

Der Einfluss von Dexmedetomidin auf thalamische HCN-Kanäle -
Untersuchungen mit der Patch-Clamp-Technik im vitalen Hirnschnittpräparat

Catharina Sophia Westphal

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades einer

Doktorin der Medizin (Dr. med.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Florian Eyer

Prüfer*innen der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Rainer Haseneder
2. apl. Prof. Dr. Gerhard Rammes

Die Dissertation wurde am 19.09.2022 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 03.01.2023 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Die Rolle des thalamokortikalen Netzwerks in der Anästhesie	2
1.1.1 Aufbau und Funktion des Thalamus	2
1.1.2 Das thalamokortikale Netzwerk	3
1.1.3 Der Thalamus und Anästhetika	7
1.2 HCN-Kanäle	8
1.3 Dexmedetomidin	11
1.3.1 Chemische und pharmakokinetische Eigenschaften	11
1.3.2 Wirkmechanismen	12
1.3.3 Klinischer Einsatz	16
1.4 Zielsetzung dieser Arbeit	17
2 Material und Methoden	19
2.1 Präparation der Hirnschnitte	19
2.2 Elektrophysiologie	20
2.2.1 Versuchsaufbau	21
2.2.2 Infrarot-Videomikroskopie	22
2.2.3 Pipetten	23
2.2.4 Etablierung der Ganzzelleableitung	23
2.2.5 Charakterisierung der thalamokortikalen Schaltneurone	24
2.2.6 Strom-Spannungsbeziehung	25
2.2.7 HCN-Kanal-Messungen	26
2.3 Applikation von Dexmedetomidin	27

2.4	Auswertung und Statistik	27
3	Ergebnisse	29
3.1	Elektrophysiologische Eigenschaften der TC-Neurone	29
3.1.1	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag	29
3.1.2	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Rebound Burst	31
3.2	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die biophysikalischen Membraneigenschaften von TC-Neuronen	34
3.3	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die intrinsische Erregbarkeit von TC-Neuronen	39
3.4	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf HCN-Kanäle	41
3.4.1	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Kationenstrom I_h	41
3.4.2	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$	43
3.4.3	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Aktivierungszeitkonstanten τ_{fast} und τ_{slow}	45
4	Diskussion	47
4.1	Klinische Relevanz der Dexmedetomidin-Konzentration	47
4.2	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Membraneigenschaften und die Erregbarkeit von TC-Neuronen	49
4.3	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag und den Rebound Burst	50
4.4	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den HCN-Kanal	51
4.5	Limitationen dieser Arbeit	54
4.6	Schlussfolgerung	57
5	Zusammenfassung	59
6	Literaturverzeichnis	60
	Danksagung	74

Abbildungsverzeichnis

1	Aktivitätsmuster im thalamokortikalen Netzwerk bei Schlaf und Wachheit	4
2	Wechselwirkung des Kalziumstroms I_T mit dem depolarisierenden Kationenstrom I_h	6
3	Struktur der HCN-Kanäle	9
4	Strukturformel von Dexmedetomidinhydrochlorid	12
5	Infrarotvideomikroskopische Aufnahme eines Hirnschnittes	24
6	Spannungsantwort eines TC-Neurons auf einen Hyperpolarisationspuls	25
7	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag	30
8	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Rebound Burst	33
9	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Ruhemembranpotential	35
10	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Membranwiderstand	37
11	Strom-Spannungsbeziehung (IV-Kurve) der TC-Neurone unter Dexmedetomidin	38
12	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die intrinsische Erregbarkeit von TC-Neuronen	40
13	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Kationenstrom I_h	42
14	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die spannungsabhängige Aktivierung $p(V)$ und das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$	44
15	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf τ_{fast} und τ_{slow} bei einem Membranpotential von -133 mV	46

Tabellenverzeichnis

1	Zusammensetzung der artifiziellen Cerebrospinalflüssigkeit (aCSF) für die Präparation	19
2	Zusammensetzung der artifiziellen Cerebrospinalflüssigkeit (aCSF) für die Messungen	20
3	Zusammensetzung der Intrazellulärlösung	23
4	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag	31
5	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Rebound Burst Delay	31
6	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Anzahl der Aktionspotentiale im Rebound Burst	32
7	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Dauer des Rebound Burst	32
8	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Ruhemembranpotential	35
9	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Membranwiderstand	36
10	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Schwellenpotential	39
11	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Aktionspotential-Frequenz	41
12	Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$	45

Abkürzungsverzeichnis

aCSF	artifizielle Cerebrospinalflüssigkeit
AP	Aktionspotential
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CBF	zerebraler Blutfluss
CNBD	Zyklonukleotidbindungsdomäne
Dex	Dexmedetomidin
EC₅₀	mittlere effektive Konzentration
ED₅₀	mittlere effektive Dosis
EEG	Elektroencephalographie
GABA	γ -Aminobuttersäure
HCN	hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated
HEK	human embryonic kidney
IQR	Interquartilsabstand
IR	Infrarot
IZ	Intrazellulärlösung
K_{2P}	Zwei-Porendomänen-Kaliumkanal
K_{IR}	Einwärtsgerichteter Kaliumkanal
LORR	Loss of Righting Reflex
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat

Abkürzungsverzeichnis

NRT	Nucleus reticularis thalami
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PKC	Protein Kinase C
PVN	Nucleus paraventricularis
REM	rapid eye movement
R_M	Membranwiderstand
RMP	Ruhemembranpotential
SEM	Standard Error of the Mean, Standardfehler
SP	Schwellenpotential
TASK	TWIK-related acid-sensitive K ⁺ -channel
TC-Neuron	thalamokortikales Schaltneuron
TREK	TWIK-related K ⁺ -channel
TWIK	Tandem of P-domains in a weak inwardly rectifying K ⁺ -channel
VP	Nucleus ventralis posterior
VPM	Nucleus ventralis posteromedialis
VPL	Nucleus ventralis posterolateralis
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Sedierung und Analgesie von schwerkranken Patienten auf der Intensivstation sind nach wie vor eine Herausforderung für Intensivmediziner. Die Anwendung der richtigen Substanzen ist entscheidend, um Schmerzen, Stress und Angst bei den Patienten zu mindern und um die Nebenwirkungen gering zu halten (Chrysostomou & Schmitt, 2008). Das Ziel der Sedierung auf der Intensivstation ist ein ruhiger, aber erweckbarer Patient, der seine Bedürfnisse mitteilen kann, insbesondere den Bedarf an Analgesie (Mantz et al., 2011). Doch wie kann man dieses Ziel erreichen? Verschiedene Substanzen werden aktuell angewendet, beispielsweise Propofol, Benzodiazepine, oft in Kombination mit Opioiden, und in Deutschland seit 2011 auch Dexmedetomidin (Gerresheim & Schwemmer, 2013; Mantz et al., 2011). Dabei ist der Mechanismus, wie diese Substanzen zur Sedierung bzw. zum Bewusstseinsverlust führen immer noch Gegenstand aktueller Forschungen und noch nicht abschließend geklärt (Hemmings et al., 2019). Auf molekularer Ebene erfolgt der anästhetikavermittelte Bewusstseinsverlust durch Wirkung an verschiedenen Rezeptoren und Ionenkanälen (Franks, 2008). Durch neuere Studien mit funktioneller Bildgebung konnten auch verschiedene neuronale Netzwerke identifiziert werden, die durch eine veränderte Konnektivität am Bewusstseinsverlust beteiligt sind (Hudetz, 2012; Mashour & Hudetz, 2018). Das thalamokortikale Netzwerk scheint hier eine besondere Bedeutung zu haben. Eine Besonderheit der thalamokortikalen Schaltneurone (TC-Neurone) ist die hohe Expression von hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels (HCN-Kanäle) (Moosmang et al., 1999). Insbesondere beim physiologischen Schlaf leisten sie einen wesentlichen Beitrag zur Regulation der Erregbarkeit des Thalamus (Pape et al., 2005). Somit scheinen sie auch eine potentielle molekulare Zielstruktur für Dexmedetomidin darzustellen. Das Ziel dieses Promotionsvorhabens ist die Untersuchung des Einflusses von Dexmedetomidin auf HCN-Kanäle in thalamokortikalen Schaltneuronen. In den folgenden Unterkapiteln wird zunächst auf die Bedeutung des thalamokortikalen Netzwerks und von HCN-Kanälen eingegangen, um schließlich einen Überblick über bisherige Erkenntnisse zu Dexmedetomidin zu geben.

1.1 Die Rolle des thalamokortikalen Netzwerks in der Anästhesie

1.1.1 Aufbau und Funktion des Thalamus

Der Thalamus ist eine Ansammlung von Kerngebieten im Zwischenhirn. Er lässt sich in einen ventralen und einen dorsalen Anteil einteilen (Huggenberger et al., 2019).

Der dorsale Thalamus enthält mehr als 30 Kerngebiete, wobei die Benennung dieser Kerngebiete bisher inkonsistent vorgenommen wird (Mai & Majtanik, 2018; R. Yuan et al., 2016). Die Kerngebiete erhalten Afferenzen aus sensorischen Systemen und leiten diese zum Kortex weiter (Jones, 2009). Die Verbindung zum Kortex aus diesen Kerngebieten ist reziprok, d.h. es gibt thalamokortikale und kortikothalamische Fasern (Huggenberger et al., 2019). Der Thalamus beschränkt sich jedoch nicht alleine auf kortikale Verbindungen. Ebenso sind z.B. Verbindungen zum Striatum, zur Amygdala und zu den Basalganglien bekannt (Jones, 2009). Durch Verbindungen mit dem Cerebellum ist der Thalamus auch an der Regulation motorischer Funktionen beteiligt (Steriade & McCarley, 2005).

Die Kerngebiete des dorsalen Thalamus können in spezifische und unspezifische Kerngebiete eingeteilt werden (Huggenberger et al., 2019). Während spezifische Kerngebiete zu definierten Arealen der Großhirnrinde projizieren, sind die unspezifischen Kerngebiete diffus mit unterschiedlichen, unscharf begrenzten Gebieten der Großhirnrinde verbunden (Jones, 2009).

In dem vorliegenden Promotionsvorhaben werden Zellen aus dem spezifischen Thalamuskern Nucleus ventralis posterior (VP) untersucht, welcher auch als ventrobasaler Kernkomplex bezeichnet wird. Der VP lässt sich aufteilen in den Nucleus ventralis posterolateralis (VPL) und den Nucleus ventralis posteromedialis (VPM) (Mai & Majtanik, 2018). Der VPL erhält Afferenzen aus dem Hirnstamm und Rückenmark über den Lemniscus medialis und den Lemniscus spinalis. Diese beiden Lemnisci sind Nervenbahnen, die mechanorezeptive Informationen weiterleiten. Der VPM erhält Afferenzen aus dem Hirnstamm aus den Kernen des Nervus Trigeminalis über den Lemniscus trigeminalis. Der Lemniscus trigeminalis leitet mechanorezeptive Informationen aus dem Kopfbereich. Sowohl der VPL als auch der VPM projizieren auf sensible Kortexareale (Schmeißer et al., 2020).

Der ventrale Thalamus enthält u.a. den Nucleus reticularis thalami (NRT). Der NRT wird v.a. durch inhibitorische, GABAerge (γ -Aminobuttersäure) Neurone gebildet, die zu den dorsalen Kerngebieten des Thalamus projizieren. Sie werden von kollateralen Ästen der thalamokortikalen und der kortikothalamischen Fasern innerviert. Durch diese bidirektionale Afferenz und die Efferenz zu den dorsalen Kerngebieten sind sie ein wichtiger Bestandteil der thalamischen Schaltkreise (Jones, 2009).

In den dorsalen Kerngebieten des Thalamus kommen v.a. zwei Zelltypen vor: exzitatorische thalamokortikale Schaltneurone (TC-Neurone) und inhibitorische, intrinsische Interneurone. Der Anteil der Interneurone beträgt 20 bis 25%. Die TC-Neurone sind verantwortlich für die Weiterleitung von Informationen an den Kortex und werden daher auch als Schaltneurone bezeichnet. Die intrinsischen Interneurone inhibieren die TC-Neurone und beeinflussen somit auch wie diese Informationen weitergeleitet werden (Sherman, 2004). Untersuchungen an Schaltneuronen im VP von Katzen haben gezeigt, dass nur 16% der Synapsen von lemniscalen Afferenzen stammen. Den größten Teil der Synapsen machen mit 44% die kortikothalamischen Fasern aus. Die restlichen 40% stammen von inhibitorischen Neuronen, wobei davon nur 5% von den intrinsischen Interneuronen stammen und der Großteil von den Retikulariszellen aus dem NRT (Jones, 2009; Liu et al., 1995).

Der Thalamus ist also eine Zwischenstation, in der alle peripheren sensorischen Informationen (außer der olfaktorischen) zum Kortex weitergeleitet werden. Er wird deswegen auch als „Tor zum Bewusstsein“ bezeichnet (Schmeißer et al., 2020). Allerdings ist der Thalamus mehr als nur eine Schaltstation. Die sensorischen Informationen werden dynamisch moduliert. Außerdem spielt der Thalamus auch eine Rolle bei der kortikokortikalen Informationsweitergabe, da ein großer Anteil dieser Informationen über den Thalamus geleitet wird (Sherman & Guillery, 2002).

1.1.2 Das thalamokortikale Netzwerk

Doch wie werden nun diese sensorischen Informationen durch den Thalamus moduliert und an den Kortex weitergeleitet? Um dieser Frage nachzugehen, wird die Funktion des Thalamus während Phasen von Wachheit und Schlaf betrachtet.

Abbildung 1 stellt den Schaltkreis zwischen den thalamischen und kortikalen Neuronen dar. Axone der TC-Neurone projizieren auf kortikale Neurone, welche wiederum auf die

TC-Neurone zurückprojizieren. Kollateralen von diesen thalamokortikalen und kortikothalamischen Fasern werden an die NRT-Neurone und an die Interneurone abgegeben, welche beide einen inhibitorischen Effekt auf TC-Neurone haben (Pape et al., 2005).

Ein TC-Neuron kann nun zwei verschiedene Aktivitätszustände einnehmen. Während Phasen der Wachheit befindet es sich im tonischen Modus und leitet eingehende Informationen über synaptische Transmission frequenzgetreu weiter. Während des Non-REM-Schlafs (REM: *rapid eye movement*) befindet es sich im oszillatorischen Modus und gibt somit synchronisierte Salven von Aktionspotentialen (sog. Bursts) ab, was mit einer verminderten Informationsweiterleitung einhergeht (Steriade & McCarley, 2005, S. 180).

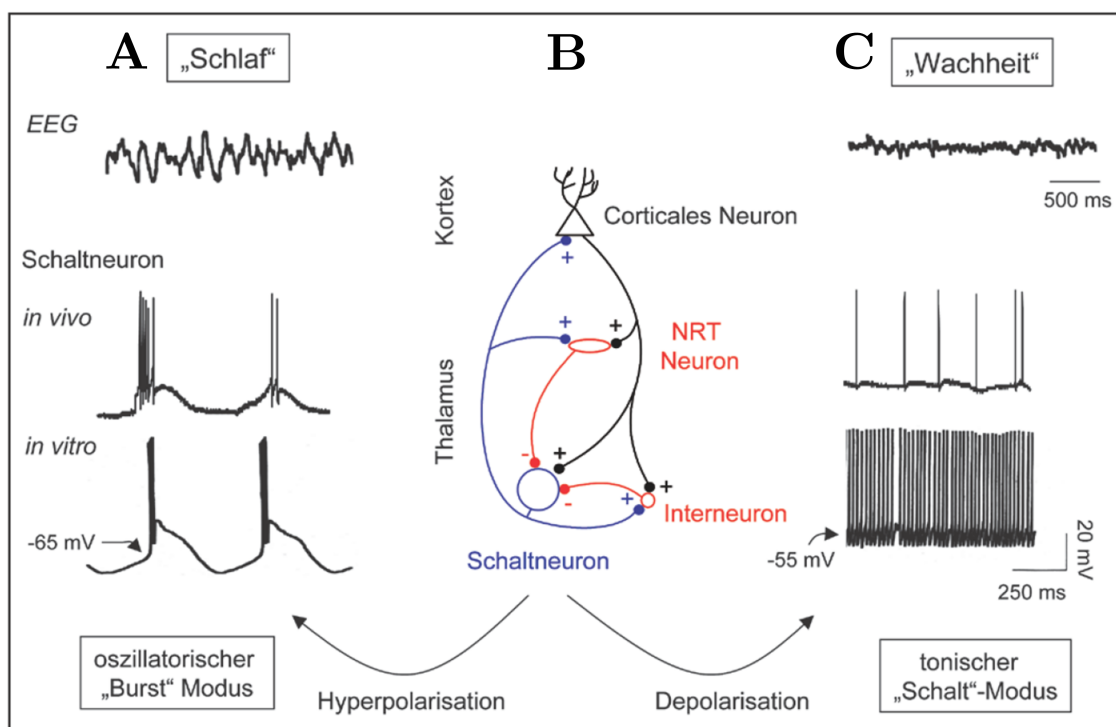


Abbildung 1: Aktivitätsmuster im thalamokortikalen Netzwerk bei Schlaf und Wachheit (Pape et al., 2005)

B: thalamokortikaler Schaltkreis (+: exzitatorische Verbindungen, -: inhibitorische Verbindungen). Aktivitätszustand eines thalamokortikalen Schaltneurons: **A** während des Schlafs im oszillatorischen „Burst“-Modus (durch Hyperpolarisation der Zelle), **C** während Wachheit im tonischen „Schalt“-Modus (durch Depolarisation der Zelle). (EEG und intrazelluläre Registrierungen der elektrischen Aktivität eines Schaltneurons im Corpus geniculatum laterale pars dorsalis der Ratte in vivo und in einem Schnittpräparat in vitro). Abbildung übernommen von Pape et al. (2005).

Die Oszillationen eines einzelnen TC-Neurons werden durch seine Verschaltung im thalamokortikalen Netzwerk mit den anderen TC-Neuronen synchronisiert. Diese Synchronisation entsteht durch die hemmende Rückkopplung der NRT-Neurone und ist im Elektroenzephalogramm (EEG) abhängig vom Schlafstadium als Schlafspindeln oder δ -Wellen sichtbar (siehe EEG in Abbildung 1). Schlafspindeln treten beim Einschlafen auf und sind Oszillationen mit einer Frequenz von 7 bis 14 Hz, die alle 3 bis 10 Sekunden auftreten. In Tiefschlafphasen werden im EEG hoch-amplitudige δ -Wellen mit einer Frequenz von 1 bis 4 Hz abgebildet (Steriade et al., 1993).

Durch das Membranpotential der TC-Neurone wird festgelegt, in welchem Aktivitätszustand sie sich befinden. Bei Membranpotentialen positiver als -65 mV befinden sie sich im tonischen Modus. Bei geringerer Aktivität des Gehirns kommt es durch Wegfallen exzitatorischer Informationen, z.B. aus dem Hirnstamm, zu einer Hyperpolarisation und der oszillatorische Modus tritt ein (Pape et al., 2005). Diese Veränderungen im Membranpotential werden durch verschiedene Mechanismen reguliert. Zwei-Porendomänen-Kaliumkanäle (K_{2P} -Kanäle), die die Kalium-Hintergrundströme der Zelle tragen, haben Einfluss auf das Membranpotential. Zur Familie der K_{2P} -Kanäle gehören u.a. die TWIK-related acid-sensitive K^+ -channel (TASK-Kanäle) und die TWIK-related K^+ -channel (TREK-Kanäle) (Ehling et al., 2015). Sind die TASK-Kanäle geöffnet, sorgen sie für eine konstante, leichte Hyperpolarisation der Zelle. Durch Neurotransmitter aus den Afferenzen des Hirnstamms, insbesondere Acetylcholin, werden die TASK-Kanäle über Aktivierung von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren geschlossen und damit das Membranpotential in die depolarisierte Richtung verschoben (McCormick & Prince, 1987; Meuth et al., 2003). Auch der HCN-Kanal (siehe Kapitel 1.2) ist an der Regulation des Membranpotentials beteiligt (Meuth et al., 2006), genauso wie inhibitorische Afferenzen aus den NRT-Neuronen und den Interneuronen (Jones, 2009).

An der Erzeugung der rhythmischen Salvenentladungen der TC-Neurone bei hyperpolarisierten Membranpotentialen sind mehrere Ionenströme beteiligt: ein transients Kalziumstrom (I_T) und ein depolarisierender Kationenstrom (I_h), welcher durch HCN-Kanäle vermittelt wird. Der I_T wird bei Depolarisation aktiviert, allerdings nur, wenn das Membranpotential der Zelle vorher negativer als -65 mV war. Bei depolarisierten Membranpotentialen, also in Phasen von Wachheit, tritt der I_T nicht auf (Steriade & McCarley, 2005, S. 181). Durch den Kalziumstrom (Spike) wird die Zelle über ihr Schwellenpotential gebracht und es wird ein Burst mit drei bis acht kleinen und schnellen Aktionspotentialen generiert. Die Depolarisation durch den Kalziumspike deaktiviert I_h . Nachdem

durch den Burst auch I_T langsam inaktiviert wird, kommt es zu einer überschießenden Hyperpolarisation, wodurch I_h wieder aktiviert wird und schlußendlich dadurch auch I_T wieder aktiviert wird (McCormick & Bal, 1997). Durch seine Rolle bei der Erzeugung von rhythmischen Oszillationen wird der Strom I_h auch als Schrittmacher der Zelle bezeichnet (Pape et al., 2005). Die Abläufe von I_T und I_h sind in Abbildung 2 dargestellt.

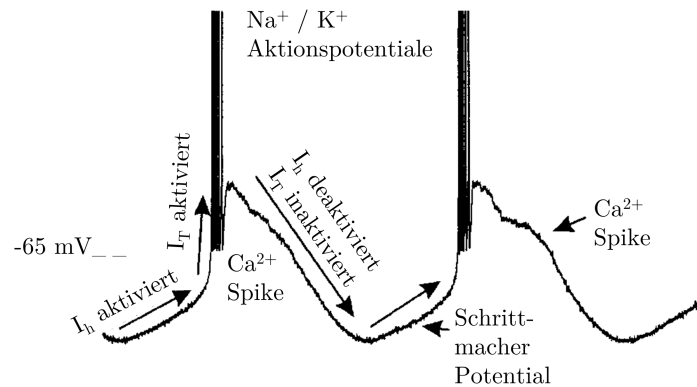


Abbildung 2: Wechselwirkung des Kalziumstroms I_T mit dem depolarisierenden Kationenstrom I_h (McCormick & Bal, 1997)

Die Wechselwirkung von I_T und I_h führt zu den intrinsischen Oszillationen der TC-Neurone. Abbildung übernommen von McCormick und Bal (1997), übersetzt.

Auch die kortikothalamischen Fasern wirken sich auf die Aktivität des thalamokortikalen Netzwerks aus. Im wachen Zustand sorgen sie für ein positives Feedback auf TC-Neurone, da sie eingehende Signale in die kortikalen Neurone wieder zurück zu den TC-Neuronen spiegeln. Durch diese vom Kortex eingehenden Signale wird das Membranpotential der TC-Neurone depolarisiert, wodurch verhindert wird, dass der oszillatorische Modus einsetzen kann. Umgekehrt bedeutet das aber auch, dass durch geringe Aktivität der kortikalen Neurone der oszillatorische Modus der TC-Neurone begünstigt werden kann (Franks, 2008). Der Wechsel des Thalamus in den oszillatorischen, bewusstseinsreduzierten Modus könnte also durch verminderte Signalweiterleitung, sowohl aus dem Hirnstamm als auch aus dem Kortex, bedingt sein. Einer dieser Wege könnte auch ein möglicher Angriffspunkt von Anästhetika im thalamokortikalen Netzwerk sein (Bottom-Up- oder Top-Down-Mechanismus) (Mashour & Hudetz, 2017).

1.1.3 Der Thalamus und Anästhetika

Bereits mehrere Studien haben verdeutlicht, dass der Thalamus am durch Anästhetika vermittelten Bewusstseinsverlust beteiligt ist. In der funktionellen Bildgebung (Positronen-Emissions-Tomographie, PET) konnte gezeigt werden, dass es während der Allgemeinanästhesie zu einem reduzierten zerebralen Blutfluss (CBF) in mehreren Gehirnregionen kommt, u.a. auch im Thalamus (Franks, 2008). Die Abnahme des CBF im Thalamus durch Sevofluran und Propofol betrug in einer PET-Studie 28% bzw. 47% (Kaisti et al., 2003). Eine weitere Studie zeigte, dass unter Propofol zwar das gesamte Gehirn vom reduzierten CBF betroffen ist, allerdings ist dieser Effekt im medialen Thalamus und in bestimmten Bereichen der Großhirnrinde besonders ausgeprägt (Fiset et al., 1999). Ähnliche Effekte auf den CBF konnten für Xenon (Laitio et al., 2007) und Dexmedetomidin (Akeju, Loggia et al., 2014; Prielipp et al., 2002) gefunden werden. Daraus ergibt sich, dass trotz der unterschiedlichen molekularen Wirkmechanismen der Anästhetika, der Thalamus als gemeinsames Ziel eine wichtige Rolle bei der Wirkung der unterschiedlichen Anästhetika zu spielen scheint. Als einziges Anästhetikum, das den CBF erhöht, ist bisher Ketamin bekannt (Långsjö et al., 2005).

Bereits mehrfach wurde festgestellt, dass die Unterbrechung der thalamokortikalen Konnektivität eine zentrale Rolle bei der Wirkung von Anästhetika einnehmen könnte (Alkire et al., 2000; Franks, 2008; White & Alkire, 2003). In einer Studie mit funktioneller Magnetresonanztomographie wurde gezeigt, dass Propofol die thalamokortikale Konnektivität reduziert (Liu et al., 2013). Das unspezifische System war mit einer Verminderung der funktionellen Konnektivität um 79% bei tiefer Sedierung stärker beeinflusst, als das spezifische System (Verminderung um 43%). Dieses Ergebnis passt dazu, dass visuelle und auditorische Signale auch unter Allgemeinanästhesie weiterhin zum primären visuellen bzw. auditorischen Kortex weitergeleitet werden (Boveroux et al., 2010), denn für diese Weiterleitung wären die spezifischen Kerngebiete zuständig (Liu et al., 2013). Die Integration und Verarbeitung dieser Signale durch die unspezifischen thalamischen Kerngebiete wäre allerdings reduziert (Hudetz & Mashour, 2016; Liu et al., 2013).

