

**Diplomarbeit**

**The influence of gender on the in vivo pharmacokinetics  
of the muscle relaxans cisatracurium and its relation to  
cisatracurium pharmacodynamics**

eingereicht von

**Victoria Helene Lirscher**

Mat.Nr.: 0433200

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am

**Institut der physiologischen Chemie**

**und an der**

**Klinik für Anästhesie**

unter der Anleitung von

**Priv.-Doz. Dr. Ashraf Dahaba**

**und**

**Univ.-Prof. Dr. Karl Öttl**

Ort, Datum .....

(Unterschrift)

*Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am .....*

*Unterschrift*

## Danksagungen

An dieser Stelle danke ich allen, die mich während meines Studiums und bei der Verfassung dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Vor allem bei meiner Familie möchte ich mich aus tiefstem Herzen bedanken, dass sie mich mein bisheriges Leben lang in meinen Vorhaben immer unterstützt hat, mir immer wieder Mut gemacht und alles daran gesetzt hat, um mir dieses Studium zu ermöglichen. Auch in schweren Zeiten sind mir meine Eltern immer mit Rat und Tat zu Seite gestanden.

Auch meinem langjährigem Freund Gerald möchte ich für die liebevolle Unterstützung auf diesem Weg ein riesen großes Dankeschön aussprechen. Ich danke ihm dafür, dass er immer ein offenes Ohr für meine Sorgen hat und für mich und mein Studium eigene Bedürfnisse immer hinten an gestellt hat.

Ein besonderes Dankeschön möchte ich auch meinem besten Freund und Studienkollegen Thomas widmen, der mir mit seinem Humor und seiner wunderbaren Freundschaft eine unvergessliche Studienzeit beschert hat.

Ich danke meinem lieben Kollegen und Freund Andreas Domke. Unsere Zusammenarbeit im Rahmen dieser Studie war sehr hilfreich und hat mir großen Spaß gemacht. Gemeinsam haben wir uns gegenseitig immer wieder Mut gemacht.

Ein herzliches Dankeschön gebührt auch meinen Diplomarbeitsbetreuern Priv.-Doz. Dr. Ashraf Dahaba und Univ.-Prof. Dr. Karl Öttl. Sie haben mir mit einer großen Freude das wissenschaftliche Arbeiten näher gebracht und mir einen Freiraum gegeben um eigene Ideen zu entwickeln. Sie haben mir nicht nur die für die Probensammlung und Auswertung notwendigen Apparaturen und Materialien zur Verfügung gestellt, sondern sind mir auch bei Fragen mit unglaublicher Schnelligkeit zur Seite gestanden. Ich danke ihnen für die gute Zusammenarbeit!

Ein weiteres Dankeschön möchte ich Vizerektor Univ. Prof. Dr. Gilbert Reibnegger aussprechen, der uns in der Berechnung der pharmakokinetischen Parameter und in deren statistischer Auswertung tatkräftig unterstützt hat.

In diesem Rahmen möchte ich mich auch noch bei Doris Payerl, der Biomedizinischen Analytikerin des physiologischen Chemie-Labors, und bei Martina Brtnik bedanken, die

uns mit großer Geduld das Arbeiten im chemischen Labor und die für die Auswertung notwendige Analytik näher gebracht haben.

Zu guter Letzt danke ich natürlich meinen Wohnungskollegen und all meinen lieben Freunden, die ich im Laufe des Studiums kennen gelernt und ins Herz geschlossen habe. Sie haben in stressigen und lernintensiven Zeiten für die notwendige Ablenkung gesorgt und mir mit ihrer Gesellschaft, in dessen Genuss ich hoffentlich auch noch in Zukunft häufig kommen werde, viele lustige Abende beschert. Ohne euch wäre meine Studienzzeit nur halb so schön gewesen!

## Zusammenfassung

**Fragestellung** Es liegt die Annahme vor, dass geschlechtsspezifische Faktoren die Pharmakokinetik und die Pharmakodynamik von nichtdepolarisierenden Muskelrelaxantien beeinflussen. Bei Aminosteroidalen Muskelrelaxantien konnte diese Annahme bereits bestätigt werden. Frauen wiesen eine 20-30% höhere Sensitivität auf aminosteroidale Muskelrelaxantien auf als Männer. Da die Studienlage bezüglich moderner Benzylisochinoline, im speziellen für Cisatracurium, noch sehr lückenhaft ist und Widersprüche aufweist, war es das Ziel der vorliegenden Studie zu untersuchen, ob zwischen männlichen und weiblichen Probanden/innen in der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik der neuromuskulären Blockade durch Cisatracurium Unterschiede vorliegen, und in wie weit sich Unterschiede in der Pharmakokinetik auf die Pharmakodynamik auswirken.

**Methodik** 40 Patienten/innen (20 Männer, 20 Frauen), welche sich unter einer totalen intravenösen Anästhesie (1,5 mg/kg Fentanyl, 2-3 mg/kg Propofol) elektiven visceralchirurgischen oder gynäkologischen Operationen unterzogen, nahmen an der Studie teil. Für die Gewinnung der pharmakokinetischen Parameter wurden 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach einer Bolusgabe von 0,1mg/kg Cisatracurium venöse Blutproben entnommen und mittels einer High-Performance-Liquid-Chromatography analysiert. Mithilfe der durch den Relaxometer Mechanomyographen gewonnene TOF- Ratio wurde die Anschlagzeit (max. block time) untersucht. Die pharmakokinetischen Parameter wurden mit der SCIENTIST Software auf Basis eines etablierten 2-Kompartiment-Modells berechnet und die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der STATA statistical Software.

**Ergebnisse** Das periphere Kompartiment,  $V_2$ , war bei Männern mit durchschnittlich  $11,49 \pm 2,48$  L signifikant größer als bei den Frauen, welche ein  $V_2$  von durchschnittlich  $9,76 \pm 2,74$  L aufwiesen. Ansonsten zeigten sich bei den pharmakokinetischen Parametern keine signifikanten Geschlechter-Unterschiede. Die Anschlagzeit war bei beiden Geschlechtern identisch, jedoch konnte eine positive Korrelation von  $V_2$  mit der Anschlagzeit nachgewiesen werden.

**Schlussfolgerung** Aufgrund der identischen Anschlagzeiten bei Männern und Frauen ist eine Änderung des Zeitintervalls zw. Bolusgabe und Intubation, bzw. eine Dosisanpassung je nach Geschlecht nicht erforderlich.

## Abstract

**Background** There is increasing evidence of gender differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of neuromuscular blocking agents. Previous studies showed that females have 20-30% greater sensitivity to the effects of aminosteroidal muscle relaxants than males. However, there is only little information available to gender differences in modern benzylisoquinolines, especially Cisatracurium. The aim of our study was to evaluate the effect of gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of Cisatracurium and to determine a correlation between the pharmacokinetics and the pharmacodynamics.

**Methods** We studied 40 Patients (20 male, 20 female) undergoing elective abdominal and gynecological surgery under total intravenous anaesthesia (1,5 mg/kg Fentanyl, 2-3 mg/kg Propofol). The patients received a single bolus dose of 0,1mg/kg Cisatracurium. Venous blood samples were collected 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 60, 90 and 120 minutes after the administration of Cisatracurium. The blood samples were assayed for cisatracurium concentrations using high-performance liquid chromatography. The neuromuscular block was measured mechanomyographically with the train-of-four stimulation.

The pharmacokinetics were calculated with SCIENTIST software using the well established two-compartment-model. The statistical analyses were performed using STATA statistical software.

**Results** The results in pharmacokinetics show that the volume of the peripheral Compartment  $V_2$  in men was significantly higher compared to women ( $11,49 \pm 2,48$  L vs.  $9,76 \pm 2,74$  L). All other pharmacokinetic parameters did not differ in both sexes. Also the onset time (max. block time) was essentially the same for males and females ( $247,2 \pm 55,2$  s for males vs.  $243,9 \pm 48,4$  s for females). Despite similar onset time in both sexes, a positive correlation between  $V_2$  and onset time was shown.

**Conclusion** The results demonstrate little differences in  $V_2$ , but no gender differences in the onset time. This suggests that cisatracurium would require no dose adjustment between males and females.

# Inhaltsverzeichnis

<b>DANKSAGUNGEN</b> .....	<b>II</b>
<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>VI</b>
<b>GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN</b> .....	<b>VIII</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>X</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>XI</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1 DIE GESCHICHTE DER ENTDECKUNG UND ENTWICKLUNG VON CURARE .....	1
1.2 BEDEUTUNG DER GENDERMEDIZIN .....	9
1.3 PHARMAKODYNAMIK DER MUSKELRELAXANTIEN.....	11
1.3.1 Mechanismus der Erregungsübertragung .....	12
1.3.2 Muskelrelaxantien .....	15
1.3.3 Atracurium.....	19
1.3.4 Cisatracurium .....	20
1.4 PHARMAKOKINETIK DER NICHTDEPOLARISIERENDEN MUSKELRELAXANTIEN .....	21
1.4.1 Pharmakokinetik und Metabolismus von Cisatracurium .....	21
1.5 ANWENDUNGSGEBIETE DER MUSKELRELAXANTIEN .....	23
1.6 NEBENWIRKUNGEN VON NICHTDEPOLARISIERENDEN MUSKELRELAXANZIEN.....	24
1.7 GESCHLECHTSSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE IN DER PHARMAKOLOGIE.....	24
1.7.1 Pharmakokinetik.....	25
1.7.2 Pharmakodynamik.....	26
1.7.3 Nichtdepolarisierende Muskelrelaxantien .....	27
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>29</b>
2.1 ARBEITSHYPOTHESE .....	29
2.2 PROBANDEN/INNEN.....	29
2.3 ANÄSTHESIE .....	31
2.4 ANALYTIK VON CISATRACURIUM .....	31
2.4.1 Probenentnahme .....	31
2.4.2 Analytik von Cisatracurium .....	32
2.4.3 Pharmakokinetische Parameter .....	36
2.5 GEWINNUNG DER PHARMAKODYNAMISCHEN DATEN.....	42
2.5.1 Supramaximale Stimulation .....	42
2.5.2 Train-of-Four .....	43
2.5.3 Pharmakodynamische Parameter.....	45
2.6 STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	46
<b>3 ERGEBNISSE – RESULTATE</b> .....	<b>48</b>

3.1	GESCHLECHTSSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE IN DER PHARMAKOKINETIK .....	49
3.2	GESCHLECHTSSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE IN DER PHARMAKODYNAMIK.....	52
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>55</b>
4.1	BEWERTUNG DER STUDIENVORAUSSETZUNGEN .....	55
4.2	INTERPRETATION DES STUDIENERGEBNISSES.....	57
4.3	VERGLEICH MIT ANDEREN STUDIENERGEBNISSEN .....	57
4.4	KONSEQUENZEN DER STUDIENERGEBNISSE .....	60
<b>5</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>60</b>

## Glossar und Abkürzungen

ACh	-	Acetylcholin
AChE	-	Acetylcholinesterase
ANOVA	-	Analysis of Variance
ASA	-	American Society of Anesthesiologists
ASS	-	Acetylsalicylsäure
AUC	-	Area under the Curve
BChE	-	Butyrylcholinesterase
BMI	-	Body Mass Index
Ca <sup>2+</sup>	-	Kalzium
CBDP	-	Carboxylesterase Inhibitor
Cl	-	Clearance
D	-	Dosis der Bolusgabe
DUR25%	-	klinisch effektive Wirkdauer
ED <sub>95</sub>	-	Effektive Dosis für eine 95%ige Muskelblockade
EDTA	-	Ethylendiamintetraessigsäure
HPLC	-	High Performance Liquid Chromatography
IgE	-	Immunglobulin E
IS	-	Interner Standard
i.v.	-	intravenös
K <sup>+</sup>	-	Kalium
KG	-	Körpergewicht
k <sub>12</sub>	-	Geschwindigkeitskonstante der Arzneimittelverteilung vom zentralen ins periphere Kompartiment
k <sub>21</sub>	-	Geschwindigkeitskonstante der Arzneimittelverteilung vom peripheren ins zentrale Kompartiment
k <sub>e</sub>	-	Geschwindigkeitskonstante der Elimination aus dem zentralen Kompartiment
k <sub>e0</sub>	-	Wirkortäuilibrationskonstante
MRT	-	mean residence time
Na <sup>+</sup>	-	Natrium
NDMR	-	Nichtdepolarisierendes Muskelrelaxant
TIVA	-	Totale Intravenöse Anästhesie

TOF	-	Train of Four
$V_d$	-	Verteilungsvolumen
$V_{dss}$	-	Verteilungsvolumen im steady state
$V_1$	-	Volumen des zentralen Kompartments
$V_2$	-	Volumen des peripheren Kompartments

# Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Struktur des Nicotinrezeptors der motorischen Endplatte im Längsschnitt (links) und im Querschnitt (rechts).....	13
<b>Abbildung 2:</b> Vorgänge im Bereich der neuromuskulären Synapse und die möglichen pharmakologischen Einflüsse .....	15
<b>Abbildung 3:</b> Einteilung der Muskelrelaxantien (17) .....	16
<b>Abbildung 4:</b> Der Abbauweg von Cisatracurium im menschlichen Plasma (20) .....	22
<b>Abbildung 5:</b> Zeitschema der Probenentnahme .....	
<b>Abbildung 7:</b> Chromatogramm von Cisatracurium (Atracurium) und Verapamil (IS) .....	35
<b>Abbildung 6:</b> Verwendete HPLC Anlage .....	46
<b>Abbildung 8:</b> Wässrige Standardreihe für die Berechnung der Konzentration.....	36
<b>Abbildung 9:</b> Darstellung der mithilfe des Programms SCIENTIST errechneten Regressionskurve und die experimentell gewonnenen Cisatracurium- Konzentrationen ...	38
<b>Abbildung 10:</b> Schematische Darstellung des Zwei- Kompartment- Modells .....	39
<b>Abbildung 11:</b> Stimulationselektroden in richtiger Position über dem N. ulnaris .....	42
<b>Abbildung 12:</b> Train-of-Four (TOF)- Stimulation (62) .....	44
<b>Abbildung 13:</b> Flussdiagramm zur Darstellung der Zusammensetzung der Patientengruppen .....	48
<b>Abbildung 14:</b> Verlauf der Plasmakonzentrationskurven der männlichen und weiblichen Probanden in der unverdünnten Kontrollgruppe (Angabe als Mittelwert mit Standardabweichung) .....	50
<b>Abbildung 15:</b> Korrelation zwischen Anschlagzeit und $V_2$ .....	52
<b>Abbildung 16:</b> Korrelation zw. Anschlagzeit und Körpergewicht (links) und zw. Anschlagzeit und BMI (rechts) .....	54
<b>Abbildung 17:</b> Korrelation zw. $V_2$ und BMI (links) und zw. $V_2$ und Körpergewicht (rechts) .....	54

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Demografische Daten der Probanden/innen .....	30
<b>Tabelle 2:</b> Auflistung der für die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter verwendeten Formeln. Folgende Formeln wurden erfolgreich in einer Studie aus dem Jahre 2002 von Dahaba und Kollegen verwendet (61) .....	41
<b>Tabelle 3:</b> Plasmakonzentrationen .....	49
<b>Tabelle 4:</b> Pharmakokinetische Daten .....	51
<b>Tabelle 5:</b> Pharmakodynamische Daten .....	52
<b>Tabelle 6:</b> p-Werte und Bestimmtheitsmaße (r) für die Korrelationen zw. der Anschlagzeit und den pharmakokinetischen Parametern .....	53
<b>Tabelle 7:</b> Korrelationen zwischen $V_2$ , der Anschlagzeit und den demographischen Daten .....	54

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Geschichte der Entdeckung und Entwicklung von Curare

Curare, ein Pflanzenderivat und Vorstufe unserer heute bekannten modernen

Muskelrelaxantien, ist bereits seit Jahrhunderten bekannt und in Gebrauch. Volksstämme in Südamerika, welche dem Pflanzengift auch diesen Namen verliehen, verwendeten Curare zur Jagd, indem sie es auf die Spitzen ihrer Pfeile und Speere auftrugen. (1-3)

Da es durch orale Ingestion nicht absorbiert werden kann, ist es hervorragend zur Jagd geeignet. (1) In einer prähistorischen Höhle wurden solch präparierte Pfeile und Speere gefunden und erwiesen sich als ca. 25 000 Jahre alt. (2)

Die Jäger entwickelten zur Einschätzung der Stärke des verwendeten Pflanzengiftes ein frühes Beispiel für einfache Tierversuche. Sie beriefen sich auf das Ein-, Zwei-, oder Drei-Baum Prinzip. Starkes Curare lähmt einen getroffenen Affen bereits während er bei der Flucht den ersten Baum erklimmt, weniger starkes Curare lähmt den Affen erst beim Klettern auf den 2. Baum und beim Drei-Baum Curare fällt der Affe erst beim 3. Baum zu Boden. (1)

Erste Geschichten über ein wundersames Gift, welches die Ureinwohner als tödliche Waffe auf Pfeilspitzen auftrugen, kursierten in Europa nach der Rückkehr von Columbus aus der „Neuen Welt“. Jedoch vermischte sich durch die Mundpropaganda rasch die Realität mit den wildesten Fantasien, sodass unglaubliche Geschichten mit Magie und Hexerei daraus resultierten. (1-3)

Die erste geschriebene Referenz stammt von einem italienischen Kolumnisten namens Pieter Martyr. Dieser hielt sich zur Zeit der Rückkehr von Columbus und seinem Expeditions- Team am Hofe der spanischen Königin Isabella auf und lauschte dort den Geschichten der Rückkehrer und schrieb sie in Form von Briefen nieder. Neben der Beschreibung der Verwendung des Giftes findet sich in den Schriften auch eine Schilderung der Zubereitung durch die Frauen der Einheimischen. Wie sehr diese Geschichten aus der neuen Welt die Fantasie der Menschen in Europa beflügelte zeigt sich in der Ähnlichkeit dieser Schilderungen mit Shakespears Erzählung von den Hexen in Macbeth. (2,3)

Ein Mann namens Oviedo y Valdes, ein Freund von Columbus reiste ebenfalls nach Amerika und beschrieb im Jahre 1535 detailliert die Präparation der tödlichen Pfeile und dessen Herstellung aus verschiedenen Pflanzen.

Das 16. Jahrhundert war durch Kriege in England, Spanien und Portugal geprägt, sodass sich die weitere Erforschung des wundersamen Giftes verzögerte.

Sir Walter Raleigh befand sich 1594 bei einer seiner Expeditionen im Rahmen des Krieges gegen die Spanier in Venezuela und traf bei seiner Reise mehrere Volksstämme namens Aroras an, welche das Pflanzengift zur Jagd verwendeten. Sein Leutnant, Laurence Keynes, listete die giftigen Pflanzen, welche zur Zubereitung verwendet wurden, auf und erwähnte dabei erstmals „ourari“, eine Verfälschung der Bezeichnung „uiraery“, wobei „uira“ Vogel und „eor“ töten bedeutet, die von den Volksstämmen verwendet wurde. Durch mündliche Weitergabe des indianischen Wortes in Europa entstand schlussendlich Curare daraus. (2,3)

Der französische Wissenschaftler Charles Marie de la Condamine leitete 1735 eine Expedition und verbrachte 10 Jahre in Südamerika in denen er das Volk der „Yameos“ kennen lernte und eine Abhandlung über diese und ihre Lebensgewohnheiten verfasste. Durch den engen Kontakt zu den Einwohnern erlangte er einige Proben von Curare, welche er auf der Rückreise nach Europa mitnahm. Er und andere Wissenschaftler untersuchten daraufhin den Effekt des Pfeilgiftes. Er injizierte Curare Hühnern, welche allesamt an dem Pfeilgift verstarben.

Richard Brocklesby fand 1747 heraus, dass das Herz einer Katze nach Verabreichung von Curare, trotz vermeintlichen Todes, einige Zeit lang weiterschlug.

1780 forschte der Anatom und Arzt Abee Felix Fontana aus Florenz weiter an der Substanz. Er zeigte, dass sich die Wirkung nur bei intravenöser Gabe entwickelt, und dass die Ingestion oder Inhalation von Curare wirkungslos ist. Anschließend applizierte er am Nervus Ischiadicus Curare und überraschenderweise zeigte dies keinen Effekt. Folglich wirkte Curare nicht auf der Ebene der Nerven sondern direkt auf die Muskeln. Diese Entdeckung diente als Grundlage für die weiteren Versuche, die von Claude Bernard 70 Jahre später durchgeführt wurden.

1799 identifizierte Friedrich von Humboldt, welcher 5 Jahre in Südamerika lebte die Pflanzen, aus welchen Curare gewonnen wurde als *Chondrodendron tomentosum*, welche heute als die Quelle für D-Tubocurarine bekannt ist, und *Strychnos toxifera*. (1,2)

Benjamin Collins Brodie, ein Arzt und Professor der vergleichenden Anatomie und Physiologie veröffentlichte 1812 seine Ergebnisse aus den Untersuchungen von Curare an Tieren. Er zeigte, dass eine curarisierte Katze durch eine Tracheotomie und künstliche Beatmung überleben konnte. (2,3)

Einer der wichtigsten Forscher bezüglich der Wirkung von Curare im 19. Jahrhundert war Claude Bernard. Er und sein Schüler Vulpian versuchten anhand von Tierversuchen an Fröschen den Wirkort von Curare zu identifizieren. 1842 zeigten sie, dass bei einer Injektion von Curare in eine abgebundene Extremität des Frosches die Muskeln durch die Stimulation des entsprechenden motorischen Nervs nicht erregbar sind. Jedoch war die Erregbarkeit durch direkte Stimulation am Muskel erhalten. Zusätzlich zeigte sich, wie bereits erwähnt, kein Effekt auf die Irritabilität des Muskels, wenn Curare direkt am motorischen Nerv appliziert wird. Somit konnte der Wirkort nur im Bereich zwischen Muskel und motorischem Nerv, der motorischen Endplatte, liegen. (1-3)

Während Bernard den Wirkort von Curare studierte, entdeckte der Deutsche Chemiker W. Hofmann die heute als Hofmann Elimination bekannte Reaktion. (1)

In den 1860er Jahren untersuchten die Wissenschaftler Thomas Richard Frasier und Alexander Crum Brown den Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur und der biologischen Aktivität von Curare. Erstaunlicherweise stellten sie fest, dass Alkaloide wie Atropin, Codein, Morphin, Bucin und Nicotin durch ein Überführen der dreibindigen Stickstoff Atome in vierbindige Stickstoff Atome eine Curare-ähnliche Wirkung entwickeln. Dies war die Vorstufe der Entwicklung neuer Muskelrelaxantien. (3)

Der nächste wichtige pharmakologische Schritt in der Erforschung des Wirkmechanismus von Curare gelang im Jahre 1907 durch die Experimente von Langley in Cambridge.

