuchten Muskelbündel unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen ( $p=0,250$ ) (Abbildung 9).



**Abb. 9:** Gewichtsverteilung innerhalb der Gruppen, dargestellt als Mittelwert (gestrichelte Linie), Median (durchgezogene Linie), Quartilenspanne (farbige Box), Minimum und Maximum. Statistisch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ( $p=0,250$ ). Bupivacain  $n=7$ , Ropivacain  $n=26$ , Ropivacain plus Lipofundin  $n=13$ , Angaben in mg.

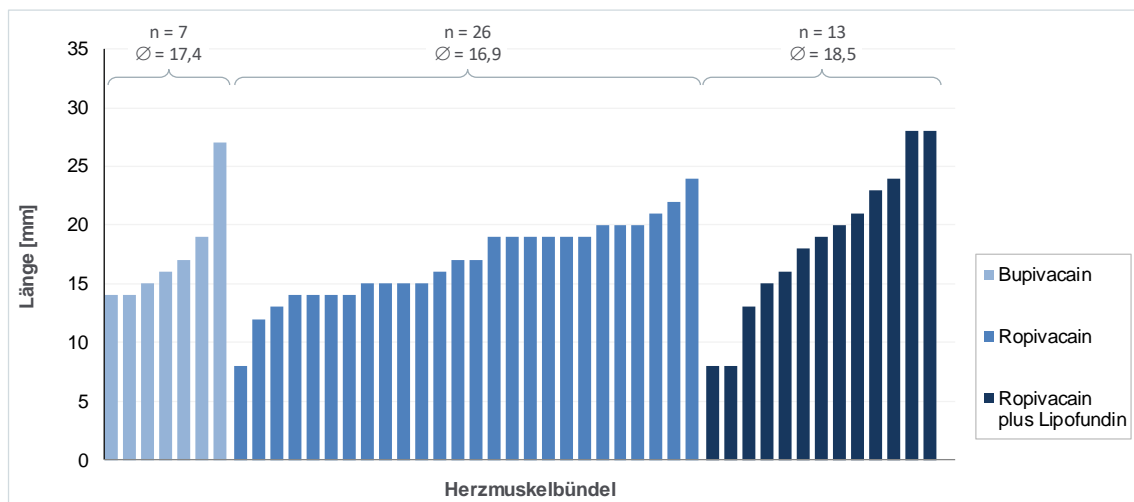
Die Länge der eingespannten Muskelbündel variierte zwischen 8,0 mm und 28,0 mm bei einem Mittelwert von  $17,5 \pm 4,7$  mm (Tabelle 3).

Gruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Minimum – Maximum
Bupivacain [mm]	17,4	4,6	14,0 – 27,0
Ropivacain [mm]	16,9	3,6	8,0 – 24,0
Ropivacain plus Lipofundin [mm]	18,5	6,5	8,0 – 28,0
<b>Gesamt Herzmuskelbündel [mm]</b>	<b>17,5</b>	<b>4,7</b>	<b>8,0 – 28,0</b>

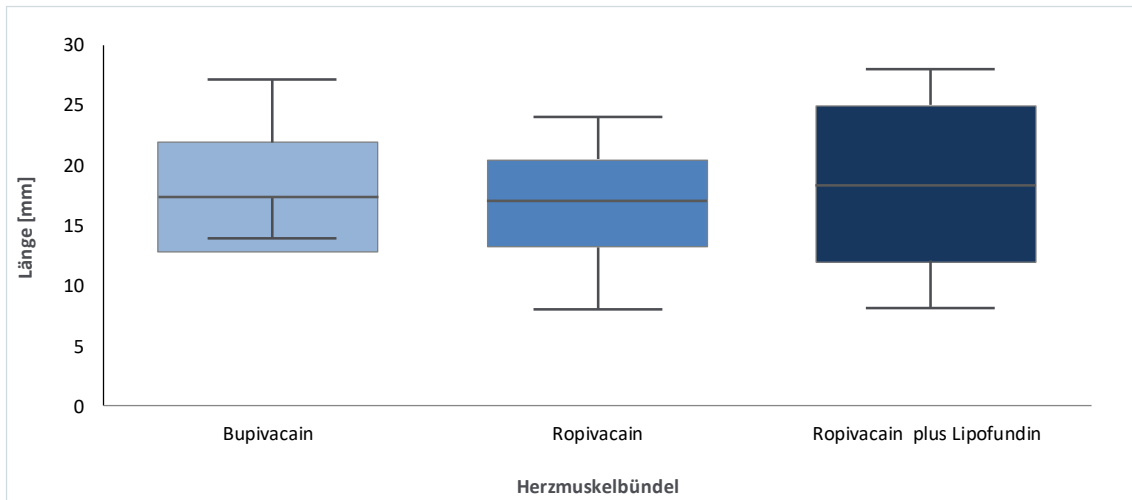
**Tab. 3:** Mittlere Länge mit Standardabweichung sowie Minimum und Maximum der Herzmuskelbündel innerhalb der einzelnen Gruppen und im Gesamtdurchschnitt. Bupivacain n= 7, Ropivacain n= 26, Ropivacain plus Lipofundin 13, Angaben in mm.

Die Verteilung der Muskelbündellänge wies diskrete Unterschiede auf (Abbildung 10), die jedoch nicht signifikant waren ( $p=0,603$ ) (Abbildung 11).

k



**Abb. 10:** Längenverteilung aller verwendeten Herzmuskelbündel. Bupivacain n=7, Ropivacain n= 26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in mm.



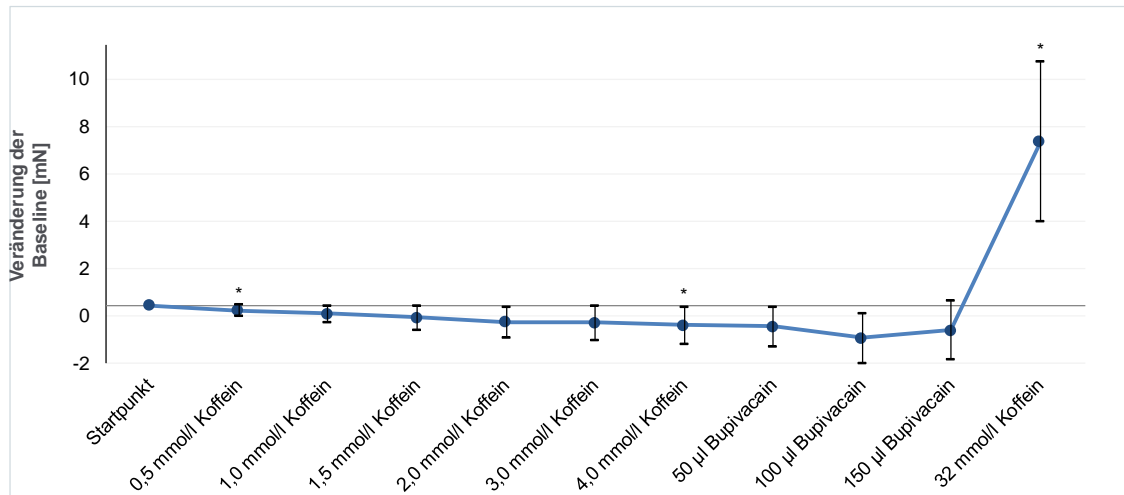
**Abb. 11:** Gewichtsverteilung zwischen den Gruppen dargestellt, als gestrichelte Linie für Mittelwert, durchgezogene Linie für Median mit 1. – 3. Quartile, Minimum und Maximum. Statistisch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ( $p=0,603$ ). Bupivacain  $n=7$ , Ropivacain  $n=26$ , Ropivacain plus Lipofundin  $n=13$ , Angaben in mm.

### 3.2. Baseline im Verlauf

Im Mittel betrug die Zeitspanne vom Zeitpunkt der Vordehnung bis zur Applikation der ersten Koffeindosis  $35,7 \pm 10,8$  Minuten.

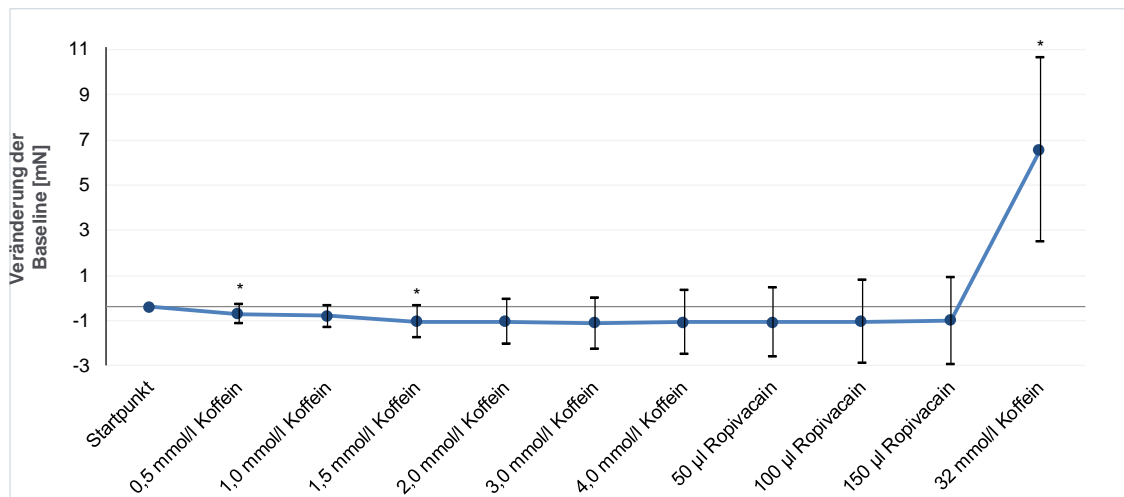
In allen drei Gruppen fiel die Baseline bezogen auf den Ausgangswert im zeitlichen Verlauf während der Applikation der Testsubstanzen leicht ab. Bei einer Konzentration von 32 mmol/l Koffein kam es am Ende zu einem statistisch signifikanten Anstieg der Grundspannung in allen untersuchten Gruppen.

In der Gruppe Bupivacain fiel die Baseline zunächst stetig ab und war vereinzelt signifikant unterschiedlich zum Referenzzeitpunkt. Final stieg die Baseline im Vergleich zum Startpunkt um  $6,9 \pm 3,4$  mN (28%) an. Nach der letzten Applikation von Koffein (Gesamtkonzentration 32 mmol/l) kam es zu einem signifikanten Anstieg der Baseline ( $*p < 0,05$ ) (Abbildung 12).



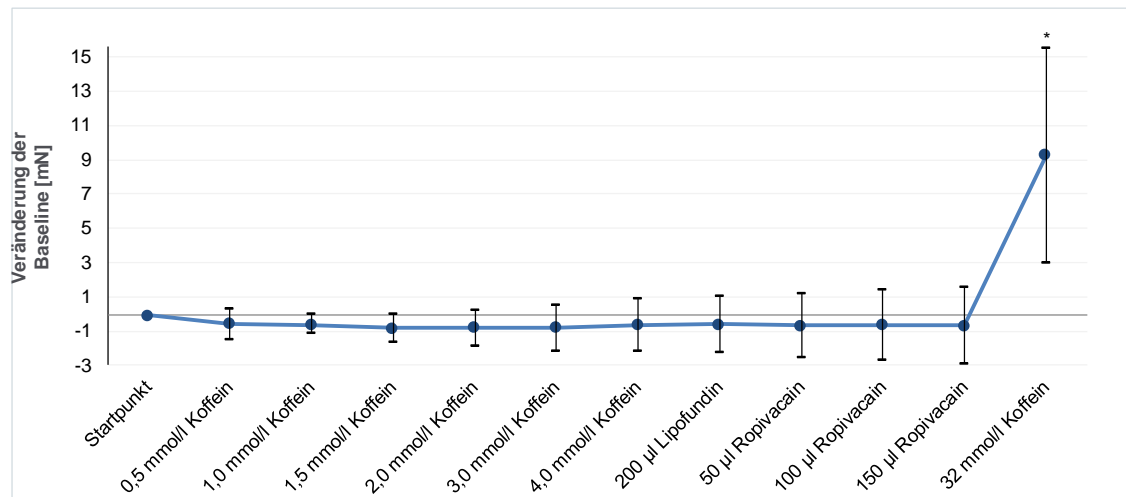
**Abb. 12:** Verlauf der Baseline in der Gruppe Bupivacain, gemessen jeweils zum Wirkzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigten sich signifikante Veränderungen ( $p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt).  $n=7$ , Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

Analog fiel in der Gruppe Ropivacain die Baseline an zwei Messpunkten signifikant ab und stieg um  $7,0 \pm 4,0$  mN (25%) bei 32 mmol/l Koffein ( $p < 0,05$ ) an (Abbildung 13).