Der Thalamus kann primärer Angriffspunkt der Anästhetika sein, z.B. indem durch direkte Wirkung an bestimmten Ionenkanälen das Membranpotential der thalamischen Zellen hyperpolarisiert wird (Franks, 2008). Die Aktivität des Thalamus könnte aber auch nur sekundär durch verminderten Input aus kortikalen Regionen herabgesetzt werden (Hudetz, 2012). Eine Studie aus dem Jahr 2007 von Velly et al. untersuchte elek-

trophysiologische Signale von Patienten unter Propofol- und Sevofluran-Anästhesie. Die Elektroden waren dabei auf dem Schädel platziert, um kortikale Signalveränderungen zu registrieren. Weitere Elektroden waren subkortikal platziert, wobei verdeutlicht wurde, dass diese Elektroden v.a. thalamische Signale registriert haben. Interessant war, dass während der Einleitung einer Allgemeinanästhesie zuerst in den kortikalen Ableitungen eine Verlangsamung der EEG-Wellen sichtbar wurde. Zeitverzögert kam es dann subkortikal zu einer Verlangsamung, wobei diese nicht so stark ausgeprägt war, wie kortikal (Velly et al., 2007). Diese Studie unterstützt die Theorie, dass die Unterdrückung der thalamischen Aktivität durch verminderte kortikale Aktivität bedingt ist und spricht eher für den Top-Down-Mechanismus (Mashour & Alkire, 2013).

Vermutlich ist diese klare Unterscheidung in Bottom-Up- und Top-Down-Mechanismus allerdings erzwungen. Sowohl auf zellulärer als auch auf Netzwerkebene sollte eher eine Kombination aus verschiedensten Wirkmechanismen in Betracht gezogen werden, um die Wirkung von Anästhetika zu verstehen (Mashour & Hudetz, 2017).

1.2 HCN-Kanäle

Auf molekularer Ebene können Anästhetika an verschiedenen Zielstrukturen angreifen. Am relevantesten scheinen dabei GABA-, K_{2P} - und N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Kanäle, die für verschiedene Anästhetika als Zielstrukturen identifiziert wurden. Dabei beruht die Wirkung der Anästhetika, wie beispielsweise Propofol oder volatile Anästhetika, nicht nur auf einem Rezeptor. Vielmehr führt die Kombination von verschiedenen Wirkstrukturen in verschiedenen Gehirnregionen zur gewünschten Wirkung (Franks, 2008). An der Wirkung der Anästhetika sind nicht nur die drei bereits erwähnten Kanäle beteiligt, weitere Zielstrukturen wurden bereits identifiziert und sind Gegenstand der aktuellen Forschung (Franks, 2008).

HCN-Kanäle gehören zur Familie der spannungsgesteuerten Ionenkanäle. Sie sind weit verbreitet im Herzen und im zentralen Nervensystem (Wahl-Schott & Biel, 2009).

Der HCN-Kanal besteht aus vier Untereinheiten, die um eine zentral gelegene Pore angeordnet sind. Jede Untereinheit besteht aus einer Transmembrandomäne, welche die ionenleitende Pore beinhaltet, und einem zytosolischen C-Terminus mit der Nukleotidbindungsdomäne. Die Transmembrandomäne wird aus sechs α -helikalen Segmenten gebildet (S1-S6). Das Segment S4 ist positiv geladen und fungiert als Spannungssensor des

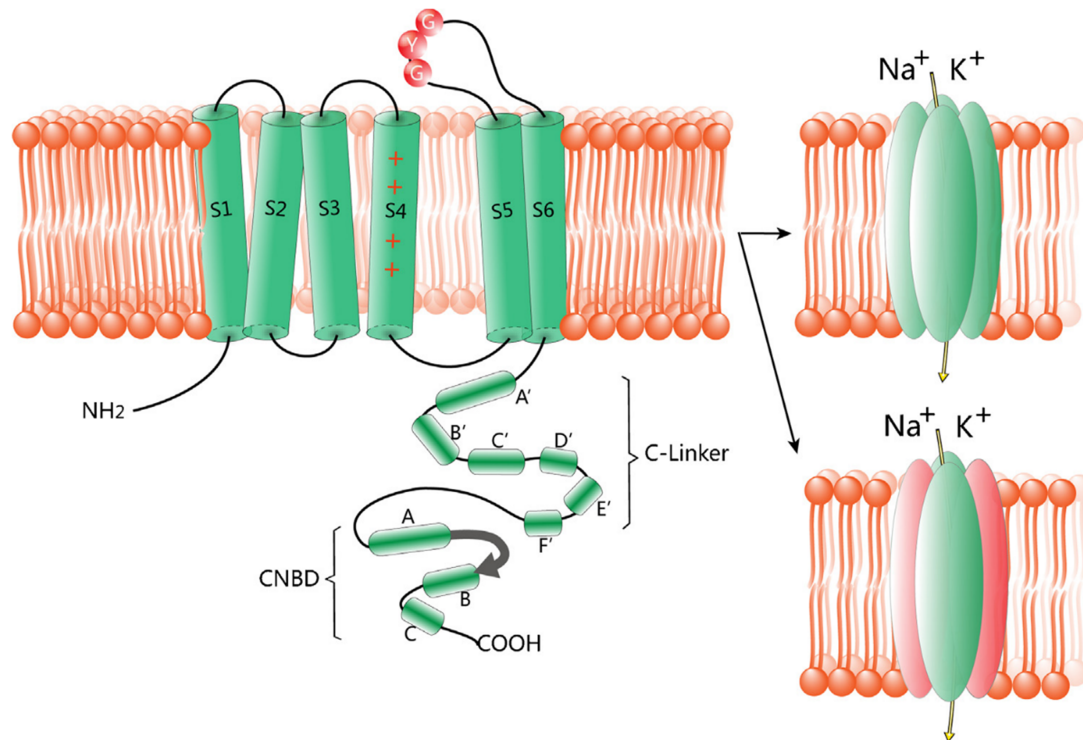


Abbildung 3: Struktur der HCN-Kanäle (He et al., 2014)

Links: Eine Untereinheit besteht aus sechs Transmembransegmenten (S1-S6). Das Segment S4 ist positiv geladen und entspricht dem Spannungssensor. Der C-Terminus besteht aus dem C-Linker und der Zyklo-nukleotidbindungsdomäne (CNBD). Der C-Linker besteht aus sechs α -Helizes: A' bis F'. Die CNBD besteht aus drei α -Helizes A-C mit einem β -Faltblatt zwischen der A- und B-Helix. Rechts: die vier Untereinheiten fügen sich in einer homomeren oder heteromeren Konfiguration zusammen (He et al., 2014).

Kanals (Wahl-Schott & Biel, 2009). HCN-Kanäle sind leitend für Kalium- und Natriumionen. Die Selektivität für diese beiden Ionen liegt bei 4:1. Trotz dieser Präferenz für Kalium-Ionen, wird der einwärtsgerichtete Strom durch HCN-Kanäle unter physiologischen Bedingungen hauptsächlich durch Natrium getragen (Pape, 1996). Im zentralen Nervensystem (ZNS) wird dieser Strom als I_h bezeichnet (Biel et al., 2009). Der Aufbau der HCN-Kanäle ist in Abbildung 3 dargestellt.

Es gibt vier verschiedene Isoformen der HCN-Kanäle: HCN1, HCN2, HCN3 und HCN4. Sie unterscheiden sich voneinander anhand ihrer Spannungsabhängigkeit, ihrer Aktivierungskinetik und im Ausmaß, in dem sie sich von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) modulieren lassen. Das Verteilungsmuster der HCN-Kanal-Isoformen im Gehirn von Mäusen wurde 1999 von Moosmang et al. mittels In-Situ-Hybridisierung von

HCN-mRNA untersucht. HCN1 kommt im Bulbus olfactorius, Kortex, Hippocampus, Colliculi superiores und Zerebellum vor. HCN2 liegt ubiquitär im Gehirn vor, wobei die höchste Expression im Bulbus olfactorius, Hippocampus, Thalamus und Hirnstamm vorliegt. HCN3 liegt gleichmäßig im gesamten Gehirn vor, allerdings in sehr niedrigen Konzentrationen. HCN4 wird v.a. im Thalamus und Bulbus olfactorius exprimiert. Einige Neurone exprimierten mehr als eine HCN-Kanal-Isoform, u.a. auch TC-Neurone. In TC-Neuronen befinden sich HCN2- und HCN4-Kanäle (Moosmang et al., 1999).

Das Besondere am HCN-Kanal ist seine Öffnung durch Hyperpolarisation, im Gegensatz zu anderen spannungsgesteuerten Ionenkanälen, welche vorwiegend bei Depolarisation der Zellmembran öffnen. HCN-Kanäle öffnen bei Potentialen negativer als -50 mV (He et al., 2014). Das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ liegt je nach Isoform zwischen -70 und -100 mV (Baruscotti et al., 2005). Bezüglich der Aktivierungskinetik ist die HCN1 Isoform am schnellsten und HCN4 am langsamsten (Biel et al., 2009).

Die am C-Terminus liegende Zyklonukleotidbindungsdomäne (CNBD) bindet cAMP. Durch die Bindung von cAMP wird die Kanalöffnung beschleunigt und die Spannungsabhängigkeit der Aktivierung zu positiveren Membranpotentialen verschoben (DiFrancesco & Tortora, 1991). Der I_h , der bei einem gegebenen Membranpotential durch den Kanal fließt, ist also bei Anwesenheit von cAMP höher als ohne cAMP. Dabei werden die Isoformen HCN2 und HCN4 stark durch die Anwesenheit von cAMP moduliert, während dieser Effekt bei HCN1 und HCN3 nur schwach ausgeprägt ist (Wahl-Schott & Biel, 2009).

HCN-Kanäle stabilisieren das Ruhemembranpotential (RMP) der Zellen. Auch in der Nähe des RMPs sind die HCN-Kanäle leicht geöffnet und führen so zu einer kontinuierlichen leichten Depolarisation der Neurone (Ludwig et al., 2003). Durch die Beeinflussung des Anteils der geöffneten Kanäle, wird so das RMP mitbestimmt. Außerdem sorgen die Kanäle für eine Stabilisierung des Ruhemembranpotentials. Bei einem Hyperpolarisationspuls öffnen sie und bringen durch den einwärtsgerichteten, depolarisierenden Kationenstrom das RMP auf den Ausgangswert zurück (Biel et al., 2009). Zusätzliche Stabilisierung bringt eine Absenkung des Membranwiderstands (R_M) der Zelle durch die geöffneten HCN-Kanäle (Pape, 1994). Dadurch bewirkt in Anwesenheit von I_h jedes ankommende Signal eine kleinere Veränderung des Membranpotentials, als ohne I_h (Biel et al., 2009). Das Ruhemembranpotential in TC-Neuronen wird v.a. durch die Interaktion von HCN2- und TASK3-Kanälen bestimmt (Meuth et al., 2006).

Dem Strom I_h wird eine Beteiligung an wichtigen neuronalen Funktionen zugeschrieben, wie z.B. dendritische Integration, synaptische Transmission, Langzeitpotenzierung und Lernen (Biel et al., 2009). Die Beteiligung von I_h an Oszillationen im thalamokortikalen Netzwerk wurde bereits in Kapitel 1.1.2 erläutert.

Der Beitrag von HCN-Kanälen als Zielstruktur für Anästhetika sind schon seit längerem Gegenstand wissenschaftlicher Forschung (Franks, 2008). Die Wirkung auf HCN-Kanäle in thalamokortikalen Schaltneuronen wurde bereits für mehrere Substanzen bestätigt: Propofol (Ying et al., 2006), Halothan (Budde et al., 2008), Xenon (Mattusch et al., 2015) und Sevofluran (Schwerin et al., 2021). In diesem Promotionsvorhaben wird untersucht, ob Dexmedetomidin ebenfalls eine Wirkung an HCN-Kanälen zeigt.

1.3 Dexmedetomidin

Dexmedetomidin ist ein α_2 -Adrenozeptor-Agonist mit sedierender, analgetischer und anxiolytischer Wirkung. Es ist das pharmakologisch aktive, rechtsdrehende D-Enantiomer von Medetomidin, welches in der Veterinärmedizin zur Sedierung verwendet wird (Chrysostomou & Schmitt, 2008). In den USA wird Dexmedetomidin seit Ende der neunziger Jahre eingesetzt. Eine Zulassung für den klinischen Einsatz in der EU erhielt es 2011 von der Europäischen Arzneimittel-Agentur (Ihmsen & Saari, 2012).

1.3.1 Chemische und pharmakokinetische Eigenschaften

Dexmedetomidin ist ein Imidazolderivat mit der chemischen Bezeichnung 4-[(1S)-1-(2,3-Dimethylphenyl)ethyl]-1H-imidazol. Im klinischen Einsatz wird Dexmedetomidinhydrochlorid verwendet (Abbildung 4), ein wasserlösliches weißliches kristallines Pulver mit einem Molekulargewicht von 236,74 g/mol (Ihmsen & Saari, 2012).

Dexmedetomidin lässt sich intravenös, intramuskulär, intranasal, transdermal, buccal und intrathekal applizieren. Eine orale Applikationsform steht aufgrund des hohen First-Pass-Effektes nicht zur Verfügung. Die Bioverfügbarkeit nach oraler Applikation beträgt 15% (Farag et al., 2012). In Deutschland ist nur die intravenöse Applikation zugelassen, bei welcher die Wirkung nach ca. 5 Minuten eintritt. Das Wirkmaximum wird nach 15 Minuten erreicht (Rossaint et al., 2019). Die Distributionshalbwertszeit beträgt 6 Minuten und macht Dexmedetomidin somit zu einer gut steuerbaren Substanz (Giovannitti

et al., 2015). Die Plasmaproteinbindung von Dexmedetomidin ist mit 94% relativ hoch (Rossaint et al., 2019).

Die Eliminationshalbwertszeit beträgt bei gesunden Probanden 2,1-3,1 Stunden (Weerink et al., 2017). Bei kontinuierlicher Infusion kommt es zu einer verlängerten kontextsensitiven Halbwertszeit (Rossaint et al., 2019). Nach einer Infusionsdauer von 8 Stunden erhöht sich die kontextsensitive Halbwertszeit je nach Studie auf 80 (Iirola et al., 2012) bis 249 Minuten (Dyck et al., 1993). Die Clearance von Dexmedetomidin, also der Anteil vom Blutvolumen, welcher pro Zeiteinheit von Dexmedetomidin befreit wird, beträgt 0,6–0,7 l/min (Weerink et al., 2017).

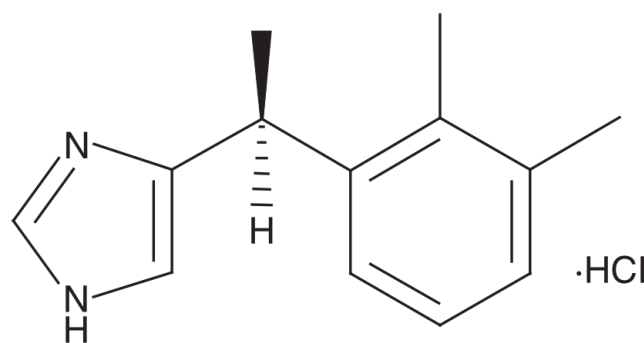


Abbildung 4: Strukturformel von Dexmedetomidinhydrochlorid (Chrysostomou & Schmitt, 2008)

Dexmedetomidin hat die chemische Summenformel $C_{13}H_{16}N_2$. Dexmedetomidinhydrochlorid ist im klinischen Einsatz als Präparat Dexdor® verfügbar, eine farblose Flüssigkeit mit einer Konzentration von 100 µg/ml Dexmedetomidin (Ihmsen & Saari, 2012). Abbildung übernommen von Chrysostomou und Schmitt (2008).

Die Metabolisierung erfolgt hepatisch. Dabei wird Dexmedetomidin auf verschiedenen Wegen zu pharmakologisch inaktiven Metaboliten verstoffwechselt (Rossaint et al., 2019). Die hepatische Extraktionsrate beträgt 0,7 (Weerink et al., 2017). Nach der hepatischen Metabolisierung werden die inaktiven Metaboliten zu 95% renal eliminiert (Chrysostomou & Schmitt, 2008).

1.3.2 Wirkmechanismen

Aufgrund der Beeinflussung von α_2 -Adrenozeptoren entfaltet Dexmedetomidin vielfältige Wirkungen an unterschiedlichen Organsystemen. Dazu gehören v.a. das Herzkreislauf-

System und das ZNS. Im folgenden wird ein Überblick über die erzielten Wirkungen mit den zugrunde liegenden Wirkmechanismen gegeben, wobei der Schwerpunkt auf der Beeinflussung des ZNS liegt.

Die Selektivität von Dexmedetomidin für den α_2 -Adrenozeptor beträgt 1:1620 ($\alpha_1:\alpha_2$). Im Gegensatz zu Clonidin, einem weiteren α_2 -Agonisten mit geringerer Selektivität, entfaltet Dexmedetomidin also praktisch keine intrinsische α_1 -Aktivität (Rossaint et al., 2019).

Die Wirkung von Dexmedetomidin auf das Herz-Kreislauf-System ist abhängig von der Konzentration im Blutplasma. Bei hohen Konzentrationen, wie sie z.B. nach einer i.v.-Bolusinjektion auftreten, kommt es zunächst zu einem Blutdruckanstieg (Ebert et al., 2000). Vermutlich liegt das an einer Aktivierung von α_2 -Adrenozeptoren in der glatten Muskulatur der Blutgefäße, wodurch eine periphere Vasokonstriktion ausgelöst wird (Weerink et al., 2017). Wenige Minuten nach der Bolusinjektion, bzw. bei einem langsamen Start der Dexmedetomidininfusion kommt es zu einem Blutdruckabfall. Hintergrund ist eine Aktivierung von präsynaptischen α_2 -Adrenozeptoren, was zu einer verminderten Freisetzung von Noradrenalin führt. Außerdem führt die beginnende Wirkung von Dexmedetomidin im ZNS zu einer verminderten Sympathikusaktivität und begünstigt so ebenso den Blutdruckabfall (Weerink et al., 2017). Sowohl bei hohen als auch bei niedrigen Blutplasmaspiegeln zeigt sich ein Abfall der Herzfrequenz, welcher ebenfalls durch die verminderte Sympathikusaktivität zustande kommt. Ein durch Dexmedetomidin ausgelöster Hypertonus trägt zusätzlich durch eine Aktivierung von Barorezeptoren zur Bradykardie bei (Bloor et al., 1992). Durch den Herzfrequenzabfall sinkt das Herz-Zeit-Volumen. Das Herzschlagvolumen zeigt bei klinisch üblichen Plasmaspiegeln keine Veränderung (Ebert et al., 2000).

Dexmedetomidin bewirkt i.d.R. keine Atemdepression. Selbst bei sehr hohen Blutplasmakonzentrationen zeigten junge, gesunde Probanden kaum Veränderungen der Atemfrequenz und Sauerstoffsättigung (Ebert et al., 2000). Eine andere Studie mit jungen, gesunden Probanden zeigte jedoch eine herabgesetzte respiratorische Antwort auf hypoxische oder hyperkapnische Atemsituationen (Lodenus et al., 2016). Außerdem gibt es Fallberichte, dass Dexmedetomidin in Kombination mit anderen Sedativa oder Analgetika deren respiratorisch depressive Wirkung verstärken kann (Ho et al., 2005).

Das Ausmaß der analgetischen Wirkung von Dexmedetomidin wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. In der Studie von Ebert et al. (2000) zeigte Dexmedetomidin erst ab hohen Plasmakonzentration (ab 1,9 ng/ml) eine analgetische Wirkung. Cortinez et al.

(2004) berichteten über eine analgetische Wirkung von Dexmedetomidin auf einen Hitze-reiz, welche jedoch im Vergleich zu Remifentanyl deutlich geringer ausfiel. Bei einer Pro-bandenstudie von Angst et al. (2004) zeigte Dexmedetomidin keine analgetische Wirkung gegenüber Hitze und Stromreize. Auch falls Dexmedetomidin als alleiniges Analgetikum keine ausreichende Wirkung erzeugt, so kann es in Kombination mit Opioiden zu einer Reduzierung der Opioiddosis eingesetzt werden. Bei Patienten, die mit Dexmedetomidin sediert waren, konnte eine signifikant geringere Menge an Alfentanil verwendet werden, als bei Patienten, die mit Propofol sediert waren (Venn & Grounds, 2001). Auch der Zusatz von Dexmedetomidin zu Morphin in einer PCA-Pumpe (PCA: *patient-controlled analgesia*) zur postoperativen Schmerzkontrolle führte zu einer Einsparung von 29% Morphin und zu einer Reduzierung der Morphin-induzierten Übelkeit (Lin et al., 2009). Die analgetische Wirkung von Dexmedetomidin beruht vermutlich auf einer Stimulation von α_2 -Adrenozeptoren auf spinaler Ebene, wodurch noradrenerge, nozizeptive Neurone direkt im Hinterhorn des Rückenmarks gehemmt werden. Zusätzlich geht man von einer Stimulation von absteigenden, hemmenden Bahnen aus dem Locus Coeruleus aus (Rossaint et al., 2019).

Dexmedetomidin führt zu einem sedierten Zustand, in dem die Patienten auf starke Reize erweckbar bleiben. Dieser Zustand wird als „*arousable sedation*“ bezeichnet. Erst bei hohen Konzentrationen ab einem Blutplasmaspiegel von etwa 2,0 ng/ml sind die Patienten nicht mehr erweckbar (Ebert et al., 2000). Ursache der Sedierung ist u.a. eine Blockade von prä- und postsynaptischen α_2 -Adrenozeptoren im Locus Coeruleus. Der Locus Coeruleus enthält wichtige noradrenerge Signalwege und hat eine sehr hohe Dichte an α_2 -Adrenozeptoren (Correa-Sales, Rabin, B.S., Bradford C. et al., 1992; Gertler et al., 2001). Die Aktivierung der α_2 -Adrenozeptoren führt G-Protein gekoppelt zu einer Inhibierung der Adenylatzyklase und somit zu einer verminderten intrazellulären Konzentration von cAMP. Außerdem wird die Aktivität von Ionenkanälen durch G-Protein-gekoppelte Signalwege moduliert. So führt die Aktivierung von Kalium-Kanälen zu einem Ausstrom von Kalium und zu einer Hyperpolarisation der Zelle, wodurch diese unempfindlicher für exzitatorische Reize wird. Durch die Aktivierung von präsynaptischen α_2 -Adrenozeptoren wird der Kalziumeinstrom an der Präsynapse unterdrückt und damit die Ausschüttung von Neurotransmittern gehemmt (Gertler et al., 2001).

Es gibt jedoch noch weitere Theorien, wie Dexmedetomidin seine Wirkung im ZNS entfaltet. Durch die Aktivierung von α_2 -Adrenozeptoren wird zusätzlich zum cAMP-Signalweg auch ein Signalweg aktiviert, welcher zur Aktivierung von Protein Kinase

C (PKC) führt. Inyushin et al. (2010) zeigten diesen Zusammenhang für Clonidin und UK14304, einen weiteren α_2 -Agonisten, für dopaminerge Neurone in der Area tegmentalis ventralis. Ein Effekt dieser PKC-Aktivierung ist vermutlich die Inhibition von I_h , welcher durch HCN-Kanäle vermittelt wird. Tatsächlich zeigte Clonidin bereits in mehreren Studien eine Reduzierung von I_h in verschiedenen Gehirnregionen, wie z.B. in Pyramidenzellen im Präfrontalen Kortex von Ratten (Carr et al., 2007) und in Spinalganglienzellen von Ratten (Yagi & Sumino, 1998). Dabei blieb unklar, ob dieser Effekt nur auf dem PKC-Signalweg beruht, oder ob auch eine direkte Inhibition von HCN-Kanälen zum reduzierten Strom I_h führt. Da Clonidin die deutlich ältere Substanz ist, und eine bessere Studienlage vorliegt, ist nun die Frage, inwiefern sich diese Ergebnisse auch auf Dexmedetomidin übertragen lassen. Yang et al. (2014) zeigten, dass auch Dexmedetomidin zu einer Beeinflussung von HCN-Kanälen führt. Die Untersuchungen wurden an HEK-Zellen durchgeführt (HEK: *human embryonic kidney*), welche HCN-Kanäle exprimierten. Sie zeigten eine konzentrationsabhängige Abnahme der maximalen Ströme durch HCN-Kanäle. Außerdem berichten Yang et al. (2014) von einer analgetischen Wirkung von Dexmedetomidin bei Mäusen, welche durch Kombination mit Yohimbin (α_2 -Antagonist) abgeschwächt wurde. Auch diese Ergebnisse lassen eine Beeinflussung der HCN-Kanäle durch α_2 -Rezeptoraktivierung vermuten. Da die analgetische Wirkung durch Zugabe von Yohimbin allerdings nicht komplett verschwand, kann auch von einem α_2 -Rezeptor-unabhängigen Mechanismus zur Beeinflussung der HCN-Kanäle durch Dexmedetomidin ausgegangen werden (Yang et al., 2014).

Der durch Dexmedetomidin induzierte sedierte Zustand ähnelt nicht nur durch die leichte Erweckbarkeit der Patienten dem physiologischen Schlaf, auch im EEG lassen sich zu diesem Vergleich Hinweise finden. Das durch Dexmedetomidin erzeugte Muster im EEG besteht aus δ -Oszillationen mit Spindeln und ähnelt dem EEG, das beim physiologischen Non-REM-Schlaf Stadium 2 auftritt (Purdon et al., 2015). Huupponen et al. (2008) verglichen diese Spindeln unter Dexmedetomidin-Sedierung mit denen, die bei physiologischem Schlaf auftreten. Die Spindeln hatten eine ähnliche Dichte, Amplitude und Frequenz, allein bei der Dauer von Dexmedetomidin-Spindeln und Schlafspindeln zeigten sich signifikante Unterschiede (1,11 s vs. 0,88 s). Andere Anästhetika hingegen zeigten nur auf den ersten Blick Ähnlichkeiten mit dem Schlaf-EEG, bei der genauen Analyse waren Unterschiede sichtbar (Purdon et al., 2015). Der direkte Vergleich vom EEG unter Propofol und Dexmedetomidin zeigte Unterschiede. Diese ließen den Schluß zu, dass Dexmedetomidin und Propofol das Gehirn in verschiedene Zustände versetzen (Akeju, Pavone et al., 2014).