Langley untersuchte an Hühnern und Fröschen die Wirkung und Interaktion von Nicotin und Curare auf die Muskulatur und auf chronisch denervierte Muskeln. In geringen Mengen stimulierte Nicotin die Muskulatur. In großen Mengen hingegen zeigte sich eine blockierende Wirkung. Durch Curare wurde sowohl in der innervierten, als auch in der denervierten Muskulatur die stimulierende Wirkung von Nikotin blockiert. Dies deutete darauf hin, dass der Wirkort von Curare eher in der Muskulatur als in den Nervenendigungen zu finden ist. Dennoch wurde die Reizantwort der Muskulatur bei direkter Stimulation durch Curare nicht beeinflusst. Zu dieser Zeit wurde bereits vereinzelt über eine mögliche Enzym-Substrat Interaktion am Übergang von innervierenden Nerven auf die Muskulatur zur Erregungsweiterleitung diskutiert. Fischer hat diese Überlegung erstmals Ende des 19. Jahrhunderts formuliert. Kurz darauf wurde dieses Thema auch von Bois-Raymond und Elliot aufgegriffen, welche die Idee einer chemischen Transmission an sympathischen Nervenendigungen hatten. Fischer, inspiriert durch diese neuen Theorien, folgerte, dass sich Nicotin und Curare mit spezifischen Rezeptoren in der Muskulatur verbinden. Er setzte dabei voraus, dass der Nervenimpuls nicht durch eine elektrische

Überleitung, sondern durch Sekretion spezieller Transmitterstoffe, heute bekannt als Acetylcholin, erfolgt. Es dauerte jedoch weitere 30 Jahre, bis sich durch Henry Dale und seine Mitarbeiter das Prinzip der Transmission durch Acetylcholin in der neuromuskulären Verbindungszone etablierte. Sie verwendeten ebenfalls Curare, als wichtiges Werkzeug im Labor. Sie zeigten, dass mittels Tubocurarin die Wirkung und nicht die Freisetzung von Acetylcholin an den Nervenendigungen gehemmt wird und bestätigten somit das Vorhandensein von spezifischen Acetylcholin Rezeptoren an den motorischen Endplatten. (1,3,4)

Erste klinische Anwendungen zur Behandlung von Tollwut, Tetanus, epileptische Anfälle und Chorea Huntington waren aufgrund der uneinheitlichen chemischen Natur und der dadurch schwankenden Wirkungsstärke ohne Erfolg.

1934 begann sich ein Orthopäde namens Michael Burman für Curare zu interessieren und erprobte es an Patienten mit spastischen Paralysen. Jedoch war die Vorhersehbarkeit der Wirkung aufgrund fehlender Standardisierung nicht ausreichend. Sowohl in der Wirkungsstärke als auch in der Wirkdauer war die Variabilität so groß, sodass trotz guter Resultate eine routinemäßige klinische Anwendung noch nicht möglich war.

Erst durch die Entwicklung adäquater analytischer Methoden war es möglich, die Strukturen der Curare- Alkaloide, von welchen es sehr viele gibt, zu bestimmen. Harold King, einem Mitarbeiter des Britischen National Institut für medizinische Forschung, gelang es erstmals 1935 aus Museumsproben von Pfeilen der Süd Amerikanischen Einwohner D- Tubocurarine-Chlorid, das pure Alkaloid von Curare, zu isolieren und dessen Struktur zu bestimmen. Es handelte sich um ein massiges starres Molekül mit zwei vierbindigen Stickstoff Atomen an beiden Enden. Jedoch war es zu diesem Zeitpunkt nicht möglich die Ursprungspflanze, aus welcher das Konzentrat gewonnen wurde, zu identifizieren. Er beging den kleinen Fehler, dass er in der entwickelten Struktur von D- Tubocurarine annahm, dass beide Stickstoffatome quarternisiert vorliegen. Everett und seine Mitarbeiter fanden 35 Jahre später heraus, dass eines der Stickstoffatome tertiär vorliegt. (1-3)

Robert C. Gill, ein Geschäftsmann, der nach dem Börsencrash Jahr nach Ecuador reiste um dort Plantagen zum Cafe-, Kakao- und Gemüseanbau zu betreiben, erkrankte an Multipler Sklerose und importierte auf Empfehlung seines behandelnden Neurologen Curare, da er sich durch die genauere Erforschung der Wirkungsweise von Curare ein Heilmittel für Multiple Sklerose erhoffte. Er kehrte mit 25 Pfund Curare und mehreren Pflanzenproben nach Europa zurück. Gills mitgebrachte Proben konnten zwei Pflanzen Familien, den

Menispermaceae, zu welcher die Gattung der Chondodendron gezählt wird, und den Loganiaceae, mit der Gattung Strychnos, zugeordnet werden. Im Mai 1939 bot sich E.R. Squibb und Söhne an, die mitgebrachten Proben aufzukaufen um damit Laboruntersuchungen durchzuführen, mit welchen kurz darauf auch begonnen wurde. (2,3) Unter den Mitarbeitern von Squibb und Söhne befand sich auch der Chemiker Horace Holaday, welcher die „rabbit head-drop“ Methode entwickelte, um die Wirkpotenz von Curare feststellen zu können. Mithilfe dieser Methode konnte Curare standardisiert werden. Der Endpunkt des „rabbit head-drop Tests“ ist bei einer völligen Erschlaffung der Nackenmuskulatur des Versuch- Hasen erreicht. Dieser Test wurde noch lange Zeit zur Standardisierung von gereinigtem Curare verwendet. (1-3,5)

Der eigentliche Wirkstoff des Gemisches war jedoch weiterhin unbekannt. Holaday nannte sein standardisiertes Curare Produkt „Intocostrin“, dieses war 1940 für klinische Versuche verfügbar. (2,3)

Der Neuropsychiater A.E. Bennett wurde durch die Dokumentationen von Burman auf Curare aufmerksam und wollte mit Hilfe von Curare die Inzidenz von Frakturen bei der Elektrokrampftherapie psychiatrischer Patienten senken. Er war auf der Suche nach einer Methode, mit welcher die Schwere der Konvulsionen während der Krampftherapie gedämpft werden könnten und Curare erschien ihm als geeignetes Mittel. Jedoch war zu dieser Zeit Curare nur sehr schwer verfügbar. Er nahm mit dem Neurologen von Robert C. Gill Kontakt auf. Dieser verwies ihn an Gill, welcher gerade zu diesem Zeitpunkt aus Ecuador zurückgekehrt war. Er bekam einige Proben zugesprochen, welche von A.R. McIntyre, dem Vorstand des Pharmakologischen Institutes der Universität von Nebraska, im Vorhinein an Mäusen getestet wurde, um eine passende Dosierung zu erhalten. A.R. McIntyre etablierte eine Dosierung von 3-4 mg/kg Curare als standardisierte Einheit zur klinischen Verwendung als Muskelrelaxans. 1939 wendete Bennett Curare in dieser Dosierung bei Kindern mit spastischen Lähmungen an und erzielte dabei ähnliche Ergebnisse wie Burman. Es bestanden trotz versuchter Standardisierung weiterhin große Schwankungen in Wirkung und Wirkungsdauer. Anfang des Jahres 1940 gelang Horace Holaday jedoch die genauere Standardisierung mittels der „rabbit head-drop“ Methode. Dadurch war es Squibb und Söhnen möglich Bennett mit dem verfeinerten Curare zu beliefern, mit welchem dieser Patienten während der Elektrokrampftherapie relaxierte um Frakturen durch Konvulsionen zu verhindern. Bennett präsentierte im Juni 1940 seine Ergebnisse als Film auf dem jährlichen AMA Kongress in New York, wo der Pharmakologe Lewis H. Wright großes Interesse bekundete. Er spendete dem Leiter der

Universität von New York, E.A. Rovenstine, einige Proben von Intocostrin. Dieser übergab die Spenden einem jungen Assistenzarzt namens E.M. Papper, welcher Intocostrin bei zwei Patienten unter Ether Narkose anwendete. Beide Patienten erlitten einen Atemstillstand und mussten die ganze Nacht manuell beatmet werden. Eine endotracheale Intubation war zu dieser Zeit noch unüblich. (2,3)

1930 bis 1935 wurden einige neue Anästhetika wie Ethylen, Cyclopropan und intravenöse Barbiturate auf den Markt gebracht, die zwar ein besseres Nebenwirkungsprofil als Ether aufwiesen, jedoch keine ausreichende Relaxierung produzierten. Wright erkannte, dass diesbezüglich eine zusätzliche Gabe eines Muskelrelaxans eine revolutionäre Weiterentwicklung in der Anästhesie wäre und engagierte sich sehr für die klinische Etablierung von Curare-Produkten. (2)

Der Kanadier Harold R. Griffith, ein praktischer Arzt und Anästhesist, war ein großer Anhänger von Cyclopropan, welches er auch regelmäßig anwendete und deren Anwendung ausführlich dokumentierte. Nach mehrmaliger Anwendung bemerkte er, dass es bei mehreren Patienten durch die hohe Dosierung von Cyclopropan zu einem Atemstillstand kam. Da die relaxierende Wirkung der neuen Anästhetika so gering war, musste entsprechen hoch dosiert werden um eine ausreichende Muskelrelaxierung garantieren zu können. Griffith hatte 1940 von Dr. Wright, welcher auch für Squibb und Söhne arbeitete, von der hervorragenden Wirkung von Curare gehört, und fragte 1942 um einige Proben „Intocostrin“ an. Am 23. Jänner 1942 verwendete er und sein Assistenzarzt Enid Johnson erstmals Curare bei einem jungen mit Cyclopropan anästhesierten Patienten, der sich einer Apendektomie unterzog. Das Ergebnis war hervorragend. Der Weg für ein neues Werkzeug der Anästhesie wurde durch ihn geebnet. Griffiths erster Artikel über Curare wurde 1942 in Anesthesiology publiziert. Eine Flut von weiteren Publikationen vieler anderer Autoren folgte. (2,3)

Ein Vorteil der Verwendung von Curare war auch die mögliche Antagonisierung mittels Physostigmin. Dieses war lang vor der klinischen Verwendung von Curare bekannt. Ab dem Zeitpunkt der ersten klinischen Verwendung von nichtdepolarisierenden Muskelrelaxantien in der chirurgischen Anästhesie verwendete man Physostigmin, und später aufgrund des ausgeprägten Nebenwirkungsprofil von Physostigmini, Neostigmin und Pyridostigmin, um die neuromuskuläre Transmission wieder herzustellen. (1)

1942 konnten zwei weitere Mitarbeiter von Squibb und Söhne, James Dutcher und Oskar Wintersteiner erstmals D-Tubocurarine aus der pflanzlichen Quelle isolieren. (2,3)

Durch den 2. Weltkrieg kam es erneut zu einer Stagnation der Weiterentwicklung von Muskelrelaxantien am UK National Institute of Medical Research. John Halton, ein Anästhesist aus Liverpool, bewegte einen Freund aus der amerikanischen Kampfflugzeug Schwadron, welche zu dieser Zeit in Burtonwood stationiert war, dazu, Intocostrin aus Amerika nach England zu transportieren. John Halton und Cecil Gray wendeten daraufhin Intocostrin an Patienten an und waren mit dem Ergebnis sehr zufrieden. Sie veröffentlichten ihre Ergebnisse 1946 und begründeten die Liverpool Technik, eine Triade aus Narkose, Analgesie und Muskelrelaxation, welche heute weltweit angewendet wird. Dadurch kann eine minimale Dosierung der jeweiligen Medikamente und somit auch eine Nebenwirkungs-arme Narkose garantiert werden. (1-3)

Die Arbeiten von Frasier, Brown und King lieferten nach dem 2. Weltkrieg den Anstoß zur Entwicklung synthetischer Muskelrelaxantien. Im Jahre 1936 berichtete H. R. Ing über die Curare-ähnliche Wirkung einfacher Moleküle wie Tetramethylammonium-Iodid und Trimethylammonium-Jodid. Die Wirkpotenz von Curare war vom Abstand der 2 Stickstoff-Atome abhängig. Mit diesem Wissen setzte er 1946 gemeinsam mit Barlow seine Nachforschungen fort und synthetisierte und testete mehrere bisquarternäre Polymethylene, Moleküle mit vierbindigen Stickstoffatomen an beiden Enden, getrennt durch eine unterschiedlich lange Polyethylen Kette. Zur gleichen Zeit testete W.D.M. Paton gemeinsam mit Eleanor J. Zaimis vom UK National Institute of Medical Research die gleichen Verbindungen bezüglich ihrer Tendenz zur Histamin Freisetzung. Beide Gruppen stellten fest, dass das bisquarternäre Decamethylen Salz, mit einer Kette aus 10 Kohlenstoff-Atomen, die stärkste curariforme Wirkung hatte. Durch Patons Gruppe erhielt diese Verbindung den Namen Decamethonium und stand einige Zeit lang für den klinischen Gebrauch zur Verfügung. Man stellte fest, dass es im Gegensatz zu D-Tubocurarine kurz nach der Gabe von Decamethonium zu einer Muskelfaszikulation kommt und die Wirkung nicht durch Neostigmin antagonisierbar ist. Man vermutete dahinter eine agonistische Wirkung an der motorischen Endplatte. (3,6)

Daniel Bovet arbeitete am Pasteur Institute in Paris und begann seine Suche nach neuen Muskelrelaxantien von einem anderen Standpunkt aus. Er synthetisierte massige starre Curare-ähnliche Moleküle und präsentierte 1947 Gallamin. Gallamin führte nicht zu einer initialen Stimulation der Muskulatur und war durch Anticholinesterasen antagonisierbar. (3)

Erst 1951 konnte die depolarisierende Wirkung von Decamethonium an der motorischen Endplatte von Burns und Paton beschrieben werden. Große starre Moleküle, sogenannte

Pachycurare, verursachen eine nichtdepolarisierende Blockade, und schlanke bewegliche Moleküle, Leptocurare genannt, führen zu einer depolarisierenden Muskelblockade. (3,6) Anfang der 1960er wurden die Operationen immer komplexer, wodurch auch die Anforderungen an Muskelrelaxantien stiegen. Die Anästhesisten waren mit dem Nebenwirkungsprofil und der Wirkdauer der verfügbaren Muskelrelaxantien unzufrieden. Kurz darauf wurde Pancuronium von Hewitt und seinen Mitarbeitern entworfen. Als Gerüst verwendeten sie eine starre Steroid Struktur zu welchem sie 2 Acetylcholin Moleküle hinzufügten. Das Steroidgerüst lieferte den erforderlichen Abstand zwischen den zwei quaternären Stickstoff-Atomen. Es war zu dieser Zeit das potenteste verfügbare nichtdepolarisierende Muskelrelaxans und der Startschuss zur Jagd neuer synthetischer Muskelrelaxantien. (1,3)

1975 definierten Savarese und Kitz ein nichtdepolarisierendes, leicht antagonistisches Muskelrelaxans mit rascher Anschlagzeit und kurzer Wirkdauer, ohne störender Nebenwirkungen als ideales Werkzeug für den Anästhesisten und versuchten dieses herzustellen. Pancuronium war zwar ein starkes Muskelrelaxans, verursachte jedoch einige unerwünschte Wirkungen. Pancuronium bindet auch an die kardialen Muscarin Rezeptoren und führt dadurch zu Tachycardien. Weiters verfügt es weder über eine kurze Anschlagzeit, noch über eine kurze Wirkdauer. Saverese entdeckte, dass der vagolytische Effekt von Pancuronium auf kardialen Muscarin-Rezeptoren durch die quaternäre Gruppe am Ende des A-Rings des Moleküls bedingt ist und erschuf durch eine Demethylierung des Stickstoff-Atoms am A-Ring Vecuronium. (3,7)

1956 arbeitete J.B. Stenlake mit seiner Gruppe an Benzylisoquinolin Strukturen, die jener von D-Tubocurare glichen. Er untersuchte die Inhaltsstoffe der Ursprungspflanze und entdeckte dabei Petalin, ein quaternäres Salz, welches in einer milden alkalischen Lösung durch die Hofmann- Elimination zerfällt. Mit dieser Entdeckung startete er den Versuch ein Muskelrelaxans zu kreieren, welches unter physiologischen Bedingungen durch die Hofmann-Elimination abgebaut wird. Dies gelang ihm 1981 mit der Synthese von Atracurium. Atracurium hat den Vorteil, dass der Abbau Organ-unabhängig stattfindet, und der Gebrauch nicht durch eingeschränkte Organfunktionen, wie Leber- oder Niereninsuffizienz, limitiert wird. Es ist eine Mischung aus 10 Isomeren und kann eine Histamin Freisetzung verursachen. (1,8)

Cisatracurium ist eines der 10 möglichen Isomere des Atracuriums und verfügt im Vergleich zu Atracurium über eine höhere Wirkpotenz und ein geringeres Risiko eines anaphylaktischen Schocks. (1,3)

Da alle nichtdepolarisierenden Muskelrelaxantien einen langsamen Wirkungseintritt haben und das depolarisierende Muskelrelaxans Suxamethonium, welches über einen raschen Wirkungseintritt verfügt, mehrere unerwünschte Nebenwirkungen aufweist, war man weiterhin auf der Suche nach neuen Medikamenten mit einem besseren Wirkungsprofil. 1988 kam Bowman zu dem Schluss, dass bei Aminosteroiden die Dauer des Wirkungseintritts von der Potenz des jeweiligen Muskelrelaxans abhängig ist. Je stärker ein Muskelrelaxantium wirkt, umso länger ist dessen Anschlagzeit. (9)

Beispielsweise ist das neuere Muskelrelaxans Rocuronium, ein Deacetoxy- Analog von Vecuronium, deutlich weniger potent als Vecuronium, jedoch kommt es mit der Dauer bis zum Wirkungseintritt beinahe an Suxamethonium heran. (1,3)

Es hat beinahe 500 Jahre gedauert um Curare zu zivilisieren, und anschließend benötigte es nochmals 50 Jahre, um Curare ausreichend zu standardisieren, damit eine klinische Anwendung möglich wurde. Neuromuskuläre Muskelrelaxantien haben die Praxis der Anästhesie revolutioniert. (2,3)

## **1.2 Bedeutung der Gendermedizin**

In den letzten Jahren hat der Bereich Gendermedizin, welchem bis vor etlichen Jahren keine Beachtung geschenkt wurde, immer mehr an Bedeutung gewonnen. Vor allem im Bereich der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik konnten klinisch relevante Geschlechter-Unterschiede identifiziert werden. (10)

Das Alter, genetische Konstitution, chemische Exposition, Krankheitslage, Alkohol- und Nikotinkonsum können die Pharmakokinetik von Arzneimitteln beeinflussen. Das Geschlecht als genetische Konstitution hat in den letzten Jahren immer mehr Interesse geweckt. (11)

Das Forschungs-Defizit vergangener Jahre wird nun in Kleinstarbeit nachgeholt. Beispielsweise wurden 1994 Studien, welche von der renommierten Fachzeitschrift *Clinical Pharmacology and Therapeutics* publiziert wurden, daraufhin analysiert, wie viele mit weiblichen Probanden durchgeführt wurden. Als erschreckendes Ergebnis zeigte sich, dass zwischen 1981 und 1990 in keiner einzigen Studie Frauen als Probanden mit eingeschlossen waren. (10,12)

Bereits im Jahr 2001 war in den publizierten Studien eine deutliche Veränderung in der Wahl der Probanden zu beobachten. Von den im Jahr 2001 in den Fachzeitschriften *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *British Journal of Clinical Pharmacology* und *European Journal of Clinical Pharmacology* veröffentlichten 239 Studien mit 15 880 Teilnehmern inkludierten 37% weibliche Versuchspersonen. (10)

Dies war schon eine Weiterentwicklung, aber die geschlechtsspezifische Forschung steht noch am Anfang einer etablierenden Wissenschaft und bedarf noch viel Arbeit. (13)

Eine weitere Auswertung von 2581 Studien, welche zwischen 1995 und 1999 bei der US-amerikanischen Federal Drug Administration eingereicht wurden, zeigte, dass in der Phase I ca. 25%, in der Phase II und III etwa 45% und 48% Frauen als Probandinnen beteiligt waren. Es muss jedoch ergänzt werden, dass das Geschlecht vieler Studienteilnehmer nicht angegeben wurde. (14,10)

In der 2001 erstmals durchgeführten systematischen Metastudie, mit welcher der Frauenanteil aller randomisierten Studien zwischen 1994 und 1999 untersucht wurde, konnte nachgewiesen werden, dass nur ca. 25% der 442 publizierten Studien Frauen mit einbezogen haben. Bei genauerer Betrachtung dieser 25% zeigte sich, dass nur 14% die Daten verwendet und geschlechtsspezifische Analysen durchgeführt haben. (13)

Wie sich in einer kanadischen Studie zeigte hat sich jedoch trotz enttäuschendem Ergebnis der Metastudie bis ins Jahr 2007 nicht viel verändert. In den Abstracts war zwar bei vielen Autoren die Rede von Berücksichtigung geschlechtsspezifischer Unterschiede, wenn man diese Studien jedoch genauer unter die Lupe nahm, stellte sich heraus, dass nur selten eine entsprechende Auswertung erfolgt ist. (13)

Warum wurde der Frauenanteil in den Studien so gering gehalten bzw. Frauen generell als Studienteilnehmer ausgeschlossen?

Aus Angst vor teratogenen Schädigungen wurden Frauen lange Zeit aus klinischen Arzneimittelstudien ausgeschlossen. Vor allem schlechte Erfahrungen in vorangegangenen Studien, wie mit Thalidomid (Contergan) und Diethylstilbestrol waren Gründe, warum Frauen im gebärfähigen Alter an Phase I Studien nicht teilnehmen durften. (10,11)

Töchter von Frauen, die in der Schwangerschaft das synthetische Östrogen Diethylstilbestrol einnahmen, zeigten ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für vaginale Klarzellkarzinome. (10)

Jedoch leben wir in einem Zeitalter, in dem jede Frau in Europa Zugang zu Kontrazeptiva und Schwangerschaftstests hat, wodurch Frauen sehr wohl auch an frühen Phasen klinischer Arzneimittelstudien teilnehmen können.