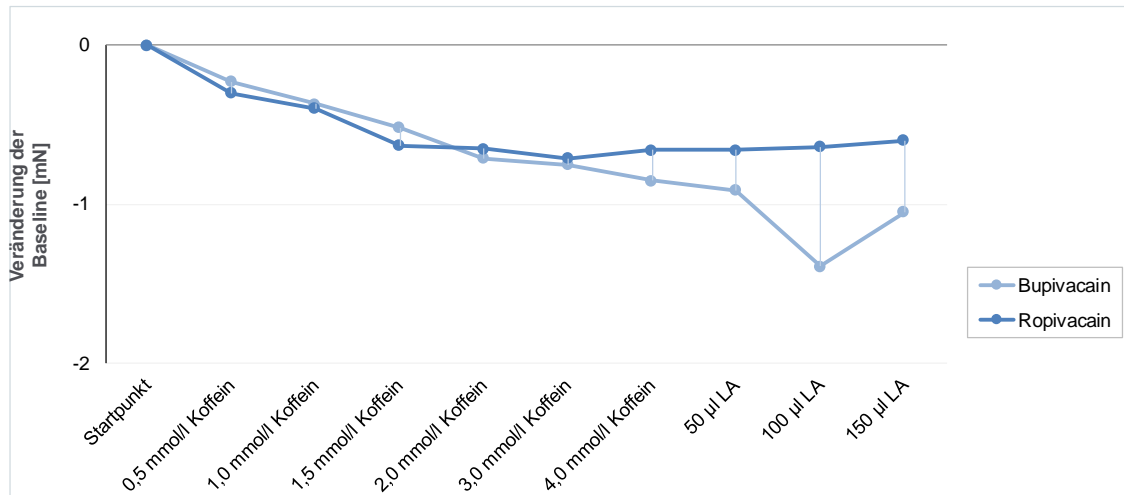
**Abb. 13:** Verlauf der Baseline in der Gruppe Ropivacain, gemessen jeweils zum Wirkzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigten sich signifikante Veränderungen ( $p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt).  $n=26$ , Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

In der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin® kam es nur bei der Konzentration von 32 mmol/l Koffein zu einem signifikanten Anstieg der Baseline auf  $9,4 \pm 6,2$  mN (31%) bezogen auf den Ausgangswert ( $p < 0,05$ ) (Abbildung 14).



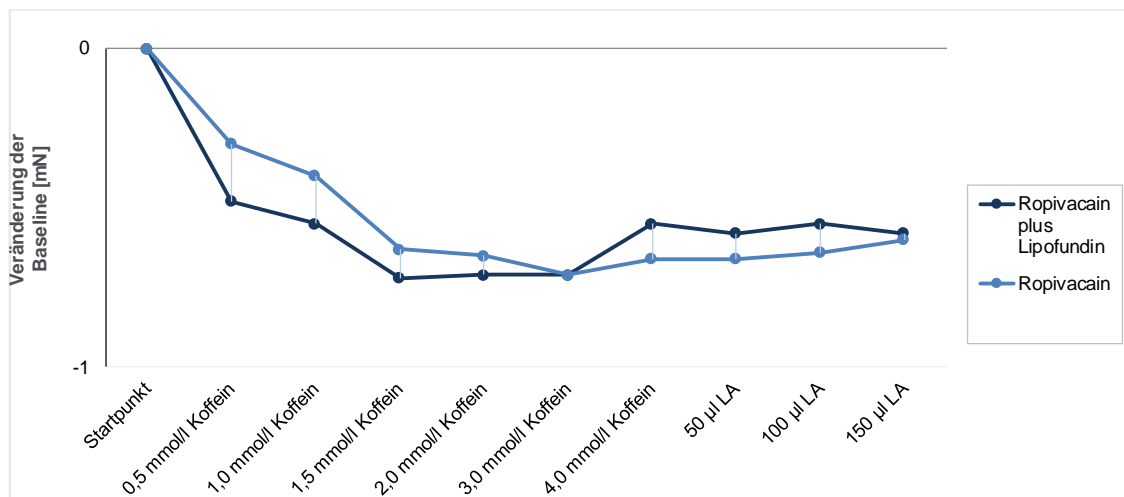
**Abb. 14:** Verlauf der Baseline in der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin, gemessen jeweils zum Wirkzeitpunkt der Substanzen. Statistisch zeigte sich ein signifikanter Anstieg bezogen auf den Startpunkt ( $p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt).  $n=13$ , Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

Der direkte Vergleich der einzelnen Messwerte der Baseline zwischen der Gruppe Bupivacain und Ropivacain ergab keinen signifikanten Unterschied, beide fielen im Verlauf ab. Während der Lokalanästhetikaapplikation zeigte sich jedoch ein deutlicherer Abfall der Ruhespannung in der Gruppe Bupivacain, welcher am Messzeitpunkt von 100 µl Bupivacain besonders ausgeprägt war. Statistisch war dies nicht signifikant ( $p=0,315$ ) (Abbildung 15).



**Abb. 15:** Vergleich der Gruppen Bupivacain und Ropivacain hinsichtlich des Verlaufs der Baseline zu den jeweiligen Messzeitpunkten der verwendeten Substanzen. Bupivacain  $n=7$ , Ropivacain  $n=26$ , Angaben in mN, LA= Lokalanästhetikum. Für Umrechnung der LA in mmol/l siehe Tab. 1.

Im direkten Vergleich der Gruppen Ropivacain und Ropivacain plus Lipofundin® zeigte sich ein vergleichbarer Verlauf bezogen auf die Veränderungen der Ruhespannung. Statistisch ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Messwerten beider Gruppen nachweisen (Abbildung 16).



**Abb. 16:** Vergleich der Gruppen Ropivacain und Ropivacain plus Lipofundin hinsichtlich des Verlaufs der Baseline zu den Messzeitpunkten der verwendeten Substanzen. Ropivacain  $n=26$ , Ropivacain plus Lipofundin  $n=13$ , Angaben in mN, LA = Lokalanästhetikum. Für Umrechnung der LA in mmol/l siehe Tab. 1.



In der direkten Gegenüberstellung der Baselinewerte im Verlauf der Inkubation mit der jeweiligen Dosis der Testsubstanzen in Bezug auf den Beginn des Versuches (Startpunkt) ergaben sich die in Tabelle 4 berechneten Werte. Dargestellt werden die prozentualen Reduktionen innerhalb der untersuchten Gruppen.

Messzeitpunkt	Baseline Bupivacain [%]	Baseline Ropivacain [%]	Baseline Ropivacain plus Lipofundin [%]
50 µl LA	- 3,7 ± 3,4	- 2,3 ± 5,3	- 1,9 ± 6,2
100 µl LA	- 5,6 ± 4,3	- 2,3 ± 6,3	- 1,8 ± 6,9
150 µl LA	- 4,2 ± 4,9	- 2,1 ± 6,7	- 1,9 ± 7,2
<b>Mittelwert</b>	<b>- 4,5 ± 4,2</b>	<b>- 2,2 ± 6,3</b>	<b>- 1,9 ± 6,9</b>

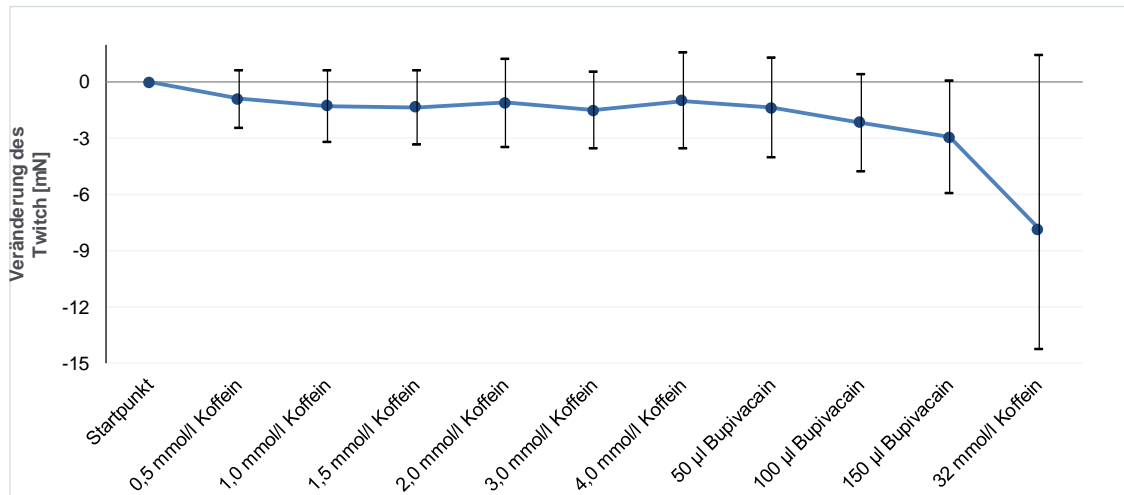
**Tab. 4:** Relative Veränderungen der Baseline im Verlauf der Wirkung der Lokalanästhetika und im Mittel nach Gruppen, getrennt jeweils in Bezug auf den Startpunkt. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in Prozent mit Mittelwert und Standardabweichung, LA= Lokalanästhetikum.

Sowohl im Verlauf der Inkubation mit steigenden Dosierungen als auch im jeweils errechneten Mittelwert zeigte sich innerhalb der Gruppe Bupivacain die größte Abnahme der Baseline, in der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin die geringste.

### 3.3. Twitch im Verlauf

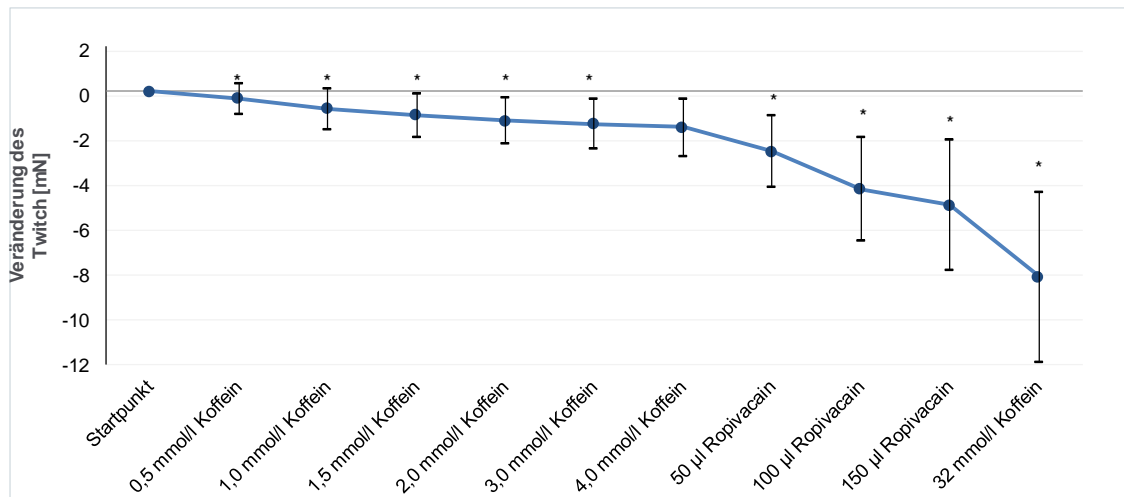
In allen drei Gruppen fiel der Twitch bezogen auf den Startpunkt im Verlauf des Versuches kontinuierlich ab. Während nach Koffeingabe lediglich leichte Abfälle gemessen wurden, fiel nach Lokalanästhetikaapplikation eine deutliche Reduktion auf.

In der Gruppe Bupivacain zeigte sich ein Abfall um  $7,8 \pm 6,4$  mN (76%), der statistisch nicht signifikant war ( $p=0,093$ ) (Abbildung 17).