Die Schlafspindeln werden im Thalamus durch synaptische Interaktionen innerhalb des thalamokortikalen Netzwerkes erzeugt (Steriade et al., 1993). Deshalb kann vermutet werden, dass auch Dexmedetomidin seine Wirkung teilweise durch Beeinflussung des thalamokortikalen Netzwerkes entfaltet. Diese Vermutung wird durch die Studie von Akeju, Loggia et al. (2014) unterstützt, welche das Gehirn von Probanden während der Sedierung mit Dexmedetomidin in der PET und in der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) untersuchten. Im Thalamus wurde ein verringerter Glukose-Metabolismus sowie ein erniedrigter zentraler Blutfluss beobachtet. Außerdem war im fMRT die thalamokortikale Konnektivität unterbrochen (Akeju, Loggia et al., 2014).

Eine weitere interessante Eigenschaft von Dexmedetomidin ist die delirprotektive Wirkung beim Einsatz zur Langzeitsedierung auf der Intensivstation. In einer randomisierten Studie trat ein Delir bei 54% der Patienten auf, die mit Dexmedetomidin behandelt wurden. Bei einer Sedierung mit Midazolam entwickelten hingegen 76,6% der Patienten ein Delir (Riker et al., 2009). Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2014 verglich die Inzidenz von Delirium, Erregungs- und Verwirrheitszuständen zwischen Patienten, die Dexmedetomidin erhielten oder ein anderes Sedativum (in den meisten Fällen Midazolam, Propofol oder beide kombiniert). Die Inzidenz in der Dexmedetomidin-Gruppe war mit 19% geringer als in der Kontrollgruppe (23%) (Pasin et al., 2014). Die Ursache der antideliranten Wirkung von Dexmedetomidin ist noch nicht vollständig geklärt. Ein Delir entsteht u.a. durch ein Transmitterungleichgewicht, wodurch der neuronale Informationsaustausch gestört wird. Eine zentrale Rolle scheinen dabei die Transmitter Glutamat und GABA zu spielen. Sowohl Propofol als auch Midazolam wirken an GABA-Rezeptoren, im Gegensatz zu Dexmedetomidin, was eine Erklärung für dessen delirprotektiven Effekt sein könnte (Gerlach et al., 2009; Gerresheim & Schwemmer, 2013).

1.3.3 Klinischer Einsatz

Dexmedetomidin ist in Deutschland zugelassen für die Sedierung intensivmedizinisch behandelter, erwachsener Patienten für eine Sedierungstiefe, aus der sie durch verbale Stimulation noch geweckt werden können. Dies entspricht den Klassen 0 bis -3 auf der Richmond Agitation-Sedation Scale (RAAS), also einem ruhigen bis mäßig sedierten Patienten. Dexmedetomidin sollte dabei anfangs als Infusion mit einer Geschwindigkeit von 0,7 µg/kgKG/h eingestellt werden. Danach kann die Geschwindigkeit angepasst werden auf 0,2–1,4 µg/kgKG/h, um die gewünschte Sedierungstiefe zu erreichen (EMA,

2020). Dadurch werden i.d.R. Plasmaspiegel von 0,3–2 ng/ml erreicht. Eine initiale Bolusgabe ist in Deutschland, im Gegensatz zur USA, nicht empfohlen, da dadurch das Risiko für Nebenwirkungen, insbesondere Bradykardie, steigt (Ihmsen & Saari, 2012). Im Juni 2018 erhielt Dexmedetomidin von der Europäischen Arzneimittel-Agentur die Zulassung für eine weitere Indikation und kann seitdem auch für die Sedierung nicht intubierter Patienten während diagnostischer oder chirurgischer Maßnahmen eingesetzt werden (prozedurale Sedierung) (EMA, 2020).

Zwei randomisierte, multizentrische Phase-III Studien verglichen die Wirksamkeit von Dexmedetomidin mit Midazolam und Propofol für die Langzeitsedierung von maschinell beatmeten Patienten auf der Intensivstation. Dabei war die sedierende Wirkung von Dexmedetomidin gleichwertig zu Midazolam und Propofol für leichte bis mäßige Sedierung. Die Beatmungsdauer der Patienten konnte verglichen mit Midazolam verkürzt werden. Außerdem waren die Patienten unter Dexmedetomidin besser in der Lage, mit dem Pflegepersonal zu kommunizieren und Schmerzen mitzuteilen. Allerdings konnte die Aufenthaltsdauer der Patienten auf der Intensivstation nicht verkürzt werden (Jakob et al., 2012). Für eine tiefe Sedierung ist Dexmedetomidin nicht geeignet (Ruokonen et al., 2009). Eine weitere randomisierte Studie untersuchte die 90-Tages Mortalität von schwerkranken Patienten, die schon früh mit Dexmedetomidin sediert worden sind. Verglichen mit der üblichen Behandlung (Propofol und/oder Midazolam) zeigte Dexmedetomidin keinen Vorteil bezüglich der Mortalität (Shehabi et al., 2019).

Die häufigsten Nebenwirkungen von Dexmedetomidin sind Bradykardie und Hypotension, welche bei 14,2% (Jakob et al., 2012) bis 42% (Riker et al., 2009) der Patienten auftraten. In seltenen Fällen kann die Bradykardie in eine Asystolie übergehen (Shehabi et al., 2019). Besonders gefährdet durch diese Nebenwirkungen sind Patienten mit hohem Alter, atrioventrikulärem Block, Hypovolämie oder mit einer negativ-chronotropen Vormedikation (Davy et al., 2017).

1.4 Zielsetzung dieser Arbeit

Im Rahmen dieses Promotionsvorhabens soll die Wirkung des Sedativums Dexmedetomidin auf die Erregbarkeit von TC-Neuronen im ventrobasalen Kernkomplex des Thalamus untersucht werden. Die TC-Neurone spielen eine entscheidende Rolle beim Schlaf-Wach-Rhythmus und beim anästhetikavermittelten Bewusstseinsverlust. Deshalb ist de-

ren Beteiligung am Wirkmechanismus von Dexmedetomidin von besonderem Interesse, da sich die Sedierung durch Dexmedetomidin (*arousable sedation*) von anderen Anästhetika abhebt. Zur Untersuchung der TC-Neurone werden an ihnen elektrophysiologische Patch-Clamp-Ableitungen im Akut-Hirnschnittpräparat durchgeführt.

Dabei sollen die folgenden Fragen geklärt werden:

1. Beeinflusst Dexmedetomidin die intrinsische Erregbarkeit von TC-Neuronen?
2. Wie wirkt Dexmedetomidin auf die HCN-Kanal vermittelten Ströme in TC-Neuronen?

2 Material und Methoden

2.1 Präparation der Hirnschnitte

Die Versuche dieses Promotionsvorhabens wurden im vitalen Hirnschnittpräparat durchgeführt. Diese wurden aus drei bis fünf Wochen alten, weiblichen c57Bl6 Mäusen gewonnen. Die Tötung der Mäuse erfolgte ausschließlich, um die Gehirne zu wissenschaftlichen Zwecken zu verwenden, nämlich zur Herstellung der Hirnschnittpräparate. Aus diesem Grund handelte es sich bei den Versuchen nicht um Tierversuche im Sinne des Tierschutzgesetzes (vgl. §7 Abs. 2 Satz 3 TierSchG 2006). Die Tiere wurden mit dem Anästhetikum Isofluran (Isofluran CP®; CP-Pharma GmbH, Burgdorf, Deutschland) narkotisiert und anschließend mit einer Guillotine (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) dekapitiert. Alle weiteren Präparationsschritte fanden in eisgekühlter artifizierlicher Cerebrospinalflüssigkeit (aCSF) statt. Diese wurde kontinuierlich mit Carbogengas (95% CO₂, 5% O₂) gesättigt. Zur Zusammensetzung der aCSF siehe Tabelle 1.

Nach Öffnung der Schädeldecke wurde das Gehirn atraumatisch aus der Schädelkalotte entfernt. Um die thalamokortikale Konnektivität zu erhalten, wurde die gewinkelte

Tabelle 1: Zusammensetzung der artifizierten Cerebrospinalflüssigkeit (aCSF) für die Präparation, pH = 7,4

Substanz	Molekulargewicht (g mol ⁻¹)	Konzentration (mM)
NaCl	58,44	125,0
KCl	74,55	2,5
NaH ₂ PO ₄ -Monohydrat	137,99	1,25
MgCl ₂ -Hexahydrat	203,30	6,0
D(+)-Glucose-Monohydrat	198,17	25,0
NaHCO ₃	84,01	25,0
CaCl ₂ -Dihydrat	147,01	0,5

Tabelle 2: Zusammensetzung der artifiziellen Cerebrospinalflüssigkeit (aCSF) für die Messungen, pH = 7,4

Substanz	Molekulargewicht (g mol ⁻¹)	Konzentration (mM)
NaCl	58,44	125,0
KCl	74,55	2,5
NaH ₂ PO ₄ -Monohydrat	137,99	1,25
MgCl ₂ -Hexahydrat	203,30	1,0
D(+)-Glucose-Monohydrat	198,17	25,0
NaHCO ₃	84,01	25,0
CaCl ₂ -Dihydrat	147,01	2,0

Schnittführung nach Agmon und Connors (1991) angewendet. Dazu wurde das Gehirn mit der Basis nach unten platziert. Mithilfe einer Drehvorrichtung wurde eine Rasierklinke um 55° zur sagittalen Mittellinie des Gehirns rotiert und um 10° in der Horizontalebene geneigt. Das rostrale Ende des Gehirns wurde abgetrennt. Mit der entstandenen Schnittfläche nach unten wurde das Gehirn mit Histoakrylkleber (Histoacryl®, B.Braun, Melsungen, Deutschland) auf einem Metallblock befestigt. Der Metallblock wurde waagrecht in ein Vibratom (Microm HM 650V, Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Deutschland) eingesetzt, mit welchem die Schnitte mit einer Dicke von 350 µm angefertigt wurden.

Die fertigen Schnitte wurden in einem Aufbewahrungsgefäß mit aCSF gelagert, in das kontinuierlich Carbogengas eingeleitet wurde. Diese Mess-aCSF unterschied sich bezüglich der Kalzium- und Magnesiumkonzentration von der aCSF, die zum Präparieren verwendet wurde (Tabelle 2).

Vor dem Beginn der Versuche hatten die Schnitte eine Ruhezeit von mindestens 60 Minuten. Die ersten 30 Minuten befand sich das Aufbewahrungsgefäß in einem Wasserbad mit 35 °C und anschließend wurden die Schnitte bei Raumtemperatur gelagert. Während der gesamten Ruhezeit wurde die Zufuhr von Carbogengas sichergestellt.

2.2 Elektrophysiologie

Die Versuche dieser Arbeit wurden mittels Patch-Clamp-Technik durchgeführt. Die Patch-Clamp-Technik ermöglicht es, den Strom durch Ionenkanäle in der Zellmembran zu mes-

sen. Anstatt die Zellmembran mit einer scharfen Mikroelektrode im Rahmen der intrazellulären Ableitung zu durchstechen, wird eine Glaspipette auf die Zellmembran aufgesetzt. Für diese Messmethode muss ein sehr hoher Abdichtungswiderstand zwischen Pipette und Membran vorliegen. Dieser liegt im Gigaohm Bereich („gigaseal“)(Numberger et al., 1996).

Die Patch-Clamp-Technik ermöglicht verschiedene Mess-Konfigurationen. Die beiden wichtigsten sind die Cell-Attached-Konfiguration und die Whole-Cell-Konfiguration. Bei der Cell-Attached-Konfiguration wird die Zellmembran in die Pipette eingesaugt. Dadurch können die Ionenkanäle gemessen werden, die sich auf dem Membranstück („patch“) innerhalb der Pipette befinden. Wird dieses Membranstück eingerissen, erhält man einen Zugang zum Intrazellulärraum und befindet sich in der Whole-Cell-Konfiguration (Ganzzelleableitung). Damit lassen sich Ströme über der gesamten Zellmembran ableiten. Es kommt zur Diffusion der Bestandteile der in der Messpipette befindlichen Intrazellulärlösung (IZ) mit dem Zytoplasma. Unter diesen Ableitbedingungen kann man daher auch Einfluss auf die Zusammensetzung des Zytoplasmas nehmen. Alle in dieser Arbeit durchgeführten Messungen erfolgten in der Whole-Cell-Konfiguration.

Der verwendete Patch-Clamp-Verstärker (SEC 10L, NPI electronic, Tamm, Deutschland) bietet verschiedene Mess-Modi. Im Voltage-Clamp-Modus hält der Verstärker ein individuell festgesetztes Potential der Zellmembran (Haltepotential). Kommt es zu einer Veränderung des Membranpotentials durch Ein- oder Ausstrom von Ionen, gleicht der Verstärker dies durch Strominjektion aus (Kompensationsstrom), bis das Haltepotential wieder erreicht wird. Dieser Kompensationsstrom stellt somit indirekt Ströme durch die Membran dar. Im Current-Clamp-Modus wird eine definierbare Menge Strom in die Zelle injiziert und der Verstärker misst die Veränderungen des Membranpotentials. Damit lassen sich physiologische Erregungsmuster der Zelle ableiten und beispielsweise das Ruhemembranpotential der Zelle bestimmen (Molleman, 2003).

2.2.1 Versuchsaufbau

Die Hirnschnitte wurden für die Messungen in die Ableitkammer gelegt. Diese wurde kontinuierlich mit Carbogengas-gesättigeter aCSF perfundiert. Die Begasung der aCSF mit Carbogen fand in einem Flüssigkeitsreservoir statt. Die Rezirkulation der aCSF zwischen der Ableitkammer und dem Flüssigkeitsreservoir gewährleistete eine konstante Versorgung der Hirnschnitte mit Sauerstoff. In das Flüssigkeitsreservoir wurden die benötigten

Substanzen (z.B. Antagonisten oder die Testsubstanz Dexmedetomidin) hinzugegeben.

Um strömungsbedingte Bewegungen der Hirnschnitte zu vermeiden, wurden sie fixiert. Die Fixierung bestand aus einem U-förmig gebogenen Platindraht, der zwei Nylonfäden aufspannte und welcher auf dem Hirnschnitt platziert wurde.

Das Mikroskop und die Patch-Pipette wurden durch Mikromanipulatoren (SM7 - Remote control system, Luigs & Neumann, Feinmechanik + Elektrotechnik GmbH, Ratingen, Deutschland) gesteuert, wodurch beide in allen drei Raumrichtungen unabhängig voneinander bewegt werden konnten.

2.2.2 Infrarot-Videomikroskopie

Die Neurone wurden mittels Infrarot (IR)-Videomikroskopie visualisiert. Das langwellige IR-Licht kann den Hirnschnitt leichter durchdringen als sichtbares Licht (Stuart et al., 1993). In Hirnschnitten sind die Neurone sehr dicht gepackt. Das sichtbare Licht wird an Neuronen, die über- und unterhalb der Fokusebene liegen, gestreut. Deshalb lassen sich Neurone mit der Standardmikroskopie schlecht darstellen. Eine Verminderung der Lichtstreuung wird durch Erhöhung der Wellenlänge und indirekt durch elektronische Kontrastverstärkung durch die Videokamera erreicht (Dodt & Zieglgänsberger, 1998). Eine weitere Möglichkeit, um den Kontrast zu verstärken, ist das Gradientenkontrast (GC)-Verfahren. Durch eine Viertelfeldbeleuchtung und einem nachgeschalteten Diffusor wird das Streulicht im Hirnschnitt noch weiter minimiert (Dodt et al., 2002).

Die Kombination aus Infrarot-Licht, der elektronischen Kontrastverstärkung und dem GC-Verfahren ermöglichen die Visualisierung von Neuronen in einer Tiefe von 80–100 nm im Hirnschnitt (Dodt & Zieglgänsberger, 1998).

Um das Infrarot-Licht zu erzeugen, wurde ein IR-Interferenzfilter zwischen Halogenlampe und Kondensor positioniert. Dadurch gelangte das IR-Licht mit einer Wellenlänge von 780 nm in den Strahlengang des Mikroskops (Axioscop FS, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland). Das Mikroskop war mit einem 60-fach vergrößernden Wasser-Immersionsobjektiv (numerische Apertur 0,9; Olympus, Hamburg, Deutschland) ausgestattet. Eine Streuungslinse (Barlow-Linse) erzeugte eine zweifache Vergrößerung des Bildes. Mit Hilfe einer infrarot-sensitiven Videokamera (Digital Camera C11440, ORCAflash4.0LT, Hamamatsu Photonics Deutschland GmbH, Herrsching am Ammersee, Deutschland) wurde das Mikroskopiebild in Echtzeit auf einem Monitor visualisiert.

2.2.3 Pipetten

Die Pipetten für die Patch-Clamp-Messungen wurden aus Borosilikatglaskapillaren mit einem Innendurchmesser von 1,17 mm und einem Außendurchmesser von 1,5 mm (GB150 EFT-10, Science Products GmbH, Hofheim, Deutschland), mithilfe eines Horizontal-Pipettenziehgerätes (DMZ Universal Electrode Puller, Zeitz-Instruments Vertriebs GmbH, Martinsried, Deutschland) angefertigt. Die Pipettenöffnung konnte durch die Einstellung verschiedener Parameter auf circa 1 μm eingestellt werden. Der Gleichstromwiderstand der gefüllten Pipetten betrug 3,5–7 M Ω . Die Pipetten wurden mit Intrazellulärlösung (siehe Tabelle 3) befüllt. Innerhalb der Patch-Pipette lag ein chlorierter Silberdraht, über den die Pipette mit dem Patch-Clamp-Verstärker verbunden war.

Tabelle 3: Zusammensetzung der Intrazellulärlösung, pH = 7,25

Substanz	Molekulargewicht (g mol ⁻¹)	Konzentration (mM)
K-Glukonat	234,24	130,0
NaCl	58,44	5,0
MgCl ₂ -Hexahydrat	203,30	2,0
HEPES	238,30	10,0
EGTA	380,35	0,5
ATP-K	619,39	2,0
GTP-Na	523,18	0,3

2.2.4 Etablierung der Ganzzelleableitung

Auf die Patch-Pipette wurde über den Pipettenhalter ein Überdruck angelegt. Dadurch wurde verhindert, dass bei Bewegung durch den Hirnschnitt Verunreinigungen in die Pipette gelangen. Die Pipette wurde unter Sicht durch das Mikroskop mit dem Mikro-manipulator in den Hirnschnitt hineingefahren. Im Ventrobasal-Komplex des Thalamus wurde ein geeignetes Neuron ausgewählt. Unter Mikroskopsicht wurde die Pipettenspitze an die Zellmembran angenähert (Abbildung 5), bis in der Zellmembran eine kleine Einstülpung erkennbar war. Die Zellmembran wurde zunächst durch Ablassen des Überdrucks und später durch Anlegen eines Unterdrucks an die Pipette eingezogen. Die Zelle befand sich dadurch in der Cell-Attached-Konfiguration. Durch die dichte Verbindung

zwischen Pipettenspitze und Zellmembran entstand der Gigaseal. Am Verstärker wurde im Voltage-Clamp-Modus ein Haltepotential von -70 mV eingestellt. Über einen zweiten Sog, der kürzer und stärker als der erste war, wurde die Zellmembran eröffnet. Dadurch wurde die Whole-Cell-Konfiguration erreicht. Bevor die Messungen gestartet wurden, wurde fünf Minuten gewartet, damit der Austausch des Zytoplasmas und der künstlichen IZ stattfinden und die Zelle sich stabilisieren konnte.

Die Experimente wurden bei Raumtemperatur (19 – 23 °C) durchgeführt. Die Messungen erfolgten in Anwesenheit von 150 μ M Ba^{2+} , um Ionenströme durch K_{IR} - und TASK-Kanäle zu inhibieren (Meuth et al., 2003). Diese würden mit den Messungen der Ionenströme durch HCN-Kanäle interferieren (Budde et al., 2008).



Abbildung 5: Infrarotvideomikroskopische Aufnahme eines Hirnschnittes

Im Hirnschnittpräparat sieht man ein vitales thalamokortikales Schaltneuron und die Patch-Pipette. Die Annäherung der Pipette zum Neuron fand unter Sicht statt.

2.2.5 Charakterisierung der thalamokortikalen Schaltneurone

Um zu verifizieren, dass es sich bei dem abgeleiteten Neuron um ein thalamokortikales Schaltneuron (TC-Neuron) handelt, wurden zunächst die elektrophysiologischen Eigenschaften im Current-Clamp-Modus betrachtet. Die Applikation eines Hyperpolarisationspulses von -350 pA über eine Dauer von 500 ms löste einen für TC-Neurone charakteristischen, depolarisierenden Kationenstrom aus (sog. „Voltage Sag“)(Ying et al., 2006). Nach der Repolarisation entstand eine Salve von Aktionspotentialen (sog. „Re-

bound Burst“), der eine lange Nachdepolarisation („Afterdepolarisation“, ADP) folgte (Abbildung 6). Der Voltage Sag wird durch HCN-Kanäle vermittelt, da sich diese durch den Hyperpolarisationspuls öffnen (Bal & McCormick, 1996).

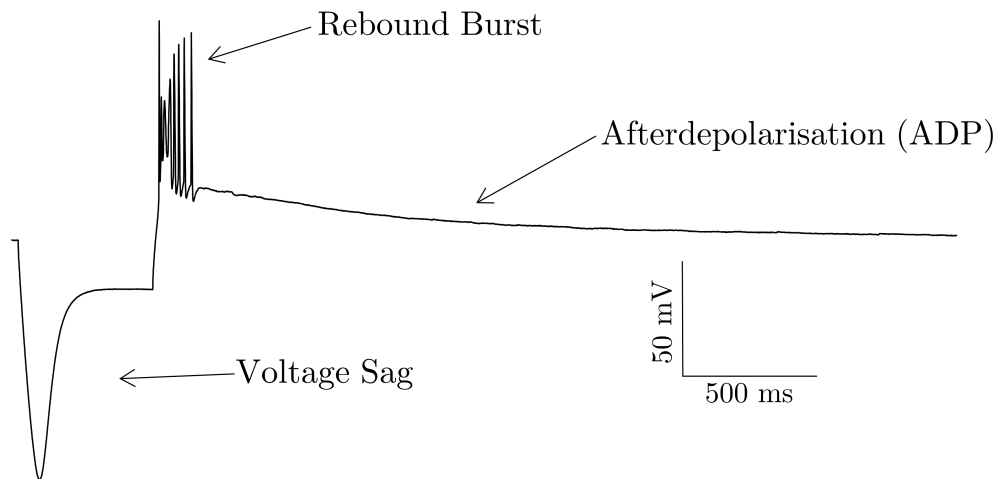


Abbildung 6: Spannungsantwort eines TC-Neurons auf einen Hyperpolarisationspuls

Applikation eines Hyperpolarisationspulses von -350 pA (Dauer 500 ms) aktivierte den „Voltage Sag“ (depolarisierender Kationen-Strom). Weitere charakteristische Reaktionen der TC-Neurone auf den Strompuls stellen eine Salve von Aktionspotentialen („Rebound Burst“) und eine darauffolgende Nachdepolarisation („Afterdepolarisation“, ADP) dar.

2.2.6 Strom-Spannungsbeziehung

Die Strom-Spannungskurven (IV-Kurven) wurden im Current-Clamp-Modus aufgezeichnet. Strompulse wurden über 500 ms in steigender depolarisierender Richtung von -90 bis 350 pA an die Zelle abgegeben ($\Delta I = 10$ pA) und die resultierende Membranspannung in Abhängigkeit der injizierten Ströme gemessen. Bei einer Strominjektion von -90 pA lässt sich der Membranwiderstand (sog. input resistance) ablesen. Die Auswertung der Messspur mit ausbleibender Strominjektion liefert das Ruhemembranpotential der Zelle. Außerdem lässt sich an der Messspur, bei welcher erstmals ein Aktionspotential auftritt, die Aktionspotentialschwelle der Zelle ablesen. Die maximale Aktionspotentialfrequenz der Zelle wurde bei der Strominjektion von 190 pA bestimmt.

2.2.7 HCN-Kanal-Messungen

Die Messungen wurden im Voltage-Clamp-Modus durchgeführt. Die Aktivierung des Stroms I_h erfolgte durch Spannungssprünge mit zunehmender Hyperpolarisation von -43 bis -133 mV ($\Delta mV = 10$). Mit zunehmender Hyperpolarisation wurde die Pulslänge um $1,5$ s verkürzt. Durch diese Verkürzung wurde die Stabilität der Ableitung gefördert, ohne die immer schneller werdende Aktivierungskinetik der Kanäle zu beeinträchtigen (Mattusch et al., 2015). Nach jedem Spannungssprung wurde die Zelle auf ein Bezugspotential von -103 mV gebracht und anschließend zurück auf das Haltepotential von -43 mV, um die HCN-Kanäle vor dem folgenden Spannungssprung zu deaktivieren. Durch den Sprung auf das Bezugspotential von -103 mV wurden sogenannten I_{Tail} -Ströme aktiviert. Diese I_{Tail} -Ströme wurden im Verhältnis zum maximalen I_{Tail} -Strom (bei einem Membranpotential von -133 mV) normalisiert, um die spannungsabhängige Aktivierung $p(V)$ der HCN-Kanäle abzuschätzen. Für diese Normalisierung wurde folgende Funktion verwendet:

$$p(V) = (I - I_{min}) / (I_{max} - I_{min})$$

I_{max} steht dabei für die I_{Tail} -Amplitude des Spannungssprungs von -133 mV auf -103 mV und I_{min} für die I_{Tail} -Amplitude Spannungssprungs von -43 mV auf -103 mV (Mattusch et al., 2015). Das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ der HCN-Kanäle ließ sich dann mittels Boltzmann-Verteilung beschreiben (Mattusch et al., 2015).