Ein weiterer Grund für den Teilnahme Ausschluss von Frauen an klinischen Arzneimittelstudien ist der mögliche Einfluss der schwankenden Hormonspiegel während des weiblichen Zyklus auf den Metabolismus von Arzneimitteln. So könnte durch Frauen die notwendige Fallzahl einer Bioäquivalenzstudie erhöht werden, wodurch es zu einem vermehrten Aufwand von Zeit und Geldmittel kommen würde. (10,11)

Vor allem Anfang der 90er war der Ausschluss von Frauen sehr kritisch zu betrachten, da zu dieser Zeit erstmals potentiell lebensrettenden Medikamente gegen AIDS getestet wurden und eine Studienteilnahme die einzige Möglichkeit war an diese zu gelangen. (10) Eine Studie bezüglich der Reduktion der Morbidität und Mortalität durch Antihypertensiva führte schließlich zu einem radikalen Umdenken. In einer retrospektiven Untersuchung bezüglich geschlechtsspezifischer Unterschiede stellte sich heraus, dass Frauen im Gegensatz zu Männern von einer antihypertensiven Therapie kaum profitierten und unter der Therapie teilweise sogar eine erhöhte Mortalitätsrate aufwiesen. (15)

Nach diesem erschreckenden Ergebnis wurde 1993 von der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) und dem National Institute of Health eine Änderung in den Vorgaben für die Durchführung und Planung klinischer Studien durchgesetzt, laut welcher eine vermehrte Teilnahme von Frauen bei allen Phasen klinischer Arzneimittelstudien empfohlen wird. (10,11)

Trotzdem wurden seither in 25% der durchgeführten Studien Frauen im gebärfähigen Alter von der Teilnahme ausgeschlossen, lediglich aus Angst vor einer Schwangerschaft während der Studienlaufzeit. Dadurch wird jedoch das Recht der Frauen eingeschränkt, sowohl in der freiwilligen Teilnahme, als auch in möglichen wissenschaftlichen Erkenntnissen bezüglich relevanter geschlechtsspezifischer Unterschiede. Und in gewisser Weise wird den Frauen auch ungerechtfertigt ein Mangel an Compliance bezüglich der Kontrazeption zugesprochen. (11)

Auf wirtschaftspolitischer Ebene fand in den letzten Jahren sowohl in Österreich als auch auf EU Ebene ein bemerkenswerter Wandel statt. Mithilfe von Bundesministerien und nationaler und internationaler Forschungs- Förderinstitutionen wurden Gender- Aspekte in den Richtlinien klinischer Arzneimittelstudien mit aufgenommen. 2004 wurde bei der Verabschiedung des Arzneimittelgesetzes eine nichtverbindliche Richtlinie zur Berücksichtigung des Gender- Bezugs hinzugefügt, welche von den regionalen Ethikkommissionen einzufordern ist. (13)

### **1.3 Pharmakodynamik der Muskelrelaxantien**

Die Pharmakodynamik beschreibt die Wirkung eines Arzneimittels und deren zugrundeliegenden Eingriff in biochemische und biophysikalische Prozesse, die sich auf zellulärer Ebene abspielen. Um den Wirkmechanismus zu verstehen, muss der physiologische Prozess, in welchem das Medikament eingreift, verstanden werden. (16)

### **1.3.1 Mechanismus der Erregungsübertragung**

Das Kernstück für die neuromuskuläre Erregungsüberleitung ist die motorische Endplatte, bestehend aus dem motorischen Nervenende, dem synaptischen Spalt und dem postsynaptischen Sarkolemm. Sie verbindet zwei verschiedene Gewebe, den motorischen Nerv mit der Skelettmuskulatur. Trotz der minimalen Größe besitzt die motorische Endplatte durch Auffaltung der Membranen eine große Oberfläche. Da eine weitergeleitete Erregung den synaptischen Spalt nicht überspringen vermag, wird zur Weiterleitung die chemische Überträgersubstanz Acetylcholin zwischengeschaltet. Diese bindet an die Bindungsstellen der ACh- Rezeptoren, welche im postsynaptischen Sarkolemm verankert sind, und löst damit eine Fortleitung des Aktionspotentials aus. (16)

#### **1.3.1.1 Bereitstellung von ACh**

Mittels eines Cholin- Transportsystems wird Cholin aus dem Extrazellulärraum in das Axoninnere transportiert. Da die Nervenzellen nicht fähig sind, selbst Cholin herzustellen ist die Synthese- Geschwindigkeit des ACh von der Verfügbarkeit von Cholin abhängig. ACh wird durch das Enzym Cholinacetyltransferase aus dem aufgenommenen Cholin und dem Acetyl-Coenzym A synthetisiert. Anschließend wird das synthetisierte ACh in Speichervesikel, welche sich im Zytosol motorischer Nervenenden befinden, aufgenommen. Durch eine ankommende Erregung kommt es zu einer Verschmelzung der Vesikel mit dem Plasmalemm, sodass das gespeicherte ACh in den synaptischen Spaltraum freisetzt wird. Um eine spontane Verschmelzung mit dem Plasmalemm zu verhindern, werden die Speichervesikel durch Bindungsproteine an das kortikale Aktin-Netz geknüpft. Im Rahmen einer schnellen Depolarisation kommt es durch einen raschen Influx von  $Ca^{2+}$ - Ionen zu einer Desintegration der Aktin-Filamente und somit zu einer Freigabe der Speichervesikel. Durch membranassoziierte, spezifische Proteine können die Vesikel in großer Zahl mit dem Plasmalemm verschmelzen und das gespeicherte ACh in den synaptischen Spalt freisetzen. Durch das Botulinusneurotoxin wird die exocytische Freisetzung gehemmt. (17,16)

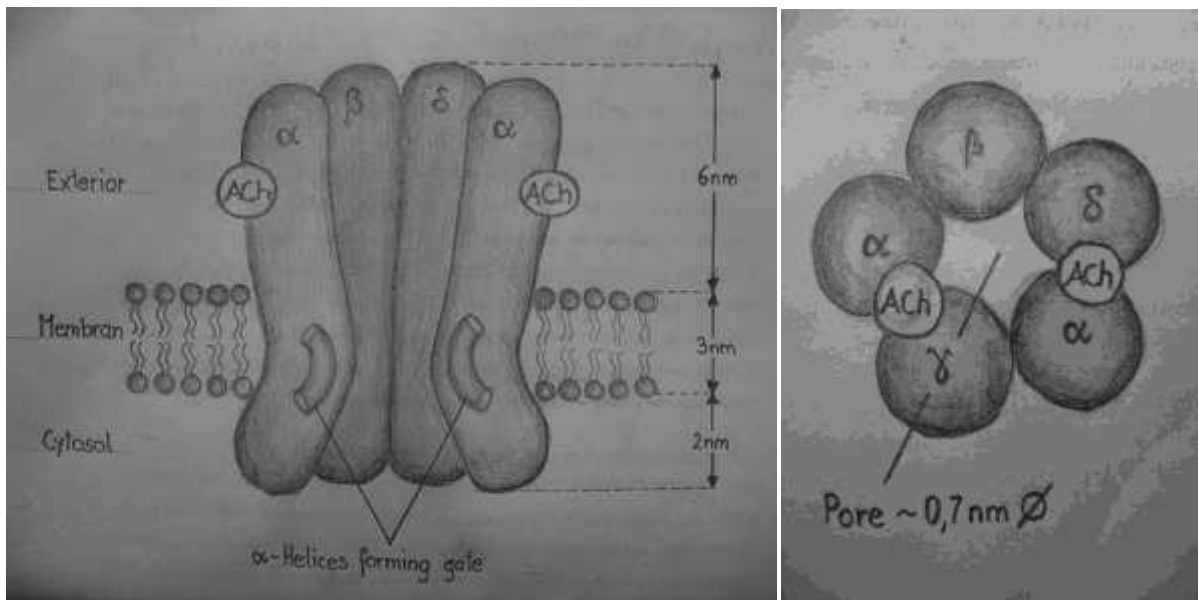
#### **1.3.1.2 ACh- Rezeptoren**

Es gibt zwei Gruppen von Cholinozeptoren. Den Nicotinrezeptor (nAChR), benannt nach dem Alkaloid der Tabakpflanze, und den Muscarinrezeptor, benannt nach dem Alkaloid des Fliegenpilzes. Muscarinrezeptoren kommen in Neuronen und in den Erfolgsorganen des parasympatischen Nervensystems, sowie in sympathisch innervierten Schweißdrüsen vor. Weiters lassen sich die Muskarinrezeptoren in eine  $M_1$ -Familie, welcher die an stimulierende  $G_q$ -Proteine gekoppelten  $M_1$ -,  $M_3$ - und  $M_5$ -Rezeptoren angehören, und die

M<sub>2</sub>-Familie, mit den an inhibitorische G<sub>q</sub>-Proteine gekoppelte M<sub>2</sub>- und M<sub>4</sub>-Rezeptoren, unterteilen. (17,18)

Da der Muscarinrezeptor in der motorischen Endplatte jedoch nicht zu finden ist, ist eine weitere Beschreibung nicht notwendig.

Nicotinrezeptoren kommen sowohl in der postsynaptischen Membran der motorischen Endplatte, als auch in der Zellmembran von Neuronen vor und lassen sich dadurch in den Muskel- und den Neuronentyp unterteilen. Der Muskeltyp des Nicotinrezeptors ist ein ligandengesteuerter Ionenkanal und ist in der postsynaptischen Membran der motorischen Endplatte verankert. Er ist aus 5 Protein-Untereinheiten aufgebaut. Das Pentamer besteht aus den zwei identischen  $\alpha$ 1-Untereinheiten, welche jeweils eine spezifische Bindungsstelle für ACh besitzen, einer  $\beta$ 1-, einer  $\delta$ - und einer  $\epsilon$ -Untereinheit. (16,17)



**Abbildung 1: Struktur des Nicotinrezeptors der motorischen Endplatte im Längsschnitt (links) und im Querschnitt (rechts)**

Unter den muskulären Nicotinrezeptoren findet sich auch noch der fetale Nicotinrezeptor, welcher anstelle der  $\epsilon$ -Untereinheit eine  $\gamma$ -Untereinheit besitzt. Im Gegensatz zum Muskeltyp des Nicotinrezeptors, mit den zwei Isoformen, findet man beim neuronalen Nicotinrezeptor zahlreiche Isoformen. Auch wenn sowohl der neuronale, als auch der muskuläre Nicotinrezeptor ACh bindet, so unterscheiden sich die beiden Familien deutlich in ihrer Affinität zu Arzneimitteln. Die neuronalen Nicotinrezeptoren sind gegenüber niedrigen Konzentrationen peripherer Muskelrelaxanzien wenig empfindlich. Erst durch hohe Konzentrationen kann es zu Bindungen an neuronale Nicotinrezeptoren bzw. Muscarinrezeptoren und dadurch zu entsprechenden Nebenwirkungen kommen. (17,18)

Damit es zu einer Endplattendepolarisation kommt, müssen beide Bindungsstellen der  $\alpha$ -Untereinheit durch ACh besetzt sein. Erst dann öffnet sich der nicht selektive Kationenkanal durch eine Konformationsänderung für  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ionen und führt somit zu einer Membran Depolarisation.

### **1.3.1.3 Entstehung des Muskelaktionspotenzials**

Die muskulären Nicotinrezeptoren sind nur in der motorischen Endplatte lokalisiert. Muskelzellmembrane außerhalb der motorischen Endplatte können durch ACh nicht depolarisiert werden. Dort erfolgt die Reizweiterleitung durch Potenzial-gesteuerte  $\text{Na}^+$ -Kanäle. (16)

Erst wenn das Schwellenpotenzial von  $-50 \text{ mV}$  erreicht ist, öffnen sich diese Potenzial-gesteuerten  $\text{Na}^+$ -Kanäle und das Muskelaktionspotenzial kann den Muskelfasern entlang laufen. Durch ein transversales Tubulussystem gelangt das Aktionspotenzial in das Innere der Muskelfaser und verursacht eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus dem sarcoplasmatischen Reticulum. Das ins Sarcoplasma freigesetzte  $\text{Ca}^{2+}$  führt zu einer Aktivierung der kontraktilen Proteine und somit zu einer Muskelfaserkontraktion. (17)

### **1.3.1.4 Inaktivierung von Acetylcholin**

In den synaptischen Spalt freigesetztes ACh muss schnell wieder inaktiviert werden können, da es sich um ein sehr schnell reagierendes System handelt. Die im Extrazellularraum vorhandene Acetylcholinesterase (AChE), eines der schnellsten Enzyme des Körpers, macht dies möglich. (16,17) Pro Sekunde kann dieses Enzym bis zu 10 000 Moleküle ACh hydrolysieren. Die AChE findet sich nicht nur im synaptischen Spalt des cholinergen Nervensystems, sondern auch in Erythrozyten. Neben der AChE existiert noch eine zweite Cholinesterase. Sie findet sich im Blutplasma und spaltet den Buttersäureester des Cholins, weshalb sie auch Butyrylcholinesterase (BChE) oder Pseudocholinesterase genannt wird. Ihr Beitrag zur Inaktivierung von ACh ist unbedeutend gering. Erwähnenswert ist jedoch, dass durch die BChE die Muskelrelaxantien Suxamethonium und Mivacurium gespalten werden. (17)

Beide Esterasen und deren unterschiedliche Isoformen können unselektiv, mittels Physostigmin, oder selektiv, wie beispielsweise mittels Rivastigmin, welches als Hemmstoff der G1- Isoform des AChE therapeutisch verwendet wird, gehemmt werden. (18)

### 1.3.2 Muskelrelaxantien

Wie bereits erwähnt existieren neuronale und muskuläre Nicotinrezeptoren, welche beide unterschiedliche Affinitäten zu bestimmten Pharmaka aufweisen. Alle muskelrelaxierenden Wirkstoffe genauer zu beschreiben würde den Rahmen der Diplomarbeit sprengen, weswegen ich mich auf die peripheren Muskelrelaxantien beschränken möchte.

Es gibt mehrere Möglichkeiten der pharmakologischen Einflussnahme auf die neuromuskuläre Erregungsüberleitung.

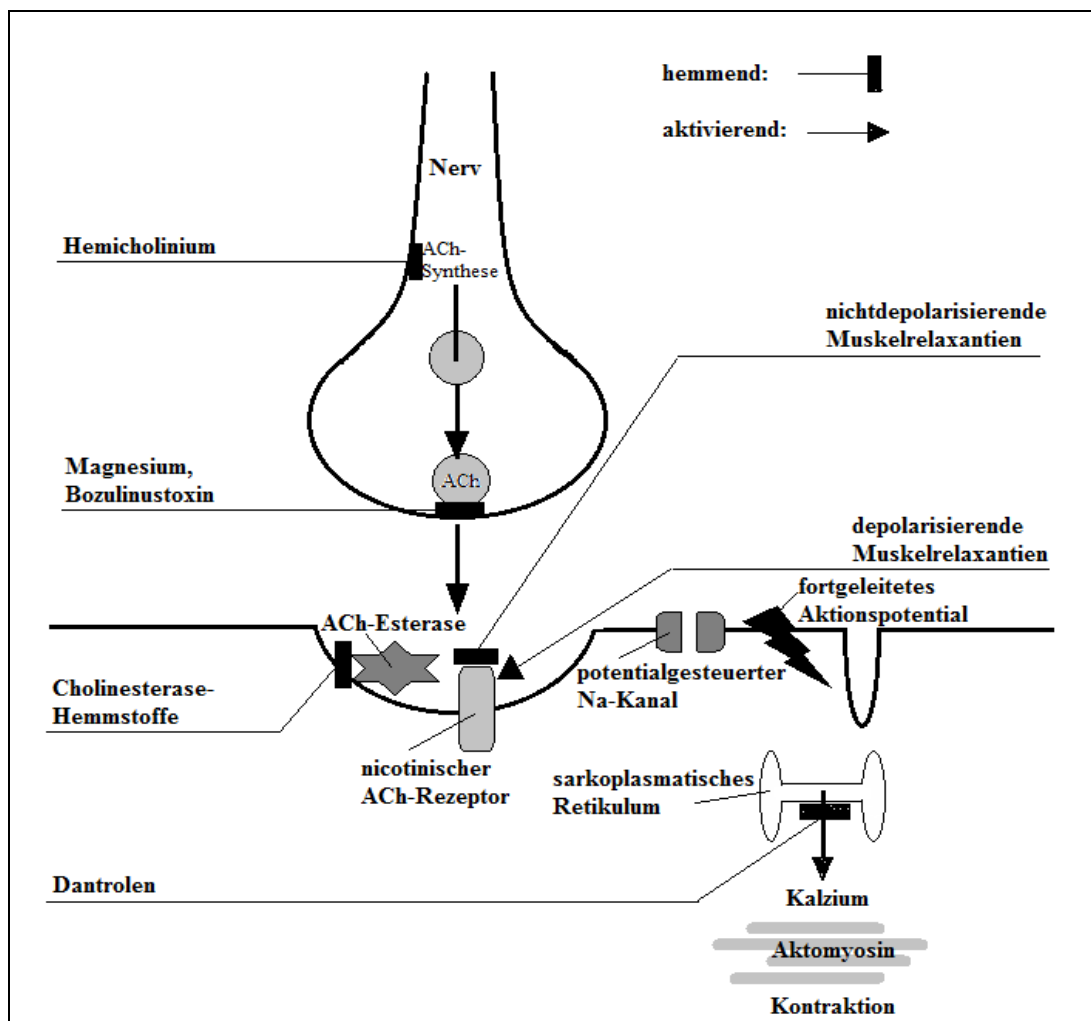


Abbildung 2: Vorgänge im Bereich der neuromuskulären Synapse und die möglichen pharmakologischen Einflüsse

#### - Präsynaptische Unterbrechung der Erregungsüberleitung:

##### *Blockade der ACh-Synthese*

Der spezifische Carrier, welcher Cholin aus dem Extrazellulärraum ins Axoninnere transportiert, kann durch das cholinähnliche Hemicholinium, welches ursprünglich als atemlähmendes Gas beschrieben wurde, blockiert werden. Durch den fehlenden Cholin-Nachschub kommt es zu einem Stillstand der ACh-Synthese. Schließlich,

wenn auch alle Speichervesikel entleert sind, ist eine neuromuskuläre Übertragung nicht mehr möglich. (17)

#### *Blockade der ACh-Freisetzung*

Ein Mangel an  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen (z.B. im Rahmen einer Antikörper-vermittelten Hemmung des  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstroms bei dem Lambert-Eaton-Syndrom), ein Magnesium Überschuss oder das Botulinus-Toxin verhindern die exozytische Freisetzung des ACh. (16)

#### - **Postsynaptische Unterbrechung der Erregungsübertragung:**

Mittels Agonisten und Antagonisten des muskulären Nicotinrezeptors kann die Erregungsweiterleitung blockiert werden.

Durch Dantrolen kann jedoch auch direkt auf den kontraktilem Apparat Einfluss genommen werden. (16,17)

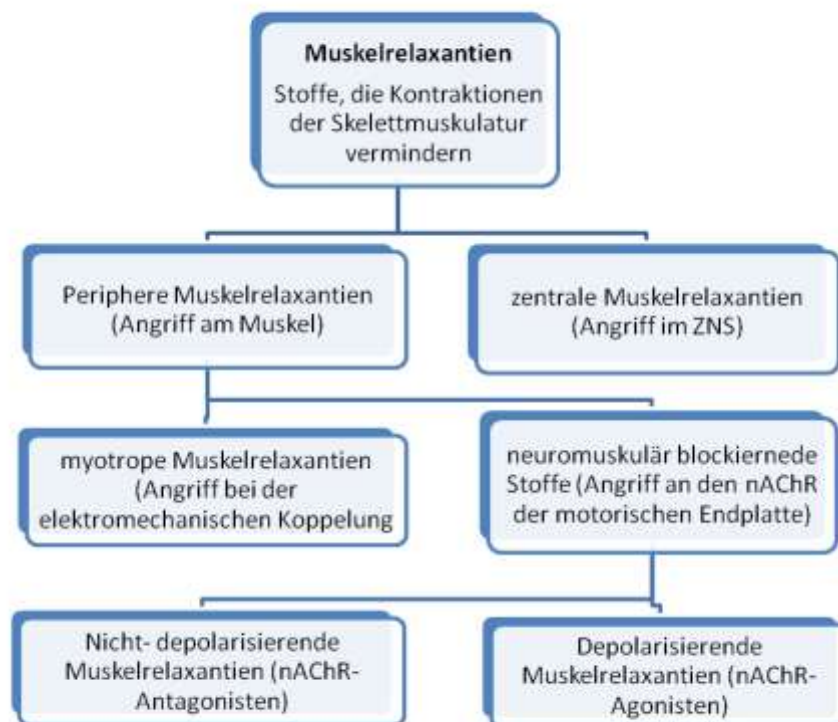


Abbildung 3: Einteilung der Muskelrelaxantien (17)

### 1.3.2.1 Neuromuskulär blockierende Stoffe

Durch eine Bindung an den muskulären Nicotinrezeptor kann die elektromechanische Koppelung an der motorischen Endplatte gehemmt werden. Da die Bindungsstellen des Nicotinrezeptors sowohl durch Agonisten, als auch durch Antagonisten blockiert werden können, unterscheidet man zwischen nicht-depolarisierenden- und depolarisierenden Muskelrelaxantien. Sie haben jedoch alle etwas gemeinsam. Es handelt sich bei beiden

Stoffen um quartäre Ammoniumverbindungen. Nur durch den quartären Stickstoff können sie an den Nicotinrezeptor binden. Zusätzlich wird durch diese Struktur auch die Pharmakokinetik der Substanzen beeinflusst, da sie durch den quartären Stickstoff stark hydrophil und lipophob sind. (16,17)

#### ***1.3.2.1.1 Nicht- depolarisierende Muskelrelaxantien (NDMRs)***

Die Affinität dieser kompetitiven Antagonisten beschränkt sich hauptsächlich auf die Bindungsstellen der muskulären Nicotinrezeptoren. Bereits die Besetzung einer der zwei Bindungsstellen blockiert den muskulären Nicotinrezeptor und verhindert somit die Öffnung des Kationen-Kanals. NDMRs besitzen keine intrinsische Aktivität, das bedeutet, dass der Pharmakon- Rezeptor- Komplex biologisch unwirksam ist. Mit zunehmender Bindung der NDMRs an die ACh-Bindungsstellen der Nicotinrezeptoren werden die Endplattenpotentiale immer kleiner, bis sie das Schwellenpotenzial nicht mehr erreichen und somit kein Aktionspotenzial mehr auslösen können. Ein Vorteil der NDMRs ist ihre Antagonisierbarkeit. Erhöht man etwa durch Cholinesterase-Inhibitoren wie Neostigmin die ACh-Konzentration am Rezeptor, konkurriert ACh besser mit dem kompetitiven Antagonisten als zuvor und dessen Blockade nimmt ab. (17)

Entwicklungsgeschichtlich und strukturell können die Benzylisochinolin-Derivate von den synthetisch hergestellten Aminosteroid-Derivaten unterschieden werden.