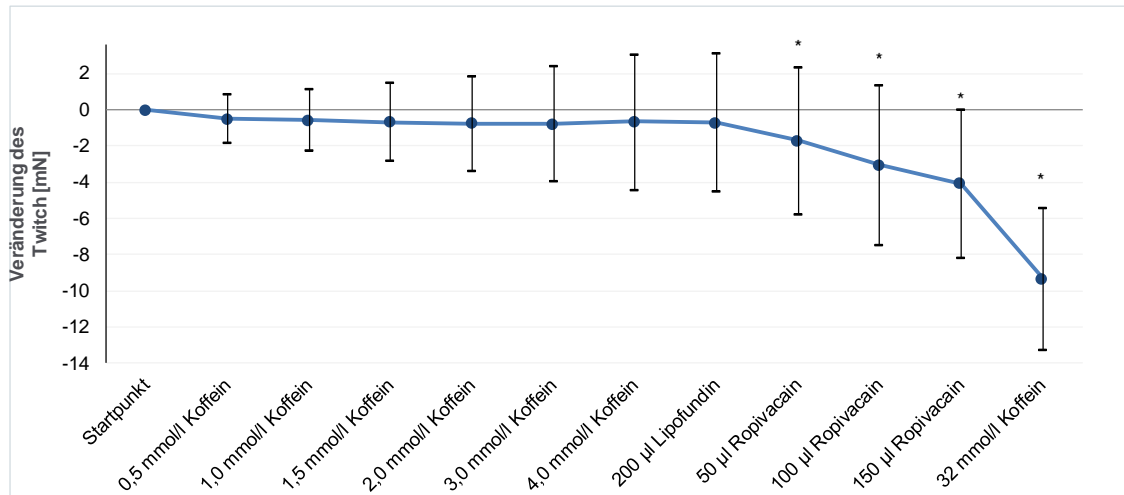
**Abb. 17:** Verlauf des Twitch in der Gruppe Bupivacain zum Messzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigte sich kein signifikanter Abfall bezogen auf den Startpunkt.  $n=7$ , Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

Die Twitchwerte in der Gruppe Ropivacain nahmen im Verlauf signifikant um  $8,3 \pm 3,8$  mN (89%) ( $p < 0,05$ ) ab (Abbildung 18).



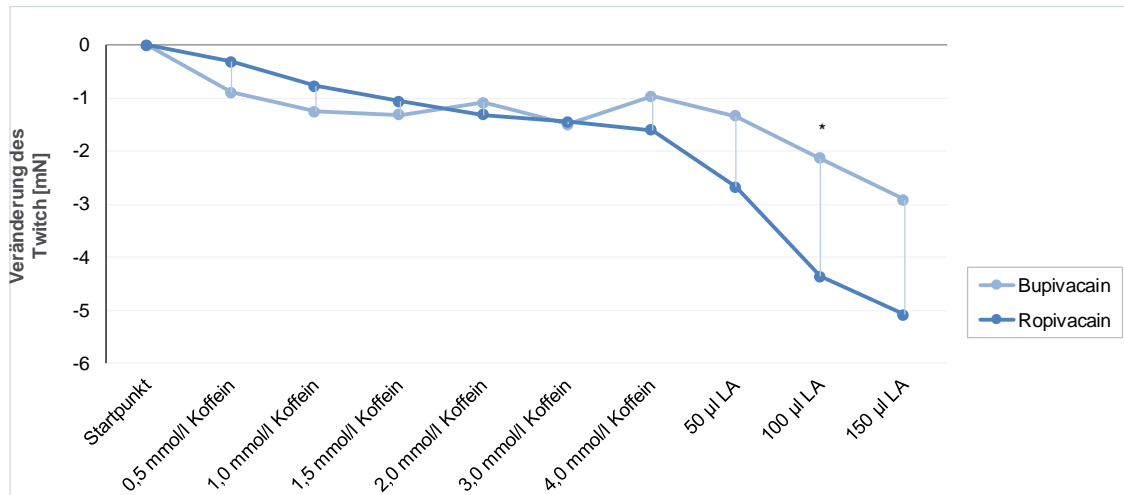
**Abb. 18:** Verlauf des Twitch in der Gruppe Ropivacain zum Messzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigte sich ein signifikanter Abfall bezogen auf den Startpunkt ( $p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt).  $n=26$ , Angaben in mN als Mittelwert und Standardabweichung.

In der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin kam es zu einer Reduktion der Twitchwerte um bis zu  $9,3 \pm 3,9$  mN (89%), welche nach Ropivacain-Inkubation statistisch signifikant waren ( $*p < 0,05$ ) (Abbildung 19).



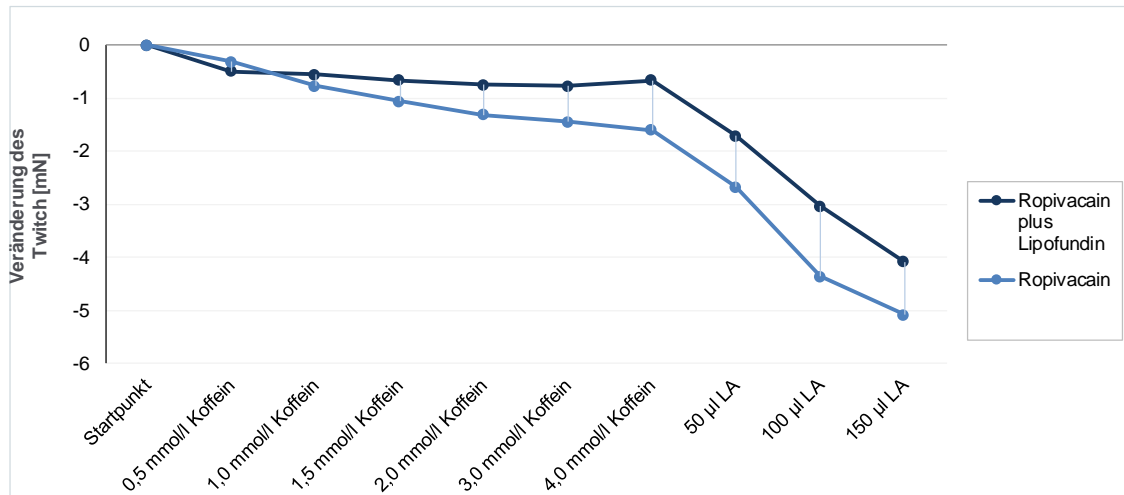
**Abb. 19:** Verlauf des Twitch in der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin zum Messzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigte sich ein signifikanter Abfall bezogen auf den Startpunkt ( $*p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt).  $n=13$ , Angaben in mN als Mittelwert und Standardabweichung.

Vergleichbar den Messungen zur Baseline wurden die Twitchwerte von jeweils zwei Gruppen entsprechend der Fragestellung direkt miteinander verglichen. Der Vergleich der Gruppe Bupivacain mit der Gruppe Ropivacain zeigte in den Amplituden einen ähnlichen zeitlichen Verlauf der Kontraktionen nach der Applikation der verwendeten Substanzen. Die Twitchwerte beider Gruppen nahmen im Versuchsverlauf ab. Ab einer Konzentration von 3,0 mmol/l Koffein zeigte sich ein größerer Abfall in der Gruppe Ropivacain, der statistisch jedoch nur am Messpunkt von 100 µl der verwendeten Lokalanästhetika signifikant war ( $*p < 0,05$ ) (Abbildung 20).



**Abb. 20:** Vergleich der Gruppen Bupivacain und Ropivacain hinsichtlich des Verlaufs der Twitchwerte ( $p < 0,05$  für Unterschiede an den Messzeitpunkten zwischen den untersuchten Gruppen bezogen auf den Startpunkt). Bupivacain  $n=7$ , Ropivacain  $n=26$ , Angaben in mN, LA = Lokalanästhetikum. Für Umrechnung LA in mmol/l siehe Tab. 1.

Im direkten Vergleich der Gruppe Ropivacain mit der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin® bezogen auf die jeweiligen Twitchwerte zeigte sich, dass die Kontraktionsamplituden beider Gruppen während des Versuches abnahmen. Dabei kam es von Beginn an zu einer stärkeren Abnahme der Twitchwerte in der Gruppe Ropivacain. Wurden die Werte jedoch an jedem Messpunkt zwischen den beiden Gruppen verglichen, zeigte sich statistisch kein Unterschied (Abbildung 21).



**Abb. 21:** Vergleich der Gruppen Ropivacain und Ropivacain plus Lipofundin hinsichtlich der Veränderungen der Twitchwerte im Verlauf. Ropivacain plus Lipofundin n=13, Ropivacain n=26, Angaben in mN, LA = Lokalanästhetikum. Für Umrechnung der LA in mmol/l siehe Tab. 1

Entsprechend der Baseline lässt sich die prozentuale Reduktion der Twitchwerte im Verlauf der Inkubation mit der jeweiligen Dosis der Testsubstanzen in Bezug auf den Beginn des Versuches (Startpunkt) berechnen. Tabelle 5 zeigt die unterschiedliche prozentuale Reduktion der Twitchwerte in den untersuchten Gruppen nach Applikation der Testsubstanzen. Im Vergleich weist die Gruppe Ropivacain den höchsten Abfall der Twitchwerte auf.

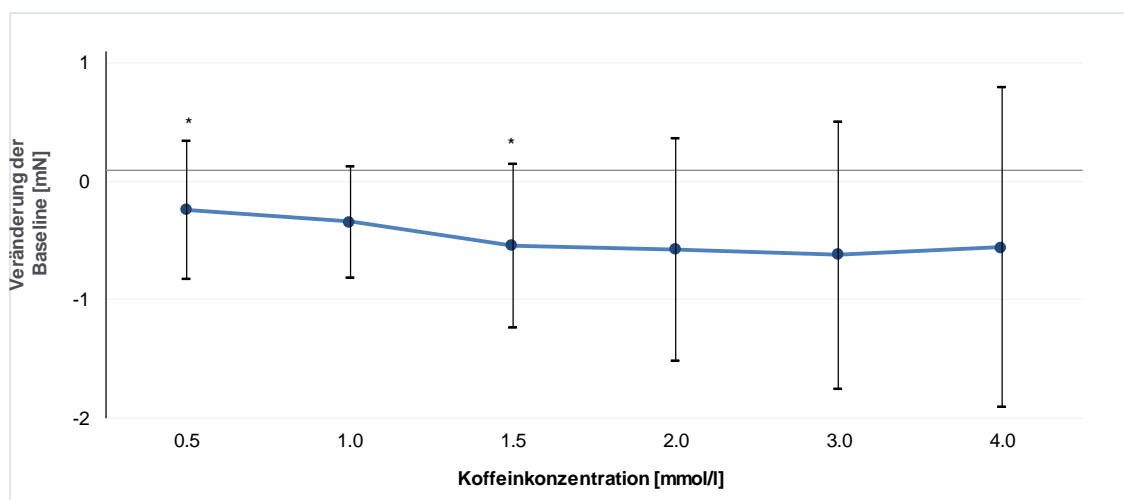
Messzeitpunkt	Twitch Bupivacain [%]	Twitch Ropivacain [%]	Twitch Ropivacain plus Lipofundin [%]
50 µl LA	- 13,0 ± 26,0	- 29,0 ± 17,4	- 16,4 ± 39,4
100 µl LA	- 20,6 ± 25,0	- 47,0 ± 25,0	- 29,2 ± 42,3
150 µl LA	- 28,1 ± 28,9	- 55,0 ± 31,5	- 39,1 ± 39,4
<b>Mittelwert</b>	<b>- 20,5 ± 26,9</b>	<b>- 44,0 ± 25,0</b>	<b>- 21,5 ± 40,4</b>

**Tab. 5:** Relative Veränderungen der Twitchwerte im Verlauf der Wirkung der Lokalanästhetika und im Mittel nach Gruppen, getrennt jeweils in Bezug auf den Startpunkt. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in Prozent mit Mittelwert und Standardabweichung, LA= Lokalanästhetikum.

### 3.4. Koffeinwirkung

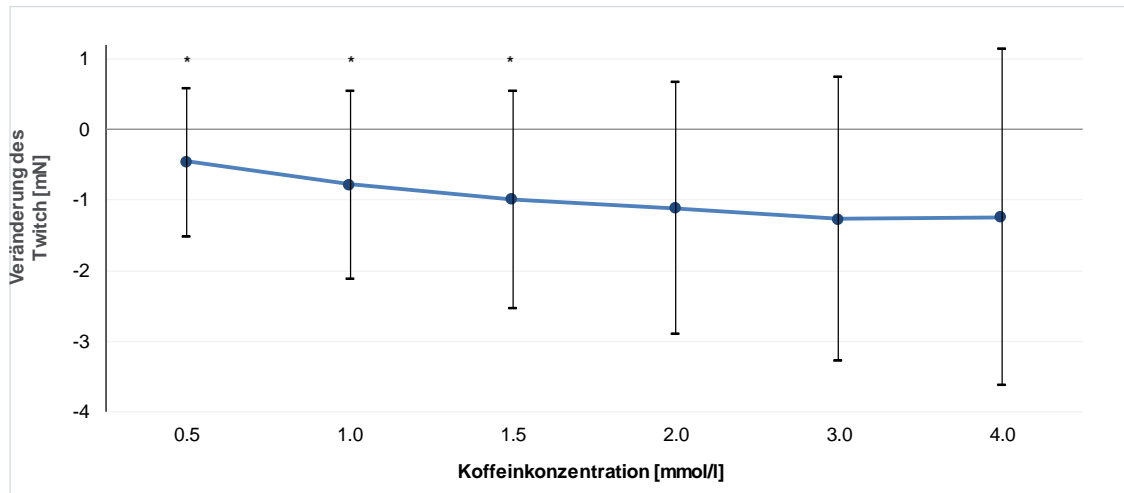
Im Verlauf der ansteigenden Koffeinkonzentrationen fiel die Baseline des Gesamtkollektivs im zeitlichen Mittel um  $0,6 \pm 0,2$  mN (2%). Ein signifikanter Abfall war nur zum Zeitpunkt von 0,5 und 1,5 mmol/l zu beobachten (Abbildung 22).