Die Aktivierungskinetik von HCN-Kanälen ist charakterisiert durch die zwei Zeitkonstanten τ_{fast} und τ_{slow} . Die Ermittlung von τ_{fast} und τ_{slow} erfolgte mittels bi-exponentieller Kurvenanpassung mit folgender Funktion:

$$y = y_0 + A_1 \cdot \exp\left(\frac{-(x - x_0)}{\tau_1}\right) + A_2 \cdot \exp\left(\frac{-(x - x_0)}{\tau_2}\right)$$

Zu Beginn jeder I_h -Stromspur trat eine Verzögerung von ca. 50 ms auf, welche für die Kurvenanpassung nicht berücksichtigt wurde (Santoro et al., 2000).

2.3 Applikation von Dexmedetomidin

Die beschriebenen Messungen wurden unter Kontrollbedingungen zweimal durchgeführt, mit einer fünf-minütigen Pause dazwischen. Bei stabilen Messungen und bei einer Zelle mit einem stabilen Ruhemembranpotential von mindestens -55 mV, wurde Dexmedetomidin zur aCSF im Flüssigkeitsreservoir hinzugegeben. Anschließend wurde 45 Minuten abgewartet, damit Dexmedetomidin über das Pumpensystem bis zur Ableitkammer mit dem Hirnschnitt gelangen konnte und dort die Möglichkeit bekam, seine Wirkung zu entfalten. Nach dieser Wartezeit wurden die Messungen wiederholt. Es wurden Konzentrationen von 1 μ M, 10 μ M und 100 μ M Dexmedetomidin untersucht. Dexmedetomidin lag in Form von Dexmedetomidinhydrochlorid als Pulver vor. Für die Zugabe zur aCSF wurde es in destilliertem Wasser gelöst und bis zu Verwendung eingefroren. Für die Konzentration von 100 μ M Dexmedetomidin wurde das Pulver direkt in aCSF gelöst und eingefroren. Um zu überprüfen, ob die unter Dexmedetomidin beobachteten Effekte reversibel waren, wurde die Substanz bei ca. der Hälfte der Zellen wieder ausgewaschen. Dazu wurde die Ableitkammer 30 Minuten lang mit frischer aCSF durchspült.

2.4 Auswertung und Statistik

Die Aufzeichnung der Messungen erfolgte mit HEKA Pulse (Heka Elektronik Dr. Schulze GmbH, Lambrecht, Deutschland) und die Auswertung der Daten mit Igor Pro 5 (Wave Metrics, Lake Oswego, USA). Für die Auswertung der Aktionspotentialfrequenzen wurde Mini Analysis (Synaptosoft, Fort Lee, USA) verwendet.

Die Zusammenstellung der Daten wurde mit Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) vorgenommen. Die statistische Auswertung und die Erstellung der Grafiken erfolgte mit GraphPad Prism 7.03 (GraphPad Software, Inc, USA).

Zur statistischen Analyse wurde der nicht-parametrische Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben mit Dunn-Test als Post-hoc-Testverfahren verwendet, um auf signifikante Unterschiede zwischen den Messreihen zu testen. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 5\%$ festgelegt. Bei einem p-Wert $< 0,05$ wurde das Ergebnis als statistisch signifikant bewertet, worauf in den Grafiken mit einem Asterisk hingewiesen wird. Nicht-signifikante Ergebnisse werden in den Grafiken z.T. zur Verdeutlichung mit „ns“ gekennzeichnet. Alle Daten sind als Mediane mit Interquartilsabstand (IQR) angegeben.

3 Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde der Einfluss des Anästhetikums Dexmedetomidin auf die intrinsische Erregbarkeit thalamokortikaler Schaltneurone (TC-Neurone) untersucht. Darüber hinaus wurde untersucht, inwiefern Dexmedetomidin die Funktion von in TC-Neuronen exprimierten HCN-Kanälen moduliert.

3.1 Elektrophysiologische Eigenschaften der TC-Neurone

Nach der erfolgreichen Etablierung der Ganzzelleableitung eines Neurons wurde anhand der elektrophysiologischen Reaktion des Neurons auf einen Hyperpolarisationspuls verifiziert, dass es sich um ein TC-Neuron handelt. Ein TC-Neuron reagiert auf einen Hyperpolarisationspuls mit einem charakteristischem Voltage Sag und anschließendem Rebound Burst (siehe dazu Kapitel 2.2.5). Diese Reaktion wird durch HCN-Kanäle vermittelt, die stark in TC-Neuronen exprimiert sind (Moosmang et al., 1999). Die Ableitungen der Neurone wurden im Current-Clamp-Modus durchgeführt. Es wurden Konzentrationen von 1 μM , 10 μM und 100 μM Dexmedetomidin (Dex) untersucht. Die Bestimmung des Einflusses von Dexmedetomidin erfolgte 45 Minuten nach der Zugabe der Substanz in der jeweiligen Zielkonzentration. Die Ergebnisse sind als Median mit Interquartilsabstand (IQR) angegeben.

3.1.1 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag

Erhoben wurde die Amplitude des Voltage Sag (Abbildung 7 A). Unter Kontrollbedingungen und in Anwesenheit von 150 μM Barium zeigten die TC-Neurone einen Voltage Sag mit einer Amplitude von 86,39 mV (70,71–92,90 mV, $n = 31$). Durch Dexmedetomi-

die zeigten sich bei keiner der untersuchten Konzentrationen signifikante Veränderungen (Abbildung 7 C). Die Absolutwerte der Messungen sind in Tabelle 4 aufgeführt. Um die Vergleichbarkeit der drei Messreihen zu bestätigen, wurden die Amplituden unter Kontrollbedingungen miteinander verglichen. Diese zeigten keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 7 B).

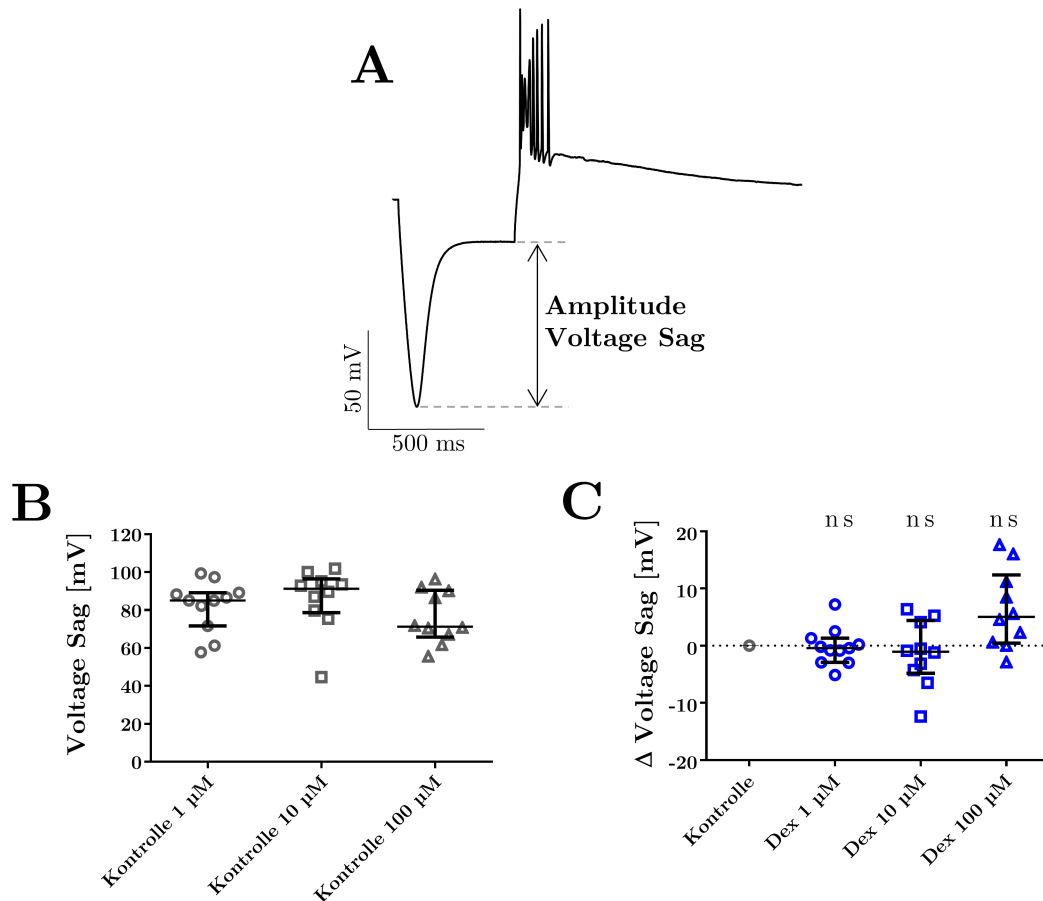


Abbildung 7: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag

A: Spannungsantwort eines TC-Neurons unter Kontrollbedingungen auf einen hyperpolarisierenden Strompuls von -350 pA mit einer Dauer von 500 ms. Reaktion des TC-Neurons mit einem depolarisierenden Kationenstrom, dem „Voltage Sag“.

B: Der Voltage Sag der Kontrollmessungen unterschied sich in den drei Messreihen nicht signifikant voneinander ($p = 0,1954$). Mediane mit Interquartilsabstand (IQR).

C: Absolute Veränderungen des Voltage Sags unter Dexmedetomidin. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen bei den untersuchten Konzentrationen. Dex 1 μ M: $n = 11$, $p > 0,999$. Dex 10 μ M: $n = 10$, $p = 0,753$. Dex 100 μ M: $n = 10$, $p = 0,083$. Mediane mit IQR.

Tabelle 4: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag in den untersuchten Konzentrationen als Absolutwerte. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μ M]	Voltage Sag (Kontrolle) [mV]	Voltage Sag (Dex) [mV]	n	p
1	85,07 (71,68–89,16)	84,90 (74,20–87,41)	11	0,999
10	91,29 (78,67–96,41)	87,33 (80,76–95,77)	10	0,753
100	71,22 (65,70–90,50)	85,72 (68,19–93,15)	10	0,083

3.1.2 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Rebound Burst

Im Anschluss an den Voltage Sag kommt es durch den applizierten Hyperpolarisationspuls zu einer Salve von Aktionspotentialen, welche als Rebound Burst bezeichnet wird. Der Rebound Burst Delay beschreibt die Verzögerung, mit welcher der Rebound Burst nach dem Ende des Voltage Sags auftritt. In den Kontrollmessungen hatten die TC-Neurone einen Rebound Burst Delay von 29 ms (27,0–30,75 ms, n = 31). Bei einer Konzentration von 100 μ M Dexmedetomidin kam es zu einer signifikanten Verlängerung (Abbildung 8 B). Die Wirkung von Dexmedetomidin auf den Rebound Burst Delay in Absolutwerten ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Rebound Burst Delay (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin in den untersuchten Konzentrationen auf den Rebound Burst Delay als Absolutwerte. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μ M]	Rebound Burst Delay (Kontrolle) [ms]	Rebound Burst Delay (Dex) [ms]	n	p
1	29,0 (27,0–30,5)	29,5 (26,5–32,0)	11	0,999
10	28,1 (24,9–29,8)	29,0 (25,3–33,1)	10	0,999
100	30,4 (27,9–31,9)	36,5 (35,4–39,5)	10	0,003

Außerdem verringerte Dexmedetomidin die Anzahl der Aktionspotentiale im Rebound

Burst bei einer Konzentration von 100 μM Dex (Abbildung 8 D). Unter Kontrollbedingungen betrug die Anzahl der Aktionspotentiale 9,5 (7,25–12,5, $n = 31$). Die Absolutwerte sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Anzahl der Aktionspotentiale (AP) im Rebound Burst (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin in den drei untersuchten Konzentrationen auf die Anzahl der Aktionspotentiale im Rebound Burst als Absolutwerte. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μM]	Anzahl AP (Kontrolle)	Anzahl AP (Dex)	n	p
1	7,75 (6,75–11,38)	9,0 (7,875–11,0)	11	0,42
10	9,63 (5,34–17,63)	7,88 (5,84–17,25)	10	0,999
100	10,5 (7,81–17,25)	4,0 (2,88–8,31)	10	0,002

Ebenso kam es bei einer Konzentration von 100 μM Dexmedetomidin zu einer signifikanten Verkürzung der Dauer vom Rebound Burst (Abbildung 8 F). Die Dauer unter Kontrollbedingungen betrug 225,5 ms (126,5–399,0 ms, $n = 31$). Die Absolutwerte sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Dauer des Rebound Burst (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin in den drei untersuchten Konzentrationen auf die Dauer des Rebound Burst als Absolutwerte. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μM]	Dauer (Kontrolle) [ms]	Dauer (Dex) [ms]	n	p
1	188,0 (117,0–389,5)	251,5 (149,0–322,5)	11	0,999
10	257,0 (118,6–572,9)	259,0 (159,8–625,3)	10	0,999
100	252,5 (129,9–679,8)	50,75 (36,0–337,5)	10	0,016

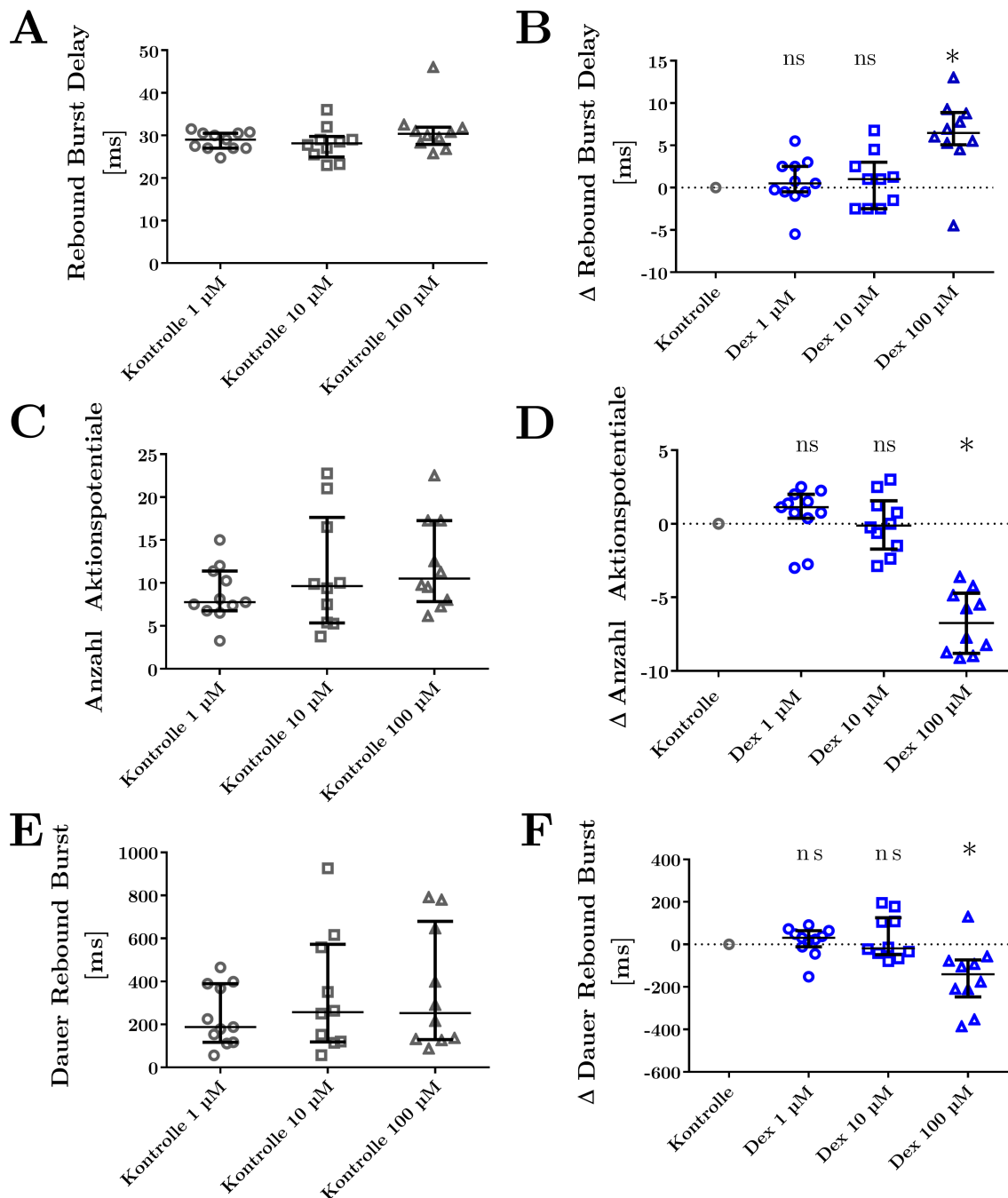


Abbildung 8: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Rebound Burst

A: Vergleich des Rebound Burst Delays der Kontrollmessungen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,2557$), weshalb von der Vergleichbarkeit der Messreihen ausgegangen werden kann. Mediane mit IQR.

B: Absolute Veränderungen des Rebound Burst Delays. Unter 1 μM und 10 μM Dexmedetomidin waren keine signifikanten Unterschiede zu beobachten (Dex 1 μM : $n = 11$, $p > 0,9999$; Dex 10 μM : $n = 10$, $p > 0,9999$). Erst bei einer Konzentration von 100 μM Dexmedetomidin kam es zu einer signifikanten Verlängerung des Rebound Burst Delays um 6,47 ms (5,06–8,86 ms, $n = 10$, $p = 0,003$).

C: Kontrollmessungen der Anzahl der Aktionspotentiale im Rebound Burst der drei Messreihen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,407$).

D: Absolute Veränderungen der Anzahl der Aktionspotentiale im Rebound Burst. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen bei den Konzentrationen von $1 \mu\text{M}$ ($n = 11$, $p = 0,42$) und $10 \mu\text{M}$ ($n = 10$, $p > 0,999$) Dex. Bei $100 \mu\text{M}$ Dex kam es zu einer Abnahme der Anzahl der Aktionspotentiale um $-6,75$ ($-8,81 - -4,72$, $n = 10$, $p = 0,002$).

E: Vergleich der Dauer des Rebound Bursts der drei Kontrollmessreihen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,736$).

F: Absolute Veränderungen der Dauer des Rebound Bursts. Auch hier zeigten sich keine signifikanten Veränderungen bei $1 \mu\text{M}$ ($n = 11$, $p > 0,999$) und $10 \mu\text{M}$ ($n = 10$, $p > 0,999$) Dex. Ein Effekt zeigte sich erst bei $100 \mu\text{M}$ Dex. Es kam zu einer Verkürzung des Rebound Bursts um $-140,3 \text{ ms}$ ($-247,1 - -72,75 \text{ ms}$, $n = 10$, $p = 0,016$).

3.2 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die biophysikalischen Membraneigenschaften von TC-Neuronen

In der Ganzzelleableitung wurden die Membraneigenschaften der TC-Neurone untersucht. Diese lassen sich aus den Kurven der Strom-Spannungsbeziehung ermitteln.

Dexmedetomidin zeigte keinen Einfluss auf das Ruhemembranpotential (Abbildung 9). Unter Kontrollbedingungen betrug das Ruhemembranpotential $-58,18 \text{ mV}$ ($-59,73 - -56,88 \text{ mV}$, $n = 31$). Die Absolutwerte des Ruhemembranpotentials der drei Messreihen sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Ruhemembranpotential (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das RMP in den drei untersuchten Konzentrationen als Absolutwerte. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μM]	RMP (Kontrolle) [mV]	RMP (Dex) [mV]	n	p
1	-58,55 (-61,12 - -55,77)	-58,85 (-61,86 - -56,85)	11	0,999
10	-58,17 (-60,23 - -57,13)	-57,60 (-61,25 - -56,17)	10	0,999
100	-57,48 (-58,47 - -56,91)	-58,73 (-59,68 - -57,11)	10	0,3416

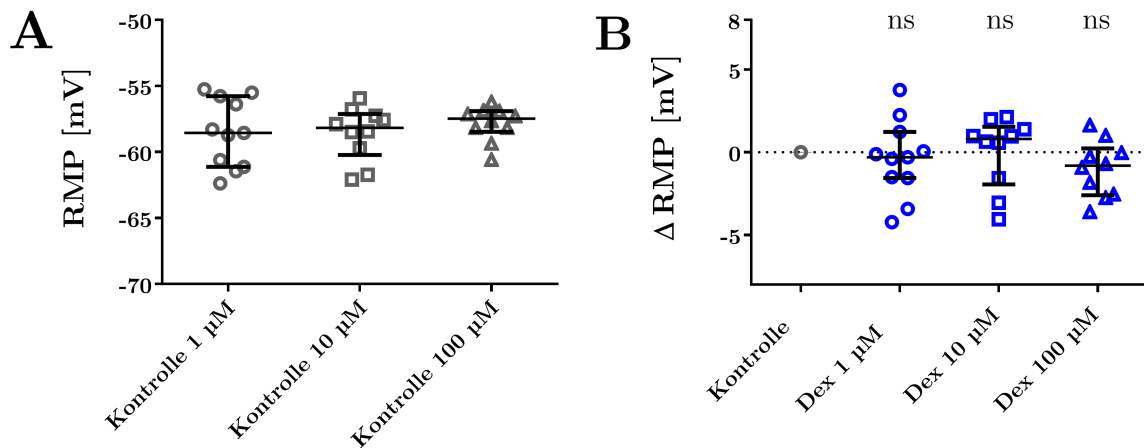


Abbildung 9: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Ruhemembranpotential

A: Das RMP unter Kontrollbedingungen zeigte bei den drei Messreihen keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,6714$), weshalb von der Vergleichbarkeit der drei Messreihen ausgegangen werden kann.

B: Bei keiner der drei untersuchten Konzentrationen zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich des RMPs. Dex 1 μM : $n = 11$, $p > 0,9999$; Dex 10 μM : $n = 10$, $p > 0,999$; Dex 100 μM : $n = 10$, $p = 0,3416$.

Nach der Applikation von Dexmedetomidin zeigte sich eine signifikante Zunahme des Membranwiderstands (R_M) der abgeleiteten Zellen ab einer Konzentration von $10\ \mu\text{M}$ (Abbildung 10 B). Zur Bestimmung des R_M wurde die Zelle über $500\ \text{ms}$ mit $-90\ \text{pA}$ stimuliert (Abbildung 10 C). Die Absolutwerte dieser Messungen sind in Tabelle 9 dargestellt. Unter Kontrollbedingungen zeigten die Zellen ein R_M von $343,4\ \text{M}\Omega$ ($252,3\text{--}365,6\ \text{M}\Omega$, $n = 31$).

Tabelle 9: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Membranwiderstand (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Membranwiderstand (R_M) in den untersuchten Konzentrationen als Absolutwerte. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μM]	R_M (Kontrolle) [$\text{M}\Omega$]	R_M (Dex) [$\text{M}\Omega$]	n	p
1	290,3 (235,4–343,4)	317,4 (260,8–337,8)	11	0,6017
10	362,7 (311,5–386,3)	393,1 (362,5–420,7)	10	0,011
100	339,4 (261,9–413,9)	424,5 (369,1–493,3)	10	0,0001

Außerdem wurde die Wirkung von Dexmedetomidin auf die Strom-Spannungsbeziehung (IV-Kurve) der TC-Neurone untersucht. Dazu wurden in die Zellen Ströme von $-90\ \text{pA}$ bis $350\ \text{pA}$ in Schritten von $10\ \text{pA}$ injiziert und gemessen, wie sich dadurch das Membranpotential der Zelle verändert hat (Δ Membranpotential). Die entsprechenden Ergebnisse sind in Abbildung 11 dargestellt.

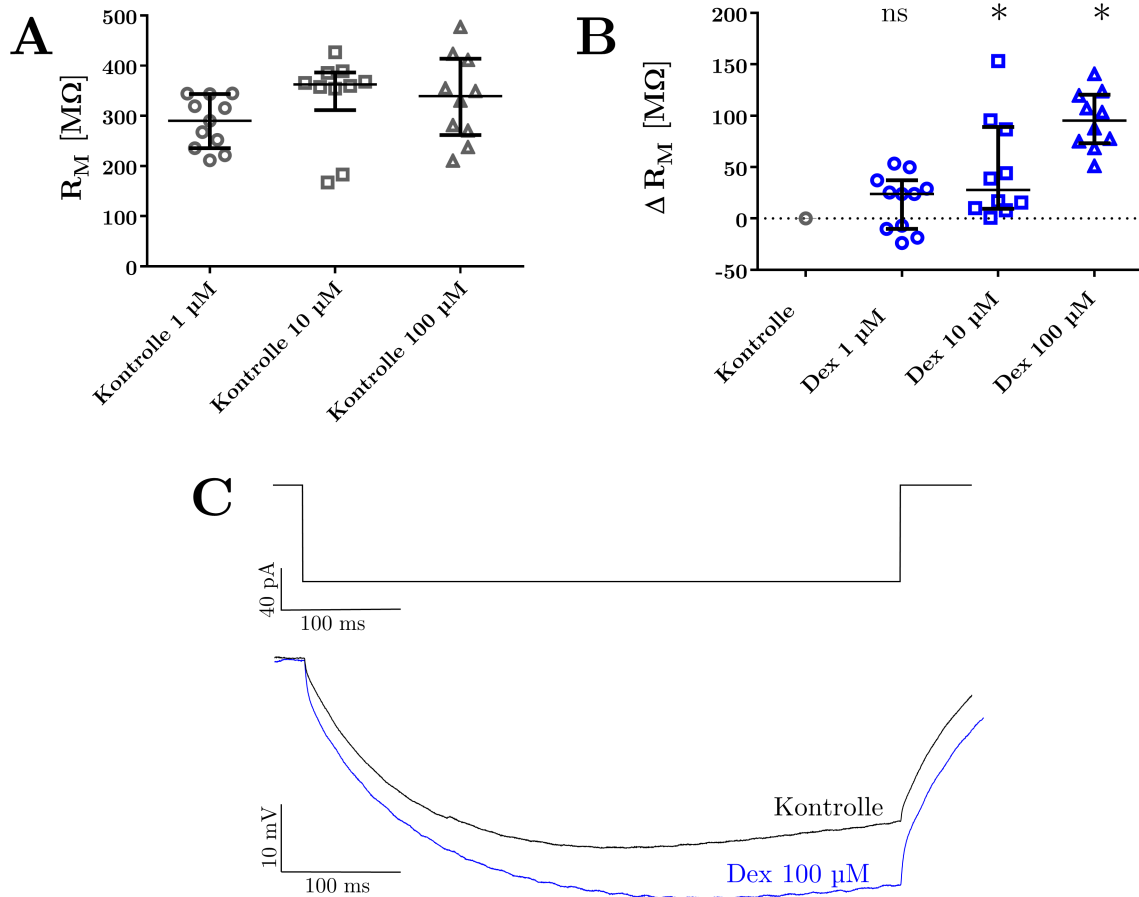


Abbildung 10: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Membranwiderstand

A: Vergleich der drei Kontrollmessreihen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,0657$).