#### **Aminosteroid- Derivate:**

Nachdem sich herausgestellt hat, dass bisquarternäre Strukturen selektiv an Nicotinrezeptoren binden und die Affinität bei einem Abstand der quartären Stickstoffatome von 1-1,4nm am stärksten ist, wurden dementsprechende Moleküle synthetisch hergestellt. Als Grundlage wurde ein Steroidgerüst verwendet, an welches zwei quartäre Stickstoffatome hinzugefügt wurden. Dabei handelt es sich um das Muskelrelaxans Pancuronium. In weiterer Folge entstanden die chemisch sehr nahe verwandten Aminosteroide Vecuronium und Rocuronium. (1,17)

Im Gegensatz zu den Benzylisochinolin-Derivaten werden die Aminosteroide hauptsächlich über die Niere ausgeschieden. (16)

#### **Benzylisochinolin- Derivate:**

Das erste Bis-Benzylisochinolin-Alkaloid, welches aus dem von den südamerikanischen Indianern verwendeten Pfeilgift Tubocurare gewonnen wurde, war das D-Tubocurarin. Da es bereits in therapeutischen Dosierungen starke Nebenwirkungen zeigte, wurden zahlreiche Substanzen mit ähnlichen strukturellen Eigenschaften synthetisiert. Vertreter dieser Gruppe sind Atracurium, Cisatracurium und Mivacurium. (1)

Atracurium und Cisatracurium werden in einem späteren Kapitel noch genauer erläutert. Muskelrelaxantien dieser Gruppe verfügen über eine hohe neuromuskulär blockierende Potenz, fehlende Vagolyse und ihr Abbau erfolgt organunabhängig im Plasma. Vereinzelt kann es zu einer Histaminfreisetzung, vor allem bei Verwendung von Atracurium, kommen. (19)

#### **1.3.2.1.2 Depolarisierende Muskelrelaxantien**

Diese Agonisten binden ebenfalls spezifisch an die ACh-Bindungsstellen des Nicotinrezeptors der motorischen Endplatte. Im Unterschied zu den NDMRs hat jedoch der neugebildete Pharmakon-Rezeptor-Komplex eine intrinsische Aktivität. Es kommt zu einer initialen Depolarisation. Da der Agonist im Vergleich zu den ACh-Molekülen länger in der Biophase verbleibt, das bedeutet der Pharmakon-Rezeptor-Komplex dissoziiert in diesem Fall langsamer, da er durch die AChE nicht abgebaut werden kann, verharrt die Endplattenmembran, sowie die umgebende Muskelzellmembran in einem teilweise depolarisierten Zustand. Die  $\text{Na}^+$ -Kanäle der Muskelzellmembran schließen sich nach ihrer Öffnung spontan wieder. Eine erneute Öffnung ist nur nach einer stattgefundenen Repolarisation möglich. Da sich die Endplatte aufgrund der Bindung der Agonisten jedoch in einem dauerdepolarisiertem Zustand befindet, ist eine Repolarisation und in weiterer Folge eine Fortleitung des Aktionspotenzials in die Umgebung nicht möglich. Dadurch wird ebenfalls eine neuromuskuläre Blockade erreicht. (16)

Eine Gegenwirkung durch Cholinesterase-Inhibitoren, wie Neostigmin, ist bei depolarisierenden Muskelrelaxantien nicht möglich. (17)

Suxamethonium ist das einzige Präparat, das noch in klinischem Gebrauch ist. Aufgrund der Nebenwirkungen, wie Hyperkaliämie, aufgrund der durch die Dauerdepolarisation offenen Ionenkanäle, Anstieg des Augeninnendrucks, und selten auch maligne Hyperthermie, wird es nur noch zur Narkoseeinleitung in Notfällen zur Rapid Sequence Induction, beispielsweise bei nicht nüchternen Patienten mit hoher Aspirationsgefahr, eingesetzt. Es verfügt über einen sehr raschen Wirkungseintritt (45- 60 Sekunden) und eine kurze Wirkdauer, wodurch es gut steuerbar ist. (18)

#### **1.3.2.2 Myotrope Muskelrelaxantien**

Diese Gruppe möchte ich nur zur Vervollständigung erwähnen. Es handelt sich dabei um den Wirkstoff Dantrolen. Durch eine Verminderung der Freisetzung des  $\text{Ca}^{2+}$  aus dem sarkoplasmatischen Retikulum schwächt es die Kontraktionen der Skelettmuskulatur. In therapeutischen Dosierungen werden die Herzmuskulatur und die glatte Muskulatur nicht

beeinflusst. Die wichtigste Indikation für Dantrolen ist die maligne Hyperthermie, da es die zugrunde liegende pathologische Freisetzung des  $\text{Ca}^{2+}$  ins Sarkoplasma bremst. (17)

### 1.3.3 Atracurium

Da Cisatracurium eines der Isomere von Atracurium ist und aus Atracurium gewonnen wurde, möchte ich auch dieses näher beschreiben.

Atracurium ist ein Razemat aus 10 optischen und geometrischen Isomeren. 56% der Mischung besteht aus dem geometrischen *cis-cis* Isomer. (20)

Es wird in die Gruppe der Benzylisochinolin-Derivate eingeteilt und ist chemisch gesehen ein Ester. (21)

Atracurium ist mit 30-40 Minuten Wirkungsdauer und einer Anschlagzeit von 24 Minuten ein mittellang wirksames NDMR. (16,21)

Um eine 95%ige neuromuskuläre Blockade zu erreichen wird eine Dosierung von  $250\mu\text{g}/\text{kg}$  benötigt. Diesen Dosis-Wirkungs-Parameter bezeichnet man als  $\text{ED}_{95}$  (Effect-Dose). (21,22)

Eine weitere wichtige Eigenschaft von Atracurium ist, dass der Abbau organunabhängig erfolgt. Unter einem physiologischen pH-Wert und Temperatur wird Atracurium zu 90% im Plasma abgebaut und zu 10% unverändert über die Nieren ausgeschieden. (21,23)

Der im Plasma stattfindende Abbau erfolgt wiederum zu 2/3 unabhängig von der Pseudocholinesterase durch eine enzymatische Esterspaltung. Das restliche Drittel zerfällt durch die im Plasma statt findende Hofmann-Elimination. Da dieser Abbau unabhängig von Organfunktionen abläuft, ist bei eingeschränkten Organfunktionen oder mehrmaligen Repetitionsdosen mit keiner Kumulation von Atracurium zu rechnen. Wie bereits erwähnt erfolgt die Hofmann-Elimination Temperatur und pH-Wert abhängig. Bei Vorliegen einer Hypothermie und einer Azidose kommt es zu einer verlängerten Wirkdauer von Atracurium. (21)

Die Abbauprodukte Laudanosin und Monoacrylat weisen keine neuromuskulär blockierende Wirkung auf. Jedoch wurde Laudanosin bei hohen Dosierungen eine strychninartige Wirkung nachgewiesen. (21)

Ein deutlicher Nachteil von Atracurium ist die bei schneller Injektion von höheren Atracurium-Dosen auftretende Histamin-Freisetzung. Symptome der Histamin-Freisetzung sind vor allem Flushs (Hautrötungen, vor allem im Gesicht), Tachykardie, Blutdruckabfall und seltener Bronchokonstriktionen. (19,21)

### 1.3.4 Cisatracurium

Bei Cisatracurium handelt es sich um das optische *R-R* Isomer der *cis-cis* Konfiguration von Atracurium. Es stellt ca. 14% der Isomer-Mischung von Atracurium dar. Im Unterschied zu Atracurium ist Cisatracurium ca. 1,5-fach potenter. (20)

Laut aktuelleren Studien wirkt Cisatracurium sogar 3 bis 4-mal stärker neuromuskulär blockierend als Atracurium. (19,24)

Eine stärkere Wirkung beruht auf einer höheren Selektivität der Blockade, und senkt damit auch die Wahrscheinlichkeit von autonomen Nebenwirkungen, die durch eine Blockade ganglionärer Nicotin- und Muscarinrezeptoren (Vagus) hervorgerufen werden. (19)

Eine hohe neuromuskulär blockierende Potenz senkt auch das Risiko einer Histaminfreisetzung. (19)

Es hat sich gezeigt, dass aufgrund der besonderen sterischen Struktur von Cisatracurium das Risiko einer Histaminfreisetzung eliminiert werden konnte. Die ED<sub>95</sub> von Cisatracurium bei Patienten in einer balancierten Anästhesie beträgt 0,05mg/kg. (22)

In einer Studie wurde Patienten eine Dosis von 0,4mg/kg, also die 8fache ED<sub>95</sub>, verabreicht. Dies bewirkte weder eine Änderung des Histaminspiegels noch eine signifikante Änderung der hämodynamischen Parameter. (25)

Ein weiterer klinisch bedeutsamer Parameter ist die Anschlagzeit eines Muskelrelaxans. Vor allem im Hinblick auf die endotracheale Intubation muss der Anästhesist wissen, wie lange er auf die gewünschte Relaxierung warten muss, um intubieren zu können. Es hat sich gezeigt, dass eine höhere neuromuskuläre Potenz mit einer längeren Anschlagzeit verbunden ist. So zeigt auch Cisatracurium eine mittellange Anschlagzeit. Bei einer empfohlenen Intubationsdosis von 0,15-0,20mg/kg kann erst nach ca. 1,5-2min intubiert werden. (19)

In einer weiteren Studie wurde bei einer intravenösen Gabe von 0,1mg/kg Cisatracurium eine Anschlagzeit von 5,2min ermittelt. (26)

Wie bei Atracurium erfolgt der Abbauweg organunabhängig durch die im Plasma stattfindende Hofmann-Elimination. (21,22)

Ein wichtiger pharmakodynamischer Parameter ist die klinisch effektive Wirkdauer (DUR<sub>25%</sub>). Dabei handelt es sich um die Zeitspanne zwischen Injektion und Erholung der neuromuskulären Übertragung auf 25% des Ausgangswertes. (22)

Die Arbeitsgruppe von Belmont ermittelte bei Patienten unter Fentanyl-Thiopental-N<sub>2</sub>O Anästhesie die Wirkzeiten von 0,1 bis 0,4mg/kg Cisatracurium. Die DUR<sub>25%</sub> für

0,1mg/kg Cisatracurium betrug 45min und für 0,4mg/kg trotz der 4-fachen Dosierung nur 91min. (26)

In der gleichen Studie wurde auch das Erholungsintervall, jener Zeitintervall zwischen Rückbildung der neuromuskulären Blockade von 25% auf 75% des Ausgangswertes, untersucht. Es zeigte sich, dass das Erholungsintervall unabhängig von der Dosierung 13 bis 15 min beträgt. Dies bestätigt, dass Cisatracurium keine klinisch kumulative Eigenschaft besitzt. (26)

#### **1.4 Pharmakokinetik der nichtdepolarisierenden Muskelrelaxantien**

Durch die quartären Stickstoffatome, welche die Affinität zu den Nicotinrezeptoren der Endplatte verursachen, wird auch die Pharmakokinetik der NDMRs beeinflusst. Die Stickstoffatome machen NDMRs zu lipophoben und hydrophilen Verbindungen und sind Voraussetzung für den durch die Hofmann-Elimination stattfindenden Abbau. (17)

Auswirkungen der Polarität:

- Erschwerter Eintritt ins zentrale Nervensystem und dadurch selektive Wirkung an den muskulären Nikotinrezeptoren der motorischen Endplatte
- Keine Resorption aus dem Magen- Darm- Trakt. (mit Curare- Pfeilen erlegtes Wild kann bedenkenlos verspeist werden)
- NDMRs dringen im Rahmen der Verteilung kaum in Zellen ein. Somit entspricht das Verteilungsvolumen annähernd dem Extrazellularraum. (17)

Für die Benzylochinolin-Diester existieren 2 wichtige Abbauwege. Einerseits können sie wie Atracurium und Cisatracurium im Plasma durch die Hofmann-Elimination abgebaut, oder wie Mivacurium durch die Plasmacholinesterase hydrolysiert werden. (19)

##### **1.4.1 Pharmakokinetik und Metabolismus von Cisatracurium**

Durch die Lipophobie und das hohe Molekulargewicht wird das Verteilungsvolumen von Cisatracurium eingeschränkt und beträgt bei gesunden Patienten zwischen 110 und 190ml/kg. (22,27,28)

Die Hofmann-Elimination ist der Geschwindigkeits-bestimmende Abbau-Weg von Cisatracurium. (20)

Zuerst erfolgt durch die Hofmann Elimination eine Degradierung von Cisatracurium zu Laudanosin und dem monoquaternären Akrylat. Cisatracurium enthält zwei  $\beta$ -gebundene Carbonyl-Gruppen an zwei positiv geladenen Stickstoffmolekülen. Unter physiologischen Bedingungen kommt es angrenzend an der Carbonyl-Gruppe zu einer Protonen-

Abstraktion und einer Elimination der positiv geladenen Amine. Als Abbauprodukte entstehen daraus Laudanosin und ein monoquaternäres Akrylat. Letzteres wird anschließend durch Carboxyl Esterasen zu einem monoquaternären Alkohol und zu einer Akrylsäure hydrolysiert. Da der monoquaternäre Alkohol noch eine Ester gebundene Carbonylgruppe enthält, wird diese erneut durch die Hofmann-Elimination zu Laudanosin und Akrylsäureester gespalten. So entstehen aus 1 Mol Cisatracurium durch die Hofmann Elimination 2 Mol Laudanosin. (20,24)

Wichtig zu erwähnen ist, dass die Plasma Esterase Cisatracurium nicht direkt hydrolysiert, sondern erst der Abbau durch die Hofmann-Elimination erfolgen muss. (20,24)

Um die Beteiligung der Carboxylesterase am Abbau nachzuweisen wurde ein spezifischer Carboxylesterase Inhibitor (CBDP) eingesetzt. Durch die Zugabe von 0,1 µmol/L CBDP wurde die Bildung von monoquaternärem Alkohol als Hauptprodukt der Hydrolyse durch die Carboxyl Esterase vollkommen inhibiert. Jedoch kam es unter Zugabe von CBDP zu keiner signifikanten Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit. (20)

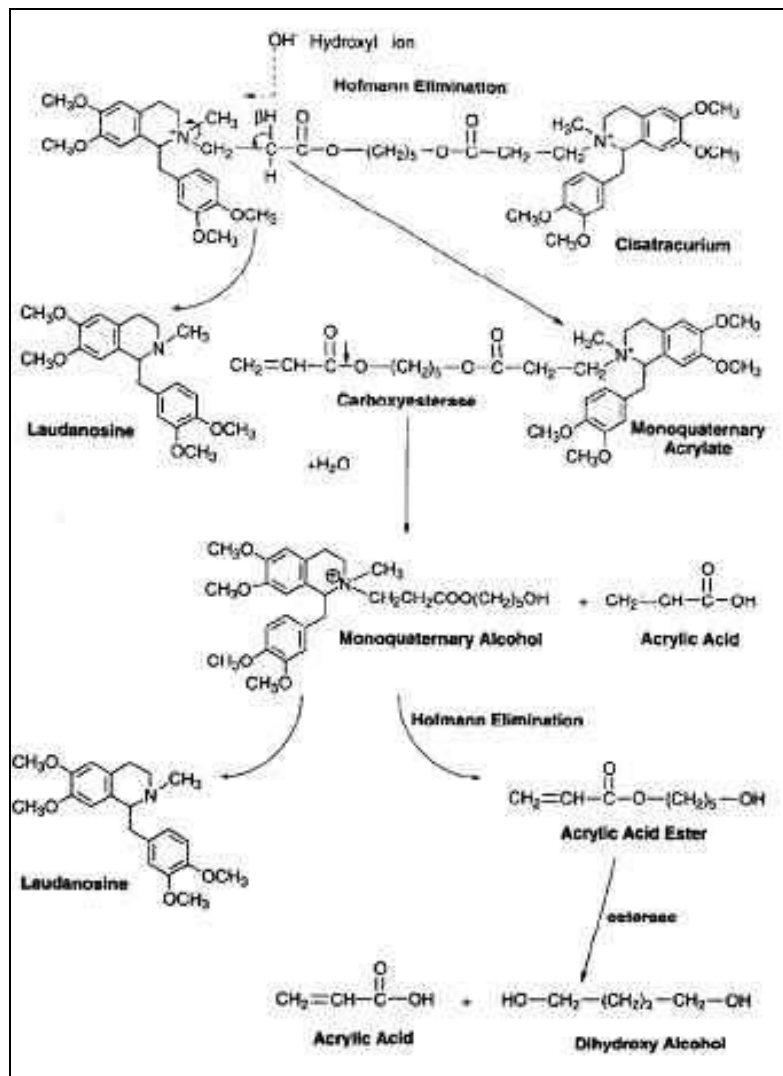


Abbildung 4: Der Abbauweg von Cisatracurium im menschlichen Plasma (20)

Die Reaktionsgeschwindigkeit ist stark vom pH-Wert der Lösung abhängig. So beträgt die Halbwertszeit von Cisatracurium in einer Bufferlösung mit einem pH von 6,4 ca. 129min und in einer Bufferlösung mit einem pH von 7,8 ca. 19,8min. Die durchschnittliche Halbwertszeit bei in einer Bufferlösung mit einem pH von 7,4 betrug  $34,1 \pm 2,1$  Minuten.

(20)

Es stellte sich heraus, dass 77% des Abbaus von Cisatracurium über die Hofmann-Elimination stattfindet. Die restliche Elimination erfolgt Organ-abhängig. Im Vergleich zu Cisatracurium wird Atracurium nur zu ca. 39% über die Hofmann Elimination abgebaut. Dies liegt vor allem daran, dass Atracurium aus einer Mischung von cis-cis, cis-trans und trans-trans Isomer Gruppen besteht, welche sich in ihrer Pharmakokinetik wesentlich unterscheiden. (24)

Die Plasmahalbwertszeit von Cisatracurium beträgt bei gesunden Patienten zwischen 22 und 30 Minuten. (22,27,28)

Das durch die Hofmann-Elimination entstehende Abbauprodukt Laudanosin kann in das zentrale Nervensystem und somit auch in das Gehirn eintreten und löste bei Labortieren in hohen Dosen Krämpfe aus. (17)

Jedoch wird durch die in der Klinik übliche Dosierung von Atracurium und Cisatracurium eine entsprechend hohe Konzentration von Laudanosin nicht erreicht. (19)

Aufgrund der höheren Potenz und der scheinbar fehlenden Esterhydrolyse entsteht beim Abbau von Cisatracurium nur 1/5 bis 1/10 der Laudanosin Menge, die beim Abbau von Atracurium entsteht. (28)

### **1.5 Anwendungsgebiete der Muskelrelaxantien**

Die häufigste Anwendung von Muskelrelaxantien findet im Operationssaal für die notwendige Muskeler schlaffung und zur Erleichterung der Intubation statt. Vor der klinischen Anwendung von Muskelrelaxantien wurde die erforderliche Muskelrelaxation durch eine entsprechend hohe und nebenwirkungsreiche Dosierung der Narkosemittel erreicht.

Ein Anwendungsgebiet ist weiterhin, wie entwicklungsgeschichtlich bereits erwähnt, die in der Psychiatrie angewendete Elektrokrampftherapie. Mithilfe der Muskeler schlaffung lassen sich Verletzungen während der Therapie vermeiden.

Wenn Krämpfe, die durch eine Strychninvergiftung oder Wundstarrkrampf bedingt sind, durch Benzodiazepine nicht beherrschbar sind, werden sie mittels Muskelrelaxantien unterdrückt. (17)

## **1.6 Nebenwirkungen von nichtdepolarisierenden Muskelrelaxanzien**

Nebenwirkungen sind die beim bestimmungsgemäßen Gebrauch eines Arzneimittels auftretenden schädlichen und unbeabsichtigten Reaktionen.

Als Konsequenz geschlechtsspezifischer Unterschiede in der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik zeigt sich entweder eine gesteigerte bzw. verminderte Wirkung oder ein Anstieg unerwünschter Nebenwirkungen aufgrund von Überdosierungen.