Bei den folgenden Konzentrationserhöhungen kam es zu keiner messbaren Änderung.



**Abb. 22:** Veränderungen der Baseline in allen drei Gruppen im Verlauf der steigenden Koffeinkonzentration. Statistisch zeigte sich eine signifikante Reduktion der Baseline bezogen auf den Ausgangswert (\* $p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten).  $n=46$ , Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

Analog dazu fielen unter ansteigenden Koffeinkonzentrationen die Kontraktionsamplituden im zeitlichen Mittel um  $1,0 \pm 0,3$  mN (10%) ab. Hier war ein signifikanter Abfall zum Zeitpunkt von 0,5, 1,0 und 1,5 mmol/l Koffein zu beobachten, ab 2,0 mmol/l Koffein kam es zu keiner weiteren Veränderung.



**Abb. 23:** Veränderungen des Twitch in allen drei Gruppen im Verlauf der steigenden Koffeinkonzentration. Statistisch zeigte sich eine signifikante Reduktion der Baseline bezogen auf den Ausgangswert ( $\hat{p} < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten).  $n=46$ , Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

Tabelle 6 vergleicht die absoluten und relativen Veränderungen während der steigenden Koffeindosen. Der signifikante Abfall der Messwerte von Baseline und Twitch war gefolgt von einem stabilen Zustand, in dem eine weitere Konzentrationserhöhung des Koffeins keinen Effekt hatte.

Messzeitpunkt	Baseline Koffein [mN]	Baseline Koffein [%]	Twitch Koffein [mN]	Twitch Koffein [%]
0,5 mmol/l Koffein	- 0,3* ± 0,6	- 1,2 ± 2,1	- 0,5* ± 1,0	- 4,7 ± 10,8
1,0 mmol/l Koffein	- 0,4 ± 0,5	- 1,5 ± 1,8	- 0,8* ± 1,3	- 8,0 ± 13,7
1,5 mmol/l Koffein	- 0,6* ± 0,7	- 2,2 ± 2,5	- 1,0* ± 1,5	- 10,2 ± 15,8
2,0 mmol/l Koffein	- 0,7 ± 0,9	- 2,4 ± 3,2	- 1,1 ± 1,8	- 11,4 ± 18,4
3,0 mmol/l Koffein	- 0,7 ± 1,1	- 2,5 ± 3,9	- 1,3 ± 2,0	- 13,0 ± 20,7
4,0 mmol/l Koffein	- 0,7 ± 1,4	- 2,3 ± 4,9	- 1,2 ± 2,4	- 12,7 ± 24,5
<b>Mittelwert</b>	<b>- 0,6 ± 0,2</b>	<b>- 2,0 ± 3,2</b>	<b>- 1,0 ± 0,3</b>	<b>- 10,0 ± 17,4</b>

**Tab. 6:** Absolute und relative Veränderungen der Baseline und Twitch aller Muskelbündel im Verlauf der Wirkung der Koffeinkonzentrationen und im Mittel jeweils in Bezug auf den Startpunkt ( $\hat{p} < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten).  $n=46$ , Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung und Prozent.

## 4. Diskussion

Der klinische Einsatz von Regional- und Lokalanästhesien hat in den letzten Jahren stetig zugenommen. In vielen Fällen lösen diese eine Allgemeinanästhesie nicht nur ab, sondern werden vermehrt auch mit dieser in Kombination angewandt. Im Laufe der letzten Jahrzehnte wurden neue Lokalanästhetika entwickelt und vorhandene intensiv hinsichtlich der Wirkmechanismen, Interaktionen und Nebenwirkungen erforscht.

Gerade die am häufigsten verwendeten und langwirksamen Lokalanästhetika, wie Bupivacain und das im Vergleich neuere Ropivacain, mit ihrer hohen Plasmaproteinbindung und Lipophilie zählen zu den Substanzen, die intensiver Forschung unterliegen [29, 46]. Neben allergischen Reaktionen sind vor allem toxische Effekte relevante Nebenwirkungen der Lokalanästhetika.

Lange Zeit war die prolongierte kardiopulmonale Reanimation die einzige wirkungsvolle Therapieoption bei einer akzidentiellen Lokalanästhetika-überdosierung.

Ein Meilenstein in der Therapie der Lokalanästhetikaintoxikation ergab sich durch erste Hinweise eines protektiven Effektes der intravenösen Applikation von Lipidemulsionen, der dadurch ein völlig neues therapeutisches Konzept eröffnete.

Vergleichbar mit dem Grundsatz bei der kardiopulmonalen Reanimation „nobody is dead, until he is warm and dead“ untermauert die Aussage „the poisoned patients cannot be considered dead, until they’re lipemic and dead“ den hohen Stellenwert von Lipiden im Rahmen eines Lokalanästhetika-induzierten Herzkreislaufstillstandes [47].

Ziel dieser Arbeit war es, die beiden Substanzen Bupivacain und Ropivacain hinsichtlich einer negativ-inotropen Wirkung an humanem Myokardgewebe zu vergleichen sowie einen möglichen Effekt durch vorherige Inkubation mit Lipofundin® zu evaluieren.

Mehrere Studien beschreiben eine Inotropie-steigernde Wirkung von Koffein, sodass in der vorliegenden Untersuchung die repetitive Koffeinapplikation zur



Steigerung der Inotropie der analysierten humanen kardialen Muskulatur eingesetzt wurde.

Hierzu wurden insgesamt 46 Muskelbündel, verteilt auf drei Gruppen, im Organbad untersucht und dabei sowohl die Ruhespannung (Baseline) des Muskels als auch die Kontraktionsamplitude bei elektrischer Reizung (Twitch) erfasst.

Mit einem Mikromanipulator wurden die Muskelbündel zu Beginn des Versuches vorgedehnt, was zu einer Kraftentwicklung im Sinne des Frank-Starling-Mechanismus führt. Die Vordehnung führt zu einem optimalen Überlappungsbereich der kontraktilen Filamente und reduziert den elastischen Anteil der Muskelzelle zugunsten des aktiv-kontraktilen Anteils. Somit kommt es durch die Zunahme der Scherungssensitivität zu einem höheren Ruhekalziumeinstrom und damit einer gesteigerten Kalziumsensitivität der Kanäle. Zusammen führt dies zu einem erhöhten Anteil des zur Verfügung stehenden Kalziums und damit optimierten Voraussetzungen für einen in-vitro-Versuch.

Jedes kardiale Muskelbündel wurde initial mit Koffein und anschließend in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit mit den Lokalanästhetika Bupivacain oder Ropivacain beziehungsweise Ropivacain plus Lipofundin inkubiert.

Um die Veränderung durch die Testsubstanzen zu evaluieren, wurden die statistischen Berechnungen nicht mit den absoluten Messwerten, sondern mit der jeweiligen Änderung der absoluten Werte bezogen auf den Versuchsbeginn (Startpunkt) durchgeführt. Das Inkubationsintervall wurde auf drei Minuten festgelegt.

Bei Versuchsbeginn wurden das Gewicht und die Länge der Muskelbündel erhoben. So konnten statistisch relevante Unterschiede zwischen den Gruppen ausgeschlossen werden.

Zudem bestätigte der signifikante Nachweis einer Kontraktorentwicklung in allen Gruppen nach Applikation von 32 mmol/l Koffein die muskuläre Vitalität und belegte damit, dass die Muskelbündel während des Versuchsablaufs die Fähigkeit hatten, auf die Testsubstanzen zu reagieren.

Direkte Einflüsse auf die Kontraktionen der einzelnen Muskelbündel wurden anhand der Veränderungen der Twitchwerte untersucht.

Um Unterschiede im Kontraktionsverlust genauer darstellen zu können, wurden jeweils zwei Gruppen miteinander verglichen.

In direkten Vergleichen konnten keine statistischen Unterschiede zwischen Bupivacain und Ropivacain nachgewiesen werden.

Analog dazu ließ sich darstellen, dass die Baseline und der Twitch bei Ropivacain nach Präinkubation mit Lipofundin® weniger abnahmen als in der Vergleichsgruppe ohne Lipofundin®.

Koffein führte in diesem Versuch initial bei niedrigen Konzentrationen bis 2 mmol/l zu einer minimalen, wenn auch signifikanten Abnahme sowohl der Baseline als auch des Twiches. Eine weitere Konzentrationserhöhung führte zu keiner Änderung.

#### 4.1. Bupivacain versus Ropivacain

In früheren Studien konnte eine erhöhte Toxizität von Bupivacain im direkten Vergleich zu Ropivacain nachgewiesen werden [48–50]. Angefangen von zentralnervösen Störungen mit leichter Müdigkeit, Tinnitus und/oder Geschmacksstörungen können kardiovaskuläre Reaktionen, wie Bradykardien, ventrikuläre Arrhythmien bis hin zu einem therapierefraktären Herzkreislaufstillstand, induziert werden [51]. Im Vergleich zu Bupivacain treten systemisch-toxische Effekte bei Ropivacain erst bei deutlich höheren Kumulativdosen auf. Während Bupivacain sowohl zu einer systolischen und diastolischen Ventrikelfunktionseinschränkung führt, bewirkt Ropivacain überwiegend eine systolische Depression [52, 53].

Die differenzierten Nebenwirkungsprofile der beiden Substanzen können durch die Unterschiede in der chemischen Struktur, der Bindungsaffinität zu Natrium-, Kalium- und Kalziumkanälen und der unterschiedlichen Lipophilie, erklärt werden. Während Bupivacain als Racemat mit (S-) und (R+) Verwendung findet, wird Ropivacain als reines (S-) Enantiomer eingesetzt; es besitzt somit eine größere therapeutische Breite bei geringer Nebenwirkungsrate [51, 54].

In der vorliegenden Arbeit wurden die klinisch gebräuchlichen Substanzen Bupivacain und Ropivacain verwendet. In Anlehnung an bereits durchgeführte Medikamentenversuche wurden Dosierungen eingesetzt, die auf das Gewicht der Herzohren bezogen über den empfohlenen absoluten Höchstdosen beim Menschen liegen würden, um einerseits möglichst realistische Intoxikationsbedingungen zu schaffen und um andererseits in der kurzen Versuchszeit eine Tendenz erkennen zu können.

Lokalanästhetika induzieren eine Blockade der spannungsgesteuerten Natriumkanäle und bei höheren Dosen auch der Kalium- und Kalziumkanäle. Bupivacain besitzt eine höhere Affinität zu diesen Kanälen als Ropivacain und implementiert bereits bei niedrigeren Dosen eine schnell einsetzende und langanhaltende Reizleitungsblockade am Herzen im Sinne eines „fast-in; slow-out“-Prinzips. Bei Ropivacain konnte das „fast-in; intermediate-out“-Prinzip nachgewiesen werden, welches eine unmittelbare Blockade der Kanäle induziert, jedoch durch eine beschleunigte Freigabe eine deutlich kürzere Blockade der Signaltransduktion bewirkt [55].

Die erhöhte Lipophilie von Bupivacain bedingt eine Reduktion der myokardialen Energieproduktion durch direkte Hemmung der oxidativen Phosphorylierung im Rahmen der Atmungskette [56]. Diese pharmakologische Eigenschaft ist ursächlich für die erhöhte Kardiotoxizität von Bupivacain im Vergleich zu Ropivacain. Verstärkt wird dieser Effekt durch eine Gewebhypoxie, wie sie beispielsweise bei einem Herzkreislaufstillstand auftritt. Durch den eingeschränkten enzymatischen Abbau von Bupivacain in der Leber, bedingt durch die fehlende Bereitstellung energiereicher Adenosintriphosphate der Atmungskette, kommt es zu einer kontinuierlichen Akkumulation des Wirkstoffes und einer prolongierten toxischen Wirkung.