B: Absolute Veränderung des R_M durch Dexmedetomidin. Bei 1 μ M Dex zeigten sich keine Veränderungen ($n = 11$, $p = 0,6017$). In höheren Konzentrationen bewirkte Dex jedoch eine Zunahme des R_M . Bei 10 μ M Dex kam es zu einer Zunahme von 27,86 M Ω (9,57–88,97 M Ω , $n = 10$, $p = 0,011$). Bei 100 μ M betrug die Zunahme 95,32 M Ω (73,22–120,5 M Ω , $n = 10$, $p < 0,0001$).

C: Stimulationsprotokoll zur Bestimmung des R_M . Es handelt sich um einen Strompuls von -90 pA über 500 ms. Unten befindet sich eine repräsentative Spannungsantwort einer Zelle unter Kontrollbedingungen sowie nach Applikation von 100 μ M Dexmedetomidin.

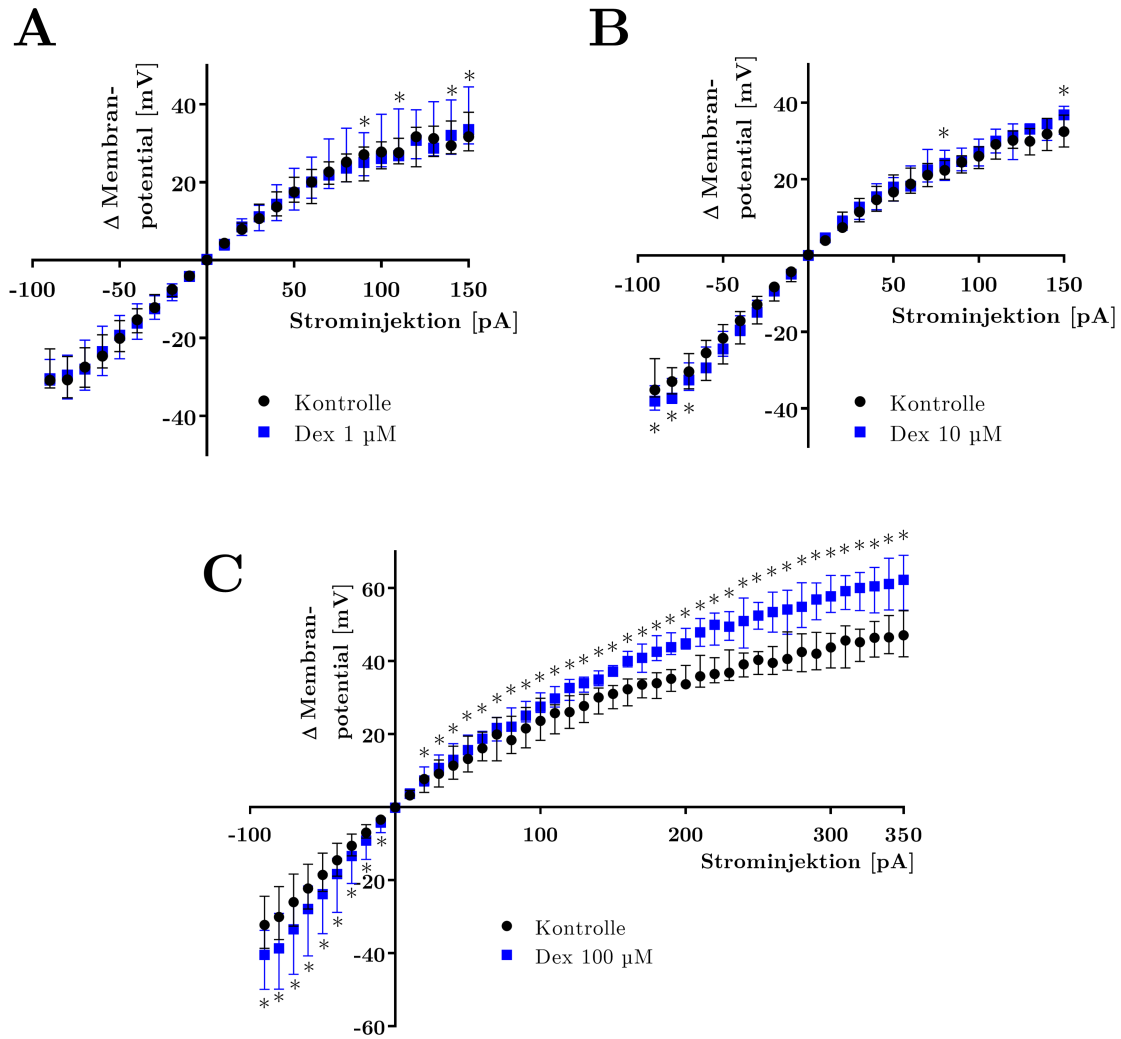


Abbildung 11: Strom-Spannungsbeziehung (IV-Kurve) der TC-Neurone unter Dexmedetomidin

Dargestellt ist die Veränderung des Membranpotentials durch eine Strominjektion vor und nach Applikation von Dexmedetomidin.

A: 1 μ M Dexmedetomidin.

B: 10 μ M Dexmedetomidin.

C: 100 μ M Dexmedetomidin.

Die Strominjektion betrug -90 pA bis 350 pA, wobei bei **A** und **B** nur der Bereich bis 150 pA abgebildet ist.

Bei allen Messreihen wurden die Kontrollmessungen miteinander verglichen. Diese zeigten keine signifikanten Unterschiede, weshalb von der Vergleichbarkeit der drei Messreihen ausgegangen werden kann (Daten nicht dargestellt).

Um signifikante Veränderungen zu finden, wurden die absoluten Veränderungen ausgehend von der jeweiligen Kontrolle aller drei Messreihen mit dem Kruskal-Wallis-Test mit Dunn-Test als Post-hoc-Test analysiert. Dabei zeigten sich bei den IV-Kurven nach 1 μ M und 10 μ M Dex nur vereinzelt signifikante Veränderungen (siehe * in **A** und **B**). Nach Zugabe von 100 μ M Dexmedetomidin nahm die Veränderung des Membranpotentials jedoch über den gesamten Messbereich signifikant zu (* = $p < 0.05$, Mediane mit IQR).

3.3 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die intrinsische Erregbarkeit von TC-Neuronen

Die intrinsische Erregbarkeit der TC-Neurone wurde anhand von zwei Parametern beurteilt. Diese wurden ebenfalls in der Ganzzelleableitung erhoben. Zum einen wurde das Schwellenpotential untersucht, bei welcher die Zelle erstmalig ein Aktionspotential generierte. Zum anderen wurde die maximale Frequenz an Aktionspotentialen aufgezeichnet.

Das Schwellenpotential der Zellen in den Kontrollmessungen betrug $-39,17$ mV ($-40,50$ – $-37,61$, $n = 31$). Bei 1 μ M und 10 μ M Dexmedetomidin zeigten sich keine signifikanten Veränderungen dieses Schwellenpotentials. Die Applikation 100 μ M Dexmedetomidin führte jedoch zu einer Verschiebung des Schwellenpotentials in Richtung Depolarisation (Abbildung 12 B). Die Absolutwerte dieser Messungen sind in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Schwellenpotential (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Schwellenpotential (SP) als Absolutwerte. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μ M]	SP (Kontrolle) [mV]	SP (Dex) [mV]	n	p
1	-38,22 (-39,98 – -37,45)	-40,28 (-41,69 – -36,84)	11	0,5834
10	-38,64 (-39,50 – -36,49)	-39,38 (-41,16 – -37,55)	10	0,85
100	-39,80 (-40,97 – -39,27)	-38,16 (-38,98 – -33,25)	10	0,013

Die maximale Frequenz an Aktionspotentialen wurde bei einer Strominjektion von 190 pA in die Zelle ermittelt. Durch diese Depolarisation generierten die Zellen Aktionspotentiale, welche unter Kontrollbedingungen eine Frequenz von $40,16$ Hz ($36,28$ – $44,93$ Hz, $n = 31$) aufwiesen. Auch bei diesem Parameter kam es nur bei einer Konzentration von 100 μ M Dexmedetomidin zu einer signifikanten Abnahme (12 D). Die Absolutwerte der Aktionspotential-Frequenzen sind in Tabelle 11 aufgeführt.

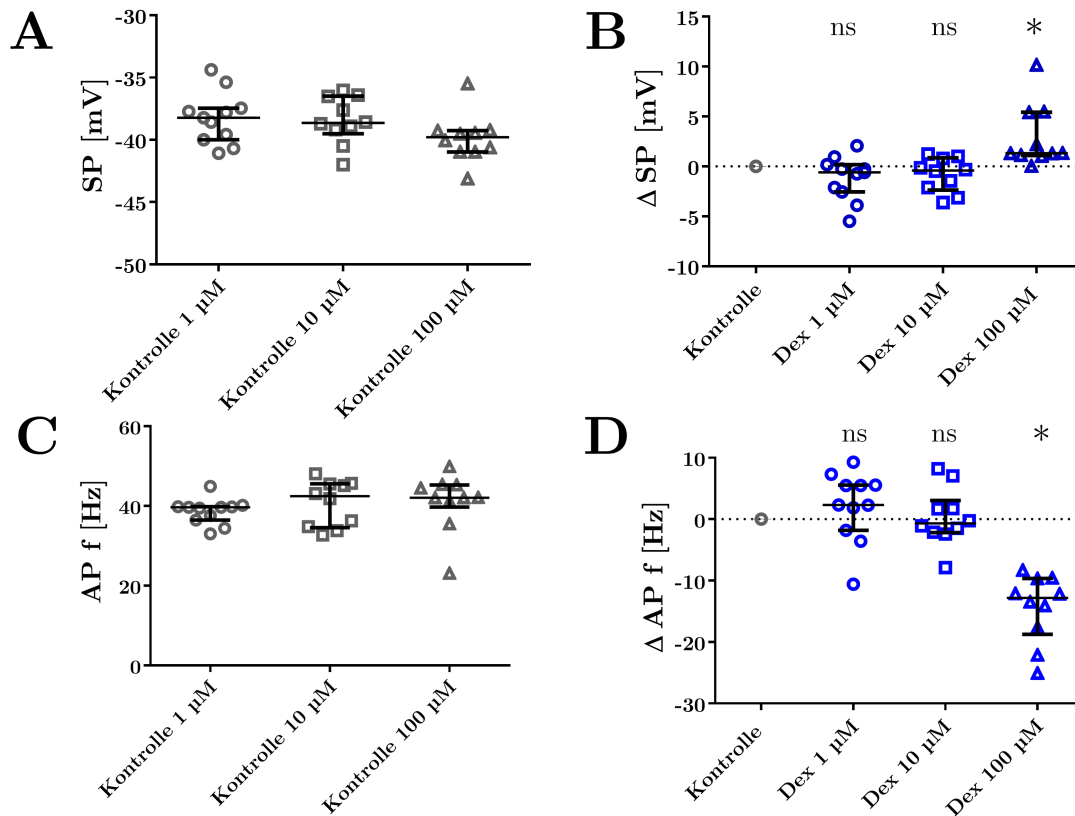


Abbildung 12: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die intrinsische Erregbarkeit von TC-Neuronen

A: Vergleich der drei Kontrollmessreihen zum Schwellenpotential (SP) der TC-Neurone. Es liegen keine signifikanten Unterschiede vor, weshalb der Vergleich der drei Messreihen möglich ist ($p = 0,0979$).

B: Absolute Veränderung des Schwellenpotentials der TC-Neurone durch Applikation von unterschiedlichen Konzentrationen von Dexmedetomidin. Durch 1 μM Dex ($n = 11$, $p = 0,5834$) und 10 μM Dex ($n = 10$, $p = 0,85$) entstand keine Verschiebung des Schwellenpotentials. Die Applikation von 100 μM Dex führte jedoch zu einer signifikanten Verschiebung des Schwellenpotentials um 1,3 mV (1,09–5,42 mV, $n = 10$, $p = 0,013$) in Richtung Depolarisation.

C: Vergleich der drei Kontrollmessreihen zur Aktionspotential-Frequenz (AP f) der TC-Neurone. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrollmessreihen ($p = 0,1702$).

D: Absolute Veränderungen der AP f durch die drei untersuchten Konzentrationen von Dexmedetomidin. Bei 1 μM Dex ($n = 11$, $p = 0,953$) und 10 μM Dex ($n = 10$, $p > 0,999$) traten keine signifikanten Veränderungen auf. Durch 100 μM Dex kam es zu einer signifikant verminderten AP f mit einer Abnahme von $-12,83$ Hz ($-18,73$ – $-9,65$ Hz, $n = 10$, $p = 0,002$).

Tabelle 11: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Aktionspotential-Frequenz (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin in den drei untersuchten Konzentrationen auf die Aktionspotential-Frequenz (AP f) als Absolutwerte. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μM]	AP f (Kontrolle) [Hz]	AP f (Dex) [Hz]	n	p
1	39,67 (36,46–39,84)	41,96 (36,59–45,19)	11	0,953
10	42,48 (34,56–45,57)	41,26 (35,01–46,52)	10	0,999
100	42,08 (39,75–45,30)	27,44 (21,61–33,66)	10	0,002

3.4 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf HCN-Kanäle

Die Messungen zur Beurteilung der HCN-Kanäle erfolgten im Voltage-Clamp-Modus. Durch stufenweise Hyperpolarisation der Zellmembran von -43 mV bis -133 mV in Schritten von 10 mV wurden die HCN-Kanäle aktiviert (siehe das Stimulationsprotokoll in Abbildung 13 A). Nach jedem Spannungsschritt wurde die Zelle auf ein Potential von -103 mV gebracht, wodurch ein Haltestrom (I_{Tail} -Strom) entstand.

3.4.1 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Kationenstrom I_h

Die Applikation von Dexmedetomidin führte in den Konzentrationen von $10\text{ }\mu\text{M}$ und $100\text{ }\mu\text{M}$ Dexmedetomidin zu einer Abnahme des Kationenstroms I_h , welcher über HCN-Kanäle vermittelt wird. Dabei wurde der Strom I_h bei den 10 Spannungsschritten vor und nach der Dex-Applikation verglichen (Abbildung 13 C). Während $100\text{ }\mu\text{M}$ Dexmedetomidin schon ab dem dritten Spannungsschritt (-63 mV) zu einer signifikanten Abnahme führte, ist dies bei $10\text{ }\mu\text{M}$ Dexmedetomidin erst ab dem fünften Spannungsschritt (-83 mV) der Fall. Die relativen Amplituden von I_h bei einem Membranpotential von -73 mV und -133 mV sind in Abbildung 13 D und E genauer dargestellt. Beim Membranpotential von -133 mV kann davon ausgegangen werden, dass alle vorhandenen HCN-Kanäle geöffnet sind (Pape, 1996), daher kann bei diesem Membranpotential die maximale I_h -Amplitude bestimmt werden.

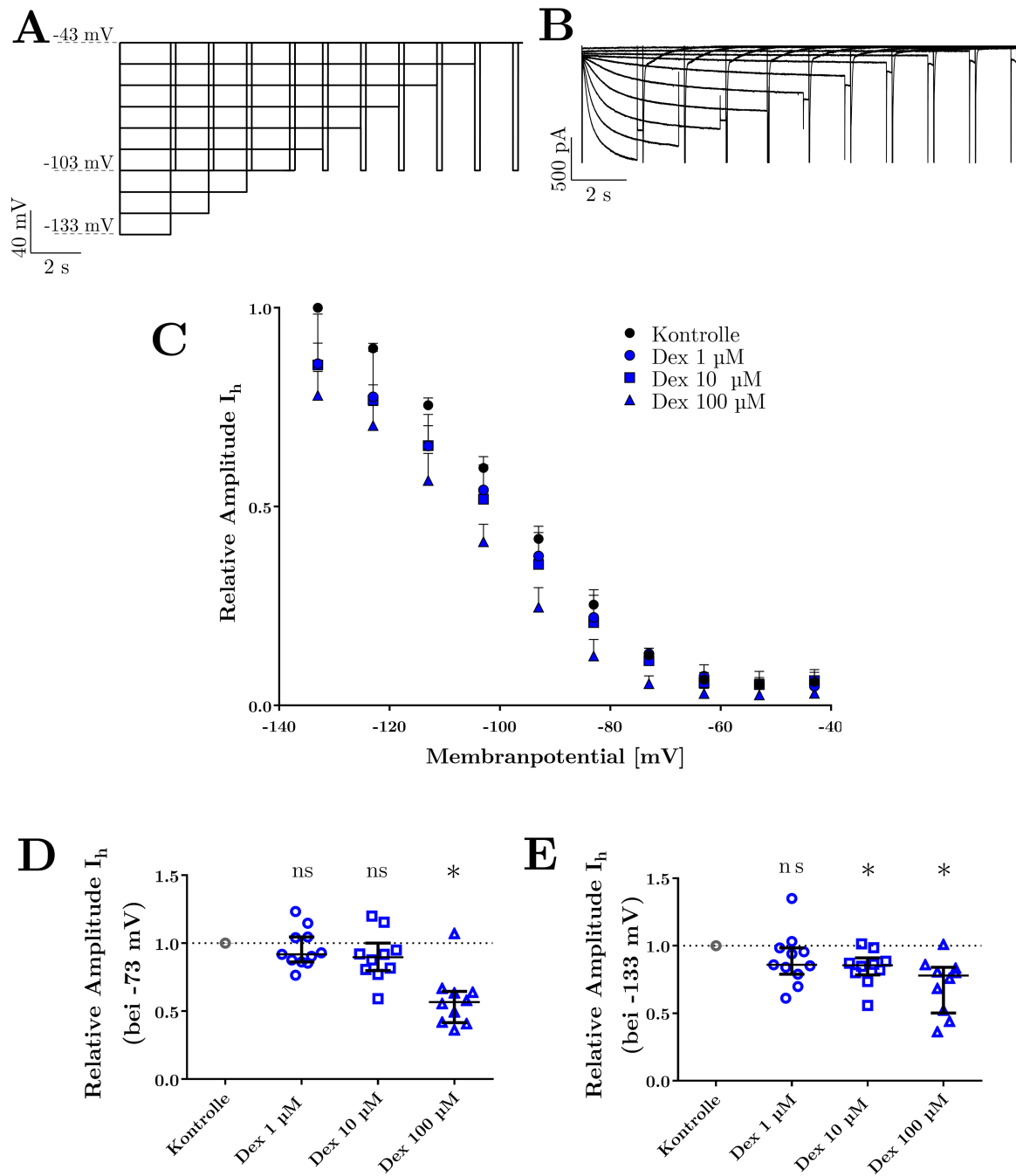


Abbildung 13: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Kationenstrom I_h

A: Stimulationsprotokoll zu den HCN-Kanal Messungen mit einer stufenweisen Hyperpolarisation der Zellen von -43 mV bis -133 mV. Nach jedem Spannungsschritt wurden die Zellen kurzzeitig auf ein Potential von -103 mV eingestellt.

B: Repräsentative Stromantwortkurven einer Zelle unter Kontrollbedingungen nach Anwendung des Stimulationsprotokolls aus **A** im Voltage-Clamp-Modus.

C: Relative Amplitude des Kationenstroms I_h bezogen auf die maximale I_h -Amplitude bei -133 mV unter Kontrollbedingungen. Für jeden Spannungsschritt wurde der Kruskal-Wallis-Test mit Dunn-Test als Post-hoc-Test bezogen auf die Kontrollmessreihen durchgeführt, um auf statistisch signifikante Veränderungen zu prüfen. Bei 1 μ M Dex zeigte sich eine signifikante Abnahme des Stroms I_h bei den Spannungsschritten von -103 mV bis -123 mV ($n = 11$). Bei 10 μ M Dex entstand eine signifikante Abnahme bei den Spannungsschritten von -83 mV bis -133 mV ($n = 10$). Durch die Applikation von 100 μ M Dex nahm der Strom I_h bei den Spannungsschritten von -63 mV bis -133 mV signifikant ab ($n = 10$).

D: Relative Veränderung der Amplitude des Stroms I_h bei einem Membranpotential von -73 mV, bezogen auf die Kontrollmessungen. Bei 1 μ M Dex ($n = 11$, $p > 0,9999$) und 10 μ M ($n = 10$, $p = 0,293$) Dex konnten keine signifikanten Veränderungen beobachtet werden. Bei einer Konzentration von 100 μ M Dex kam es zu einer signifikanten Abnahme des Stroms I_h um 43 % (42 – 58 %, $n = 10$, $p = 0,0002$).

E: Relative Veränderung der maximalen Amplitude des Stroms I_h bei einem Membranpotential von -133 mV, bezogen auf die Kontrollmessungen. Bei 1 μ M Dex traten keine signifikanten Veränderungen auf ($n = 11$, $p = 0,068$). Durch 10 μ M Dex kam es zu einer signifikanten Abnahme des Stroms I_h um 14 % (9 – 22 %, $n = 10$, $p = 0,021$). Eine Konzentration von 100 μ M Dex führte zu einer signifikanten Abnahme des Stroms I_h um 22 % (16 – 50 %, $n = 10$, $p = 0,0002$).

3.4.2 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$

Die Spannungsabhängigkeit der Aktivierung von HCN-Kanälen wurde durch die Bestimmung des Potentials der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ untersucht. Zur Bestimmung von $V_{1/2}$ wurden die I_{Tail} -Ströme verwendet, welche entstehen wenn man die Zellen nach der Aktivierung auf ein Membranpotential von -103 mV bringt. Die Amplituden dieser I_{Tail} -Ströme wurden anschließend im Verhältnis zum maximalen I_{Tail} -Strom bei -133 mV normalisiert und ergaben so die Offenwahrscheinlichkeit der Kanäle bei der jeweiligen Membranspannung und damit die spannungsabhängige Aktivierung $p(V)$ (Matusch et al., 2015). Aus der spannungsabhängigen Aktivierung ließ sich dann mittels Boltzmann-Gleichung eine Kurve anpassen, aus der dann das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ bestimmt werden konnte (Abbildung 14). Die Absolutwerte von $V_{1/2}$ sind in Tabelle 12 dargestellt. Unter Kontrollbedingungen hatten die abgeleiteten TC-Neurone ein $V_{1/2}$ von $-86,61$ mV ($-88,0$ – $-85,16$ mV, $n = 31$).

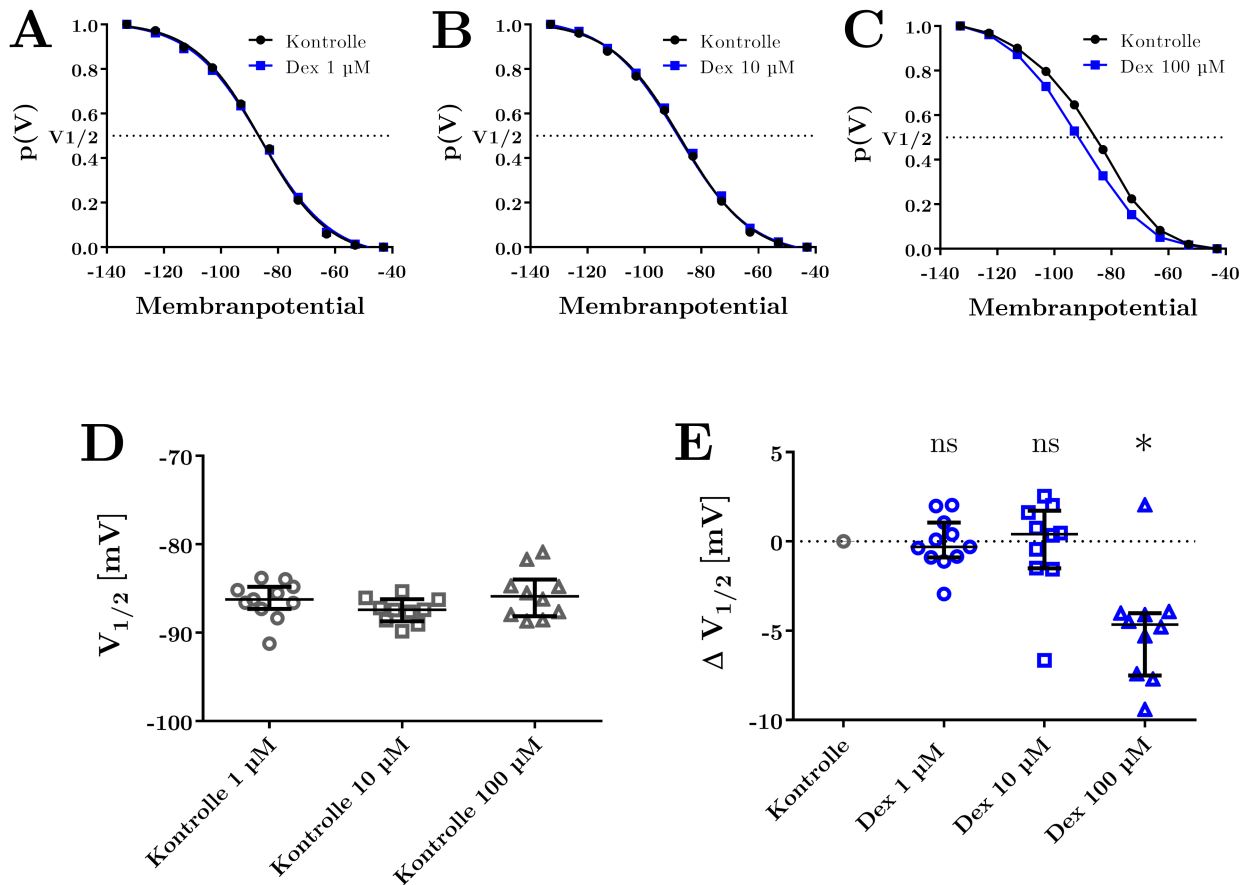


Abbildung 14: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die spannungsabhängige Aktivierung $p(V)$ und das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$

A - C: Die spannungsabhängige Aktivierung $p(V)$ der TC-Neurone vor und nach Dexmedetomidin-Applikation. Die Kurvenanpassung erfolgt mittels Boltzmann-Gleichung, zur Bestimmung von $V_{1/2}$. Bei **A** (1 μM) Dex und bei **B** (10 μM) zeigten sich keine Veränderungen. Bei **C** (100 μM) Dex zeigte sich eine Linksverschiebung der Kurve in Richtung Hyperpolarisation.