Eine Multicenterstudie in Frankreich untersuchte die Umstände des IgE-vermittelten anaphylaktischen Schocks während der Narkose. Insgesamt nahmen 1585 hauptsächlich adoleszente Patienten teil. Es stellte sich heraus, dass Frauen 3mal häufiger betroffen waren als Männer. Als Ursache wurde in den meisten Fällen ein nicht depolarisierendes Muskelrelaxans identifiziert. (29)

Bei genauerer Untersuchung der möglichen Nebenwirkungen von Cisatracurium wurden trotz 8facher Dosierung der ED<sub>95</sub> keine erhöhten Histaminspiegel im Plasma gemessen. Auch das Auftreten von Hautrötungen oder kardiovaskulären Nebenwirkungen war nach 8facher ED<sub>95</sub> Cisatracurium nicht gehäuft zu finden. (25)

Andere Studien beschäftigten sich mit der Häufigkeit residualer Muskelblockaden. Es stellte sich heraus, dass nach einer Gabe von Rocuronium und Vecuronium lediglich Frauen eine Stunde postoperativ gehäuft eine residuale Muskelschwäche in den Händen zeigten. (30)

In großangelegten Datenanalysen zeigte sich, dass eine residuale Muskelblockade ein wichtiger Risikofaktor bezüglich der Morbidität und der Mortalität in der Anästhesie ist. Eine verzögerte Rückbildung der neuromuskulären Blockade in der postoperativen Phase führt nicht nur zu längeren Aufenthalten in postoperativen Aufwachräumen bzw. Intensivstationen und zu verzögerten Extubationen, sondern auch zu einem erhöhten Risiko an pulmonologischen Komplikationen. Vor allem die Muskulatur in den oberen Atemwegen und im Pharynx Bereich, welche auch zum Schutz vor Aspirationen dienen, sind sehr empfindlich gegenüber leichten Restblockaden. Durch entsprechendes Monitoring und individuell angepasste Dosierung ist es für den Anästhesisten möglich, das Outcome eines Patienten deutlich zu verbessern. (31)

## **1.7 Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Pharmakologie**

Geschlechtsunterschiede können sowohl in der Pharmakodynamik, als auch in der Pharmakokinetik existieren. Da es praktisch leichter durchführbar ist pharmakokinetische Daten zu gewinnen, wurden die Untersuchung Gender-spezifischer Unterschiede in der

Pharmakodynamik etwas vernachlässigt. Jedoch sollten auch pharmakodynamische Daten mitbestimmt werden, da insbesondere diese von klinischer Relevanz sind. Es ist vor allem wichtig zu wissen, ob ein festgestellter pharmakokinetischer Geschlechter-Unterschied Auswirkungen auf die entsprechende Pharmakodynamik hat, denn dies würde beispielsweise eine Dosisanpassung erfordern. (32)

In den letzten Jahren wurde intensiv daran geforscht, welche Faktoren das pharmakologische Verhalten von NDMRs möglicherweise beeinflussen könnten. Hypothermie, volatile Anästhetika, andere Muskelrelaxantien, Aminoglykoside und Myasthenia gravis führen zu einer erhöhten Sensibilität bezüglich NDMRs. (33)

### **1.7.1 Pharmakokinetik**

Die Pharmakokinetik kann durch geschlechtsspezifische Unterschiede in der Absorption, der Proteinbindung, Verteilungsvolumen und Metabolismus beeinflusst werden. (11)

Männer und Frauen unterscheiden sich nicht nur durch die primären und sekundären Geschlechtsmerkmale, sondern weisen auch unterschiedliche Körper-Konditionen auf. Sie unterscheiden sich unter anderem durch die Körpergröße, Muskelmasse, Körperfett- und Wassergehalt. (10,32,34)

Dadurch kommt es zu unterschiedlichen Verteilungen lipophiler und hydrophiler Medikamente. Frauen verfügen im Verhältnis zum Körpergewicht über einen größeren Körperfettanteil. Dies ist vor allem bei einer Bolusgabe eines lipophilen Medikaments, wie beispielsweise Propofol, relevant, da sie durch den höheren Fettanteil über ein größeres Verteilungsvolumen verfügen. Im Gegensatz dazu ist bei einer Bolusgabe eines hydrophilen Medikaments das Verteilungsvolumen durch den bei Frauen niedrigeren Wassergehalt im Vergleich zu Männern verringert. Da die Dosis eines zu verabreichenden Medikaments nach kg Körpergewicht berechnet wird, führen diese Unterschiede der Fett- und Wasseranteile dazu, dass Frauen trotz gleicher Dosierung wie bei Männern initial eine niedrigere Plasmakonzentration von lipophilen, bzw. eine höhere Plasmakonzentration von hydrophilen Medikamenten zeigen. (32,34)

Ein zweiter wichtiger pharmakokinetischer Parameter, der durch das Geschlecht beeinflusst werden kann, ist die Elimination. Bei vielen in der Anästhesie verwendeten Medikamenten ist die hepatische Metabolisierung der wichtigste Abbauweg. Dabei ist aufgrund des geringeren Herzminutenvolumens bei Frauen eine geringere Clearance zu erwarten. (32)

Auch in der Enzymaktivität gibt es Unterschiede zwischen Männern und Frauen. Durch eine Schwangerschaft, den Menstruationszyklus, die Menopause oder durch die Einnahme von Kontrazeptiva kann das Cytochrom P-450 System beeinflusst werden. (11,32)

Beispielsweise wurde nachgewiesen, dass die Clearance von Afentanil bei postmenopausalen Patientinnen sinkt, sodass auch die Dosierung dem Alter entsprechend angepasst werden musste. (35)

Ein weiterer Grund für Unterschiede in der Wirkung von Pharmaka kann eine geschlechtsspezifische Abweichung in der Proteinbindung sein. Diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Die meisten Wirkstoffe binden an Plasma Albumin, welches durch schwankende Hormonspiegel nicht ausreichend beeinflusst wird, als dass sich daraus klinisch signifikante Unterschiede erkennen lassen. Dies gilt jedoch nur, solange keine exogenen Hormone wie orale Kontrazeptiva hinzukommen. Beispielsweise wird die Protein ungebundene Fraktion von Lidocain durch eine Einnahme von Kontrazeptiva von 32% auf 37% erhöht. (11)

### **1.7.2 Pharmakodynamik**

Diesbezüglich existieren bis jetzt nur sehr wenig systematisch erhobene Daten.

Vor allem für die Wirkung von Analgetika konnte in einigen Studien erhoben werden, dass Männer postoperativ im Durchschnitt 40% mehr Morphine benötigen als Frauen um schmerzfrei zu sein. (10,32)

Bei näherer Untersuchung zeigte sich, dass bei Männern eine signifikant höhere Morphinkonzentration am Rezeptor notwendig ist, um den gleichen analgetischen Effekt wie bei Frauen zu erzielen. Dies lässt darauf schließen, dass dieser Unterschied auf einer unterschiedlichen Empfindlichkeit auf Rezeptorebene beruht. (36,37)

Auch bei der Untersuchung des Einflusses von Acetylsalicylsäure (ASS) auf die Thrombozytenaggregation zeigten sich interessante Unterschiede zwischen Männern und Frauen. Nach Hinzugabe von ASS zu von weiblichen und männlichen Versuchspersonen abgenommenen Blutes, zeigte sich bei Frauen, bei einer definierten ASS-Konzentration, ein geringerer Effekt auf die Thrombozytenaggregation als bei Männern. Fügt man zu dem Blut der Frauen Testosteron hinzu, so glich sich der Effekt jenem der Männer an. (10,38)

### 1.7.3 Nichtdepolarisierende Muskelrelaxantien

Bei einigen nichtdepolarisierenden Muskelrelaxantien wurden bereits Studien bezüglich eines möglichen Einflusses auf das pharmakologische Verhalten durch den demographischen Faktor Geschlecht durchgeführt.

Bei Atracurium konnte nachgewiesen werden, dass es bei einer nach Körpergewicht berechneten Dosierung bei Frauen zu einer tieferen Muskelblockade kommt als bei Männern. (39,40)

Xue und Kollegen führten eine Studie durch, in welcher der Einfluss des Alters und des Geschlechts auf die Dosis-Wirkungskurve und auf den zeitlichen Verlauf der Wirkung von Atracurium bestimmt wurde. Die kumulative Dosis-Wirkungskurve war bei Männern nach rechts verschoben, was auf eine verminderte Empfindlichkeit bezüglich der durch Atracurium induzierten Muskelblockade hindeutet. Die Dauer der maximalen Wirkung, die klinische Wirkungsdauer und die totale Wirkungsdauer waren bei Frauen um 30%, 23% bzw. 24% erhöht. Bei zunehmendem Alter der Probanden und bei gleicher Dosierung wie bei den jungen Versuchspersonen zeigte sich eine Reduktion der effektiven Dosis und eine Verlängerung der klinischen Wirkdauer. (33)

Zu ähnlichen Ergebnissen kam man auch bei Vecuronium und Pancuronium.

Bezüglich Vecuronium zeigte sich bei Frauen im Vergleich mit Männern eine Linksverschiebung der Dosis-Wirkungskurve. Die Gesamtdauer der Muskelblockade, die klinische Dauer, sowie die Dauer der maximalen Blockade waren bei Frauen signifikant länger. (41,34)

Verglichen mit Männern zeigten die Patientinnen bei Pancuronium einen signifikant rascheren Wirkungseintritt. (42)

In einer Studie, welche geschlechtsspezifische Unterschiede im Verlauf der neuromuskulären Blockade nach einer Gabe von 0,45mg/kg Rocuronium untersuchte, zeigte sich im Vergleich zu den Männern bei Frauen eine größere maximale Muskelblockade, eine kürzere Anschlagzeit und eine längere Wirkdauer. (40)

Die Datenlage zu Cisatracurium ist sehr widersprüchlich.

In einer durchgeführten Populationsstudie, mit dem Ziel, die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Cisatracurium in gesunden Probanden zu ermitteln, und eventuell bestehende Faktoren, die auf die PK/PD Einfluss nehmen zu identifizieren, kam man zu dem Ergebnis, dass das Geschlecht kleine Veränderungen in der Clearance und der Wirkortäquilibrations- Konstante verursacht. Da sich jedoch keine Unterschiede in der

Anschlagzeit und im Erholungsprofil zeigten, sind die nachgewiesenen Unterschiede kaum von klinischer Relevanz, und machen somit auch keine Dosis-Anpassung erforderlich. (43)

In einer anderen Studie wurde explizit der Einfluss des Geschlechts auf die Pharmakodynamik von Cisatracurium und Rocuronium untersucht. In der Rocuronium Gruppe fand sich bei Frauen eine signifikant kürzere Anschlagzeit und eine längere klinische Wirkdauer. In der Cisatracurium Gruppe hingegen war die Anschlagzeit bei den Frauen zwar gering verlängert, jedoch war der Unterschied klinisch nicht signifikant. Die klinische Wirkdauer war bei beiden Geschlechtern gleich. Der Erholungsindex zeigte weder in der Rocuronium Gruppe, noch in der Cisatracurium Gruppe Unterschiede zwischen Frauen und Männern. (44)

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Arbeitshypothese**

Wie bereits nachgewiesen wurde, reagieren Frauen empfindlicher auf NDMRs der Aminosteroid-Gruppe. (32,34,41,44)

Auch zu Atracurium gibt es bereits ausführliche Studien betreffend Geschlechterunterschiede in der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik. (33)

Bezüglich des Benzylisochinolin- Derivats Cisatracurium sind die Ergebnisse jedoch nicht ganz eindeutig. In einer Populationsstudie wurden geringe Genderunterschiede in der Clearance und der Wirkortäquibrationskonstante identifiziert. (43)

In einer anderen Studie wiederum konnten nur geringe, nicht signifikante Unterschiede in der Anschlagzeit nachgewiesen werden. (44)

Dies hat uns dazu veranlasst eine genauere Untersuchung durchzuführen, ob das Geschlecht auf die Pharmakodynamik und die Pharmakokinetik von Cisatracurium einen Einfluss hat.

Da dies ein sehr umfangreiches Thema darstellt haben mein Kollege Andreas Domke und ich uns die Arbeit aufgeteilt. Er beschäftigte sich vor allem mit der Untersuchung möglicher Genderunterschiede in der Pharmakokinetik und ich mit den möglicherweise daraus resultierenden Unterschieden in der Pharmakodynamik. Da diese Bereiche nicht voneinander getrennt werden können, war vor allem hinsichtlich der Methodik und Durchführung eine intensive Zusammenarbeit notwendig und uns beiden von großem Nutzen.

Diese kontrollierte prospektive Studie wurde nach den Richtlinien der ‘Good clinical research practice (GCRP) in pharmacodynamic studies of neuromuscular blocking agents II: the Stockholm revision’ und ‘Pharmacokinetic studies of neuromuscular blocking agents: good clinical research practice (GCRP)’ geplant und durchgeführt. (45,46)

### **2.2 Probanden/innen**

Nach dem Erhalt eines positiven Votums der Ethikkommission versuchten mein Kollege Andreas Domke und ich am LKH Graz Probanden/innen zu rekrutieren. Die Patienten/innen erhielten von uns sowohl ein Informationsblatt, als auch eine mündliche Aufklärung um alle Fragen zu beantworten. Erst nach Abgabe eines schriftlichen Einverständnisses durften die Patienten/innen an der Studie teilnehmen.

Aufgrund der strengen Einschlusskriterien und der beschränkten Patientenzahl im urologischen OP, zu welchem wir Zugang erhielten, war es uns trotz großer Mühen nicht möglich, in der uns zur Verfügung stehenden Zeit genügend geeignete Patienten/innen zu rekrutieren, sodass wir auf venöse Proben, die in einem Krankenhaus in Sarajevo gewonnen wurden, zurück griffen.

Jeweils 20 Frauen und 20 Männer kaukasischer Rasse, welche sich visceralchirurgischen und gynäkologischen Eingriffen unterzogen, nahmen nach schriftlicher Einwilligung an der Studie teil. Es wurde darauf geachtet, dass die beiden Geschlechtergruppen vergleichbar sind. Ausschlusskriterien waren ASA Klassifikation > II, neuromuskuläre Vorerkrankungen, Unverträglichkeit gegenüber Medikamenten, welche während des Eingriffs verwendet wurden, Elektrolytstörungen, Alter > 60 Jahre, sowie die Einnahme von Medikamenten, die zu einer Beeinträchtigung der neuromuskulären Erregungsübertragung führen können.

Von den Studienteilnehmer/innen sind das Alter, die Größe und das Gewicht bekannt.

Da im Rahmen der durchgeführten Studie bei der Hälfte der Patienten/innen zusätzlich der Effekt der Blutverdünnung (Hämodilution) durch intravenöse Flüssigkeitszufuhr während der Operation gemessen wurde, sind bei diesem Teil der Probanden/innen eine Vielzahl von Laborparametern bekannt. Jeweils vor und nach dem chirurgischen Eingriff wurde der Hämoglobingehalt, Hämatokrit, mittlerer arterieller Druck, die Herzfrequenz, der Plasma Proteingehalt, Albumingehalt und die Calcium- und Kaliumkonzentration gemessen. Mittels einer Varianzanalyse wurde darauf geachtet, dass das Ergebnis dieser Studie nicht durch die Hämodilution beeinflusst wird. Die Ergebnisse bezüglich der Hämodilution finden sich in einer anderen Studie.

**Tabelle 1: Demografische Daten der Probanden/innen**

	<b>Frauen (n=20)</b>	<b>Männer (n=20)</b>	<b>p-Werte</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	40 ± 10	42 ± 11	0,540
<b>Größe (cm)</b>	166,8 ± 8,4	180,6 ± 5,9	<0,001
<b>Gewicht (kg)</b>	67,8 ± 19,7	81,8 ± 10,6	<0,001
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,5 ± 4,2	25,0 ± 2,7	0,630

*Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung; BMI= body mass index (Formel: BMI=Körpergewicht [kg] / Körpergröße<sup>2</sup> [m]); p-Wert mittels t-Test berechnet*

## **2.3 Anästhesie**

Die Narkose wurde mit 1,5mg/kg Fentanyl und 2-3mg/kg Propofol eingeleitet bis der Lidschlussreflex unterdrückt wurde. Laut den Empfehlungen der GCRP wurden volatile Anästhetika vermieden, da diese das Wirkungsprofil von NDMRs beeinflussen. (47,46) Mittels einer Larynxmaske wurden die Patienten/innen mit 40% Sauerstoff mechanisch beatmet. Die Narkose wurde mit einer Propofol- (100-150mg/kg/min) und einer Remifentanyl-Infusion (0,1-0,3mg/kg/min) aufrechterhalten. Weiters wurde darauf geachtet, dass die Körperkern- und Hauttemperatur konstant um die 36,8°C bzw. 32,8°C betrug, da sich ja bereits kleine Schwankungen auf die Geschwindigkeit der Hofmann-Elimination auswirken können. Zusätzlich wurde der mittlere arterielle Druck und die Herzfrequenz kontrolliert. (48)

Es konnte nachgewiesen werden, dass volatile Anästhetika die Wirkung von nicht depolarisierenden Muskelrelaxantien beeinflussen. Um die Vergleichbarkeit von Studien zu erhalten wurden entsprechende Richtlinien für pharmakodynamische Studien über Muskelrelaxantien entwickelt und veröffentlicht. Diese empfehlen die Verwendung von intravenösen Anästhetika (TIVA). (46)

Cisatracurium wurde mit einer Dosierung von 0,1mg/kg als Bolus i.v. verabreicht.

## **2.4 Analytik von Cisatracurium**

Um den Plasmaspiegel im Verlauf der Zeit gut beobachten zu können, wurden während der Operation zu 11 Zeitpunkten venöses Blut in 4ml EDTA Röhren abgenommen.

### **2.4.1 Probenentnahme**

Um alle Proben zeitgemäß abnehmen zu können wurde zuerst ein zweiter permanenter venöser Zugang vorbereitet. Die Blutabnahme und die i.v. Gabe der Medikamente erfolgten an verschiedenen Armen. Die erste Blutprobe wurde 1 Minute nach der Verabreichung von 0,1 mg/kg Cisatracurium (GlaxoSmithKline, Middlesex, UK, europäische Produktionslinie) entnommen. Die weiteren Blutabnahmen folgten nach 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 60, 90 und 120 Minuten.

Direkt nach der Blutabnahme wurden die Röhren geschwenkt und sofort in einer vorbereiteten Polystyrolbox, welche mit Crushed- Ice gefüllt war, mindestens 5 Minuten lang gekühlt. Nach 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten wurden die jeweils gesammelten gekühlten Blutproben in einer auf 4°C vorgekühlten Zentrifuge bei 2500g 10 Minuten lang zentrifugiert. Von dem dadurch gewonnenem EDTA Plasma wurden anschließend 950µl in bereitliegende gekühlte Eppendorfer Röhren mit 40µl 0,5 molarer Schwefelsäure (Firma

Roth) und 10µl Verapamil als Internen Standard (100µl/ml Verapamil) gefüllt. Diese mit Internem Standard und H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gefüllten Eppendorfer Röhrchen wurden in Graz vorbereitet und vom Institut für Physiologische Chemie zur Verfügung gestellt.

Die Hofmann-Elimination ist stark abhängig vom jeweiligen pH-Wert. (23,49)

Durch die 0,5 molare Schwefelsäure kommt es zu einem Absinken des pH-Wertes und dadurch zu einer Hemmung der Hofmann-Elimination durch welche der Abbau von Cisatracurium stattfindet.

Nach erfolgtem Mischen wurden die Proben bei -70°C gelagert bis sie in einer Box, gefüllt mit Trockeneis, zur Analyse nach Graz transportiert wurden.

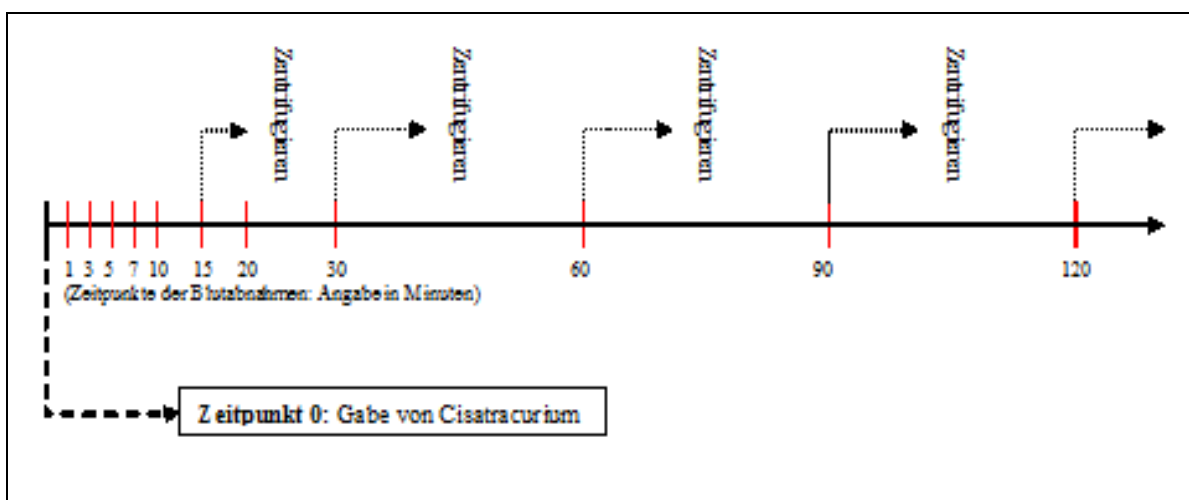


Abbildung 5: Zeitschema der Probenentnahme

## 2.4.2 Analytik von Cisatracurium

Die Proben wurden in Graz am Institut für Physiologische Chemie analysiert und ausgewertet. Ich habe die Methodik gelernt und bei in vitro Versuchen auch selbst angewandt.

Alle verwendeten Agentien wurden von der Firma Roth bezogen.

Nachdem die mit Internem Standard und mit 0,5 molarer Schwefelsäure versetzten Proben aufgetaut wurden, entnahm man 500µl und mischte sie mit 1ml Acetonitril.

Nach dem Mischen mit dem Vortex wurde die Probe bei Raumtemperatur bei 2400g 10 Minuten lang zentrifugiert.

Die durch das Acetonitril präzipitierten Plasmaproteine sammelten sich durch das Zentrifugieren am Grund des Eppendorfer- Reaktionsgefäßes. Somit konnte verhindert werden, dass die Säule der High- Performance- Liquid- Chromatography (HPLC) durch Proteine verstopft wird.

Anschließend wurde vom Überstand 1ml entnommen, in ein Glasröhrchen überführt und bei 30°C unter einem Stickstoffstrom eingedampft. Der dadurch entstandene Verdunstungsrückstand wurde in 500µl Laufmittel wieder gelöst. 50µl wurden davon zur Analyse in das HPLC-System injiziert.

#### **2.4.2.1 HPLC**

Die von uns verwendete High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC) wurde wie von Farenc und Kollegen beschrieben durchgeführt. Diese haben 1999 eine Methode zur gleichzeitigen Messung von Atracurium und Laudanosin etabliert. Die Methode wurde hinsichtlich der Präzision, Selektivität und der Grenzen der Nachweisbarkeit überprüft und validiert. (50)

Weiters konnte sichergestellt werden, dass bei dieser Analyse-Methodik keine Interferenzen mit anderen in der Anästhesie verwendeten Medikamenten vorliegen. (23)

##### ***2.4.2.1.1 Allgemeines über die HPLC Methode***

Bei der HPLC handelt es sich um eine besondere Art der Säulen-Chromatographie. Der Vorteil dieser Methodik liegt vor allem in einer hochauflösenden Trennung in einem weiten Substanzklassen-Bereich innerhalb weniger Minuten bis zu einer Stunde. Bei der Säulen-Chromatographie befindet sich die stationäre Phase in einer Säule, durch welche die flüssige (mobile) Phase mit den zu trennenden Stoffen hindurchfließt. Dieser Prozess des Durchfließens wird bei der HPLC Analyse durch ein Hochdruck-Pumpsystem bewerkstelligt. (51)

Der Inhalt der HPLC Trennsäule (z.B. Kieselgel oder Salicagel) besteht aus druckstabilen modifizierten Partikeln von sehr kleiner Größe (3-10µm). Je kleiner die Partikel sind, desto größer ist die Trennleistung. (52,53)

Während des Durchfließens treten die zu trennenden Substanzen der mobilen Phase in Wechselwirkung mit der stationären Phase. Diese Wechselwirkungen sind je nach Substanz unterschiedlich ausgeprägt, wodurch es zu einer Auftrennung dieser Substanzen kommt. Am schnellsten durchfließen Substanzen die Säule, welche am wenigsten stark in Wechselwirkung mit der stationären Phase treten, während Substanzen mit starker Wechselwirkung am längsten benötigen um durch die stationäre Phase zu fließen. (54)

Die Wechselwirkungen beruhen auf unterschiedlichen physikalischen oder chemischen Eigenschaften der beiden Phasen. Liegt beispielsweise eine polare stationäre und eine unpolare mobile Phase vor, so binden polare Moleküle länger an die stationäre Phase als unpolare Moleküle und verlassen dadurch später die Säule.