Um einem möglichen hypoxischen Einfluss und damit einer Wirkpotenzierung der Lokalanästhetika vorzubeugen, wurde in der vorliegenden Untersuchung kontinuierlich Carbogen in das Organbad insuffliert. In der Literatur fehlen jedoch konkrete Angaben zur Höhe der absoluten Carbogenbegasung bei Kardiomyozyten. Somit könnte der tatsächliche Sauerstoffbedarf höher gelegen

haben, was einen Kumulationseffekt der Lokalanästhetika bei hypoxischer Stoffwechsellage nicht völlig ausschließt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten keine eindeutig erhöhte negativ inotrope Wirkung von Bupivacain im Vergleich zu Ropivacain belegen. Jedoch zeigte sich in der Gruppe Bupivacain ein stärkerer Abfall der Baseline bei geringerem Abfall der Twitchwerte als unter Einwirkung von Ropivacain.

In diesem Kontext kann die Reduktion der Twitchwerte als ein Zeichen von Muskelzelluntergang interpretiert werden, der in der Ropivacain-Gruppe deutlicher ausgeprägt zu sein scheint als nach Bupivacain-Inkubation. Parallel zeigte sich ein Abfall der Grundspannung (Baseline) in der Bupivacain-Gruppe, während diese unter der Einwirkung von Ropivacain stabil blieb. Als mögliche Erklärung könnten diese Effekte durch einen zellulären ATP-Mangel bedingt sein, welcher zu einer mangelnden  $\text{Ca}^{2+}$ -Rückresorption in das sarkoplasmatische Retikulum und damit zu einer Änderung der Ruhespannung geführt haben. Obwohl in diesen Versuchen die in vergleichbaren Experimenten ermittelte optimale Konzentration von  $\text{Ca}^{2+}$  und eine Temperatur von  $36,5^{\circ}\text{C}$  gewählt wurde, lässt sich dieser Mechanismus hier nicht völlig ausschließen.

Auch könnte der Abfall der Ruhespannung im Sinne der beschriebenen diastolischen Depression von Bupivacain gedeutet werden und die belegte erhöhte kardiodepressive Wirkung von Bupivacain unterstreichen.

Weiterhin könnte bereits eine Vorschädigung des Vorhofmyokards vorliegen, da die Herzohren im Rahmen kardiochirurgischer Operationen von Klappenvitien entnommen wurden, welche eine lang vorliegende Druck- oder Volumenbelastung und -schädigung des Vorhofmyokards verursachen können. Wichtig zu erwähnen ist aber auch die geringe Fallzahl in der Gruppe Bupivacain im Vergleich zur Gruppe Ropivacain, welche ein Bias erzeugt haben könnte. Der numeric-impact dieses Größenunterschiedes konnte durch die Kohortenhomogenitätstests angesichts niedriger Einzelgruppengrößen nicht quantifiziert werden.

## 4.2. Ropivacain und Lipofundin

Obwohl die toxische Potenz von Ropivacain im Vergleich zu Bupivacain schwächer ausgeprägt ist, bleibt dennoch das Risiko fulminanter Nebenwirkungen mit Schädigung des Patienten oder im schlimmsten Fall sogar mit einem potentiell letalen Ausgang bei versehentlicher Überdosierung oder intravasaler Injektion im Rahmen einer Regionalanästhesie bestehen.

Um eine Gefährdung des Patienten zu vermeiden, müssen bei jeder Anästhesie mit Lokalanästhetika Frühsymptome einer Intoxikation richtig interpretiert sowie an die Möglichkeit der Intoxikation gedacht und mögliche Therapieoptionen zeitnah eingeleitet werden.

Ende der neunziger Jahre wurden erste tierexperimentelle Daten publiziert, die eine Reduktion der toxischen Effekte mit schnellerer Wiederherstellung der Herz-Kreislauf-Funktion und besserem primärem Outcome nach Reanimation durch eine Lipidbehandlung belegten [37, 57]. Neuere Untersuchungen zeigen eine Reduktion der Kardiotoxizität der Lokalanästhetika an Kardiomyozyten von Säugetieren [61].

In ersten Kasuistiken führte eine Lipidvorbehandlung zu einer Reduktion von Herzrhythmusstörungen und eine Asystolie trat erst bei deutlich höheren Lokalanästhetikadosierungen auf als ohne Lipidbehandlung [58]. Ähnliches belegen klinische Fallberichte der letzten Jahre, in denen eine versehentliche intravasale Infusion der Lokalanästhetika nach Periduralkatheter-Anlage zu einer Intoxikation mit therapierefraktärer zerebraler Exzitation und kardialen Rhythmusstörungen führte. Daraufhin wurden Lipidemulsionen sowohl frühzeitig bei neuro- oder kardiotoxischen Reaktionen als auch additiv im Rahmen einer Reanimation erfolgreich angewandt [58–60].

Diese Ergebnisse führten dazu, dass der Arbeitskreis Regionalanästhesie der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin in Anlehnung an die Empfehlungen der Association of Anaesthetists of Great Britain und Ireland die Lipidgabe als Empfehlung zur Therapie einer Lokalanästhetikaintoxikation miteinschloss.

Neben dem Versuch einer sofortigen Elimination der Substanz sowie der symptomorientierten Therapie der Nebenwirkungen wird die Durchführung einer leitliniengerechten kardiopulmonalen Reanimation bei Kreislaufstillständen hervorgehoben. Erst bei insuffizienter Wirkung dieser Maßnahmen sollte eine zusätzliche Lipidgabe erwogen werden.

Der genaue Wirkmechanismus der LipidRescue™-Therapie ist allerdings bislang noch nicht vollständig geklärt [62].

Einerseits wird eine Aufnahme der Lokalanästhetika in die Lipidphase postuliert, was durch die rasche Abnahme der Plasmakonzentration des Lokalanästhetikums nach Lipidgabe belegt werden könnte. Andererseits induzieren die Fettsäuren eine durch Lokalanästhetika zuvor blockierte Fettsäureoxidation in den Mitochondrien und führen zu einer Reaktivierung der zellulären Energiereserven. Neuere Studien gehen von der Synergie beider Wirktheorien aus [63].

Bislang wurden Lipidlösungen überwiegend für die parenterale Ernährung eingesetzt. Die von den Herstellern angegebenen Maximaldosierungen für eine parenterale Ernährung liegen deutlich unter den Konzentrationen, wie sie zur Behandlung einer Lokalanästhetikaintoxikation empfohlen werden. Folglich könnte das Risiko von kumulativen Nebenwirkungen um ein Vielfaches erhöht sein.

Verglichen mit der vom Hersteller zugelassenen Höchstdosis von Lipofundin® 20% von 0,15 mg/kg/h und der nach den Empfehlungen des Behandlungsalgorithmus einer LipidRescue™ - Therapie in diesem Versuch verursachten Überdosierung, kann eine vorzeitige kardiale Reaktion allein durch die Überschreitung der Maximaldosierung von Lipiden provoziert worden sein. Somit könnte hier ein möglicher Effekt der untersuchten Lokalanästhetika maskiert sein.

Neben Übelkeit und Erbrechen, Schwindel, diffusen Knochenschmerzen, allergischen Reaktionen, Dyspnoe, Hyperkoagulabilität mit Thrombophlebitiden, Hypo-/Hypertonien oder Hyperthermien wurde in einzelnen Fällen auch von generalisierten Krampfanfällen berichtet [64–66].

Über das Nebenwirkungsprofil von Lipiden an humanen Zellen kann anhand des in der vorliegenden Arbeit gewählten Versuchsaufbaus keine Aussage getroffen werden.

Ebenfalls scheint die Wirkung der Fettsäuren durch Faktoren wie Patientenalter, Komorbiditäten und regelmäßige Medikation beeinflusst zu werden [39, 58].

Weiterhin gibt es Hinweise, dass eine respiratorische Insuffizienz mit Hypoxie und damit einhergehender Azidose zu einer reduzierten Affinität der Lokalanästhetika zu den Lipidemulsionen im Rahmen der „Lipid-sink-Theorie“ führt [44]. Ebenfalls reduziert sich die Bindungsfähigkeit der Lokalanästhetika im azidotischen Milieu und bedingt dadurch eine höhere Konzentration von protonierten, toxischen Metaboliten im Organsystem [39]. Relevant ist diese pathophysiologische Veränderung bei hypoxischen Reanimationszuständen. Tierversuche an Schweinen belegten, dass bei einer Lokalanästhetikaintoxikation mit induzierter Hypoxie die kombinierte Behandlung mit Adrenalin und Vasopressin zu einer Lipidemulsion signifikant überlegen ist [67]. Andere Autoren gehen sogar soweit und sehen einen hypoxisch bedingten Herzkreislaufstillstand als mögliche Kontraindikation für eine Lipidbehandlung an [68]. Diese Einschätzung wird auch durch Ergebnisse gestützt, die nachweisen, dass hochdosierte Adrenalingaben beispielsweise bei Reanimationen in Kombination mit Lipiden zu einem schlechteren Outcome bei Wiederkehr des Spontankreislaufes führten [69].

Um hypoxisch bedingte Effekte zu minimieren, wurden in der vorliegenden Arbeit die Muskelbündel kontinuierlich mit Carbogengas oxygeniert. Dennoch lässt sich eine latent hypoxische Stoffwechsellage der einzelnen Zellen nicht mit letzter Sicherheit ausschließen, die das mangelnde Ansprechen der Lipidvorbehandlung erklären könnte.

Anamnese und Krankheitsvorgeschichte des Patienten sind zugunsten einer qualitativen Gewinnung von humanem Gewebe hier vernachlässigt. Mögliche Bias durch chronische Krankheiten, die bereits im Vorfeld der experimentellen Untersuchung zu Schäden an den Herzmuskelzellen führten, könnten die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit im Vorfeld beeinflusst haben. Somit können

präinterventionelle Schädigungen, die sich kaum eingrenzen lassen, ebenfalls die Ergebnisse beeinflusst haben.

Da bis heute der exakte Wirkmechanismus von Lipidemulsionen noch nicht vollständig geklärt ist, können auch weitere lipophile Substanzen aus der Vormedikation des Patienten kompetitiv wirken und damit den Effekt der applizierten Lipidlösungen abschwächen.

Die vorliegenden Ergebnisse implementieren differenzierte Überlegungen und verlangen nach weiteren Studien zur genauen Vorgehensweise bezüglich Indikation und Kontraindikation bei begründetem Verdacht auf eine Überdosierung mit Lokalanästhetika.

In dieser Arbeit konnte kein eindeutiger Beleg für die Wirkung von Lipiden bei hohen Ropivacainkonzentrationen gefunden werden. Eine Tendenz lässt sich dennoch beschreiben. Wird der Zeitraum der Ropivacainwirkung in beiden Gruppen einzeln betrachtet, zeigt sich eine unterschiedliche Reaktion ab einer Gabe von 50 µl. Die prozentuale Berechnung ergab hier unter Ropivacainwirkung einen Twitchabfall von 44,0% während die Muskelkontraktion nach Präinkubation mit Lipofundin® nur um 21,5% abfiel.

Ebenfalls gibt es Hinweise auf eine Beeinflussung der Ruhespannung durch Lipofundin®. Diese stieg ab der Zugabe der Lipide im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Lipidbehandlung leicht an. Allerdings waren all diese Veränderungen statistisch nicht signifikant. Somit ließ sich im folgenden Versuchsverlauf kein weiterer additiver Effekt der Lipide messen und kein nachweisbarer Unterschied zwischen der Gruppe mit und ohne Lipide belegen. Dieses Ergebnis wird trotz positiver Daten und Fallberichte auch in der Literatur gestützt. So wurde schon in anderen Versuchen die Effektivität von Lipidlösungen bei Ropivacain sowohl am Tier als auch am Menschen infrage gestellt [80–82].

Diese Ineffektivität kann mehrere Ursachen haben. Genaue Dosen, welche eine toxische Wirkung der Lokalanästhetika aufheben, konnten bislang nicht exakt evaluiert werden [83, 84]. Auch liegen vermehrt Hinweise vor, dass es durch die unterschiedlich ausgeprägte Lipophilie der einzelnen Lokalanästhetika zu einer reduzierten Wirkung von Lipidinfusionen bei der Therapie von Herzstillständen



kommt [85]. Weitere Publikationen zeigen sogar, dass die beschriebene „Lipid-sink-Theorie“ nur im Rahmen von Bupivacain-induzierter Kardiotoxizität und nicht bei Ropivacain relevant ist [85].

Analog zum Vergleich von Bupivacain und Ropivacain könnte aber auch hier die unterschiedliche Gruppengröße einen Einfluss auf die Mittelwerte bewirkt haben, sodass Veränderungen nach der Lipidgabe aufgrund der geringen Fallzahl nicht zum Tragen kamen.