D: Nach Bestimmung von $V_{1/2}$ erfolgte ein Vergleich der Werte unter Kontrollbedingungen. Diese zeigen keine signifikanten Unterschiede, weshalb von der Vergleichbarkeit der drei Messreihen ausgegangen werden kann ($p = 0,2068$).

E: Absolute Veränderung von $V_{1/2}$ nach Applikation von Dex im Vergleich zur Kontrolle. Bei 1 μM Dex ($n = 11$, $p > 0,9999$) und 10 μM Dex ($n = 10$, $p > 0,9999$) traten keine signifikanten Unterschiede auf. Bei 100 μM Dex kam es jedoch zu einer signifikanten Verschiebung von $V_{1/2}$ in Richtung Hyperpolarisation um $-4,65$ mV ($-7,51 - -4,01$ mV, $n = 10$, $p = 0,0089$).

Tabelle 12: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ (Absolutwerte)

Der Einfluss von Dexmedetomidin in den untersuchten Konzentrationen auf das Potential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ als Absolutwerte. Bei der Konzentrationen von 100 μM Dex zeigt sich eine signifikante Verschiebung in Richtung Hyperpolarisation. Werte als Median mit IQR (in Klammern).

Dex [μM]	$V_{1/2}$ (Kontrolle) [mV]	$V_{1/2}$ (Dex) [mV]	n	p
1	−86,23 (−87,32 – −84,81)	−86,64 (−87,63 – −84,65)	11	0,999
10	−87,42 (−88,70 – −86,22)	−86,89 (−88,47 – −85,29)	10	0,999
100	−85,88 (−88,15 – −83,99)	−91,54 (−93,22 – −88,07)	10	0,0089

3.4.3 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Aktivierungszeitkonstanten τ_{fast} und τ_{slow}

Die Aktivierungszeitkonstanten τ_{fast} und τ_{slow} wurden mittels bi-exponentieller Kurvenanpassung aus den I_h -Stromkurven bei einem Membranpotential von -133 mV ermittelt. Unter Kontrollbedingungen zeigten die TC-Neurone ein τ_{fast} von 231,3 ms (213,9–272,6 ms, $n = 31$) und ein τ_{slow} von 1143 ms (986,2–1405,0 ms, $n = 31$). Um die Vergleichbarkeit der drei Messreihen zu gewährleisten, wurden die Kontrollmessungen miteinander verglichen. Dabei ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollmessungen zu den Messreihen von 1 μM und 10 μM Dex bei τ_{fast} (Abbildung 15 A). Bei einer Konzentration von 100 μM kam es zu einer signifikanten Verlängerung von τ_{fast} nach Dex-Applikation, wohingegen sich für τ_{slow} bei keiner Konzentration signifikante Unterschiede ergaben (Abbildung 15 B und D).

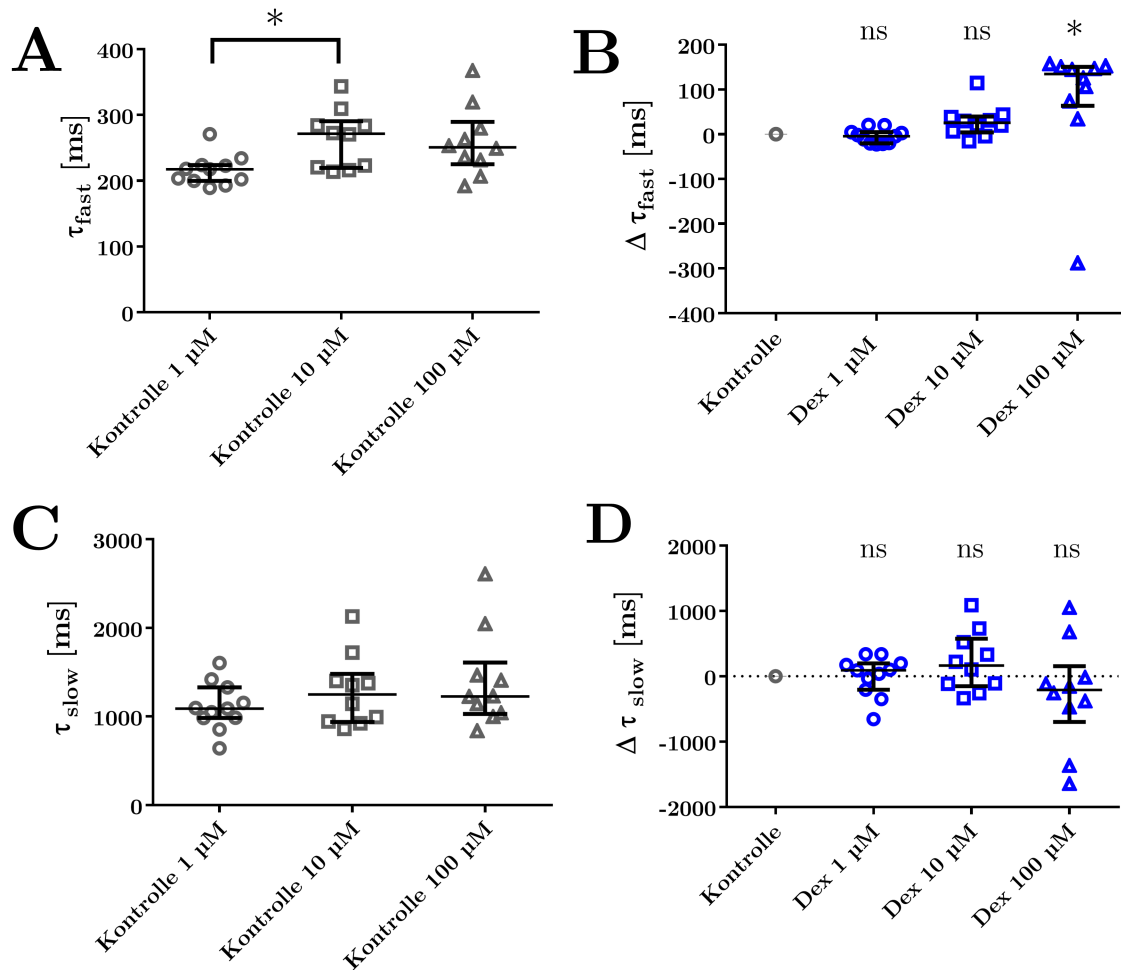


Abbildung 15: Der Einfluss von Dexmedetomidin auf τ_{fast} und τ_{slow} bei einem Membranpotential von -133 mV

A: Vergleich von τ_{fast} der Kontrollmessungen der drei Messreihen. Es ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Messreihen zu 1 μ M und 10 μ M Dex ($p = 0,0312$). Die anderen Messreihen zeigten untereinander im Vergleich keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$).

B: Absolute Veränderungen von τ_{fast} nach Dex-Applikation verglichen mit den Kontrollmessungen, bei einem Membranpotential der Zelle von -133 mV. Für die Konzentrationen von 1 μ M ($n = 11$, $p > 0,9999$) und 10 μ M ($n = 10$, $p = 0,2316$) Dex zeigten sich keine signifikanten Veränderungen. Nach der Applikation von 100 μ M Dex ließ sich eine Verlängerung von τ_{fast} um 134,7 ms (63,74–150,9 ms, $n = 10$, $p = 0,0019$) beobachten.

C: Vergleich der drei Kontrollmessreihen zu τ_{slow} . Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,4274$).

D: Absolute Veränderungen von τ_{slow} durch die drei untersuchten Konzentrationen Dexmedetomidin bei einem Membranpotential von -133 mV. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen von τ_{slow} . Dex 1 μ M: $n = 11$, $p > 0,999$. Dex 10 μ M: $n = 10$, $p > 0,9999$. Dex 100 μ M: $n = 10$, $p = 0,3821$.

4 Diskussion

In diesem Promotionsvorhaben wurde die Wirkung von Dexmedetomidin auf thalamokortikale Schaltneurone (TC-Neurone) im ventrobasalen Kernkomplex des Thalamus untersucht. Dazu wurden elektrophysiologische Messungen mit Hilfe der Patch-Clamp-Technik durchgeführt. Es wurden Konzentrationen von 1 μM , 10 μM und 100 μM Dexmedetomidin untersucht. Dabei zeigte Dexmedetomidin bei der Konzentration von 1 μM keine Auswirkungen auf die untersuchten Parameter. Bei 10 μM Dexmedetomidin kam es zu einer Abnahme des Stroms I_h , welcher durch HCN-Kanäle vermittelt wird, und zu einer Zunahme des Membranwiderstands der Neurone. Erst bei 100 μM Dexmedetomidin zeigten sich zusätzlich auch Veränderungen in anderen Parametern der intrinsischen Erregbarkeit der TC-Neurone und Veränderungen in der Spannungsabhängigkeit und Aktivierungskinetik der HCN-Kanäle.

4.1 Klinische Relevanz der Dexmedetomidin-Konzentration

Zur Beurteilung der Ergebnisse dieses Promotionsvorhabens stellte sich zunächst die Frage, inwiefern die verwendeten Dexmedetomidin-Konzentrationen klinisch relevant sind. Huang und Hertz (2000) berechneten ausgehend von der mittleren effektiven Dosis (ED_{50}) von Dexmedetomidin für Ratten eine entsprechende Konzentration von 1 μM . Dabei gingen sie von einer analgetischen und sedierenden Wirkung von Dexmedetomidin bei einer ED_{50} von 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aus (Huang & Hertz, 2000). Ähnliche Dosiswerte wurden in Studien mit Mäusen berichtet. So zeigten Mäuse eine Analgesie auf einen Schmerzreiz bei einer Dexmedetomidin-Dosis von 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Malmberg et al., 2001) und eine tiefe Sedierung bei einer Dosis von 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Puolivali et al., 2002).

Tatsächlich verwendeten anderen experimentelle Studien mit Dexmedetomidin ebenfalls

Konzentrationen um den Wert von 1 μM , wobei z.T. auch höhere Konzentrationen verwendet wurden (Kawano et al., 2012; Yang et al., 2014; Y. Yuan et al., 2017). Die untersuchten Zellen stammen bei diesen Studien aus Zellkulturen (HEK-Zellen), Mäusen oder Ratten. Dabei wurden beispielsweise Natrium-Kanäle in Spinalganglien mit 0,03–30 μM Dexmedetomidin untersucht (Gu et al., 2015), Kalium-Kanäle in Gefäßen mit 0,01–100 μM (Kawano et al., 2012), Natrium-Kanäle im Ganglion trigeminale mit 5–100 μM (Im et al., 2018), HCN-Kanäle in HEK-Zellen mit 0,1–10 μM (Yang et al., 2014) und die Aktivität von dopaminergen Neuronen in der Area ventralis tegmentalis mit 2 μM (G. Qiu et al., 2020).

Da der Hauptwirkort von Dexmedetomidin der Locus Coeruleus zu sein scheint (Gertler et al., 2001), könnte die Konzentration, mit der Dexmedetomidin dort seine Wirkung entfaltet, bedeutend sein. In Zellen des Locus Coeruleus von Ratten bewirkte Dexmedetomidin eine Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung und eine Herabsetzung der Aktionspotentialrate schon bei einer mittleren effektiven Konzentration (EC_{50}) von 3,97 nM (Jorm & Stamford, 1993). Studien, die den Blutplasmaspiegel von Dexmedetomidin bei Ratten bestimmten, kamen zu ähnlichen Konzentrationsergebnissen. Grundlage zur Ermittlung der Bewusstlosigkeit der Ratten war der Loss of Righting Reflex (LORR), also der Verlust des Reflexes, sich selbst wieder aufzurichten, wenn sich der Körper nicht mehr in einer aufrechten Position befand. Dabei zeigten die Tiere in den Versuchen von Bol et al. (1999) den LORR bei einer EC_{50} von 2,13 ng/ml Dexmedetomidin, was einer Konzentration von ca. 9 nM entspricht. Bei den Versuchen von Plourde und Arseneau (2017) zeigte sich ein LORR bei einer Konzentration von 5,63 ng/ml (entspricht ca. 23 nM), wohingegen eine Konzentration von 3,75 ng/ml noch nicht ausreichend war, um einen LORR zu verursachen. Ähnliche Blutplasmaspiegel bewirken auch beim Menschen eine Sedierung: 0,3–2 ng/ml (Ebert et al., 2000). Diese Blutplasmaspiegel entsprechen einer Konzentration von 1,27–8,45 nM. Allerdings handelt es sich bei der Plasmakonzentration nicht um die Konzentration am Wirkungsort, welche sich durch die Konzentration im Liquor besser beschreiben lässt. Die Konzentration am Wirkungsort ermöglicht eine bessere Vergleichbarkeit zur Konzentration im aCSF, mit welcher die Versuche der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurden. Leider gibt es keine Daten zur Liquorkonzentration, bei welcher Dexmedetomidin eine Sedierung bewirkt.

Es bleibt unklar, wie Konzentrationen von 10 μM und 100 μM zu bewerten sind. Ausgehend von der Berechnung von Huang und Hertz (2000) würden diese Konzentrationen die ED_{50} um das 10- bis 100-fache übersteigen und würden damit eher einer Überdosierung

von Dexmedetomidin entsprechen und nicht einer klinisch relevanten Konzentration.

4.2 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf die Membraneigenschaften und die Erregbarkeit von TC-Neuronen

Thalamokortikale Schaltneurone erzeugen zwei verschiedene Muster von Aktionspotentialentladungen: den tonischen „Schalt“-Modus und den oszillatorischen „Burst“-Modus (McCormick & Bal, 1997; Pape et al., 2005). Während Phasen der Wachheit werden TC-Neurone durch afferente Signale depolarisiert, wechseln in den Schalt-Modus und leiten so Informationen an den Kortex weiter (Steriade et al., 1993). Im Schlaf werden TC-Neurone hyperpolarisiert, wechseln in den Burst-Modus und verhindern Informationsweiterleitung (McCormick & Bal, 1997; Pape et al., 2005). Das Membranpotential ist also ein wichtiger Faktor bei der Bestimmung des Aktivitätszustandes der TC-Neurone (Pape et al., 2005) und wird in TC-Neuronen durch eine Wechselbeziehung von HCN- und TASK-Kanälen bestimmt (Meuth et al., 2006). Die Beeinflussung des Ruhemembranpotentials durch Anästhetika scheint ein möglicher Wirkmechanismus zu sein, denn so zeigten beispielsweise die Applikation von Halothan und Sevofluran eine Hyperpolarisation des Ruhemembranpotentials in TC-Neuronen (Budde et al., 2008; Schwerin et al., 2021).

Dexmedetomidin zeigte in dieser Arbeit keinen Einfluss auf das Ruhemembranpotential von TC-Neuronen. Für andere Neuronenpopulationen wurde jedoch ein Einfluss auf das RMP beschrieben. Im Hypothalamus führte Dexmedetomidin zu einer Abnahme des Ruhemembranpotentials an Neuronen im Nucleus paraventricularis (PVN-Neurone) von Ratten in Konzentrationen zwischen 10 nM und 6 μ M (Shirasaka et al., 2007). Allerdings wurde diese Hyperpolarisation durch die Applikation von Ba^{2+} komplett verhindert. Deswegen schlussfolgerten Shirasaka et al. (2007), dass diese Hyperpolarisation eher durch Kaliumkanäle zustande gekommen ist. Ba^{2+} blockiert K_{IR} - und K_{2P} -Kanäle, zu welchen auch die TASK-Kanäle gehören (Meuth et al., 2003). Da Ba^{2+} auch in dieser Arbeit bei allen Messungen verwendet wurde lässt sich folgern, dass Dexmedetomidin keinen Einfluss auf das Ruhemembranpotential von TC-Neuronen über eine Beeinflussung von HCN-Kanälen hat. Ob es jedoch über die Modulation von Kaliumkanälen einen Einfluss auf das RMP ausübt, lässt sich durch die Ergebnisse dieser Arbeit nicht abschließend

beantworten.

Der Membranwiderstand der TC-Neurone wurde ab einer Konzentration von $10\ \mu\text{M}$ erhöht (siehe Tabelle 9, Seite 36). Diese Erhöhung des Membranwiderstands bedeutet, dass ein eingehendes depolarisierendes Signal zu einer stärkeren Veränderung des Membranpotentials führt, so wie es auch an der IV-Kurve in Abbildung 11 auf Seite 38 zu sehen ist. Diese ausgeprägtere Veränderung des Membranpotentials bedeutet, dass das Schwellenpotential der Zelle leichter erreicht wird und spräche somit zunächst für eine erhöhte neuronale Erregbarkeit. Die Erhöhung des Membranwiderstands scheint durch eine Modulation von HCN-Kanälen vermittelt zu werden. Eine Öffnung von HCN-Kanälen führt zu einer erhöhten Membranleitfähigkeit und somit einem verminderten Widerstand (Biel et al., 2009; Pape, 1994). Der erhöhte Membranwiderstand könnte also durch einen erhöhten Anteil an geschlossenen HCN-Kanälen zustande kommen. Tatsächlich ist der Einfluss von Anästhetika auf den Membranwiderstand von TC-Neuronen diametral. Während Propofol und Halothan den Membranwiderstand senken (Budde et al., 2008; Ying et al., 2006), führt Xenon ebenfalls zu einer Erhöhung des Membranwiderstands (Mattusch et al., 2015).

Konträr zu der vermuteten erhöhten Erregbarkeit der Neurone durch den erhöhten Membranwiderstand sind die Ergebnisse zum Schwellenpotential und zur Aktionspotential-Frequenz. Bei einer Konzentration von $100\ \mu\text{M}$ Dexmedetomidin war das Schwellenpotential erhöht und die Frequenz der Aktionspotentiale erniedrigt. Diese Ergebnisse passen zu den Ergebnissen von Shirasaka et al. (2007): auch PVN-Neurone im Hypothalamus zeigten eine Abnahme der Aktionspotential-Frequenz, allerdings schon bei Konzentrationen von $0,01\ \mu\text{M}$ und nicht erst bei $100\ \mu\text{M}$ wie in dieser Arbeit. Außerdem nahm in PVN-Neuronen der Membranwiderstand durch Dexmedetomidin ab. Da bei Shirasaka et al. (2007) kein Ba^{2+} in der extrazellulären Lösung verwendet wurde, ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse jedoch eingeschränkt.

4.3 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag und den Rebound Burst

Bei Applikation eines Hyperpolarisationspulses reagieren TC-Neurone mit einem depolarisierenden Voltage Sag und einer anschließenden Aktionspotentialsalve, dem Rebound Burst (Ying et al., 2006), siehe dazu auch Kapitel 2.2.5 auf Seite 24. Der Voltage Sag

in TC-Neuronen wird überwiegend durch HCN2-Kanäle vermittelt, wie Ludwig et al. (2003) in ihrer Studie mit HCN2-Knockout Mäusen zeigen konnten. HCN2 entspricht auch, gemeinsam mit HCN4, der überwiegenden HCN-Kanal-Isoform in TC-Neuronen von Mäusen (Moosmang et al., 1999). Der Rebound Burst Delay zeigt eine inverse Korrelation mit der Amplitude des Voltage Sags (Neuhoff et al., 2002; Ying et al., 2006) und ist damit in TC-Neuronen auch von der Aktivität der HCN-Kanäle abhängig (Ying et al., 2006). Die Veränderungen des Rebound Bursts sind allerdings nicht HCN-Kanal-spezifisch. So können z.B. auch Veränderungen der Kalziumleitfähigkeit den Rebound Burst beeinflussen (Llinás & Steriade, 2006).

In dieser Arbeit konnte kein Effekt von Dexmedetomidin auf den Voltage Sag gefunden werden, was gegen einen Einfluss von Dexmedetomidin auf HCN-Kanäle im Thalamus spricht. Der Rebound Burst Delay zeigte jedoch eine Verlängerung von 30,4 ms auf 36,5 ms bei einer Konzentration von 100 μ M (siehe Tabelle 5, Seite 31). Die Relevanz dieses Ergebnisses ist allerdings fraglich: 100 μ M Dexmedetomidin entsprechen vermutlich keiner klinisch relevanten Konzentration (siehe Kapitel 4.1), wohingegen beispielsweise Propofol bei klinisch relevanten Konzentrationen zu einer deutlich ausgeprägteren Verlängerung des Rebound Burst Delays in TC-Neuronen führte. Unter 5 μ M Propofol verlängerte sich der Rebound Burst Delay von $31,5 \pm 2,6$ ms auf $67,2 \pm 2,1$ ms (Mittelwerte \pm SEM)(Ying et al., 2006). Auch Untersuchungen mit Sevofluran zeigten einen stärkeren Einfluss: bei einer Konzentration von 1,47 mM Sevofluran verlängerte sich der Rebound Burst Delay um 41,8 ms (27,4–62,8 ms)(Schwerin et al., 2021).

4.4 Der Einfluss von Dexmedetomidin auf den HCN-Kanal

Der Strom I_h , welcher durch HCN-Kanäle vermittelt wird, ist wesentlich an der Kontrolle der Erregbarkeit und der oszillatorischen Aktivität von Neuronen beteiligt (Pape, 1996). I_h -Ströme wirken außerdem regulierend und stabilisierend auf das Ruhemembranpotential (Biel et al., 2009). Aufgrund dieser Eigenschaften wird dem HCN-Kanal eine Beteiligung an der Regulierung unterschiedlicher Bewusstseinszustände zugeschrieben (Pape et al., 2005). Ein Effekt von Anästhetika auf den I_h in TC-Neuronen wurde bereits für Halothan (Budde et al., 2008), Propofol (Ying et al., 2006) und Xenon (Mattusch et al., 2015) gezeigt. Um den Einfluss von Dexmedetomidin auf HCN-Kanäle in TC-Neuronen

zu beurteilen, wurde zusätzlich zu dem fließendem Strom I_h auch die Spannungsabhängigkeit und die Aktivierungskinetik der Kanäle betrachtet.

Unter Dexmedetomidin verkleinerte sich die maximale Amplitude von I_h (gemessen bei einem Membranpotential von -133 mV) ab einer Konzentration von 10 μ M. Bei einem Membranpotential von -73 mV, welches eher einem physiologischen Ruhemembranpotential entspricht, nahm die Amplitude erst bei 100 μ M ab (Abbildung 3, Seite 9). Die Abnahme von I_h um 22% (16 – 50% , Median mit IQR) bei 100 μ M Dexmedetomidin ist geringer, als beispielsweise die durch Propofol und Xenon herbeigeführte Abnahme bei klinisch relevanten Konzentrationen. Die Abnahme von I_h durch 5 μ M Propofol betrug $38,7 \pm 3,0\%$ (Ying et al., 2006) und die Abnahme durch $1,9$ mM Xenon $33,4 \pm 12,2\%$ (Mattusch et al., 2015), Werte hier als Mittelwerte \pm SEM.

Ähnlich verhält es sich mit den Veränderungen des Potentials der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$. Veränderungen zeigten sich erst bei einer Konzentration von 100 μ M Dexmedetomidin: es kam zu einer Verschiebung von $V_{1/2}$ in Richtung Hyperpolarisation von $-85,88$ mV auf $-91,54$ mV (Abbildung 14, Seite 44). Diese Verschiebung bedeutet, dass der Anteil der offenen Kanäle beim Ruhemembranpotential abnimmt (Mattusch et al., 2015). Insgesamt ergaben die Kontrollmessungen aller TC-Neurone in dieser Arbeit ein medianes $V_{1/2}$ von $-86,6$ mV. Es gibt eine gewisse Streubreite von $V_{1/2}$ in TC-Neuronen mit bereits publizierten Werten von beispielsweise $-79,1 \pm 0,4$ mV (Ying et al., 2006), $-82,0 \pm 1,5$ mV (Santoro et al., 2000), $-86,1 \pm 1,0$ mV (Budde et al., 2008) und $-98,8 \pm 1,6$ mV (Mattusch et al., 2015). Der in dieser Arbeit gemessene Wert scheint also zu den vorhandenen Daten zu passen. Im Vergleich zu Propofol, Halothan und Xenon ist die Verschiebung von $V_{1/2}$ um $-4,65$ mV durch 100 μ M Dexmedetomidin zwar signifikant, aber eher gering.

Die charakteristische Aktivierungskinetik von HCN-Kanälen besteht aus einer schnellen und einer langsamen Komponente, beschrieben durch die Aktivierungszeitkonstanten τ_{fast} und τ_{slow} (Santoro et al., 2000). Für τ_{slow} konnte in den Messungen dieser Arbeit bei keiner der untersuchten Konzentrationen eine Veränderung beobachtet werden. Für τ_{fast} hingegen zeigte sich bei 100 μ M Dexmedetomidin eine Verlängerung um $134,7$ ms (Abbildung 15, Seite 46). Dexmedetomidin bewirkte also bei dieser Konzentration eine Verlangsamung der HCN-Kanal-Aktivierung. Da aber bereits bei den Kontrollmessungen zu τ_{fast} untereinander signifikante Unterschiede festzustellen waren, darf dieses Ergebnis nicht überschätzt werden.

Bisher gibt es noch nicht viele publizierte Studien zur Wirkung von Dexmedetomidin auf HCN-Kanäle. In einer Untersuchung von HEK-293 Zellen, die mit HCN1- oder HCN2-Kanälen transfiziert wurden, zeigte sich eine Abnahme der I_h -Amplitude (Yang et al., 2014; Yang et al., 2018). Dabei betrug die Abnahme der I_h -Amplitude im Falle der HCN2-Kanäle $23,85 \pm 2,59\%$, $41,14 \pm 4,82\%$ und $58,19 \pm 5,22\%$ für die Konzentrationen von $0,1 \mu\text{M}$, $1 \mu\text{M}$ und $10 \mu\text{M}$ Dexmedetomidin. Die Wirkung auf den HCN1-Kanal zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Wirkung auf den HCN2-Kanal (Yang et al., 2014; Yang et al., 2018). Der HCN2-Kanal ist u.a. auch in TC-Neuronen vorhanden (Moosmang et al., 1999). Allerdings betrug die Abnahme der I_h -Amplitude in TC-Neuronen bei $10 \mu\text{M}$ Dexmedetomidin nur 14% ($9\text{--}22\%$) und ist damit deutlich geringer als in HEK-Zellen.