Die getrennten Substanzen können nach Verlassen der stationären Phase (Säule) mittels entsprechender Detektoren und Standard-Substanzen identifiziert und quantifiziert werden. (53)

Die mobile Phase wird direkt nach Verlassen der Trennsäule in einen entsprechenden Detektor geleitet. Es gibt verschiedene Messmethoden, jedoch haben sie gemein, dass den durch sie gemessenen Chromatogrammen sowohl Aussagen über die Retention, jene Zeit, die benötigt wird um die Säule zu durchlaufen, als auch über die Konzentration entnommen werden können. Durch die spezifischen Retentionszeiten und dem Vergleich mit Standard-Substanzen können einzelne Analyten identifiziert werden. (51)

Das Elutionsmittel, welches mit den zu messenden Substanzen die Säule durchläuft, muss einige Kriterien erfüllen. Es darf weder mit den nachzuweisenden Substanzen, noch mit der Detektionsmethode, in unserem Fall heißt das, es darf keine die Fluoreszenz störende Substanzen enthalten, interagieren. Luftblasen oder Partikel im Lösungsmittel müssen vermieden werden, um einer Verstopfung der Säule oder des Pumpsystems sowie Druckschwankungen vorzubeugen.

Die HPLC-Anlage besteht aus einer Pumpe, einem Injektionssystem, der Trennsäule, einem Detektorsystem am Ende der Säule und einer Integrations- und Auswertungseinheit. Da das Elutionsmittel (mobile Phase) mit einem hohen Druck durch die Trennsäule gepumpt wird, kommt es zu einer Erwärmung der Säule und somit zu einer Änderung der Viskosität und der Druckverhältnisse. Dies kann in einer verfälschten Peakform und einer veränderten Auflösung resultieren. Um diesen Fehlern vorzubeugen ist es sinnvoll einen Säulenofen zu verwenden, der die Temperatur der Trennsäule konstant hält. (53)

#### **2.4.2.1.2 Angewendete HPLC Methode**

Zur Analyse der Plasmaproben wurde uns die HPLC Anlage des Instituts für Physiologische Chemie in Graz zur Verfügung gestellt. Zur Injektion von 50µl der Proben in die HPLC Anlage wurde ein Autosampler (Triathlon; Firma Spark) verwendet. Die chromatographische Auftrennung erfolgte mittels einer 150mm langen und 3mm durchmessenden ACE-3 RP-18 Trennsäule. Die Partikelgröße betrug 3µm. Mittels einer ESA 582 Pumpe der Firma Bartelt Labor- & Datentechnik (Graz, Austria) wurde das Laufmittel aus Acetonitril, Methanol und Phosphatpuffer (Firma Roth) mit einem pH-Wert von 5, welches in einem Verhältnis von 400:43:500 gemischt wurde, mit einer konstanten Flussrate von 400µl/min durch die Säule gepumpt. Mittels eines Säulenofens wurde die Temperatur der Säule auf 50°C konstant gehalten. Die getrennten Substanzen wurden mittels eines Fluoreszenzdetektors (Hitachi F-1050) registriert.

Diese Art der Detektion erfasst nur fluoreszierende Substanzen und ist daher relativ spezifisch und sensitiv. Die Wellenlängen der Messung sind für Cisatracurium und Verapamil optimiert. Durch die Einstrahlung von UV Licht der Wellenlänge von 240nm werden die Substanzen angeregt und deren Emission von 320nm gemessen. Der Fluoreszenzdetektor erzeugt aus den von der Säule getrennten Substanzen ein elektronisches Signal, welches an einen Computer weitergeleitet und mittels der EZ Chrom Elite Software (VWR, Vienna, Austria) berechnet und graphisch gegen die Zeit aufgetragen wird. Ein entsprechendes Chromatogramm wird in Abbildung 7 dargestellt.

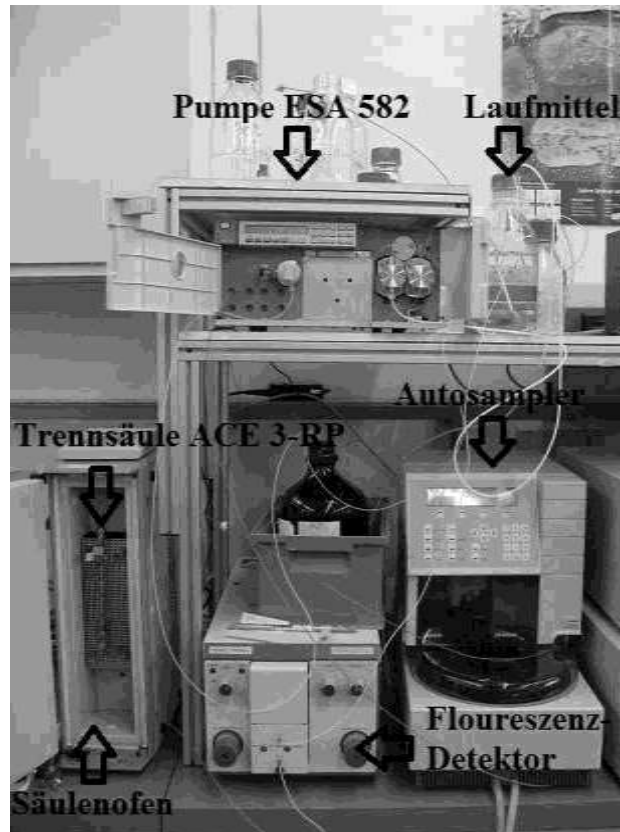


Abbildung 6: Verwendete HPLC Anlage

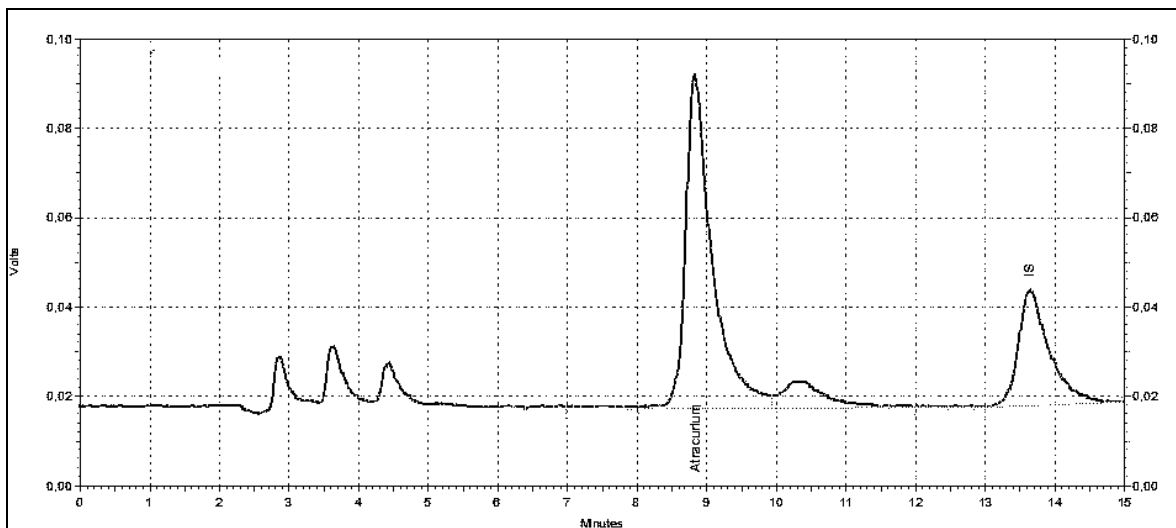


Abbildung 7: Chromatogramm von Cisatracurium (Atracurium) und Verapamil (IS)

Auf der X- Achse kann die entsprechende Retentionszeit und auf der Y-Achse die Signalstärke (Intensität des emittierten Lichtes) in Volt, die sogenannte Peakhöhe, abgelesen werden. Wie in dem Chromatogramm dargestellt, erkennt man in den ersten 5 Minuten einen typischen Kurvenverlauf, der durch die physiologisch vorkommenden

Inhaltsstoffe des Plasmas zustande kommt. Diese Peaks sind für unsere Messung nicht relevant. Nach ca. 7,8 und 12,5 Minuten verlassen Cisatracurium und Verapamil die Trennsäule. Da die Retentionszeiten von Cisatracurium und Verapamil bereits bekannt sind, werden die Peaks vom auswertenden Computerprogramm automatisch mit Atracurium und IS beschriftet.

Durch das Hinzufügen einer konstanten Menge Internen Standards, in unserem Fall Verapamil, können unterschiedliche Substanzverluste durch Lagerung und Probenvorbereitung ausgeglichen werden. Die Quantifizierung erfolgt durch eine an jedem Tag erstellte Standardkurve mit bekannten Konzentrationen Cisatracurium und Verapamil (in Abbildung 8 dargestellt). Für die Quantifizierung der Proben wurde das Peakhöhen-Verhältnis von Cisatracurium und Verapamil und die daraus berechnete Regressionsgerade verwendet.

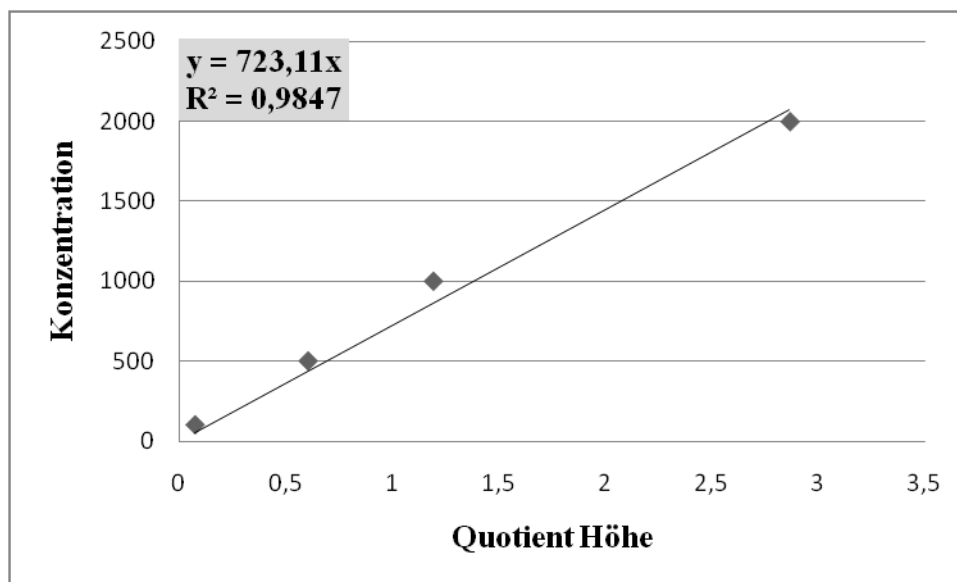


Abbildung 8: Wässrige Standardreihe für die Berechnung der Konzentration

### 2.4.3 Pharmakokinetische Parameter

Um entsprechende Parameter berechnen zu können, wird ein pharmakokinetisches Kompartiment Modell verwendet. Es wird dabei ein hypothetisches Modell gewählt, welches am besten den gewonnenen Plasmakonzentrationen und deren zeitlichen Verlauf entspricht.

Da der Abbau eines Pharmakons meist keinen linearen Verlauf aufweist, sondern aufgrund von Umverteilungen, spezifischen Bindungen und Abbau anfangs einen steilen und dann durch den Rücktransfer einen zunehmenden flacher verlaufenden Konzentrationsabfall aufweist, ist es notwendig diesen bi- oder triexponentiellen Abbau durch Verwendung von

Kompartimenten zu beschreiben und zu berechnen. Dabei wird der Körper in einen oder mehrere imaginäre Räume, sogenannte Kompartimente, unterteilt, in welchem sich das Arzneimittel verteilt. Diese Kompartimente besitzen keine eindeutigen anatomischen Korrelate, sondern dienen dazu, komplexe Vorgänge im Körper räumlich, funktionell oder durch einen definierten Prozess zu beschreiben. Die Kompartimente sind in sich homogen und besitzen eine einheitliche Stoffmenge und Kinetik. (55)

Man spricht von einem zentralen Kompartiment, das in der Regel dem Blutvolumen und den gut durchbluteten Organen entspricht, und von einem peripheren Kompartiment, welches Organe mit mittlerem (z.B. Skelettmuskulatur, Haut) und geringem (z.B. Fettgewebe) Blutfluss repräsentiert.

(56)

Nach einer intravenösen Bolusinjektion nimmt zuerst aufgrund der Verteilung des Arzneistoffes vom zentralen ins periphere Kompartiment die Konzentration im Plasma ab und im peripheren Kompartiment zu. Dies bezeichnet man als Verteilungsphase oder  $\alpha$ -Phase. Erst wenn zwischen peripherem und zentralem Kompartiment ein Gleichgewichtszustand der Konzentration erreicht ist, sinkt durch den Abbau die Arzneimittelkonzentration in beiden Kompartimenten mit gleicher Geschwindigkeit ab. Diese Phase wird als Eliminationsphase oder  $\beta$ -Phase bezeichnet. (21)

Da auch bei unseren Probanden/innen zu Beginn eine rasch und später langsamer absinkende Konzentrationskurve vorlag, wurde zur Berechnung pharmakokinetischer Daten ein klassisches zwei-Kompartiment-Modell verwendet.

Dies bedeutet es liegt ein zentrales Kompartiment, Kompartiment 1, mit dem Volumen  $V_1$ , und ein peripheres Kompartiment, Kompartiment 2, mit dem Volumen  $V_2$ , vor. Das Arzneimittel wird als Bolusinjektion in das zentrale Kompartiment verabreicht. Es wird angenommen, dass die Verteilung im zentralen Kompartiment so schnell stattfindet, dass dieser Vorgang zeitlich vernachlässigt werden kann. Zwischen Kompartiment 1 und Kompartiment 2 erfolgt ein Arzneimittelaustausch der mittels Geschwindigkeitskonstanten  $k_{12}$ , für die Umverteilung des Arzneimittels vom zentralen ins periphere Kompartiment, und  $k_{21}$ , für den Rücktransfer vom peripheren ins zentrale Kompartiment, beschrieben wird. Da angenommen wird, dass der Abbau des Arzneimittels nur im zentralen Kompartiment stattfindet wird dieser mittels der Eliminationsgeschwindigkeitskonstante  $k_e$  beschrieben.

(57)

Diese pharmakokinetische Analyse, also das Anpassen der Modellparameter an die experimentellen Daten, erfolgte mithilfe des Programmes SCIENTIST 3.0 (MicroMath

Scientific Software Inc.). SCIENTIST ist ein Programm, welches für umfangreiche Modellbildungen, Datenanalyse, Fitten von Kurven und auch für grafische Anwendungen konzipiert wurde. Die Modelle können sowohl aus nicht-linearen- differential-, multivarianten- und impliziten- Gleichungen, als auch aus Laplace Transformationen oder Kombinationen der genannten bestehen. Die Besonderheit dieses Programmes ist, dass die Regression durch eine numerische Integration der zugrundeliegenden Differentialgleichung erfolgt. Dieses Programm ist eines von wenigen, welches bei schwierigen oder unmöglichen analytischen Regressionsanalysen eine numerische Integration ermöglicht.

Dabei wird eine Funktion gewählt, welche den gesuchten Zusammenhang der beobachteten Punkte am besten darstellen kann. Die Geschwindigkeitskonstanten  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  und  $k_e$  der Funktion werden so angepasst, dass die Summe der quadratischen Abweichungen der gemessenen Punkte von der Kurve minimiert wird. (58,59)

Die Differentialgleichung der Konzentration im zentralen Kompartiment nach der Funktion der Zeit lautet beispielsweise:

$$\frac{dc_1}{dt} = F(t) - k_{12} * c_1 - k_e * c_1 + k_{21} * c_2$$

$F(t)$  stellt dabei die in einer gewissen Zeit verabreichte Bolusgabe dar.  $c_1$  steht für die Konzentration im zentralen und  $c_2$  für die Konzentration im peripheren Kompartiment.

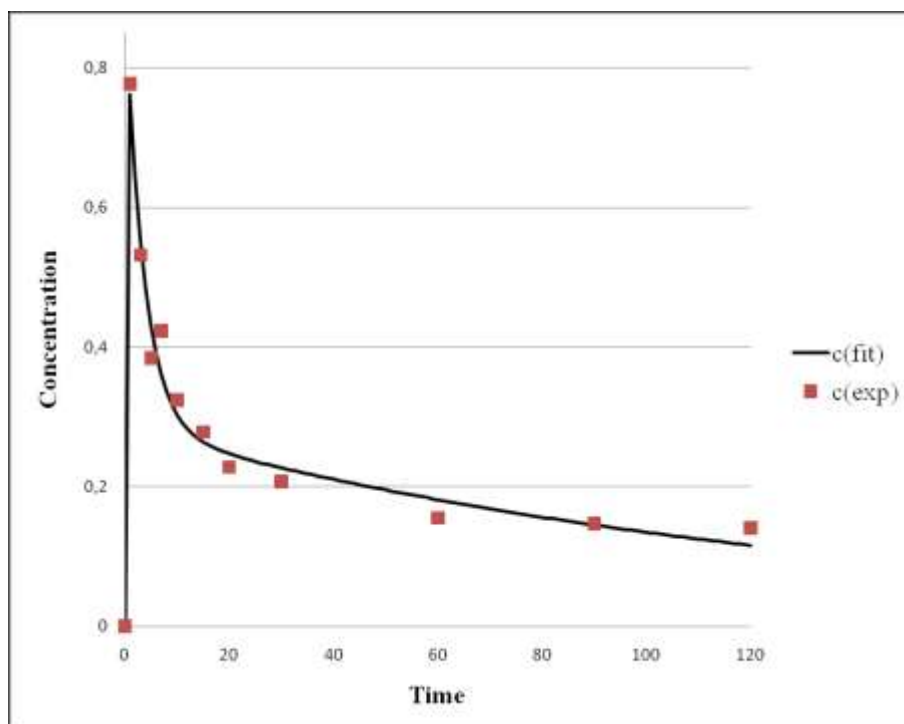


Abbildung 9: Darstellung der mithilfe des Programms SCIENTIST errechneten Regressionskurve und die experimentell gewonnenen Cisatracurium- Konzentrationen

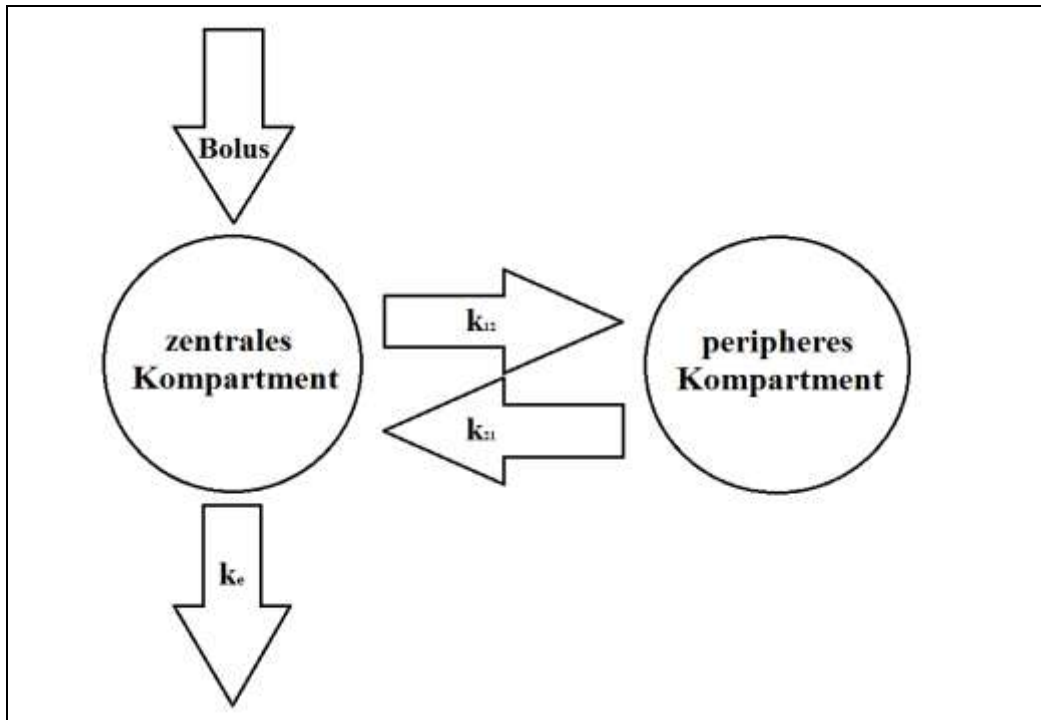


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Zwei- Kompartiment- Modells

**Weitere wichtige errechnete pharmakokinetische Parameter:**

$V_1$  = Volumen des zentralen Kompartments

$V_2$  = Volumen des peripheren Kompartments

$V_d$  = Verteilungsvolumen. Es wird aus der verabreichten Dosis und der gemessenen Plasmakonzentration errechnet. Es beschreibt die Verteilung eines Arzneimittels im zentralen Kompartiment. Obwohl das reale Plasmavolumen ca. 3L beträgt können aufgrund von intensiven Bindungen an Gewebestrukturen wie zum Beispiel Speicherung im Fettgewebe, Verteilungsvolumina von mehreren 100L berechnet werden. (21,60)

$V_{dss}$  = Für unsere Berechnungen ist vor allem das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht (steady state), das  $V_{dss}$ , wichtig. Dabei handelt es sich um die Summe von  $V_1$  und  $V_2$ . Vor allem die Polarität und das Molekulargewicht können die Größe von  $V_{dss}$  stark beeinflussen. Muskelrelaxantien sind hoch ionisierte Substanzen und dadurch nur schwach fettlöslich. (21)

Cl = Unter der Clearance eines Medikamentes versteht man jenes virtuelle Volumen der untersuchten Körperflüssigkeit, in diesem Fall Blutplasma, welches pro Zeiteinheit vom untersuchten Arzneistoff gereinigt wird. Es ist ein Maß der Ausscheidungsgeschwindigkeit und wird in Volumen/Zeit angegeben. (21,60)

$V_d/kg$  = das Verteilungsvolumen relativ zum Körpergewicht kann Hinweise auf die Verteilung eines Arzneistoffes im Körper geben. Je größer dieser Wert ist, desto stärker

verteilt sich das Arzneimittel. Übersteigt der Wert 1 L/kg muss eine zusätzliche Bindung bzw. Speicherung im Gewebe vorliegen. (60,21)

**AUC** = „Area under the Curve“; Mithilfe einer Integralfunktion kann die Fläche unterhalb der Konzentrations- Zeit- Wirkungskurve berechnet werden. Sie ist zur Gesamtmenge des verabreichten Arzneistoffes proportional. (55)

**MRT** = „mean residence time“; Die mittlere Verweildauer im Organismus ist eine der Halbwertszeit verwandte Größe. (55)

**Tabelle 2: Auflistung der für die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter verwendeten Formeln. Folgende Formeln wurden erfolgreich in einer Studie aus dem Jahre 2002 von Dahaba und Kollegen verwendet (61)**

Parameter	Formel
$V_1/\text{kg}$	$= \frac{V_1}{KG}$
$V_2$	$= \frac{k_{12}}{k_{21}} * V_1$
$V_2/\text{kg}$	$= \frac{V_2}{KG}$
$V_d$	$= \frac{D}{c_1}$
$Cl_{\text{central}}$	$= k_e * V_1$
$Cl_{\text{central}}/\text{kg}$	$= \frac{Cl_{\text{centr.}}}{KG}$
$V_{\text{dss}}$	$= V_1 + V_2$
$V_{\text{dss}}/\text{kg}$	$= \frac{V_{\text{dss}}}{KG}$
$Cl_{\text{peripher}}$	$= V_2 * k_{21}$
$Cl_{\text{peripher}}/\text{kg}$	$= \frac{Cl_{\text{peripher}}}{KG}$
$\alpha$	$= \frac{1}{2} * \left[ (k_{12} + k_{21} + k_e) + \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_e)^2 - 4 * k_{21} * k_e} \right]$
$\beta$	$= \frac{1}{2} * \left[ (k_{12} + k_{21} + k_e) - \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_e)^2 - 4 * k_{21} * k_e} \right]$
$A$	$= D * \frac{\alpha - k_{21}}{V_1 * (\alpha - \beta)}$
$B$	$= D * \frac{k_{21} - \beta}{V_1 * (\alpha - \beta)}$
$t_{1/2 \alpha}$	$= \frac{\ln 2}{\alpha}$
$t_{1/2 \beta}$	$= \frac{\ln 2}{\beta}$
$MRT$	$= t_{1/2 \beta} * 0,632$
$Cl$	$= Cl_{\text{central}} + \frac{Cl_{\text{peripher}}}{10}$
$Cl/\text{kg}$	$= \frac{Cl}{KG}$

*KG steht für Körpergewicht, D für Dosis der Bolusgabe*

## 2.5 Gewinnung der pharmakodynamischen Daten

Die neuromuskuläre Blockade wurde mittels eines Relaxometer Mechanomyographen (Anästhesiologisches Institut, Universität Groningen, Niederlande) gemessen.