Letztendlich sollte auch die Möglichkeit eines Publikationsbias erwogen werden. Während tierexperimentelle Studien eine sehr gute Wirksamkeit von Lipiden im Rahmen der Antidottherapie belegen, wurden bisher nur einzelne Fallberichte und Fallreihen von Patienten nach erfolgreicher Lipidbehandlung bei einer Lokalanästhetikaintoxikation publiziert. Frustrane Verläufe mit letalem Outcome könnten der Veröffentlichung entgangen sein und eine Verzerrung hinsichtlich der Effektivität von Lipidbehandlungen bewirken.

#### 4.3. Koffein

Anhand der Gruppenvergleiche konnte gezeigt werden, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nach Koffeingaben gab, welche die weiteren Effekte der zu untersuchenden Testsubstanzen hätten beeinflussen können.

Da zu Beginn des Versuches alle Muskelbündel identischen Bedingungen unterlagen, konnte die Koffeinwirkung im gesamten Kollektiv näher betrachtet werden. Die Unterscheidung in drei Gruppen erfolgte erst durch die Zugabe der unterschiedlichen Testsubstanzen nach Inkubation mit Koffein.

Koffein als Alkaloid gehört zur Stoffgruppe der Xanthine und liegt als geruchloses, kristallines Pulver vor. Aufgrund seiner stimulierenden Eigenschaften wird es nicht nur in Genussmitteln verwendet, sondern auch additiv im Rahmen von medikamentösen Therapien bei Schmerzmedikationen oder auch respiratorischen Insuffizienzen.

Darüber hinaus kann Koffein den myokardialen und skelettmuskulären Metabolismus beeinflussen. Bereits 1961 konnte ein aktivierender Effekt von

Koffein auf die Muskulatur von Fröschen nachgewiesen werden. Ferner vermutete man, dass höhere Dosen von Koffein die von Lokalanästhetika verursachte Abnahme der myokardialen Kontraktilität verringern können. [70]. Zwanzig Jahre später gelang es, den Wirkmechanismus von Koffein in Muskelzellen zu identifizieren [71]. Koffein führt zu einer Freisetzung von Kalzium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum und damit zu einer Inotropiesteigerung des Myokards. Dieser Wirkeffekt scheint konzentrationsabhängig zu sein. Während geringe Dosen zu einer Kalzium-induzierten Kalziumfreisetzung (CICR) vom Extra- in den Intrazellularraum führen, beeinflussen höhere Dosierungen direkt den kardialen Ryanodinrezeptor (RYR2) [72, 87]. Der genaue molekulare Mechanismus am Rezeptor ist aber bislang nicht vollständig geklärt [90].

Dieser Kalziumionenkanal induziert eine direkte Freisetzung von Kalziumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytosol. Aufgrund dieser Eigenschaft wird Koffein in hohen Dosen bei in-vitro-Experimenten an einzelnen Zellen verwendet. Ab Konzentrationen von 10 mmol/l und höher wird zudem der Kalzium-Reuptake in das sarkoplasmatische Retikulum abgeschwächt, was in diesem Versuch die finale Kontraktur erklärt [88].

Als Nebenbefund im Rahmen der Datenanalyse zeigte sich in dieser Arbeit konzentrationsabhängig ein Abfall der Kontraktionskraft und der Grundspannung nach ansteigender Koffeininkubation. Ab einer Konzentration von 2 mmol/l zeigte sich keine signifikante Änderung mehr.

In der Literatur wird beschrieben, dass die Wirkung von Koffein auf drei Mechanismen beruht. Während schon minimale Konzentrationen die Adenosinrezeptoren blockieren, wird eine 50%ige Hemmung von Phosphodiesterasen und damit ein Anstieg von cAMP erst ab Konzentrationen von etwa 0,7 mmol/l erreicht. Eine 50%ige Freisetzung des intrazellulären Kalziums wird sogar erst ab Konzentrationen von 3 mmol/l getriggert [89].

Im Vergleich zu in-vivo-Muskelfasern könnte hier eine Erklärung für den initial leichten Abfall der Grundspannung und der Kontraktion liegen. Adenosin führt nachweislich zu einer negativ inotropen Wirkung am Myokard, sodass eine unzureichende Blockade dieser Rezeptoren bei noch nicht suffizient einsetzender Wirkung der Phosphodiesterasehemmung und Freisetzung des

Kalziums durch den kardialen Ryanodinrezeptor primär zu diesem leichten Abfall führte. Dies würde auch die Einstellung eines Gleichgewichtes bei 2 mmol/l erklären.

Der durch das Aktionspotential ausgelöste Kalziumeinstrom ins Cytosol findet in den Zellen quergestreifter Muskulatur fast ausschließlich aus dem sarkoplasmatischen Retikulum statt. In der Myokardzelle hingegen erfolgt der Kalziumeinstrom aus dem Extrazellulärraum. Deshalb wurde in dieser Versuchsanordnung auf eine optimale physiologische Kalziumkonzentration von 2,5 mmol/l der extrazellulären Flüssigkeit besonders geachtet.

Bei präparierten Muskelbündeln kann eine physikalische Schädigung im Vergleich zu in-vivo-Bedingungen zu nicht vorhersehbaren Abweichungen der beschriebenen Koffeinwirkung führen, da die exakte an der Muskelzelle wirkende Konzentration variabel sein könnte. Hohe myoplasmatische Kalziumspiegel resultieren in einer Dauerkontraktion der Muskulatur, die nur durch ausreichend vorhandene energiehaltige Adenosinriphosphate gelöst werden kann [73].

Hypoxische Situationen bedingen eine unzureichende Energiebereitstellung und damit die Möglichkeit einer Kontraktur mit nachfolgender Schädigung der Myozyten.

Kaum vermeidbare perioperative Läsionen im Rahmen der Materialgewinnung oder die in-vitro-Bedingungen an sich könnten auch hier Einfluss auf die Vitalität der Myozyten gehabt haben. Ebenfalls könnte in Kombination mit der Muskeler schöpfung und der starken Aktivierung des Ryanodinrezeptors eine überschießende Kalziumfreisetzung erfolgt sein, die zu einer weiteren Schädigung des Muskelgewebes beitrug.

#### 4.4. Schlussfolgerung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die in-vitro-Wirkungen von Lipidemulsionen und Lokalanästhetika an humanen Herzmuskelzellen untersucht. Zudem erfolgte eine genauere Beschreibung der Koffeinwirkung an kardialen Myozyten.

Die eingeschränkte Übertragbarkeit von in-vitro gewonnenen Daten auf in-vivo bleibt aber auch hier bestehen. Trotzdem bietet der vorliegende Versuchsablauf

eine sehr gute Möglichkeit pharmakologische Effekte ohne periphere Einflüsse, wie z.B. eine regelmäßige Medikation des Patienten, zu untersuchen.

Bislang wurden überwiegend positive Ergebnisse und Berichte zur Verwendung von Lipidemulsionen publiziert. Einige neuere Studien widerlegen aber die positiven Aussagen zur Verwendung von Lipidemulsionen, indem sie lediglich eine bessere Gewebeverteilung und damit eine Verkürzung der Halbwertszeit der Lokalanästhetika nachweisen, jedoch keine Reduktion der absoluten Plasmakonzentration [74, 75].

Einzelne Studien belegen erste positive Ergebnisse einer Lipidtherapie bei Intoxikationen mit lipophilen Medikamenten wie Verapamil, Glyphosaten, trizyklischen Antidepressiva oder lipophilen Drogen [76–78].

Die Ergebnisse dieser in-vitro-Studie zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen der myokardialen Hemmung durch Ropivacain mit und ohne Zugabe von Lipiden und können daher keine pathobiochemische Erklärung der klinisch (in-vivo) beobachteten und beschriebenen erfolgreichen Lipidtherapie der Intoxikation mit Bupivacain oder Ropivacain liefern.

Daher sind weitere Untersuchungen nötig, um die genauen Zusammenhänge und Wirkweisen von Lipidemulsionen an menschlichem Gewebe zu evaluieren, um in naher Zukunft eine Erweiterung der Zulassung zur strukturierten Behandlung zu erreichen.

„Fat may be bad for you, but it may just once be very good for your patient – and whether it is or not, tell us all!“ [82, 91]

## 5. Zusammenfassung

Der Einsatz von Regionalanästhesien nahm in den letzten Jahren stark zu. Durch die Blockade von spannungsabhängigen Natriumkanälen verhindern Lokalanästhetika eine Depolarisation sowie die neuronale Fortleitung der Schmerzimpulse. In höheren Dosierungen kann es jedoch zu ausgedehnten Blockaden im Myokard mit toxischen Wirkungen auf die Funktion der Muskelzellen kommen. Bis zur Einführung der Lipidemulsionen als Behandlungsoption bei einer Lokalanästhetikaintoxikation war eine prolongierte kardio-pulmonale Reanimation die einzige therapeutische Option.

In dieser Arbeit wurden die aktuell häufig verwendeten langwirksamen Substanzen Bupivacain und Ropivacain hinsichtlich einer divergierenden Kardiotoxizität verglichen und die Präinkubation mit Lipofundin® als Möglichkeit zur Reduktion der Kardiotoxizität getestet.

Mit Zustimmung der Ethikkommission wurden insgesamt 46 humane Herzmuskelbündel in einem Organbad untersucht.

Es erfolgte im Abstand von drei Minuten eine Inkubation mit Koffein in steigenden Konzentrationen (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 mmol/l) und nachfolgend die Applikation von handelsüblichen Lösungen von Lokalanästhetika (50 – 100 – 150 µl). Es wurden entweder Bupivacain (0,25, 0,5, 0,75 mg), Ropivacain (0,375, 0,75, 1,125 mg) oder Ropivacain in Kombination mit Lipofundin® 20% N (200µl in Verdünnung 1:100) appliziert. Abschließend erfolgte die hochdosierte Gabe von Koffein (Gesamtkonzentration 32 mmol/l), um eine maximale Kontraktur auszulösen.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Bupivacain und Ropivacain hinsichtlich der Kontraktionsamplitude und der Grundspannung bei ähnlichem Verhalten in beiden Gruppen. Die Präinkubation mit Lipofundin® ergab im Vergleich zur Kontrollgruppe keinen signifikanten Effekt.

Eine signifikante konzentrationsabhängige Abnahme der Kontraktionsamplitude und der Grundspannung zeigte sich während der initialen Inkubation mit Koffein. Initiale Schädigungen, passagere Ermüdungserscheinungen oder hypoxische Stoffwechsellustände könnten trotz bestmöglicher Bedingungen die Ergebnisse

beeinträchtigt haben. Die vorliegenden in-vitro-Ergebnisse lassen sich nur limitiert auf in-vivo-Bedingungen übertragen und verlangen nach weiteren Studien, die eine differenzierte und präzise Wirkweise sowie Dosierung von Lipidemulsionen evaluieren.

## Literatur

- 1 **Strian F.** Schmerz. Ursachen – Symptome – Therapien. München: C.H. Beck; 1996
- 2 **Brandt L, Bräutigam K.** Illustrierte Geschichte der Anästhesie. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 1997
- 3 **Zinganeli K.** Anaesthesia, historisch gesehen. Berlin; New York: Springer-Verlag; 1987
- 4 **López-Valverde A, Vicente J de, Cutando A.** The surgeons Halsted and Hall, cocaine and the discovery of dental anaesthesia by nerve blocking. Br Dent J 2011; 211: 485–487
- 5 **Corning JL.** Spinal anaesthesia and local medication of the cord. New York Med: 317
- 6 **Bier A.** Versuche über Cocainisierung des Rückenmarkes. Deutsche Zeitschrift für Chirurgie 1889; 51: 361
- 7 **Bier A.** Weitere Mitteilungen über Rückenmarksanästhesie. Deutsche Gesellschaft für Chirurgie XXX. Congress II: 171
- 8 **Calatayud J, González A.** History of the development and evolution of local anesthesia since the coca leaf. Anesthesiology 2003; 98: 1503–1508
- 9 **Heard K, Palmer R, Zahniser NR.** Mechanisms of Acute Cocaine Toxicity. TOPHARMJ 2008; 2: 70–78
- 10 **Löfgren N.** Studies on local anesthetics. Xylocaine, a new synthetic drug.; 1948
- 11 **Adams H, Hempelmann G.** Kolloide und Resorption von Lokalanaesthesielösungen. „In vitro“- und tierexperimentelle Befunde sowie klinische Ergebnisse bei Probanden und Patienten; mit 33 Tabellen. Berlin: Springer; 1990
- 12 **Ruetsch YA, Böni T, Borgeat A.** From cocaine to ropivacaine: the history of local anesthetic drugs. Curr Top Med Chem 2001; 1: 175–182
- 13 **Striebel HW.** Anästhesie, Intensivmedizin, Notfallmedizin. Für Studium und Ausbildung; mit 61 Tabellen. 6. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Schattauer; 2005