Eine weitere Studie untersuchte die Wirkung von Dexmedetomidin auf den I_h im Hypothalamus (Shirasaka et al., 2007). Untersucht wurden dabei parvozelluläre Neurone im Nucleus paraventricularis (PVN-Neurone). Diese Neuronen exprimieren HCN1-, HCN2- und HCN3-Kanäle (D.-L. Qiu et al., 2005). PVN-Neurone zeigten unter $0,1\text{--}20 \mu\text{M}$ Dexmedetomidin eine dosisabhängige Abnahme der I_h -Amplitude (Shirasaka et al., 2007). Dabei konnte diese Wirkung durch Zugabe von Yohimbin, einem α_2 -Antagonisten, abgeschwächt werden. Daraus schlossen Shirasaka et al. (2007), dass die Wirkung auf den HCN-Kanal im Hypothalamus zumindest z.T. auf einem α_2 -vermittelten Mechanismus beruht. Außerdem konnten Shirasaka et al. (2007) zeigen, dass sich die Wirkung von Dexmedetomidin auf den I_h in PVN-Neuronen nur sehr schwach durch cAMP beeinflussen lässt. Das Ausmaß der Modulation durch cAMP ist abhängig von der HCN-Kanal-Isoform. Während sich HCN2 und HCN4 relativ stark durch cAMP beeinflussen lassen, wird HCN1 nur schwach durch cAMP moduliert (Biel et al., 2009; Wainger et al., 2001). Tatsächlich scheint die cAMP-vermittelte Inhibition von HCN-Kanälen ein möglicher Wirkmechanismus von Anästhetika zu sein. Xenon führte in TC-Neuronen zu einer Abnahme der I_h -Amplitude. Wurde allerdings das Zytoplasma mit cAMP gesättigt, fehlte diese Beeinflussung des HCN-Kanals durch Xenon (Mattusch et al., 2015). Die cAMP-vermittelte Wirkung könnte über die Senkung der zytoplasmatischen cAMP-Konzentration erfolgen, indem das Anästhetikum z.B. die Adenylatzyklase inhibiert oder die Phosphodiesterase-Aktivität fördert (Mattusch et al., 2015). Für Xenon konnte nur eine leichte Senkung der cAMP-Konzentration gezeigt werden, die nicht statistisch signifikant war (Mattusch et al., 2015). Die Wirkung von Propofol auf TC-Neurone ist hingegen cAMP-unabhängig (Ying et al., 2006). Da über den α_2 -Rezeptor die Adenylatzyklase inhibiert werden kann (Limbird, 1988), könnte die Wirkung des α_2 -Agonisten Dexmedetomidin auch auf einer derartigen Inhibierung beruhen. Im Locus Coeruleus,

ein bereits identifizierter Wirkort von Dexmedetomidin, konnte eine Inhibierung der Adenylatzyklase durch Dexmedetomidin gezeigt werden (Correa-Sales, Nacif-Coelho et al., 1992). Um herauszufinden, ob die Inhibierung des HCN-Kanals durch Dexmedetomidin im Thalamus cAMP-abhängig ist, sind weitere Untersuchungen notwendig. Durch die unterschiedliche Zusammensetzung von HCN-Kanal-Isoformen in TC- und PVN-Neuronen (Moosmang et al., 1999; D.-L. Qiu et al., 2005) sind voneinander abweichende Ergebnisse durchaus möglich.

Es bleibt die Frage, weshalb Dexmedetomidin in niedrigen Konzentrationen auf HCN-Kanäle in PVN-Neuronen und in HEK-Zellen wirkt, jedoch nicht auf HCN-Kanäle in TC-Neuronen. Eine Erklärung für abweichende Ergebnisse könnten Unterschiede in der verwendeten Methodik sein. Sowohl bei Shirasaka et al. (2007) und Yang et al. (2014) wurden die Versuche bei Raumtemperatur durchgeführt, genauso wie in der vorliegenden Arbeit. Abweichungen gab es allerdings bei den verwendeten Antagonisten zur Inhibition von interferierenden Ionenströmen. In dieser Arbeit wurden $150 \mu\text{M Ba}^{2+}$ verwendet, während bei Yang et al. (2014) keine Antagonisten verwendet wurden. Bei Shirasaka et al. (2007) wurden neben 1 mM BaCl_2 auch noch $20 \text{ mM Tetraethylammonium}$ (inhibiert Kalium-Kanäle), $2 \text{ mM 4-Aminopyridin}$ (inhibiert Kalium-Kanäle) und $1 \mu\text{M Tetrodotoxin}$ (inhibiert Natrium-Kanäle) verwendet, zusätzlich zu einer Kalzium-freien aCSF, um Kalziumeinstrom zu verhindern. Diese unterschiedlichen Messbedingungen könnten die unterschiedlichen Ergebnisse erklären. Wichtig ist, dass die Messungen der vorliegenden Arbeit insbesondere im Vergleich zu den Messungen im Expressionssystem HEK-Zellen an einem den physiologischen Bedingungen in vivo näheren Modell durchgeführt wurden. Durch die Verwendung von akut präparierten vitalen Hirnschnitten bleibt ein Großteil des neuronalen Netzwerks, also prä- wie auch postsynaptische und darüber hinaus auch nicht neuronale Zellen des ZNS intakt. Die in diesem Modell erzielten Ergebnisse spiegeln daher vermutlich eher die Realität wider.

4.5 Limitationen dieser Arbeit

Diese Arbeit hat einige Limitationen, auf die ebenfalls eingegangen werden soll. In Kapitel 4.1 wurde bereits die Unsicherheit bezüglich der Verwendung einer klinisch relevanten Konzentration beschrieben. Mit weiterer Unsicherheit ist die Applikationsdauer von Dexmedetomidin bis zum Beginn der Messung verbunden. Die Applikationszeit muss lang genug sein, um eine Wirkung zuzulassen. In der Literatur findet man leider bei vielen

Methodenbeschreibungen keine Anmerkung, welche Wartezeit bei elektrophysiologischen Experimenten bis zur gemessenen Wirkung von Dexmedetomidin eingehalten wurde. Lediglich eine Studie liefert Hinweise in dieser Richtung. Bei dieser Studie wurde die analgetische Wirkdauer von Dexmedetomidin nach der intrathekalen Applikation bei Schafen gemessen. Dabei trat der analgetische Effekt nach 20 bis 30 Minuten ein (Eisenach et al., 1994). Bei der intravenösen Applikation beim Menschen ist das Wirkmaximum nach 15 Minuten erreicht (Rossaint et al., 2019). Eine weitere Patch-Clamp-Studie beobachtete eine Abnahme der I_h -Amplitude bereits 5 Minuten nach Dexmedetomidin-Applikation (Shirasaka et al., 2007). Die in dieser Arbeit eingehaltene Wartezeit von 30 bzw. 45 Minuten scheint somit ausreichend zu sein, um die Wirkung von Dexmedetomidin zu erfassen. Die Ergebnisse nach 30 bzw. 45 Minuten unterschieden sich nicht voneinander (Daten nicht gezeigt), daher wurden in Kapitel 3 nur die Ergebnisse nach 45 Minuten präsentiert.

Eine weitere Limitation ist die ausschließliche Verwendung von weiblichen Mäusen. Geschlechtsspezifische Unterschiede bei der Wirkung und bei Nebenwirkungen von einigen Medikamenten existieren und sollten sowohl bei klinischen Studien als auch bei experimentellen Tierversuchen berücksichtigt werden. Diesem Thema wird eine immer größere Bedeutung zugeschrieben, da viele tierexperimentelle Studien nur ein Geschlecht untersuchen (Vutskits et al., 2019). Jang et al. (2019) zeigten, dass der anxiolytische Effekt von Dexmedetomidin bei weiblichen Ratten ausgeprägter ist als bei männlichen. Klinischen Studien zur Pharmakokinetik von Dexmedetomidin bei intensivmedizinisch betreuten Patienten konnten keinen Unterschied bezüglich pharmakokinetischen Parametern bei Frauen und Männern feststellen (Iirola et al., 2012; Smuszkiewicz et al., 2018). Allerdings untersuchten Smuszkiewicz et al. (2018) nur 17 Patienten und 10 Patientinnen und Iirola et al. (2012) 16 Patienten und 5 Patientinnen. Smuszkiewicz et al. (2018) argumentierten selber, dass man größere Gruppen untersuchen müsste, um Unterschiede zu finden.

Eine weitere klinische Studie von Li et al. (2016) untersuchte 223 Patienten und fand heraus, dass die intraoperative Gabe von Dexmedetomidin bei Männern zu einer höheren Einsparung von postoperativen Morphium führte als bei Frauen. In der vorliegenden Arbeit wurden jedoch die Mechanismen untersucht, mit welchen Dexmedetomidin zur Bewusstlosigkeit führt und nicht die antinozizeptiven Mechanismen. Dass die Wahrnehmung und Behandlung von Schmerzen geschlechterabhängig ist, ist schon länger bekannt (Paller et al., 2009). Letzlich lässt es sich noch nicht sagen, ob die sedierende Wirkung von Dexmedetomidin geschlechtsspezifische Unterschiede zeigt.

Abschließend soll noch auf die Temperatur eingegangen werden, bei welcher die Messungen durchgeführt wurden. Normalerweise werden elektrophysiologische Zellableitungen bei Raumtemperatur durchgeführt, um stabilere Messbedingungen zu erhalten (Pena et al., 2006). So wurden auch die Experimente dieser Arbeit bei Raumtemperatur durchgeführt. In der Literatur gibt es jedoch einige Hinweise, dass die neuronale Erregbarkeit und synaptische Transmission durch die Temperatur beeinflusst werden (Pena et al., 2006; Schiff & Somjen, 1985; Tanimoto & Okada, 1987). In der erst kürzlich veröffentlichten Studie von van Hook (2020) wurde die Temperaturabhängigkeit der synaptischen Transmission von TC-Neuronen im Nucleus geniculatus lateralis untersucht. Bei Raumtemperatur (23–24 °C) und bei 33 °C zeigten die TC-Neurone ein verändertes Verhalten der Aktionspotentialentladungen und einen verminderten Membranwiderstand. Letzteres wurde in den Versuchen auf die Aktivität von K_{IR} -Kanälen zurückgeführt. HCN-Kanäle wurden in dieser Studie nicht genauer untersucht. Zur Temperaturabhängigkeit von HCN-Kanälen ist in der Literatur wenig zu finden. Eine frühe Arbeit von Edman und Grampp (1991) berichtet über eine erhöhte Leitfähigkeit und eine schnellere Kinetik des Stroms I_h in Neuronen von Hummern bei 23 °C als bei 13 °C. Die Spannungsabhängigkeit der Kanäle veränderte sich nicht. Auch der I_h von glatten Muskelzellen aus Meerschweinchen zeigte eine beschleunigte Kinetik durch Temperaturerhöhung (von 22 °C auf 33 °C). Hier wurde auch das Potential der halbmaximalen Aktivierung zu positiveren Werten hin verschoben, während die maximale Amplitude von I_h nur eine leichte Zunahme zeigte (Yanagida et al., 2000). Yanagida et al. (2000) berichteten auch, dass die Messungen vom I_h bei Temperaturen über 30 °C instabil waren und ab 33 °C nicht mehr möglich waren, aufgrund einer Labilität der abgeleiteten Membranen. Pena et al. (2006) untersuchten Hinterhornneurone von Ratten durch Erwärmung der Messflüssigkeit von 25 °C auf 33 °C und zeigten dadurch eine Zunahme der I_h -Amplitude und eine beschleunigte Kinetik der HCN-Kanäle. Aufgrund der elektrophysiologischen Eigenschaften der gemessenen Kanäle vermuteten Pena et al. (2006) allerdings, v.a. HCN1-Kanäle gemessen zu haben. Da im Thalamus v.a. HCN2- und HCN4-Kanäle vorkommen (Moosmang et al., 1999), kann man aufgrund dieser Ergebnisse wenig über die Temperaturabhängigkeit von HCN-Kanälen in TC-Neuronen aussagen. Es wurde nur eine einzige Studie gefunden, welche die Temperaturabhängigkeit vom I_h in TC-Neuronen untersucht hat. Allerdings untersuchten Kanyshkova et al. (2012) eine spezielle Fragestellung zur Rolle von HCN-Kanälen bei Epilepsie und verwendeten Rattenstämme mit und ohne Epilepsie-neigung. Jedenfalls wurde bei beiden Rattenstämmen TC-Neurone im dorsalen Nucleus geniculatus lateralis untersucht. Auch bei diesen Neuronen zeigte sich durch eine Tempe-

raturerhöhung von 22 °C auf 35 °C eine Zunahme der maximalen I_h -Amplitude und eine Verschiebung des Potentials der halbmaximalen Aktivierung in Richtung Depolarisation. Die Ausprägung der Unterschiede zwischen den beiden Rattenstämmen blieb jedoch durch die Temperaturerhöhung unverändert. Daher ist es unklar, ob die Wirkung von Dexmedetomidin auf HCN-Kanäle bei der physiologischen Körpertemperatur überhaupt anders ausfallen würde als bei Raumtemperatur. Letztlich nimmt man diese Unsicherheit in Kauf, um stabilere Messbedingungen zu erhalten.

4.6 Schlussfolgerung

Dexmedetomidin führt zu einem reduzierten Blutfluß und reduziertem Glukosemetabolismus im Thalamus (Akeju, Loggia et al., 2014). Der Thalamus scheint also auch an der sedierenden Wirkung von Dexmedetomidin beteiligt zu sein. In diesem Promotionsvorhaben wurde gezeigt, dass Dexmedetomidin in klinisch relevanten Konzentrationen keinen Einfluss auf HCN-Kanäle in TC-Neuronen hat.

Ob die durch 10–100 μM Dexmedetomidin induzierten Effekte HCN-Kanal-vermittelt sind, ist unklar. Für eine Rolle des HCN-Kanals spricht die Abnahme der I_h -Amplitude und eine Zunahme des Membranwiderstands. Allerdings würde man eine Abnahme des HCN-Kanal-vermittelten Voltage Sags erwarten. Eine derartige Abnahme wurde nicht beobachtet und spricht somit gegen einen HCN-Kanal-vermittelten Mechanismus in TC-Neuronen. Der verlängerte Rebound Burst Delay kann auch beispielsweise durch Veränderungen der Kalziumleitfähigkeiten auftreten und muss nicht HCN-Kanal-vermittelt sein (Linás & Steriade, 2006). Inwiefern diese Effekte eine klinische Relevanz haben, muss noch geklärt werden. In weiterführenden Untersuchungen mit Yohimbin könnte untersucht werden, ob diese Effekte auf einem α_2 -vermittelten Mechanismus beruhen, wie es beispielsweise in PVN-Neuronen der Fall ist (Shirasaka et al., 2007). Vermutlich entsprechen die Konzentrationen von 10–100 μM Dexmedetomidin keiner klinisch relevanten Konzentration und würden klinisch gesehen einer Überdosierung entsprechen. Die widersprüchlichen Ergebnisse, die zum Teil für und zum Teil gegen eine Vermittlung über den HCN-Kanal sprechen, könnten daher auch auf unspezifischen Arzneimittelinteraktionen beruhen.

Aufgrund der Ergebnisse dieses Promotionsvorhabens basiert der sedierende Effekt von Dexmedetomidin im Thalamus vermutlich nicht auf einer Beteiligung des HCN-Kanals,

sondern auf anderen Wirkmechanismen. Die molekularen Mechanismen, die zum anästhetika-induzierten Bewusstseinsverlust führen, sind vielfältig und beruhen auf der kombinatorischen Wirkung an mehreren Rezeptoren in verschiedenen Netzwerken (Franks, 2008; Rudolph & Antkowiak, 2004). Die genauen Wirkmechanismen von Dexmedetomidin im Thalamus bleiben vorerst ungeklärt.

5 Zusammenfassung

Dexmedetomidin wird in Deutschland seit 2011 zur Langzeitsedierung von intensivmedizinisch-betreuten Patienten eingesetzt. Ihm werden dabei einige positive Eigenschaften zugeschrieben, wie etwa die Delirprotektion und ein reduzierter Bedarf an zusätzlichen Analgetika. Auch die intraoperative Gabe von Dexmedetomidin scheint für die Patienten positive Effekte zu haben. Die genauen Mechanismen, über die Dexmedetomidin zur Sedierung führt, sind jedoch weiterhin nicht vollständig geklärt. Von der Untersuchung der Wirkmechanismen verspricht man sich eine erhöhte Sicherheit im klinischen Einsatz von Anästhetika und Sedativa. Der neuronalen Aktivität im Thalamus wurde wiederholt eine große Bedeutung beim anästhetika-induzierten Bewusstseinsverlust zugeschrieben. Im Rahmen dieses Promotionsvorhabens wurden HCN-Kanäle in thalamokortikalen Schaltneuronen (TC-Neurone) als mögliche Zielstruktur von Dexmedetomidin untersucht. Dafür wurden in vitalen Hirnschnittpräparaten von Mäusen TC-Neurone im ventrobasalen Kernkomplex des Thalamus mittels Whole-cell Patch-Clamp Technik abgeleitet. Durch Stimulationen im Current- und Voltage-Clamp-Modus wurden über die Strom- und Spannungsantworten die Erregbarkeit der TC-Neurone und die Leitfähigkeit der HCN-Kanäle untersucht. Dabei zeigte sich, dass Dexmedetomidin in einer Konzentration von $1\ \mu\text{M}$ keinen Einfluss auf die untersuchten Parameter hatte. Erst bei einer Konzentration von $10\ \mu\text{M}$ nahm der Strom I_h durch die HCN-Kanäle ab. Außerdem zeigte sich ein erhöhter Membranwiderstand der abgeleiteten Neurone. Bei einer Konzentration von $100\ \mu\text{M}$ zeigte sich zusätzlich zum erhöhten Membranwiderstand auch eine erhöhte Aktionspotentialschwelle und eine verminderte Aktionspotentialfrequenz. Ebenso kam es neben dem inhibierten I_h zu einer Verschiebung des Potentials der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ in Richtung Hyperpolarisation und zu einer Verlängerung der schnellen Aktivierungszeitkonstanten τ_{fast} von I_h . Die sedierende Wirkung von Dexmedetomidin tritt bei Konzentrationen von etwa $1\ \mu\text{M}$ auf. Unter dieser Konzentration zeigten sich keine Veränderungen der HCN-Kanal vermittelten Ströme. Die Beteiligung dieser Kanäle an der sedierenden Wirkung von Dexmedetomidin ist daher unwahrscheinlich. Die gezeigten Veränderungen unter $10\ \mu\text{M}$ und $100\ \mu\text{M}$ Dexmedetomidin lassen sich am ehesten durch unspezifische Arzneimittelinteraktionen erklären. Die klinische Bedeutung dieser Ergebnisse bedarf weiterer Abklärung.

6 Literaturverzeichnis

- Agmon, A. & Connors, B. W. (1991). Thalamocortical responses of mouse somatosensory (barrel) cortex in vitro. *Neuroscience*, *41*, 365–379.
- Akeju, O., Loggia, M. L., Catana, C., Pavone, K. J., Vazquez, R., Rhee, J., Contreras Ramirez, V., Chonde, D. B., Izquierdo-Garcia, D., Arabasz, G., Hsu, S., Habeeb, K., Hooker, J. M., Napadow, V., Brown, E. N. & Purdon, P. L. (2014). Disruption of thalamic functional connectivity is a neural correlate of dexmedetomidine-induced unconsciousness. *eLife*, *3*, e04499.
- Akeju, O., Pavone, K. J., Westover, M. B., Vazquez, R., Prerau, M. J., Harrell, P. G., Hartnack, K. E., Rhee, J., Sampson, A. L., Habeeb, K., Gao, L., Lei, G., Pierce, E. T., Walsh, J. L., Brown, E. N. & Purdon, P. L. (2014). A comparison of propofol- and dexmedetomidine-induced electroencephalogram dynamics using spectral and coherence analysis. *Anesthesiology*, *121*(5), 978–989.
- Alkire, M. T., Haier, R. J. & Fallon, J. H. (2000). Toward a unified theory of narcosis: brain imaging evidence for a thalamocortical switch as the neurophysiologic basis of anesthetic-induced unconsciousness. *Consciousness and cognition*, *9*(3), 370–386.
- Angst, M. S., Ramaswamy, B., Davies, M. F. & Maze, M. (2004). Comparative analgesic and mental effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine and alfentanil in humans. *Anesthesiology*, *101*(3), 744–752.
- Bal, T. & McCormick, D. A. (1996). What Stops Synchronized Thalamocortical Oscillations? *Neuron*, *17*(2), 297–308.
- Baruscotti, M., Bucchi, A. & DiFrancesco, D. (2005). Physiology and pharmacology of the cardiac pacemaker (funny) current. *Pharmacology & therapeutics*, *107*(1), 59–79.

- Biel, M., Wahl-Schott, C., Michalakis, S. & Zong, X. (2009). Hyperpolarization-activated cation channels: from genes to function. *Physiological reviews*, 89(3), 847–885.
- Bloor, B. C., Ward, D. S., Belleville, J. P. & Maze, M. (1992). Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. II. Hemodynamic changes. *Anesthesiology*, 77(6), 1134–1142.
- Bol, C. J., Vogelaar, J. P. & Mandema, J. W. (1999). Anesthetic profile of dexmedetomidine identified by stimulus-response and continuous measurements in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291(1), 153–160.
- Boveroux, P., Vanhaudenhuyse, A., Bruno, M.-A., Noirhomme, Q., Lauwick, S., Luxen, A., Degueldre, C., Plenevaux, A., Schnakers, C., Phillips, C., Brichant, J.-F., Bonhomme, V., Maquet, P., Greicius, M. D., Laureys, S. & Boly, M. (2010). Break-down of within- and between-network resting state functional magnetic resonance imaging connectivity during propofol-induced loss of consciousness. *Anesthesiology*, 113(5), 1038–1053.
- Budde, T., Coulon, P., Pawlowski, M., Meuth, P., Kanyshkova, T., Japes, A., Meuth, S. G. & Pape, H. C. (2008). Reciprocal modulation of I (h) and I (TASK) in thalamocortical relay neurons by halothane. *Pflügers Archiv : European journal of physiology*, 456(6), 1061–1073.
- Carr, D. B., Andrews, G. D., Glen, W. B. & Lavin, A. (2007). α 2-Noradrenergic receptors activation enhances excitability and synaptic integration in rat prefrontal cortex pyramidal neurons via inhibition of HCN currents. *The Journal of physiology*, 584(Pt 2), 437–450.
- Chrysostomou, C. & Schmitt, C. G. (2008). Dexmedetomidine: sedation, analgesia and beyond. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 4(5), 619–627.
- Correa-Sales, C., Nacif-Coelho, C., Reid, K. & Maze, M. (1992). Inhibition of adenylate cyclase in the locus coeruleus mediates the hypnotic response to an α 2 agonist in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 263(3), 1046–1049.
- Correa-Sales, C., Rabin, B.S., Bradford C. & Maze, M.B., Ch.B., Mervyn. (1992). A Hypnotic Response to Dexmedetomidine, an α 2 Agonist, Is Mediated in the Locus Coeruleus in Rats. *Anesthesiology*, 76(6), 948–952.

- Cortinez, L. I., Hsu, Y.-W., Sum-Ping, S. T., Young, C., Keifer, J. C., Macleod, D., Robertson, K. M., Wright, D. R., Moretti, E. W. & Somma, J. (2004). Dexmedetomidine pharmacodynamics: Part II: Crossover comparison of the analgesic effect of dexmedetomidine and remifentanyl in healthy volunteers. *Anesthesiology*, *101*(5), 1077–1083.
- Davy, A., Fessler, J., Fischler, M. & Le Guen, M. (2017). Dexmedetomidine and general anesthesia: a narrative literature review of its major indications for use in adults undergoing non-cardiac surgery. *Minerva anesthesiologica*, *83*(12), 1294–1308.
- de Wolf, A. M., Fragen, R. J., Avram, M. J., Fitzgerald, P. C. & Rahimi-Danesh, F. (2001). The pharmacokinetics of dexmedetomidine in volunteers with severe renal impairment. *Anesthesia and analgesia*, *93*(5), 1205–1209.
- DiFrancesco, D. & Tortora, P. (1991). Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cyclic AMP. *Nature*, *351*(6322), 145–147.
- Dodt, H.-U., Eder, M., Schierloh, A. & Zieglgänsberger, W. (2002). Infrared-guided laser stimulation of neurons in brain slices. *Science's STKE*, *2002*(120), pl2.
- Dodt, H.-U. & Zieglgänsberger, W. (1998). Visualization of neuronal form and function in brain slices by infrared videomicroscopy. *The Histochemical journal*, *30*(3), 141–152.
- Dutta, S., Lal, R., Karol, M. D., Cohen, T. & Ebert, T. (2000). Influence of Cardiac Output on Dexmedetomidine Pharmacokinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *89*(4), 519–527.
- Dyck, J. B., Maze, M., Haack, C., Azarnoff, D. L., Vuorilehto, L. & Shafer, S. L. (1993). Computer-controlled infusion of intravenous dexmedetomidine hydrochloride in adult human volunteers. *Anesthesiology*, *78*(5), 821–828.
- Ebert, T. J., Hall, J. E., Barney, J. A., Uhrich, T. D. & Colino, M. D. (2000). The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology*, *93*(2), 382–394.
- Edman, A. & Grampp, W. (1991). Ion (H^+ , Ca^{2+} , Co^{2+}) and temperature effects on a hyperpolarization-activated membrane current in the lobster stretch receptor neurone. *Acta physiologica Scandinavica*, *141*(2), 251–261.