Da sich für das neuromuskuläre Monitoring die Stimulation des Nervus ulnaris mit Erfassung der Reizantwort am Musculus adductor pollicis etabliert hat und der Muskel intraoperativ leicht zugänglich ist, wurde diese Methode verwendet. (62)

Nach erfolgter Narkoseeinleitung wurden die Hautstellen für die Oberflächenelektroden aufgeraut (Entfernung des Stratum corneum, da es einen hohen Hautwiderstand besitzt) und gereinigt (entfettet). Erst dann wurden die Elektroden aufgeklebt. Es wurde darauf geachtet, dass der Abstand der Zentren der Elektroden 3 bis 6 cm betrug, da es sonst zu Störungen kommen kann. Die negative Elektrode wurde distal angelegt, um dadurch die Erregungsantwort zu optimieren. (46)

Die Elektroden wurden 2 bzw. 5 cm proximal der Handgelenksfurche im Verlauf des Nervus ulnaris angebracht. Dabei orientierte man sich am Verlauf der Arteria ulnaris, da diese am Unterarm neben dem N. ulnaris verläuft. Im Gegensatz zu allen anderen Muskeln des Daumenballens, welche vom N. medianus versorgt werden, wird der Musculus adductor pollicis vom N. ulnaris innerviert. Eine supramaximale Stimulation des N. Ulnaris führte zu einer gut tastbaren Daumenadduktion, die apparativ durch einen am Daumen befestigten Akzelerographen erfasst wurde. (21,46)

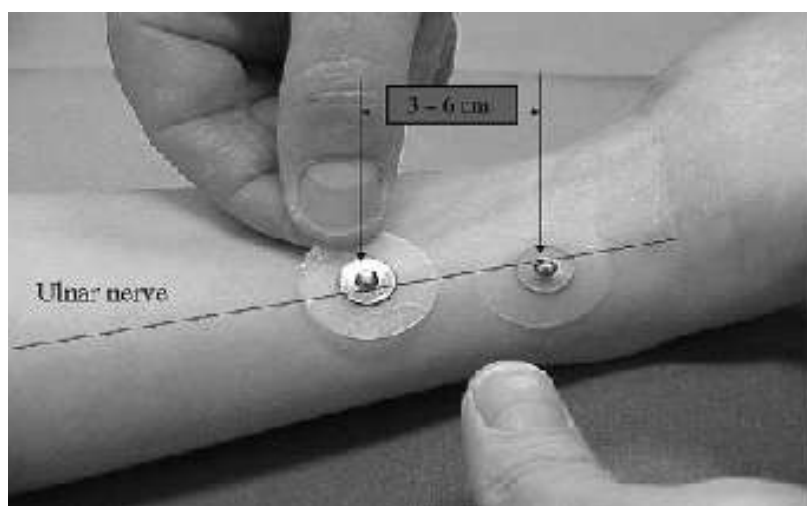


Abbildung 11: Stimulationselektroden in richtiger Position über dem N. ulnaris des linken Unterarms (46)

### 2.5.1 Supramaximale Stimulation

Die Reizantwort bei der Stimulation eines peripheren Nervs ist abhängig davon, wie viele Nervenfasern und folglich deren zugehörigen motorischen Einheiten stimuliert wurden. Je

stärker solch ein elektrischer Reiz ist, desto mehr Nervenfasern werden erfasst. Eine maximale Reizantwort erzielt man dann, wenn alle Nervenfasern des stimulierten Nervs erregt werden. Für die Relaxometrie während Operationen benötigt man eine supramaximale Stimulation. Dies bedeutet, dass der Reiz um 25% größer sein soll als jener, der für die maximale Reizantwort verantwortlich ist. Dabei erfolgt für jeden Patienten die Ermittlung der individuellen supramaximalen Reizstromstärke im bereits narkotisierten, jedoch nicht relaxierten Zustand, da die verwendeten Stromstärken schmerzhaft sind. Dabei wird die Reizstromstärke solange in jeweils 10 mA Schritten erhöht, bis die max. Reizstromstärke erreicht ist, welche für die supramaximale Erregung um weitere 25% erhöht wird. Die Verwendung von supramaximalen Reizstromstärken ist lediglich eine Sicherheitsreserve zur Vermeidung von verfälschten Messergebnissen, da es während der Operation zu einem Anstieg des Hautwiderstandes kommen kann und eine maximale Stimulation garantiert werden muss. (21)

Intraoperativ können mehrere Faktoren die elektrische Stimulation und deren Reizantwort beeinflussen. Beispielsweise kommt es durch verschiedene Anästhetika zu einer Änderung des Gefäßtonus und der Hauttemperatur und dadurch natürlich auch zu Änderungen des Hautwiderstandes. Auch durch Umlagerungen des Messarmes kann die Lage der Elektroden zum Nerv verändert werden. Die supramaximale Reizstromstärke beträgt in der Regel 60 bis 70 mA. (62)

### **2.5.2 Train-of-Four**

In den frühen 1970ern entwickelte eine Arbeitsgruppe aus Liverpool unter der Leitung von C. Gray eine Nerven-Stimulationsmethode mit vier kurz nacheinander folgenden Einzelreizen, Train-of-Four oder auch TOF genannt, welche deutlich einfacher anzuwenden war als die bis dahin verwendete Single-Twitch- Reizung. (63)

Bei der TOF Stimulation werden in einem Abstand von 0,5s 4 Einzelreize gesetzt. Die TOF Stimulation ermöglicht neben einer Beurteilung des Wirkungseintrittes und des intraoperativen Verlaufs einer Muskelblockade auch die Beurteilung der neuromuskulären Erholung nach Gabe eines Muskelrelaxans. (64)

Nicht relaxierte Patienten/innen reagieren auf die 4-fache Reizung mit 4 gleich starken Muskelkontraktionen. Durch Verabreichen eines NDMR kommt es bei den 4 Einzelreizen  $T_1$  bis  $T_4$  durch die rasch hintereinander folgende Reizung zu einer Entleerung der Acetylcholinspeicher und dadurch zu einer zunehmenden Ermüdung dieser Kontraktionsamplituden. (62,64)

Mithilfe dieser Ermüdungsreaktion, oder auch Fading genannt, kann die Tiefe einer Muskelblockade sehr gut beurteilt werden. Können beispielsweise im Gegensatz zu  $T_3$  und  $T_4$  bei  $T_1$  und  $T_2$  noch Reaktionen wahrgenommen werden, so ist die Tiefe der Relaxation für viele chirurgische Eingriffe bereits ausreichend. Weiters korreliert das Wiederauftreten der  $T_4$  Antwort auch sehr gut mit einer 25%igen Erholung der Muskelblockade, wodurch dem Anästhesisten das Ende der chirurgisch- nutzbaren Muskelrelaxation und damit der Zeitpunkt zur Nachrelaxierung bzw. bei Ende der Operation zur Antagonisierung angezeigt wird. (64)

Aus dem Verhältnis der 4. Reizantwort zur 1. Reizantwort kann die sogenannte TOF-Ratio errechnet werden, dabei wird die Kontraktionsamplitude des 4.Reizes mit der Kontraktionsamplitude des 1.Reizes verglichen.

$$\text{TOF- Ratio [\%]} = T_4 / T_1$$

Dieser Quotient ist um ein Vielfaches sensibler als die taktile Beurteilung der Reizantwort. (55,62)

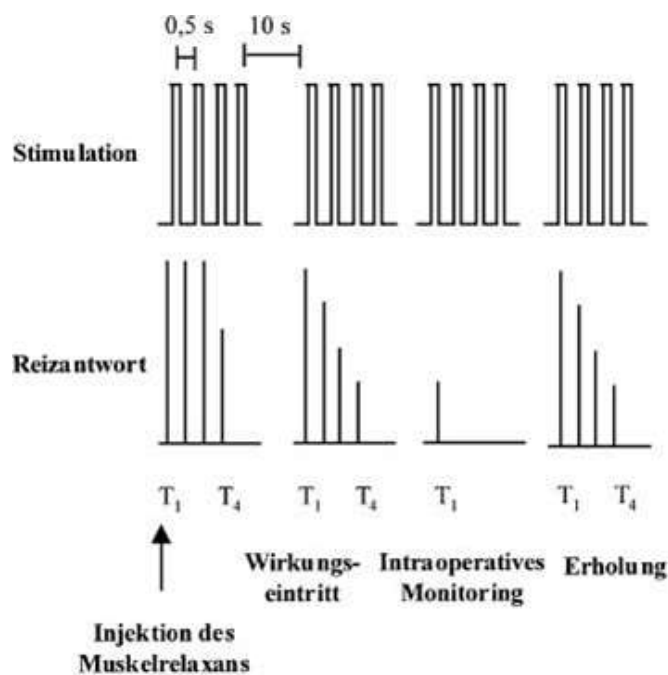


Abbildung 12: Train-of-Four (TOF)- Stimulation (62)

Nach Narkoseeinleitung und vor Gabe des Cisatracuriums wurde bei unseren Patienten der N. ulnaris durch den Relaxometer 200 ms lang mittels eines monophasischen Gleichstromimpulses mit Rechteckform supramaximal stimuliert. Als Stimulationsmuster wurde die Train-of-Four-Stimulation (=Vierfachreizung) verwendet, indem im Intervall von 12 Sekunden 2 Sekunden lang 4 Einzelreize mit einer Frequenz von 2 Hz appliziert

wurden. Die durch den Akzelerographen erfassten Reizantworten wurden aufgezeichnet. Mittels eines AZG- Relaxometer 5.0` Programms konnte die TOF- Ratio bestimmt werden.

### **2.5.3 Pharmakodynamische Parameter**

Zur Identifizierung geschlechtsspezifischer Unterschiede in der Pharmakodynamik, wurde bei den Probanden/innen intraoperativ die Zeit bis zur maximalen Muskelblockade, die sogenannte „Maximal Block Time“,  $t_{max}$  oder auch Anschlagzeit, gemessen und dokumentiert. Die Anschlagzeit repräsentiert jene Zeit, die von der Verabreichung des Cisatracurium-Bolus bis zur maximalen Wirkung benötigt wird. (65,66)

Einen bereits erwähnten wichtigen pharmakodynamischen Parameter stellt auch die Wirkortäquilibriumskonstante  $k_{e0}$  dar. Mit dieser Konstante lässt sich die Pharmakokinetik mit der Pharmakodynamik verbinden. Nach einer i.v. Bolusgabe eines Medikamentes kann man eine gewisse zeitliche Verzögerung des Wirkungseintrittes beobachten. Dies lässt sich dadurch erklären, dass das Medikament zuerst über den Blutweg zum Wirkort transportiert wird und dort eventuell Gewebe durchdringen und an Rezeptoren binden muss. So entsteht eine Diskrepanz zwischen dem Zeitverlauf der Plasmakonzentration und dem Zeitverlauf der Wirkung. Mathematisch lässt sich dieser zeitliche Unterschied zwischen zentralem Kompartiment und Effektkompartiment durch die Wirkortäquilibriumskonstante quantifizieren. Je größer  $k_{e0}$ , desto schneller gleicht sich die Wirkortkonzentration der Konzentration im zentralen Kompartiment (Serum) an. (67,68,32)

Weitere pharmakodynamische Parameter, die im Laufe dieser Diplomarbeit erwähnt werden sind die maximale Muskelblockade, die klinische Wirkdauer, die Gesamtwirkdauer und der Erholungsindex.

Die klinische Wirkdauer ist jener Zeit Intervall, der zwischen der intravenösen Bolusgabe und der Erholung der Muskelblockade auf 25% des zu Beginn gemessenen Referenzwertes liegt. Diese 25%ige Erholung der neuromuskulären Blockade ist bereits zu schwach um klinisch genutzt werden zu können. Im Gegensatz dazu versteht man unter der Gesamtwirkdauer jene Zeit, die von Beginn der intravenösen Gabe bis zu einer neuromuskulären Erholung auf 95%des Ausgangswertes benötigt wird.

Der Erholungsindex stellt jenen Zeitintervall zwischen der 25%igen und der 75%igen Erholung von der neuromuskulären Blockade dar. (44,65)

Im Rahmen unserer Studie wurde diese Konstante nicht bestimmt. Es wurden geschlechtsspezifische Unterschiede in der Anschlagzeit (Max. Block Time) untersucht und mithilfe des Pearson Tests versucht, mögliche signifikante Korrelationen zwischen den

errechneten pharmakokinetischen Parametern und der bestimmten Anschlagzeiten zu identifizieren.

## 2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der STATA statistical Software, Release 11 (STATA Coporation, College Station Texas).

STATA ist eine kommerzielle Statistik-Software, womit sowohl eine Verwaltung von großen Datenbeständen, als auch zu deren statistischen Analyse ermöglicht werden kann. Zusätzlich eignet sich dieses Programm auch für eine 2D- Datenvisualisierung. (69,70)

STATA verfügt über eine Vielzahl statistischer Modelle. Nachdem die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten mit dem SCIENTIST Programm durchgeführt wurde, konnte die restliche statistische Auswertung mit Hilfe des STATA Programmes erfolgen. (70)

Die Angabe der Daten erfolgt als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung. Die Berechnung der Mittelwerte und der Standardabweichungen wurde in Excel durchgeführt und erfolgte nach folgenden Formeln:

**Mittelwert:** 
$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (71)$$

**Standardabweichung:** 
$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (71)$$

Um einen Einfluss der Hämodilution auf die Pharmakokinetik und die Pharmakodynamik von Cisatracurium in den Geschlechtergruppen ausschließen zu können wurde mit STATA vorweg eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt.

Als statistisch signifikante Unterschiede wurde ein  $p < 0,05$  festgelegt.

Um signifikante Genderunterschiede in den gewonnenen Parametern zu identifizieren wurden in Excel der zweiseitige Student t-Test für zwei unverbundene Stichproben verwendet.

Der Student t-Test ist ein beliebter Lagetest, welcher sich zum Vergleich von Mittelwerten normalverteilter Grundgesamtheiten eignet. Da in dieser Studie der Vergleich zweier unabhängigen Patientengruppen erfolgte, wurde der t-Test für zwei unverbundene Stichproben verwendet. (71)

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2) \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Um die pharmakokinetischen und die pharmakodynamischen Parameter miteinander zu vergleichen wurde mittels Excel der Zusammenhang zwischen der Anschlagzeit und den pharmakokinetischen Parametern durch eine Regressionsgerade bestimmt. Dabei wurde versucht eine Gerade zu finden, welche die Punktwolke optimal repräsentiert indem die Abstandsquadrate der Beobachtungspunkte von der Geraden minimiert wurden. Um die Schätzungen durch die Regressionsgerade beurteilen zu können wurde das Bestimmtheitsmaß  $r^2$  berechnet. Dieses berücksichtigt die Abweichungen der beobachteten Werte von den durch die Gleichung der Regressionsgerade berechneten Werten und repräsentiert somit die Schätzgenauigkeit der bestimmten Regressionsgerade. Das Bestimmtheitsmaß (Korrelationskoeffizient) kann nur Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Beträgt das Bestimmtheitsmaß den Wert 1, liegen alle beobachteten Werte auf der Regressionsgeraden. (72,71)

Anschließend wurde in Excel der Pearson-Test eingesetzt, um zu überprüfen ob sich der Korrelationskoeffizient signifikant von 0 unterscheidet.

### 3 Ergebnisse – Resultate

Insgesamt nahmen an der Studie 40 Patienten/innen teil. Da bei dem gleichen Patientenkollektiv auch eine Studie bezüglich Hämodilution durchgeführt wurde, sind die Patienten in 2 Gruppen, eine Kontrollgruppe und eine Hämodilutionsgruppe, mit jeweils 20 Probanden/innen unterteilt worden. In jeder Gruppe befanden sich 10 Frauen und 10 Männer. Im Rahmen unserer Studie wurde das Patientenkollektiv nach dem Geschlecht in 2 Gruppen geteilt. Somit konnten wir von 20 Frauen und 20 Männern die Daten sammeln und auswerten. Um mögliche Einflüsse der Hämodilution auf unsere Ergebnisse ausschließen zu können, wurde zu Beginn eine Varianzanalyse durchgeführt, welche lediglich bei V1 und V1/kg einen signifikanten Unterschied ergab. Diesbezüglich wurden die Vergleiche dieser 2 Parameter lediglich innerhalb der Kontrollgruppe vorgenommen. Weiters musste ein Mann aus der Hämodilutionsgruppe aufgrund von Plasmakonzentrationen, die als einzige der 2 Gruppen nicht an das verwendete pharmakokinetische Modell angepasst werden konnten, aus der Studie ausgeschlossen werden.

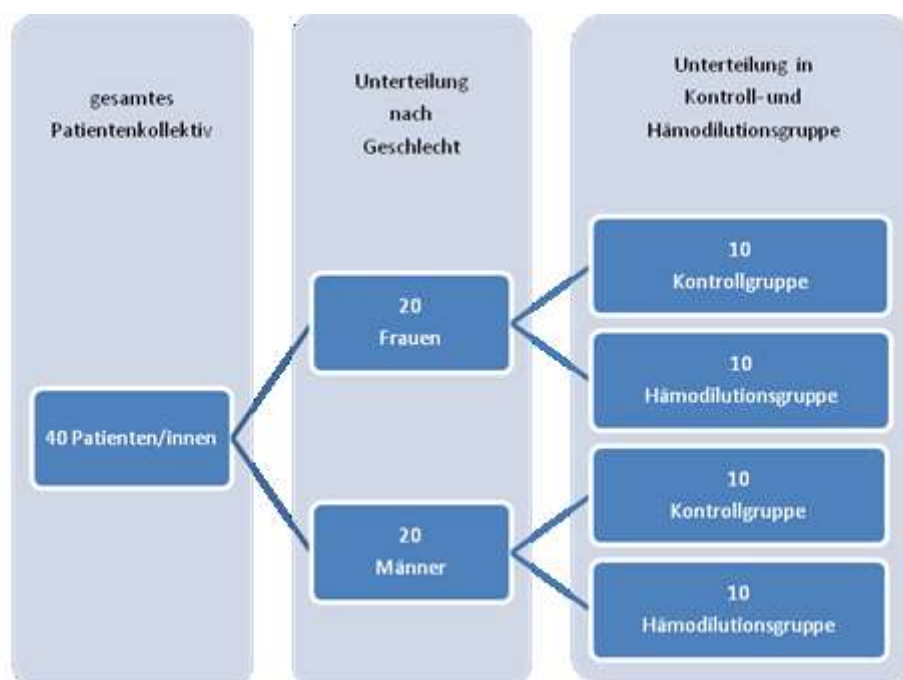


Abbildung 13: Flussdiagramm zur Darstellung der Zusammensetzung der Patientengruppen

In Tabelle 1 wurden bereits die demographischen Daten der teilnehmenden Patienten beschrieben. Die männlichen Probanden waren signifikant schwerer und größer. Da die Dosierung nach Körpergewicht berechnet wurde, erhielten die Männer eine signifikant größere Menge Cisatracurium. Außer in der Körpergröße und im Körpergewicht und

dadurch in der Dosierung zeigten sich ansonsten keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen. Da die Probanden sowohl schwerer als auch größer waren als die Probandinnen, fand sich folglich kein signifikanter Unterschied im BMI.