- 14 **Aken H, Hrsg.** Lokalanästhesie, Regionalanästhesie, Regionale Schmerztherapie. Herausgegeben von Hans Christoph Niesel und Hugo Van Aken. 2. Aufl. Stuttgart, New York: Cop. 2003
- 15 **Pareti G.** The „all-or-none" law in skeletal muscle and nerve fibres. Arch Ital Biol 2007; 145: 39–54
- 16 **Klinke R, Silbernagl S.** Physiologie. 6. Aufl. Stuttgart: G. Thieme; 2010
- 17 **Larsen R.** Anästhesie. 9. Aufl. München: Urban & Fischer in Elsevier; 2010
- 18 **Thiel H, Roewer N.** Anästhesiologische Pharmakotherapie. Von den Grundlagen der Pharmakologie zur Medikamentenpraxis; 214 Tabellen. 2. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme; 2009
- 19 **Tuch KU, Borchard-Tuch C.** Anästhesiologie. 2. Aufl. Stuttgart: Ferdinand Enke Verl.; 1999
- 20 **Karow T, Lang-Roth R.** Pharmakologie und Toxikologie. Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden. 17. Aufl. Köln; 2009
- 21 **Jokinen MJ.** The pharmacokinetics of ropivacaine in hepatic and renal insufficiency. Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2005; 19: 269–274
- 22 **Pere PJ, Ekstrand A, Salonen M et al.** Pharmacokinetics of ropivacaine in patients with chronic renal failure. Br J Anaesth 2011; 106: 512–521
- 23 **Nishiyama T.** Comparison of the motor and sensory block by ropivacaine and bupivacaine in combination with lidocaine in interscalene block. Med Arh 2012; 66: 315–317
- 24 **Abrão J, Fernandes CR, White PF et al.** Effect of local anaesthetic infiltration with bupivacaine and ropivacaine on wound healing: a placebo-controlled study. Int Wound J 2012
- 25 **Özkiriş M, Kapusuz Z, Saydam L.** Comparison of ropivacaine, bupivacaine and lidocaine in the management of post-tonsillectomy pain. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 2012; 76: 1831–1834
- 26 **McCrae AF, Jozwiak H, McClure JH.** Comparison of ropivacaine and bupivacaine in extradural analgesia for the relief of pain in labour. Br J Anaesth 1995; 74: 261–265
- 27 **Finucane BT.** Ropivacaine – a worthy replacement for bupivacaine? Can J Anaesth 1990; 37: 722–725



- 28 Werdehausen R, Braun S, Fazeli S et al.** Lipophilicity but not stereospecificity is a major determinant of local anaesthetic-induced cytotoxicity in human T-lymphoma cells. *Eur J Anaesthesiol* 2012; 29: 35–41
- 29 Graf BM.** The cardiotoxicity of local anesthetics: the place of ropivacaine. *Curr Top Med Chem* 2001; 1: 207–214
- 30 Müller M.** Die Toxizität von Ropivacain ist dosis-, nicht konzentrationsabhängig. *Anaesthesist* 2005; 54: 819–821
- 31 Auroy Y, Narchi P, Messiah A et al.** Serious complications related to regional anesthesia: results of a prospective survey in France. *Anesthesiology* 1997; 87: 479–486
- 32 Dahlgren N, Törnebrandt K.** Neurological complications after anaesthesia. A follow-up of 18,000 spinal and epidural anaesthetics performed over three years. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995; 39: 872–880
- 33 Lüllmann H, Mohr K, Hein L.** *Pharmakologie und Toxikologie: Arzneimittelwirkungen verstehen – Medikamente gezielt einsetzen*: Thieme; 2010
- 34 Zapata-Sudo G, Trachez MM, Sudo RT et al.** Is comparative cardiotoxicity of S(-) and R(+) bupivacaine related to enantiomer-selective inhibition of L-type Ca(2+) channels? *Anesth. Analg.* 2001; 92: 496–501
- 35 Sinha S, Bindu PS, Goel SG et al.** Accidental spinal cord injury during spinal anesthesia: A report. *Ann Indian Acad Neurol* 2010; 13: 297
- 36 Kane RE.** Neurologic deficits following epidural or spinal anesthesia. *Anesth. Analg.* 1981; 60: 150–161
- 37 Weinberg GL, VadeBoncouer T, Ramaraju GA et al.** Pretreatment or resuscitation with a lipid infusion shifts the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats. *Anesthesiology* 1998; 88: 1071–1075
- 38 Weinberg G, Paisanthasan C, Feinstein D et al.** The effect of bupivacaine on myocardial tissue hypoxia and acidosis during ventricular fibrillation. *Anesth. Analg.* 2004; 98: 790-5, table of contents
- 39 Ott K.** Lipidlösungen zur Therapie der Lokalanästhetikaintoxikation. *Anaesthesist* 2010; 59: 575–586
- 40 Rosenblatt MA, Abel M, Fischer GW et al.** Successful use of a 20% lipid emulsion to resuscitate a patient after a presumed bupivacaine-related cardiac arrest. *Anesthesiology* 2006; 105: 217–218

- 41 Picard J, Meek T.** Lipid emulsion to treat overdose of local anaesthetic: the gift of the glob. *Anaesthesia* 2006; 61: 107–109
- 42 The Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland.** Guidelines for the Management of Severe Local Anaesthetic Toxicity. Im Internet: <http://www.aagbi.org/publications/guidelines/docs/latoxicity07.pdf>
- 43 Bergold M, Ockelmann P, Gill-Schuster D et al.** Pssst ... AINS-Secrets! – Heute aus der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2012; 47: 622–623
- 44 Mazoit J, Le Guen R, Beloeil H et al.** Binding of long-lasting local anesthetics to lipid emulsions. *Anesthesiology* 2009; 110: 380–386
- 45 Espinet AJ, Emmerton MT.** The successful use of intralipid for treatment of local anesthetic-induced central nervous system toxicity: Some considerations for administration of intralipid in an emergency. *Clin J Pain* 2009; 25: 808–809
- 46 Leone S, Di Cianni S, Casati A et al.** Pharmacology, toxicology, and clinical use of new long acting local anesthetics, ropivacaine and levobupivacaine. *Acta Biomed* 2008; 79: 92–105
- 47 Harvey M, Cave G.** Bupivacaine-induced cardiac arrest: fat is good-is epinephrine really bad? *Anesthesiology* 2009; 111: 467–469
- 48 Melo MDS, Silva WA, Moraes ACd et al.** Comparação das alterações hemodinâmicas na intoxicação aguda com bupivacaína e ropivacaína por via venosa em suínos. *Rev Bras Anesthesiol* 2009; 59: 592–601
- 49 Hofmann P, Metterlein T, Bollwein G et al.** The myotoxic effect of bupivacaine and ropivacaine on myotubes in primary mouse cell culture and an immortalized cell line. *Anesth. Analg.* 2013; 117: 634–640
- 50 Brown DL, Ransom DM, Hall JA et al.** Regional anesthesia and local anesthetic-induced systemic toxicity: seizure frequency and accompanying cardiovascular changes. *Anesth. Analg.* 1995; 81: 321–328
- 51 Zink W, Graf BM.** Toxikologie der Lokalanaesthetika. *Der Anaesthesist* 2003; 52: 1102–1123
- 52 Knudsen K, Beckman Suurküla M, Blomberg S et al.** Central nervous and cardiovascular effects of i.v. infusions of ropivacaine, bupivacaine and placebo in volunteers. *Br J Anaesth* 1997; 78: 507–514
- 53 Scott DB, Lee A, Fagan D et al.** Acute toxicity of ropivacaine compared with that of bupivacaine. *Anesth. Analg.* 1989; 69: 563–569

- 54 Moller R, Covino BG.** Cardiac electrophysiologic properties of bupivacaine and lidocaine compared with those of ropivacaine, a new amide local anesthetic. *Anesthesiology* 1990; 72: 322–329
- 55 Clarkson CW, Hondeghem LM.** Mechanism for bupivacaine depression of cardiac conduction: fast block of sodium channels during the action potential with slow recovery from block during diastole. *Anesthesiology* 1985; 62: 396–405
- 56 Ryu HY, Kim J, Lim HK et al.** Bupivacaine induced cardiac toxicity mimicking an acute non-ST segment elevation myocardial infarction. *Yonsei Med. J.* 2007; 48: 331–336
- 57 Weinberg G, Ripper R, Feinstein DL et al.** Lipid emulsion infusion rescues dogs from bupivacaine-induced cardiac toxicity. *Reg Anesth Pain Med* 2003; 28: 198–202
- 58 Zimmer C, Piepenbrink K, Riest G et al.** Kardio- und neurotoxische Nebenwirkungen nach akzidenteller intravasaler Bupivacainapplikation. *Anaesthesist* 2007; 56: 449–453
- 59 Litz RJ, Roessel T, Heller AR et al.** Reversal of central nervous system and cardiac toxicity after local anesthetic intoxication by lipid emulsion injection. *Anesth. Analg.* 2008; 106: 1575-7, table of contents
- 60 Ruetsch YA, Fattinger KE, Borgeat A.** Ropivacaine-induced convulsions and severe cardiac dysrhythmia after sciatic block. *Anesthesiology* 1999; 90: 1784–1786
- 61 Aumeier C, Kasdorf B, Gruber M et al.** Lipid emulsion pretreatment has different effects on mepivacaine and bupivacaine cardiac toxicity in an isolated rat heart model. *Br J Anaesth* 2013
- 62 Jensen-Gadegaard P, Skjønnemand M, Damgaard-Jensen J et al.** Limited knowledge of lipid rescue therapy in local anaesthetic systemic toxicity. *Dan Med Bull* 2011; 58: A4226
- 63 Kuo I, Akpa BS.** Validity of the lipid sink as a mechanism for the reversal of local anesthetic systemic toxicity: a physiologically based pharmacokinetic model study. *Anesthesiology* 2013; 118: 1350–1361
- 64 Smirniotis V, Kotsis TE, Antoniou S et al.** Incidence of vein thrombosis in peripheral intravenous nutrition: effect of fat emulsions. *Clin Nutr* 1999; 18: 79–81
- 65 Wolf S, Krammer M, Trost HA et al.** Lipofundin-induced intracranial pressure rise after severe traumatic brain injury--a case report. *Zentralbl. Neurochir.* 2004; 65: 81–83

- 66 Andersen HL, Nissen I.** Formodet anafylaktisk shock efter Lipofundininfusion. *Ugeskr. Laeg.* 1993; 155: 2210–2211
- 67 Mayr VD, Mitterschiffthaler L, Neurauter A et al.** A comparison of the combination of epinephrine and vasopressin with lipid emulsion in a porcine model of asphyxial cardiac arrest after intravenous injection of bupivacaine. *Anesth. Analg.* 2008; 106: 1566-71, table of contents
- 68 Harvey M, Cave G, Kazemi A.** Intralipid infusion diminishes return of spontaneous circulation after hypoxic cardiac arrest in rabbits. *Anesth. Analg.* 2009; 108: 1163–1168
- 69 Hiller DB, Di Gregorio G, Ripper R et al.** Epinephrine impairs lipid resuscitation from bupivacaine overdose: a threshold effect. *Anesthesiology* 2009; 111: 498–505
- 70 Lüttgau HC, Oetliker H.** The action of caffeine on the activation of the contractile mechanism in strained muscle fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 1968; 194: 51–74
- 71 Rousseau E, Ladine J, Liu QY et al.** Activation of the Ca<sup>2+</sup> release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum by caffeine and related compounds. *Arch. Biochem. Biophys.* 1988; 267: 75–86
- 72 Callewaert G, Cleemann L, Morad M.** Caffeine-induced Ca<sup>2+</sup> release activates Ca<sup>2+</sup> extrusion via Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger in cardiac myocytes. *Am. J. Physiol.* 1989; 257: C147-52
- 73 Joubert F, Wilding JR, Fortin D et al.** Local energetic regulation of sarcoplasmic and myosin ATPase is differently impaired in rats with heart failure. *J. Physiol. (Lond.)* 2008; 586: 5181–5192
- 74 Litonius ES, Niiya T, Neuvonen PJ et al.** Intravenous lipid emulsion only minimally influences bupivacaine and mepivacaine distribution in plasma and does not enhance recovery from intoxication in pigs. *Anesth. Analg.* 2012; 114: 901–906
- 75 Litonius E, Tarkkila P, Neuvonen PJ et al.** Effect of intravenous lipid emulsion on bupivacaine plasma concentration in humans. *Anaesthesia* 2012; 67: 600–605
- 76 Gil H, Park J, Park S et al.** Effect of intravenous lipid emulsion in patients with acute glyphosate intoxication. *Clin Toxicol (Phila)* 2013; 51: 767–771
- 77 Presley JD, Chyka PA.** Intravenous lipid emulsion to reverse acute drug toxicity in pediatric patients. *Ann Pharmacother* 2013; 47: 735–743