- Ehling, P., Bittner, S., Meuth, S. G. & Budde, T. (2015). TASK, TREK & Co.: a mutable potassium channel family for diverse tasks in the brain. *e-Neuroforum*, 6(2), 29–37.
- Eisenach, J. C., Shafer, S. L., Bucklin, B. A., Jackson, C. & Kallio, A. (1994). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology*, 80(6), 1349–1359.
- EMA. (2020). European Medicines Agency: Dexdor summary of product characteristics: last updated 29/05/2020. Verfügbar 23. Oktober 2020 unter https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dexdor-epar-product-information_en.pdf
- Farag, E., Argalious, M., Abd-Elseyed, A., Ebrahim, Z. & Doyle, D. J. (2012). The use of dexmedetomidine in anesthesia and intensive care: a review. *Current pharmaceutical design*, 18(38), 6257–6265.
- Fiset, P., Paus, T., Daloz, T., Plourde, G., Meuret, P., Bonhomme, V., Hajj-Ali, N., Backman, S. B. & Evans, A. C. (1999). Brain Mechanisms of Propofol-Induced Loss of Consciousness in Humans: a Positron Emission Tomographic Study. *The Journal of Neuroscience*, 19(13), 5506–5513.
- Franks, N. P. (2008). General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal. *Nature reviews. Neuroscience*, 9(5), 370–386.
- Gerlach, A. T., Murphy, C. V. & Dasta, J. F. (2009). An updated focused review of dexmedetomidine in adults. *The Annals of pharmacotherapy*, 43(12), 2064–2074.
- Gerresheim, G. & Schwemmer, U. (2013). Dexmedetomidin. *Der Anaesthesist*, 62(8), 661–674.
- Gertler, R., Brown, H. C., Mitchell, D. H. & Silvius, E. N. (2001). Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)*, 14(1), 13–21.
- Giovannitti, J. A., Thoms, S. M. & Crawford, J. J. (2015). Alpha-2 adrenergic receptor agonists: a review of current clinical applications. *Anesthesia progress*, 62(1), 31–39.
- Greiner, C. (2010). Clearance: Wie Substanzen eliminiert werden. *Neurotransmitter*, (12), 37–38.

- Gu, X.-Y., Liu, B.-L., Zang, K.-K., Yang, L., Xu, H., Pan, H.-L., Zhao, Z.-Q. & Zhang, Y.-Q. (2015). Dexmedetomidine inhibits Tetrodotoxin-resistant Nav1.8 sodium channel activity through Gi/o-dependent pathway in rat dorsal root ganglion neurons. *Molecular Brain*, 8(1), 15.
- He, C., Chen, F., Li, B. & Hu, Z. (2014). Neurophysiology of HCN channels: from cellular functions to multiple regulations. *Progress in neurobiology*, 112, 1–23.
- Hemmings, H. C., Riegelhaupt, P. M., Kelz, M. B., Solt, K., Eckenhoff, R. G., Orser, B. A. & Goldstein, P. A. (2019). Towards a Comprehensive Understanding of Anesthetic Mechanisms of Action: A Decade of Discovery. *Trends in pharmacological sciences*, 40(7), 464–481.
- Ho, A. M.-H., Chen, S. & Karmakar, M. K. (2005). Central apnoea after balanced general anaesthesia that included dexmedetomidine. *British Journal of Anaesthesia*, 95(6), 773–775.
- Huang, R. & Hertz, L. (2000). Receptor subtype and dose dependence of dexmedetomidine-induced accumulation of [14C]glutamine in astrocytes suggests glial involvement in its hypnotic-sedative and anesthetic-sparing effects. *Brain Research*, 873(2), 297–301.
- Hudetz, A. G. (2012). General anesthesia and human brain connectivity. *Brain connectivity*, 2(6), 291–302.
- Hudetz, A. G. & Mashour, G. A. (2016). Disconnecting Consciousness: Is There a Common Anesthetic End Point? *Anesthesia and analgesia*, 123(5), 1228–1240.
- Huggenberger, S., Moser, N., Schröder, H., Cozzi, B., Granato, A. & Merighi, A. (Hrsg.). (2019). *Thalamus und Epithalamus. In: Neuroanatomie des Menschen*. Springer.
- Huupponen, E., Maksimow, A., Lapinlampi, P., Särkelä, M., Saastamoinen, A., Snapir, A., Scheinin, H., Scheinin, M., Meriläinen, P., Himanen, S.-L. & Jääskeläinen, S. (2008). Electroencephalogram spindle activity during dexmedetomidine sedation and physiological sleep. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 52(2), 289–294.
- Ihmsen, H. & Saari, T. I. (2012). Dexmedetomidin. Pharmakokinetik und Pharmakodynamik. *Der Anaesthesist*, 61(12), 1059–1066.
- Iiro, T., Ihmsen, H., Laitio, R., Kentala, E., Aantaa, R., Kurvinen, J.-P., Scheinin, M., Schwilden, H., Schüttler, J. & Olkkola, K. T. (2012). Population pharmacokinetics

- of dexmedetomidine during long-term sedation in intensive care patients. *British Journal of Anaesthesia*, 108(3), 460–468.
- Im, S.-T., Jo, Y. Y., Han, G., Jo, H. J., Kim, Y. H. & Park, C.-K. (2018). Dexmedetomidine Inhibits Voltage-Gated Sodium Channels via α_2 -Adrenoceptors in Trigeminal Ganglion Neurons. *Mediators of inflammation*, 2018, 1782719.
- Inyushin, M. U., Arencibia-Albite, F., Vázquez-Torres, R., Vélez-Hernández, M. E. & Jiménez-Rivera, C. A. (2010). Alpha-2 noradrenergic receptor activation inhibits the hyperpolarization-activated cation current (I_h) in neurons of the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 167(2), 287–297.
- Jakob, S. M., Ruukonen, E., Grounds, R. M., Sarapohja, T., Garratt, C., Pocock, S. J., Bratty, J. R. & Takala, J. (2012). Dexmedetomidine vs midazolam or propofol for sedation during prolonged mechanical ventilation: two randomized controlled trials. *JAMA*, 307(11), 1151–1160.
- Jang, M., Jung, T., Kim, S.-H. & Noh, J. (2019). Sex differential effect of dexmedetomidine on fear memory extinction and anxiety behavior in adolescent rats. *Neuroscience research*, 149, 29–37.
- Jones, E. G. (2009). Synchrony in the interconnected circuitry of the thalamus and cerebral cortex. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1157, 10–23.
- Jorm, C. M. & Stamford, J. A. (1993). Actions of the hypnotic anaesthetic, dexmedetomidine, on noradrenaline release and cell firing in rat locus coeruleus slices. *British Journal of Anaesthesia*, 71(3), 447–449.
- Kaisti, K. K., Långsjö, J. W., Aalto, S., Oikonen, V., Sipilä, H., Teräs, M., Hinkka, S., Metsähonkala, L. & Scheinin, H. (2003). Effects of sevoflurane, propofol, and adjunct nitrous oxide on regional cerebral blood flow, oxygen consumption, and blood volume in humans. *Anesthesiology*, 99(3), 603–613.
- Kanyshkova, T., Meuth, P., Bista, P., Liu, Z., Ehling, P., Caputi, L., Doengi, M., Chetkovich, D. M., Pape, H.-C. & Budde, T. (2012). Differential regulation of HCN channel isoform expression in thalamic neurons of epileptic and non-epileptic rat strains. *Neurobiology of disease*, 45(1), 450–461.
- Karol, M. D. & Maze, M. (2000). Pharmacokinetics and interaction pharmacodynamics of dexmedetomidine in humans. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 14(2), 261–269.

- Kawano, T., Yamazaki, F., Chi, H., Kawahito, S. & Eguchi, S. (2012). Dexmedetomidine directly inhibits vascular ATP-sensitive potassium channels. *Life sciences*, *90*(7-8), 272–277.
- Laitio, R. M., Kaisti, K. K., Långsjö, J. W., Aalto, S., Salmi, E., Maksimow, A., Aantaa, R., Oikonen, V., Sipilä, H., Parkkola, R. & Scheinin, H. (2007). Effects of xenon anesthesia on cerebral blood flow in humans: a positron emission tomography study. *Anesthesiology*, *106*(6), 1128–1133.
- Långsjö, J. W., Maksimow, A., Salmi, E., Kaisti, K., Aalto, S., Oikonen, V., Hinkka, S., Aantaa, R., Sipilä, H., Viljanen, T., Parkkola, R. & Scheinin, H. (2005). S-ketamine anesthesia increases cerebral blood flow in excess of the metabolic needs in humans. *Anesthesiology*, *103*(2), 258–268.
- Li, Y.-Y., Ge, D.-J., Li, J.-Y. & Qi, B. (2016). Sex Differences in the Morphine-Sparing Effects of Intraoperative Dexmedetomidine in Patient-Controlled Analgesia Following General Anesthesia: A Consort-Prospective, Randomized, Controlled Clinical Trial. *Medicine*, *95*(18), e3619.
- Limbird, L. E. (1988). Receptors linked to inhibition of adenylate cyclase: additional signaling mechanisms. *FASEB journal*, *2*(11), 2686–2695.
- Lin, T.-F., Yeh, Y.-C., Lin, F.-S., Wang, Y.-P., Lin, C.-J., Sun, W.-Z. & Fan, S.-Z. (2009). Effect of combining dexmedetomidine and morphine for intravenous patient-controlled analgesia. *British Journal of Anaesthesia*, *102*(1), 117–122.
- Liu, X., Lauer, K. K., Ward, B. D., Li, S.-J. & Hudetz, A. G. (2013). Differential effects of deep sedation with propofol on the specific and nonspecific thalamocortical systems: a functional magnetic resonance imaging study. *Anesthesiology*, *118*(1), 59–69.
- Liu, X., Warren, R. A. & Jones, E. G. (1995). Synaptic distribution of afferents from reticular nucleus in ventroposterior nucleus of cat thalamus. *The Journal of comparative neurology*, *352*(2), 187–202.
- Llinás, R. R. & Steriade, M. (2006). Bursting of thalamic neurons and states of vigilance. *Journal of neurophysiology*, *95*(6), 3297–3308.
- Lodenius, Å., Ebberyd, A., Hårdemark Cedborg, A., Hagel, E., Mkrtchian, S., Christenson, E., Ullman, J., Scheinin, M., Eriksson, L. I. & Jonsson Fagerlund, M. (2016). Sedation with Dexmedetomidine or Propofol Impairs Hypoxic Control of Brea-

- thing in Healthy Male Volunteers: A Nonblinded, Randomized Crossover Study. *Anesthesiology*, 125(4), 700–715.
- Ludwig, A., Budde, T., Stieber, J., Moosmang, S., Wahl, C., Holthoff, K., Langebartels, A., Wotjak, C., Munsch, T., Zong, X., Feil, S., Feil, R., Lancel, M., Chien, K. R., Konnerth, A., Pape, H. C., Biel, M. & Hofmann, F. (2003). Absence epilepsy and sinus dysrhythmia in mice lacking the pacemaker channel HCN2. *The EMBO journal*, 22(2), 216–224.
- Mai, J. K. & Majtanik, M. (2018). Toward a Common Terminology for the Thalamus. *Frontiers in neuroanatomy*, 12, 114.
- Malmberg, A. B., Hedley, L. R., Jasper, J. R., Hunter, J. C. & Basbaum, A. I. (2001). Contribution of alpha(2) receptor subtypes to nerve injury-induced pain and its regulation by dexmedetomidine. *British journal of pharmacology*, 132(8), 1827–1836.
- Mantz, J., Jossierand, J. & Hamada, S. (2011). Dexmedetomidine: new insights. *European journal of anaesthesiology*, 28(1), 3–6.
- Mashour, G. A. & Alkire, M. T. (2013). Consciousness, anesthesia, and the thalamocortical system. *Anesthesiology*, 118(1), 13–15.
- Mashour, G. A. & Hudetz, A. G. (2017). Bottom-Up and Top-Down Mechanisms of General Anesthetics Modulate Different Dimensions of Consciousness. *Frontiers in neural circuits*, 11, 44.
- Mashour, G. A. & Hudetz, A. G. (2018). Neural Correlates of Unconsciousness in Large-Scale Brain Networks. *Trends in neurosciences*, 41(3), 150–160.
- Mattusch, C., Kratzer, S., Buerge, M., Kreuzer, M., Engel, T., Kopp, C., Biel, M., Hammelmann, V., Ying, S.-W., Goldstein, P. A., Kochs, E., Haseneder, R. & Rammes, G. (2015). Impact of Hyperpolarization-activated, Cyclic Nucleotide-gated Cation Channel Type 2 for the Xenon-mediated Anesthetic Effect: Evidence from In Vitro and In Vivo Experiments. *Anesthesiology*, 122(5), 1047–1059.
- McCormick, D. A. & Bal, T. (1997). Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annual review of neuroscience*, 20, 185–215.
- McCormick, D. A. & Prince, D. A. (1987). Actions of acetylcholine in the guinea-pig and cat medial and lateral geniculate nuclei, in vitro. *The Journal of physiology*, 392, 147–165.

- Meuth, S. G., Budde, T., Kanyshkova, T., Broicher, T., Munsch, T. & Pape, H. C. (2003). Contribution of TWIK-Related Acid-Sensitive K⁺ Channel 1 (TASK1) and TASK3 Channels to the Control of Activity Modes in Thalamocortical Neurons. *The Journal of Neuroscience*, *23*(16), 6460–6469.
- Meuth, S. G., Kanyshkova, T., Meuth, P., Landgraf, P., Munsch, T., Ludwig, A., Hofmann, F., Pape, H. C. & Budde, T. (2006). Membrane resting potential of thalamocortical relay neurons is shaped by the interaction among TASK3 and HCN2 channels. *Journal of neurophysiology*, *96*(3), 1517–1529.
- Molleman, A. (2003). *Patch clamping: An introductory guide to patch clamp electrophysiology* (Reprint). Wiley.
- Moosmang, S., Biel, M., Hofmann, F. & Ludwig, A. (1999). Differential distribution of four hyperpolarization-activated cation channels in mouse brain. *Biological chemistry*, *380*(7-8), 975–980.
- Neuhoff, H., Neu, A., Liss, B. & Roeper, J. (2002). Ih Channels Contribute to the Different Functional Properties of Identified Dopaminergic Subpopulations in the Midbrain. *The Journal of Neuroscience*, *22*(4), 1290–1302.
- Numberger, M., Draguhn, A. & Sakmann, B. (1996). *Patch-Clamp-Technik*. Spektrum Akad. Verl.
- Paller, C. J., Campbell, C. M., Edwards, R. R. & Dobs, A. S. (2009). Sex-based differences in pain perception and treatment. *Pain medicine (Malden, Mass.)*, *10*(2), 289–299.
- Pape, H. C. (1994). Specific bradycardic agents block the hyperpolarization-activated cation current in central neurons. *Neuroscience*, *59*(2), 363–373.
- Pape, H. C. (1996). Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Annual review of physiology*, *58*, 299–327.
- Pape, H. C., Meuth, S. G., Seidenbecher, T., Munsch, T. & Budde, T. (2005). Der Thalamus: Tor zum Bewusstsein und Rhythmusgenerator im Gehirn. *e-Neuroforum*, *11*(2).
- Pasin, L., Landoni, G., Nardelli, P., Belletti, A., Di Prima, A. L., Taddeo, D., Isella, F. & Zangrillo, A. (2014). Dexmedetomidine reduces the risk of delirium, agitation and confusion in critically ill patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, *28*(6), 1459–1466.

- Pena, F., Amuzescu, B., Neaga, E. & Flonta, M.-L. (2006). Thermodynamic properties of hyperpolarization-activated current (I_h) in a subgroup of primary sensory neurons. *Experimental Brain Research*, 173(2), 282–290.
- Plourde, G. & Arseneau, F. (2017). Attenuation of high-frequency (30-200 Hz) thalamo-cortical EEG rhythms as correlate of anaesthetic action: evidence from dexmedetomidine. *British Journal of Anaesthesia*, 119(6), 1150–1160.
- Prielipp, R. C., Wall, M. H., Tobin, J. R., Groban, L., Cannon, M. A., Fahey, F. H., Gage, H. D., Stump, D. A., James, R. L., Bennett, J. & Butterworth, J. (2002). Dexmedetomidine-induced sedation in volunteers decreases regional and global cerebral blood flow. *Anesthesia and analgesia*, 95(4), 1052–9, table of contents.
- Puolivali, J., Björklund, M., Holmberg, M., Ihalainen, J. A., Scheinin, M. & Tanila, H. (2002). Alpha₂C-adrenoceptor mediated regulation of cortical EEG arousal. *Neuropharmacology*, 43(8), 1305–1312.
- Purdon, P. L., Sampson, A., Pavone, K. J. & Brown, E. N. (2015). Clinical Electroencephalography for Anesthesiologists: Part I: Background and Basic Signatures. *Anesthesiology*, 123(4), 937–960.
- Qiu, D.-L., Chu, C.-P., Shirasaka, T., Tsukino, H., Nakao, H., Kato, K., Kunitake, T., Katoh, T. & Kannan, H. (2005). Corticotrophin-releasing factor augments the I(H) in rat hypothalamic paraventricular nucleus parvocellular neurons in vitro. *Journal of neurophysiology*, 94(1), 226–234.
- Qiu, G., Wu, Y., Yang, Z., Li, L., Zhu, X., Wang, Y., Sun, W., Dong, H., Li, Y. & Hu, J. (2020). Dexmedetomidine Activation of Dopamine Neurons in the Ventral Tegmental Area Attenuates the Depth of Sedation in Mice. *Anesthesiology*, 133(2), 377–392.
- Riker, R. R., Shehabi, Y., Bokesch, P. M., Ceraso, D., Wisemandle, W., Koura, F., Whitten, P., Margolis, B. D., Byrne, D. W., Ely, E. W. & Rocha, M. G. (2009). Dexmedetomidine vs midazolam for sedation of critically ill patients: a randomized trial. *JAMA*, 301(5), 489–499.
- Rossaint, R., Werner, C. & Zwißler, B. (Hrsg.). (2019). *Die Anästhesiologie: Allgemeine und spezielle Anästhesiologie, Schmerztherapie und Intensivmedizin* (4. Auflage). Springer Berlin.

- Rudolph, U. & Antkowiak, B. (2004). Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nature reviews. Neuroscience*, 5(9), 709–720.
- Ruokonen, E., Parviainen, I., Jakob, S. M., Nunes, S., Kaukonen, M., Shepherd, S. T., Sarapohja, T., Bratty, J. R. & Takala, J. (2009). Dexmedetomidine versus propofol/midazolam for long-term sedation during mechanical ventilation. *Intensive Care Medicine*, 35(2), 282–290.
- Santoro, B., Chen, S., Lüthi, A., Pavlidis, P., Shumyatsky, G. P., Tibbs, G. R. & Siegelbaum, S. A. (2000). Molecular and Functional Heterogeneity of Hyperpolarization-Activated Pacemaker Channels in the Mouse CNS. *The Journal of Neuroscience*, 20(14), 5264–5275.
- Schiff, S. J. & Somjen, G. G. (1985). The effects of temperature on synaptic transmission in hippocampal tissue slices. *Brain Research*, 345(2), 279–284.
- Schmeißer, M. J., Schumann, S. & Ulfing, N. (2020). *Kurzlehrbuch Neuroanatomie* (2., vollständig überarbeitete Auflage). Georg Thieme Verlag.
- Schwerin, S., Kopp, C., Pircher, E., Schneider, G., Kreuzer, M., Haseneder, R. & Kratzer, S. (2021). Attenuation of Native Hyperpolarization-Activated, Cyclic Nucleotide-Gated Channel Function by the Volatile Anesthetic Sevoflurane in Mouse Thalamocortical Relay Neurons. *Frontiers in cellular neuroscience*, 14.
- Shehabi, Y., Howe, B. D., Bellomo, R., Arabi, Y. M., Bailey, M., Bass, F. E., Bin Kadiman, S., McArthur, C. J., Murray, L., Reade, M. C., Seppelt, I. M., Takala, J., Wise, M. P. & Webb, S. A. (2019). Early Sedation with Dexmedetomidine in Critically Ill Patients. *The New England journal of medicine*, 380(26), 2506–2517.
- Sherman, S. M. (2004). Interneurons and triadic circuitry of the thalamus. *Trends in neurosciences*, 27(11), 670–675.
- Sherman, S. M. & Guillery, R. W. (2002). The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 357(1428), 1695–1708.
- Shirasaka, T., Kannan, H. & Takasaki, M. (2007). Activation of a G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ current and suppression of I_h contribute to dexmedetomidine-induced inhibition of rat hypothalamic paraventricular nucleus neurons. *Anesthesiology*, 107(4), 605–615.

- Smuszkiewicz, P., Wiczling, P., Ber, J., Warzybok, J., Małkiewicz, T., Matysiak, J., Klupczyńska, A., Trojanowska, I., Kokot, Z., Grześkowiak, E., Krzyzanski, W. & Bienert, A. (2018). Pharmacokinetics of dexmedetomidine during analgosedation in ICU patients. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 45(2), 277–284.
- Steriade, M., McCormick, D. A. & Sejnowski, T. J. (1993). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science (New York, N.Y.)*, 262(5134), 679–685.
- Steriade, M. & McCarley, R. (2005). *Brain Control of Wakefulness and Sleep*. Springer.
- Stuart, G. J., Dodt, H. U. & Sakmann, B. (1993). Patch-clamp recordings from the soma and dendrites of neurons in brain slices using infrared video microscopy. *Pflügers Archiv*, 423(5), 511–518.
- Tanimoto, M. & Okada, Y. (1987). The protective effect of hypothermia on hippocampal slices from guinea pig during deprivation of oxygen and glucose. *Brain Research*, 417(2), 239–246.
- TierSchG. (2006). Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 280 der Verordnung vom 19. Juni 2020 (BGBl. I S. 1328) geändert worden ist.
- van Hook, M. J. (2020). Temperature effects on synaptic transmission and neuronal function in the visual thalamus. *PloS one*, 15(4), e0232451.
- Velly, L. J., Rey, M. F., Bruder, N. J., Gouvitsos, F. A., Witjas, T., Regis, J. M., Peragut, J. C. & Gouin, F. M. (2007). Differential dynamic of action on cortical and subcortical structures of anesthetic agents during induction of anesthesia. *Anesthesiology*, 107(2), 202–212.
- Venn, R. M. & Grounds, R. M. (2001). Comparison between dexmedetomidine and propofol for sedation in the intensive care unit: patient and clinician perceptions. *British Journal of Anaesthesia*, 87(5), 684–690.
- Vutskits, L., Clark, J. D. & Kharasch, E. D. (2019). Reporting Laboratory and Animal Research in ANESTHESIOLOGY: The Importance of Sex as a Biologic Variable. *Anesthesiology*, 131(5), 949–952.

- Wahl-Schott, C. & Biel, M. (2009). HCN channels: structure, cellular regulation and physiological function. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, *66*(3), 470–494.
- Wainger, B. J., DeGennaro, M., Santoro, B., Siegelbaum, S. A. & Tibbs, G. R. (2001). Molecular mechanism of cAMP modulation of HCN pacemaker channels. *Nature*, *411*(6839), 805–810.
- Weerink, M. A. S., Struys, M. M. R. F., Hannivoort, L. N., Barends, C. R. M., Absalom, A. R. & Colin, P. (2017). Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine. *Clinical Pharmacokinetics*, *56*(8), 893–913.
- White, N. S. & Alkire, M. T. (2003). Impaired thalamocortical connectivity in humans during general-anesthetic-induced unconsciousness. *NeuroImage*, *19*(2), 402–411.
- Yagi, J. & Sumino, R. (1998). Inhibition of a hyperpolarization-activated current by clonidine in rat dorsal root ganglion neurons. *Journal of neurophysiology*, *80*(3), 1094–1104.
- Yanagida, H., Inoue, R., Tanaka, M. & Ito, Y. (2000). Temperature-sensitive gating of cation current in guinea pig ileal muscle activated by hyperpolarization [Journal Article]. *American journal of physiology. Cell physiology*, *278*(1), C40–8.
- Yang, Y., Meng, Q.-t., Pan, X., Xia, Z.-y. & Chen, X.-d. (2014). Dexmedetomidine produced analgesic effect via inhibition of HCN currents. *European journal of pharmacology*, *740*, 560–564.
- Yang, Y., Xia, Z., Meng, Q., Liu, K., Xiao, Y. & Shi, L. (2018). Dexmedetomidine relieves neuropathic pain by inhibiting hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated currents in dorsal root ganglia neurons. *Neuroreport*, *29*(12), 1001–1006.
- Ying, S.-W., Abbas, S. Y., Harrison, N. L. & Goldstein, P. A. (2006). Propofol block of I(h) contributes to the suppression of neuronal excitability and rhythmic burst firing in thalamocortical neurons. *The European journal of neuroscience*, *23*(2), 465–480.
- Yuan, R., Di, X., Taylor, P. A., Gohel, S., Tsai, Y.-H. & Biswal, B. B. (2016). Functional topography of the thalamocortical system in human. *Brain structure & function*, *221*(4), 1971–1984.
- Yuan, Y., Sun, Z., Chen, Y., Zheng, Y., Xie, K.-L., He, Y., Wang, Z., Wang, G.-L. & Yu, Y.-H. (2017). Prevention of Remifentanyl Induced Postoperative Hyperalgesia by

Dexmedetomidine via Regulating the Trafficking and Function of Spinal NMDA Receptors as well as PKC and CaMKII Level In Vivo and In Vitro. *PLoS one*, 12(2), e0171348.

Danksagung

Abschließend danke ich allen, die die Erstellung dieser Arbeit ermöglicht haben, insbesondere:

Herrn Professor Dr. G. Schneider für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit, die Arbeit an der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin durchzuführen.

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. R. Haseneder für die Aufnahme in die Arbeitsgruppe, die hervorragende fachliche Betreuung, schnelle Erreichbarkeit sowie für die Durchsicht und Korrektur meiner Arbeit.

Meinem Betreuer Herrn PD Dr. S. Kratzer für die Einführung in das wissenschaftliche Arbeiten, die engagierte Betreuung und die Durchsicht und Korrektur der Arbeit.

Allen weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe Experimentelle Pharmakologie des Bewusstseinsverlusts. Dabei danke ich insbesondere Stefan für die engagierte und freundschaftliche Begleitung aller Phasen meines Promotionsvorhabens und Claudia für die tagtägliche Unterstützung im Labor.

Allen weiteren Mitgliedern des Labors für die angenehme Zusammenarbeit. Andreas Blaschke danke ich für die Unterstützung bei allen Laborangelegenheiten und Nina Bayer für ihr offenes Ohr zu jederzeit.

Außerdem danke ich meiner Familie für die Unterstützung während der Promotion und auch während meines Studiums. Patrick danke ich für seine Geduld nach langen Arbeitstagen und während der Anfertigung dieser Arbeit.