- 78 Harvey M, Cave G.** Case report: successful lipid resuscitation in multi-drug overdose with predominant tricyclic antidepressant toxicity. *Int J Emerg Med* 2012; 5: 8
- 79 Keon WJ, Labow RS, Hendry PJ et al.** The human atrial trabecula: effects of calcium and temperature. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23 (3): 357–364
- 80 Calenda E, Dinescu SA.** Failure of lipid emulsion to reverse neurotoxicity after an ultrasound-guided axillary block with ropivacaine and mepivacaine. *J Anesth* 2009; 23 (3): 472–473
- 81 Aveline C, Cognet F, Bonnet F.** Ineffectiveness of intralipid infusion for central nervous toxicity following ultrasound-guided sciatic nerve block with lidocaine-ropivacaine solution: Interaction between carbamazepine, local anaesthetic and intralipid? *Eur J Anaesthesiol* 2010; 27 (12): 1070–1072
- 82 Biscopring J.** Der Lokalanaesthesie-Zwischenfall. In: Refresher Course (Hrsg. DAAF) 2010; 36: 1 – 9
- 83 Uncles DR, Willers JW, Samuels TL, Chaklader A.** Local anaesthetic systemic toxicity treated with intravenous lipid emulsion: ineffective treatment or selection of an inadequate lipid rescue dose? *Eur J Anaesthesiol* 2011; 28: 390 – 399
- 84 Zausig YA, Zink W, Graf BM.** What limits the effect of lipid emulsion therapy? *Eur J Anaesthesiol* 2012; 29 (3): 159–160
- 85 Zausig YA, Zink W, Keil M et al.** Lipid emulsion improves recovery from bupivacaine-induced cardiac arrest, but not from ropivacaine- or mepivacaine-induced cardiac arrest. *Anesth. Analg.* 2009; 109 (4): 1323–1326
- 86 Mazoit J-X, Le Guen R, Beloeil H et al.** Binding of long-lasting local anesthetics to lipid emulsions. *Anesthesiology* 2009; 110 (2): 380–386
- 87 Tunstall J, Chapman RA.** The effect of ryanodine on the contraction of isolated frog atrial trabeculae is triggered by caffeine. *Exp Physiol* 1994; 79 (3): 435–444
- 88 Sekiguchi F, Kawata K, Shimamura K et al.** Reduced effect of caffeine on twitch contraction of oesophageal striated muscle from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30 (4): 223–231
- 89 Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K, Hrsg.** Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Begründet von W. Forth, D. Henschler, W. Rummel. 12. Aufl. München: Urban & Fischer in Elsevier; 2017

- 90 Kong H, Jones PP, Koop A et al.** Caffeine induces Ca<sup>2+</sup> release by reducing the threshold for luminal Ca<sup>2+</sup> activation of the ryanodine receptor. *Biochem J* 2008; 414 (3): 441–452
- 91 Picard J, Meek T.** Lipid emulsion to treat overdose of local anaesthetic: The gift of the glob. *Anaesthesia* 2006; 61 (2): 107–109

## Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

**Abb. 1:** Schematische Abfolge einer Nervenblockade zur Schmerzausschaltung

**Abb. 2:** Chemische Strukturformel des Aminoamids Bupivacain mit lipophiler Ringstruktur, Zwischenkette und hydrophiler Aminogruppe.

**Abb. 3:** Chemische Strukturformel des Aminoamids Ropivacain mit lipophiler Ringstruktur, Zwischenkette und hydrophiler Aminogruppe.

**Abb. 4:** Mögliche Symptome und zeitlicher Verlauf einer Lokalanästhetikaintoxikation.

**Abb. 5:** Handlungsalgorithmus bei Verdacht auf eine Lokalanästhetikaintoxikation – modifiziert nach [39, 42].

**Abb. 6:** Schematische Anordnung der Versuchsanordnung.

**Abb. 7:** Schematische Darstellung des Versuchsablaufs mit Twitch und Baseline bei Applikation der Testsubstanzen im Abstand von drei Minuten und Darstellung der Messzeitpunkte.

**Abb. 8:** Gewichtsverteilung der Herzmuskelbündel. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in mg.

**Abb. 9:** Gewichtsverteilung innerhalb der Gruppen, dargestellt als Mittelwert (gestrichelte Linie), Median (durchgezogene Linie), Quartilenspanne (farbige Box), Minimum und Maximum. Statistisch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ( $p=0,250$ ). Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in mg.

**Abb. 10:** Längenverteilung aller verwendeten Herzmuskelbündel. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in mm.

**Abb. 11:** Gewichtsverteilung zwischen den Gruppen dargestellt, als gestrichelte Linie für Mittelwert, durchgezogene Linie für Median mit 1. - 3. Quartile, Minimum und Maximum. Statistisch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ( $p=0,603$ ). Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain n=13, Angaben in mm.

**Abb. 12:** Verlauf der Baseline in der Gruppe Bupivacain, gemessen jeweils zum Wirkzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigten sich signifikante Veränderungen ( $*p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten

bezogen auf den Startpunkt). n=7, Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

**Abb. 13:** Verlauf der Baseline in der Gruppe Ropivacain, gemessen jeweils zum Wirkzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigten sich signifikante Veränderungen ( $*p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt). n=26, Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

**Abb. 14:** Verlauf der Baseline in der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin, gemessen jeweils zum Wirkzeitpunkt der Substanzen. Statistisch zeigte sich ein signifikanter Anstieg bezogen auf den Startpunkt ( $*p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt). n=13, Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

**Abb. 15:** Vergleich der Gruppen Bupivacain und Ropivacain hinsichtlich des Verlaufs der Baseline zu den jeweiligen Messzeitpunkten der verwendeten Substanzen. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Angaben in mN, LA= Lokalanästhetikum. Für Umrechnung der LA in mmol/l siehe Tab. 1.

**Abb. 16:** Vergleich der Gruppen Ropivacain und Ropivacain plus Lipofundin hinsichtlich des Verlaufs der Baseline zu den Messzeitpunkten der verwendeten Substanzen. Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in mN, LA = Lokalanästhetikum. Für Umrechnung der LA in mmol/l siehe Tab. 1.

**Abb. 17:** Verlauf des Twitch in der Gruppe Bupivacain zum Messzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigte sich kein signifikanter Abfall bezogen auf den Startpunkt. n=7, Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

**Abb. 18:** Verlauf des Twitch in der Gruppe Ropivacain zum Messzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigte sich ein signifikanter Abfall bezogen auf den Startpunkt ( $*p < 0,05$  für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt). n=26, Angaben in mN als Mittelwert und Standardabweichung.

**Abb. 19:** Verlauf des Twitch in der Gruppe Ropivacain plus Lipofundin zum Messzeitpunkt der aufgeführten Substanzen. Statistisch zeigte sich ein signifikanter Abfall bezogen auf den Startpunkt ( $*p < 0,05$  für Unterschiede



zwischen den Messzeitpunkten bezogen auf den Startpunkt). n=13, Angaben in mN als Mittelwert und Standardabweichung.

**Abb. 20:** Vergleich der Gruppen Bupivacain und Ropivacain hinsichtlich des Verlaufs der Twitchwerte (\*p < 0,05 für Unterschiede an den Messzeitpunkten zwischen den untersuchten Gruppen bezogen auf den Startpunkt). Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Angaben in mN, LA = Lokalanästhetikum. Für Umrechnung LA in mmol/l siehe Tab. 1.

**Abb. 21:** Vergleich der Gruppen Ropivacain und Ropivacain plus Lipofundin hinsichtlich der Veränderungen der Twitchwerte im Verlauf. Ropivacain plus Lipofundin n=13, Ropivacain n=26, Angaben in mN, LA = Lokalanästhetikum. Für Umrechnung der LA in mmol/l siehe Tab. 1

**Abb. 22:** Veränderungen der Baseline in allen drei Gruppen im Verlauf der steigenden Koffeinkonzentration. Statistisch zeigte sich eine signifikante Reduktion der Baseline bezogen auf den Ausgangswert (\*p < 0,05 für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten). n=46, Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

**Abb. 23:** Veränderungen des Twitch in allen drei Gruppen im Verlauf der steigenden Koffeinkonzentration. Statistisch zeigte sich eine signifikante Reduktion der Baseline bezogen auf den Ausgangswert (\*p < 0,05 für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten). n=46, Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung.

**Tab. 1:** Verwendete Testsubstanzen Bupivacain und Ropivacain mit Angabe von Volumina, Dosen und Konzentrationen im Organbad von 20 ml. Angaben in  $\mu\text{l}$ , mg, mmol/l und mg/l.

**Tab. 2:** Mittleres Gewicht mit Standardabweichung und Minimum sowie Maximum der Herzmuskelbündel innerhalb der einzelnen Gruppen und im Gesamtdurchschnitt. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in mg.

**Tab. 3:** Mittlere Länge mit Standardabweichung sowie Minimum und Maximum der Herzmuskelbündel innerhalb der einzelnen Gruppen und im Gesamtdurchschnitt. Bupivacain n= 7, Ropivacain n= 26, Ropivacain plus Lipofundin 13, Angaben in mm.

**Tab. 4:** Relative Veränderungen der Baseline im Verlauf der Wirkung der Lokalanästhetika und im Mittel nach Gruppen, getrennt jeweils in Bezug auf den Startpunkt. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in Prozent mit Mittelwert und Standardabweichung, LA= Lokalanästhetikum.

**Tab. 5:** Relative Veränderungen der Twitchwerte im Verlauf der Wirkung der Lokalanästhetika und im Mittel nach Gruppen, getrennt jeweils in Bezug auf den Startpunkt. Bupivacain n=7, Ropivacain n=26, Ropivacain plus Lipofundin n=13, Angaben in Prozent mit Mittelwert und Standardabweichung, LA= Lokalanästhetikum.

**Tab. 6:** Absolute und relative Veränderungen der Baseline und Twitch aller Muskelbündel im Verlauf der Wirkung der Koffeinkonzentrationen und im Mittel jeweils in Bezug auf den Startpunkt (\*p < 0,05 für Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten). n=46, Angaben in mN als Mittelwert mit Standardabweichung und Prozent.

## Danksagung

*„Bewerte deine Erfolge daran, was du aufgeben musstest, um sie zu erzielen.“ (Dalai Lama)*

An dieser Stelle danke ich allen herzlich, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Eine wissenschaftliche Arbeit ist nie das Resultat eines einzelnen.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. N. Roewer und Herrn Prof. Dr. med. M. Anetseder danke ich für die freundliche Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer Herrn Prof. Dr. med. F. Schuster für die hervorragende Betreuung und Unterstützung mit wertvollen fachlichen Hinweisen, seine stete Diskussionsbereitschaft und die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens.

Ebenfalls danke ich Herrn Prof. Dr. med. Th. Meyer für die Übernahme des Korreferats.

Ein großer Dank geht auch an die gesamte Arbeitsgruppe des Anästhesie-Labors, besonders an Herrn Dr. med. S. Johannsen und Frau J. Skirde, ohne deren Einarbeitung und die zahlreichen Besprechungen die Behandlung des Themas so nicht möglich gewesen wäre.

Herrn Dr. med. Th. Herbst danke ich herzlich für die unerschöpflichen Weiten der fachlichen Korrespondenzen, die amüsanten Anekdoten, die stete Unterstützung und die Grimassen, die jegliche Zweifel immer wieder ausräumten.

Für die Stunden der Überlegungen, Recherchen und Berechnungen – die stets konstruktiven Vorschläge und die leise Kritik – geht ein großes Dankeschön an Herrn Dr. rer. physiol. Dr. rer. nat. K. Mandrek.

Ein herzliches Dankeschön an zwei Menschen, ohne deren Unterstützung ich dieses Projekt nicht zum jetzigen Zeitpunkt hätte fertigstellen können – Herrn Dr. med. S. und Frau P. Hammer.

Ich danke Herrn Dr. med. M. Ewald für die Zeit der Freistellung und für das Verständnis, ohne das diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ebenfalls danke ich Herrn Dr. med. U. Wessel für die vielen Telefonate, Gespräche und aufmunternden Worte.

Herzlichen Dank an den besten großen Bruder für die stete Hilfsbereitschaft, für die Beantwortung von unzähligen nervigen E-Mails, die Telefonate und beste Informatikexpertise.

Aus tiefstem Herzen danke ich meiner Mama für ihre engelsgleiche Geduld, ihre unermüdliche Unterstützung, aufbauenden Worte und unbeschreibliche Arbeit in all den Jahren.