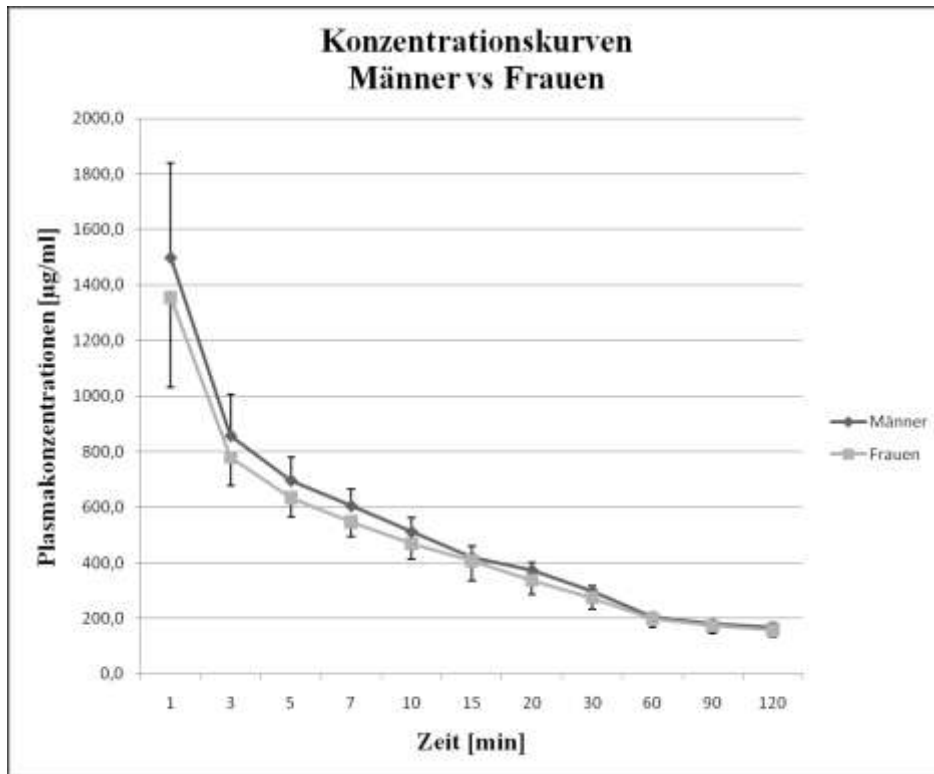
### 3.1 Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Pharmakokinetik

Bei den männlichen Probanden zeigten sich zu Beginn der Operation höhere Konzentrationen von Cisatracurium im Plasma als bei den weiblichen Studienteilnehmerinnen. Dieser Konzentrationsunterschied war 7 min nach der Cisatracurium- Bolusgabe klinisch signifikant. Die Plasmakonzentrationen der Männer glichen sich jedoch nach weiteren 8 min wieder jenen der Frauen an. Um eine Verfälschung der Ergebnisse durch die Hämodilution zu vermeiden, wurden zur Berechnung der t-Werte nur die Plasmakonzentrationen der Kontrollgruppe verwendet. In Tabelle 3 sind die Mittelwerte der Plasmakonzentrationen der Frauen und der Männer aufgelistet. In Abbildung 14 wird der Konzentrationsunterschied durch den Vergleich der Cisatracurium- Konzentrationskurven von Männer und Frauen grafisch veranschaulicht. Weiters zeigte sich, dass das Volumen des peripheren Kompartments,  $V_2$ , bei Männern signifikant größer war als bei den Frauen. Bei den Männern betrug es im Mittel  $11,49 \pm 2,48$  Liter und bei den Frauen  $9,76 \pm 2,74$  Liter. Die pharmakokinetischen Daten beider Gruppen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 3: Plasmakonzentrationen

Zeitpunkt der Blutabnahme	Plasmakonzentration in ng/mL		p-Werte
	Männer	Frauen	
1 min	1497,9±339,7	1354,7±324,2	0,3755
3 min	857,3±148,8	779,1±100,3	0,1851
5 min	696,5±83,2	634,5±69,1	0,0867
7 min	604,7±60,0	547,3±52,8	0,0355
10 min	511,5±50,9	468,4±54,3	0,0837
15 min	420,8±38,0	406,7±71,8	0,5900
20 min	374,1±26,4	337,6±52,2	0,0641
30 min	298,3±19,1	275,5±42,9	0,1422
60 min	206,6±14,0	199,8±32,0	0,5460
90 min	182,1±12,5	173,3±27,0	0,3620
120 min	167,9±17,5	159,7±24,5	0,4065

*Plasmakonzentrationen der männlichen und weiblichen Probanden der unverdünnten Kontrollgruppe. Angaben als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, p-Werte (t-Test) beziehen sich auf den Vergleich Männern vs. Frauen.*



**Abbildung 14: Verlauf der Plasmakonzentrationskurven der männlichen und weiblichen Probanden in der unverdünnten Kontrollgruppe (Angabe als Mittelwert mit Standardabweichung)**

Tabelle 4: Pharmakokinetische Daten

	Frauen (n=20)*	Männer (n=19)*	p- Wert
$k_e$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	0,04 ± 0,03	0,04 ± 0,02	0,6014
$k_{12}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	0,25 ± 0,19	0,24 ± 0,13	0,7895
$k_{21}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	0,11 ± 0,04	0,11 ± 0,04	0,7951
$V_1$ [L]	4,31 ± 1,95	5,35 ± 2,32	0,2908
$V_1/\text{kg}$ [ $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	61,3 ± 23,5	63,7 ± 23,4	0,8187
$V_2$ [L]	9,76 ± 2,74	11,49 ± 2,48	<b>0,0455</b>
$V_2/\text{kg}$ [ $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	143,0 ± 25,3	141,6 ± 31,7	0,8773
Cl central [ $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	0,16 ± 0,06	0,18 ± 0,03	0,2413
Cl central/kg [ $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	2,3 ± 0,8	2,2 ± 0,4	0,5514
$V_{\text{diss}}$ [L]	15,25 ± 4,42	17,40 ± 4,33	0,1351
$V_{\text{diss}}/\text{kg}$ [ $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	226,4 ± 59,7	213,6 ± 51,7	0,4800
Cl peripher [ $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	1,07 ± 0,48	1,21 ± 0,51	0,3671
Cl peripher/kg [ $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	15,4 ± 5,4	14,9 ± 5,9	0,7712
Dosis [mL]	20,3 ± 3,2	24,6 ± 3,3	<b>0,0002</b>
MRT [min]	55,42 ± 38,27	46,48 ± 18,38	0,3629
Cl [ $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	0,26 ± 0,10	0,30 ± 0,07	0,2463
Cl/kg [ $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	3,8 ± 1,2	3,7 ± 0,8	0,5980
AUC [ $\mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ ]	141,4 ± 23,9	147,9 ± 61,6	0,6658

*\*da sich zwischen der Kontroll- und der Hämodilutionsgruppe in der Varianzanalyse Unterschiede in  $V_1$  und  $V_1/\text{kg}$  ergaben, erfolgt der Vergleich dieser 2 Parameter nur innerhalb der Kontrollgruppe (N=20)  
Angaben als Mittelwert ± Standardabweichung, p-Werte (t-Test) beziehen sich auf den Vergleich Männern vs. Frauen.*

### 3.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Pharmakodynamik

In der Anschlagzeit (max. block time) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen. Frauen erreichten im Durchschnitt nach  $243,9 \pm 48,4$  Sekunden und Männer nach  $247,2 \pm 55,2$  Sekunden die maximale Muskelblockade.

Tabelle 5: Pharmakodynamische Daten

	Frauen (n=20)	Männer (n=19)	p-Wert
Anschlagzeit [s]	$243,9 \pm 48,4$	$247,2 \pm 55,2$	0,8455

Angaben als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, p-Werte (t-Test) beziehen sich auf den Vergleich Männern vs. Frauen.

Bei der Untersuchung möglicher Korrelationen zwischen der Anschlagzeit und den errechneten pharmakokinetischen Daten zeigte sich, dass auch hier ein signifikanter Zusammenhang mit dem Volumen des peripheren Kompartments,  $V_2$ , und der Dosierung vorliegt.

Sowohl bei  $V_2$ , als auch bei der Dosierung zeigt sich eine signifikante positive Korrelation mit der Anschlagzeit. Bei allen andern pharmakokinetischen Parametern war kein signifikanter Zusammenhang nachweisbar.

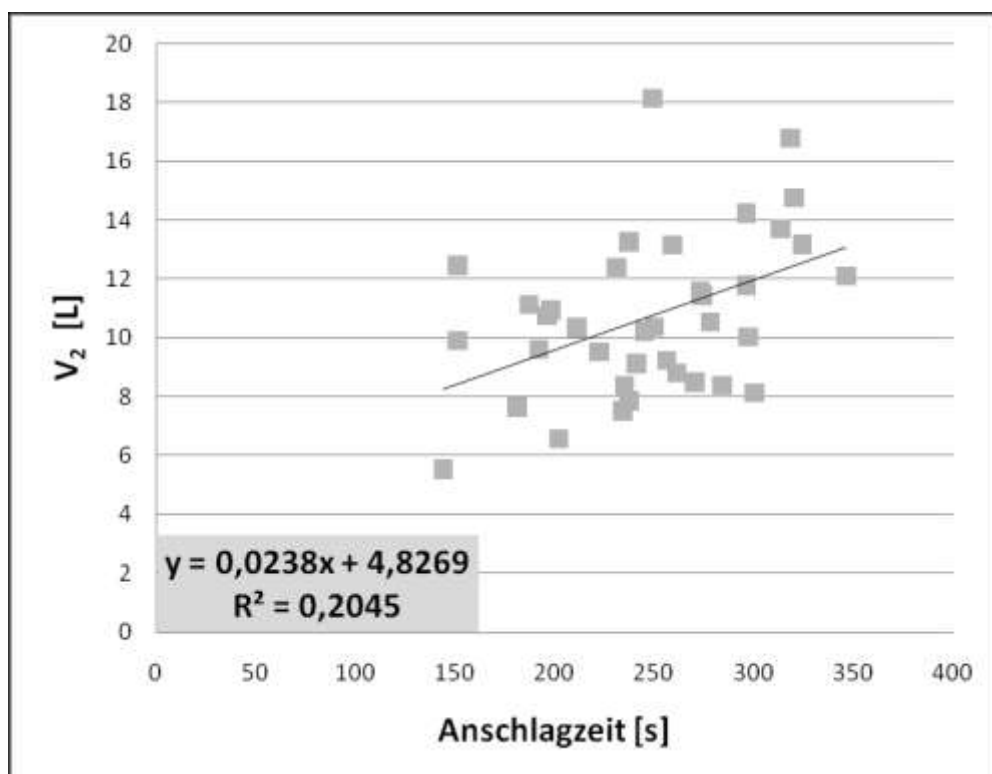


Abbildung 15: Korrelation zwischen Anschlagzeit und  $V_2$

Tabelle 6: p-Werte und Bestimmtheitsmaße (r) für die Korrelationen zw. der Anschlagzeit und den pharmakokinetischen Parametern

pharmakokinetische Parameter	p-Werte	r
$k_{01}$	0,7624	0,0332
$k_{21}$	0,6657	0,1118
$k_{12}$	0,9319	0,0200
$V_1^*$	0,2934	0,2472
$V_1/\text{kg}^*$	0,5441	0,1442
$V_2$	<b>0,0039</b>	<b>0,4522</b>
$V_2/\text{kg}$	0,0687	0,2926
$Cl_{\text{central}}$	0,4531	0,1414
$Cl_{\text{central}}/\text{kg}$	0,6566	0,0640
$\alpha$	0,9319	0,0002
$\beta$	0,9319	0,0316
<b>Dose</b>	<b>0,0463</b>	<b>0,3192</b>
<b>A</b>	0,6310	0,0742
<b>B</b>	0,5613	0,0990
$t_{\frac{1}{2}\alpha}$	0,4358	0,1237
$t_{\frac{1}{2}\beta}$	0,7057	0,0566
<b>MRT</b>	0,7057	0,0566
$V_{\text{dss}}$	0,0989	0,2663
<b>Cl</b>	0,1703	0,2343
<b>AUC</b>	0,7869	0,0374
$V_{\text{dss}}/\text{kg}$	0,4221	0,1281
<b>Cl/kg</b>	0,7719	0,0624

*\*Berechnung innerhalb der Kontrollgruppe (N=20)*

Um die Hintergründe dieser signifikanten Zusammenhänge besser beleuchten zu können, wurde überprüft, ob die demografischen Daten Einfluss auf  $V_2$  und die Anschlagzeit haben. In Tabelle 7 sind die errechneten p-Werte aufgelistet.

Tabelle 7: Korrelationen zwischen  $V_2$ , der Anschlagzeit und den demographischen Daten

p-Wert für	Körpergewicht	Körpergröße	Alter	BMI
$V_2$	0,00018	0,00743	0,78176	0,02097
Anschlagzeit	0,05558	0,85613	0,49628	0,02017

$V_2$  und die Anschlagzeit zeigen eine signifikante positive Korrelation mit dem BMI. Auch zwischen  $V_2$  und der Körpergröße bzw. dem Körpergewicht liegt ein signifikanter positiver Zusammenhang vor. Die Anschlagzeit zeigt eine schwach positive Korrelation mit dem Körpergewicht, jedoch ist diese mit einem  $p=0,0556$  statistisch gesehen nicht signifikant.

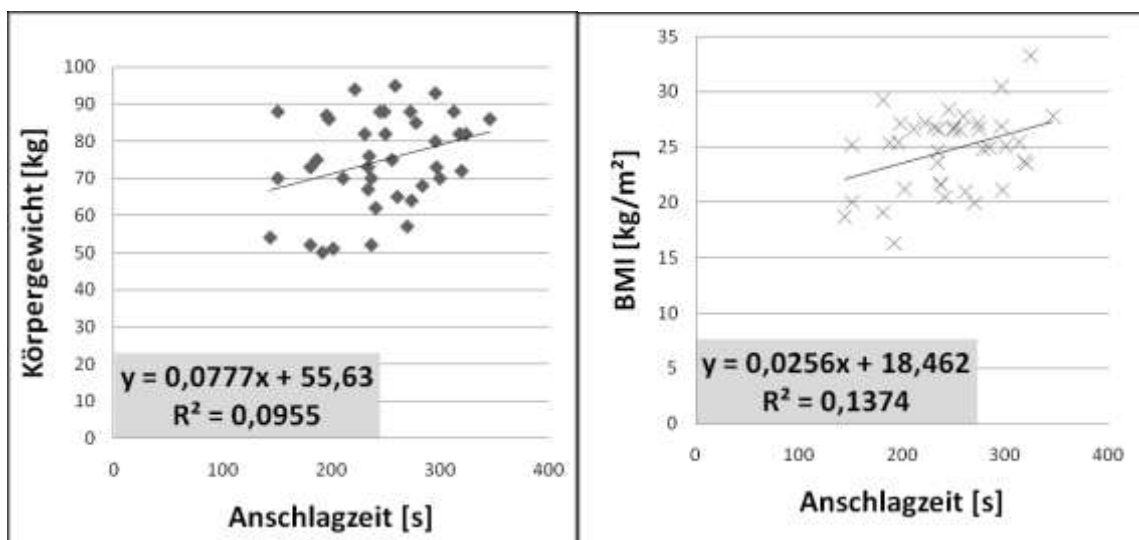


Abbildung 16: Korrelation zw. Anschlagzeit und Körpergewicht (links) und zw. Anschlagzeit und BMI (rechts)

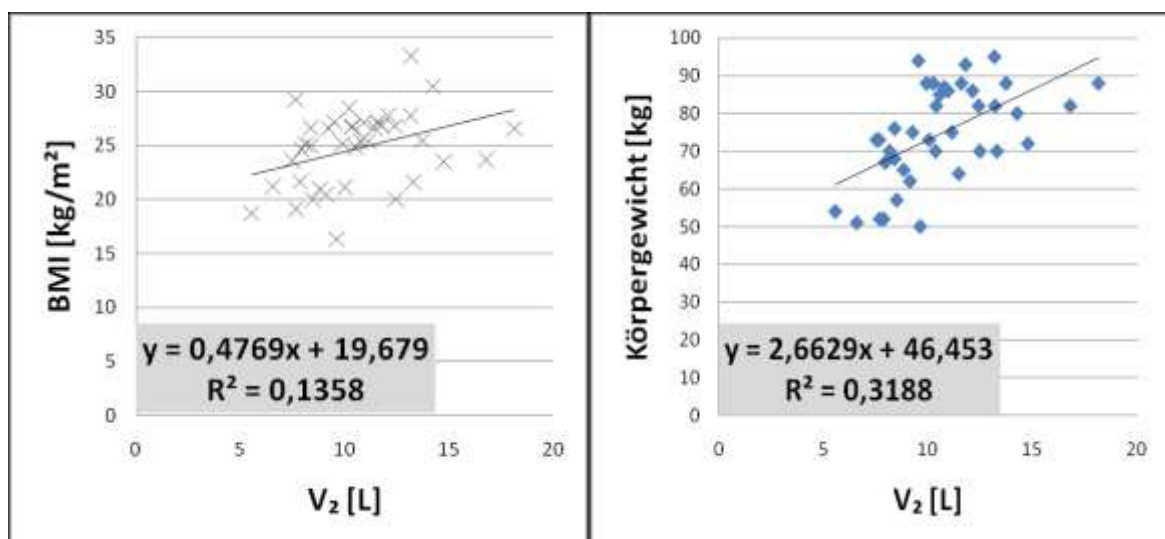


Abbildung 17: Korrelation zw.  $V_2$  und BMI (links) und zw.  $V_2$  und Körpergewicht (rechts)

## 4 Diskussion

Das Geschlecht kann sowohl auf die Pharmakokinetik, als auch auf die Pharmakodynamik von Arzneimitteln Einfluss nehmen. Da bisherige Studien über Gender- Unterschiede bei Cisatracurium ihr Augenmerk jeweils nur auf die Beeinflussung der Pharmakodynamik legten, wollten wir eventuell vorliegende geschlechtsspezifische Unterschiede sowohl in der Pharmakokinetik, als auch in der Pharmakodynamik und deren mögliche gegenseitige Beeinflussung untersuchen. Die, im Vergleich zu den eindeutigen Studienergebnissen bezüglich Geschlechterunterschiede bei aminosteroidalen Muskelrelaxantien, sehr widersprüchliche Studienlage bei Cisatracurium ist ein weiterer Grund, der uns zu diesen Untersuchungen veranlasst hat.

Bis auf kleine Unterschiede im Volumen des peripheren Kompartments,  $V_2$ , zwischen Männern und Frauen und dessen positive Korrelation mit der Anschlagzeit, zeigten sich keine relevanten geschlechtsspezifische Unterschiede und Zusammenhänge zwischen pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Parametern. Die Ergebnisse der Studie werden in den folgenden Punkten genauer hinterfragt und interpretiert.

### 4.1 Bewertung der Studienvoraussetzungen

In der Studie wurden Daten von 39 Probanden/innen ausgewertet. Möglicherweise war für die Identifizierung von kleinen Genderunterschieden im pharmakologischen Verhalten von Cisatracurium die Anzahl der Studienteilnehmer/innen zu gering. Jedoch konnte bei einer vergleichbaren pharmakodynamischen Studie über Cisatracurium trotz einer großen Anzahl von 400 Studienteilnehmer/innen, keine signifikanten Geschlechter-Unterschiede entdeckt werden. (44)

Es wurde auch darauf geachtet, dass das Patientenkollektiv repräsentativ für eine klinische Population ist. Jegliche Faktoren, welche die neuromuskuläre Transmission beeinflussen könnten, wurden streng kontrolliert.

Lediglich eine Person war für das Narkose- Management verantwortlich und das verwendete Equipment für das neuromuskuläre Monitoring war bei alle Patienten/innen identisch. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass die Technik standardisiert ist und die Ergebnisse vergleichbar sind.

Die Ausschlusskriterien wurden streng eingehalten und eine TIVA wurde den volatilen Agentien vorgezogen, um eine Beeinflussung der neuromuskulären Blockade durch Inhalationsanästhetika ausschließen zu können. (46,47)

Als Kritikpunkt bezüglich der Einschlusskriterien ist aber anzuführen, dass die Alters-Höchstgrenze von 60 Jahren eventuell zu hoch angesetzt ist, da sich die meisten Frauen dieses Alters bereits in der Menopause befinden und somit der hormonelle Status nicht mit dem einer Frau im gebärfähigem Alter vergleichbar ist und in weniger stark ausgeprägten Geschlechterunterschieden resultieren kann.

Bezüglich der Beeinflussung der neuromuskulären Blockade durch das Alter der Patienten/innen liegen unterschiedliche Untersuchungsergebnisse vor.

Eine Studie, welche den Einfluss des Alters auf den neuromuskulären Block durch Cisatracurium untersuchte, ergab, dass es bei Patienten, die >65 Jahre alt sind, zu einem verzögertem Wirkungseintritt kommt. (73)

Auch Xue und Kollegen konnten nachweisen, dass bei zunehmendem Alter der Probanden/innen und gleicher Dosierung wie bei den jungen Versuchspersonen eine Reduktion der effektiven Dosis und eine Verlängerung der klinischen Wirkdauer von Atracurium vorliegen. (33)

Andere Studien wiederum fanden keine signifikanten Veränderungen in der Pharmakodynamik von Cisatracurium bei älteren Probanden/innen, sondern lediglich eine geringfügige Verlängerung der Plasmahalbwertszeit und ein gering vergrößertes Verteilungsvolumen. (74,27)

Im Vergleich zu Cisatracurium, dessen Abbau, wie bereits in der Einleitung genauer beschrieben, hauptsächlich organunabhängig erfolgt, zeigten sich bei den aminosteroidalen Muskelrelaxantien wie Rocuronium und Vecuronium, deren Abbau sehr wohl organabhängig ist, zwischen jungen und älteren Probanden/innen größere Unterschiede in der neuromuskulären Blockade. Vor allem die klinische Wirkdauer war bei älteren Patienten/innen deutlich verlängert. (75,76,74)

Die Ergebnisse könnten darauf schließen lassen, dass die Beeinflussung des pharmakologischen Verhaltens durch das Alter vor allem auf eine, bei älteren Patienten/innen häufiger vorliegende, verminderte organische Clearance zurückzuführen ist.

Nicht nur durch das Alter, sondern auch durch das Vorhandensein von Adipositas kommt es zu kleinen Veränderungen im pharmakologischen Verhalten von Cisatracurium.

Laut einer Populationsstudie kommt es bei übergewichtigen Patienten/innen zu einer verminderten Clearance. Jedoch haben diese Unterschiede keine Auswirkung auf die Anschlagzeit bzw. auf den Erholungsindex und machen folglich keine Dosis-Anpassung erforderlich. (43)

Bei adipösen Frauen mit einem BMI>40 fand sich eine verlängerte Wirkdauer und eine erhöhte Inzidenz neuromuskulärer Restblockaden. (77,78)

Aufgrund dieser Ergebnisse wird empfohlen bei übergewichtigen Patienten/innen die Dosierung nicht anhand des tatsächlich vorliegenden Körpergewichts sondern nach dem idealen Körpergewicht zu berechnen. (78)

Die BMI- Werte unserer Probanden/innen lagen jedoch soweit im Normbereich, dass dieser mögliche Störfaktor ausgeschlossen werden konnte.

## **4.2 Interpretation des Studienergebnisses**

Hinsichtlich pharmakokinetischer Geschlechter-Unterschiede zeigte sich in dieser Studie, dass Männer über ein größeres peripheres Kompartiment verfügen als Frauen. Doch wie kommt es zu diesem Unterschied?

Wie bereits in der Einleitung erwähnt spielen hier vermutlich geschlechtsspezifische Unterschiede im Körperaufbau eine wichtige Rolle. Männer weisen einen geringeren Fettanteil und einen größeren peripheren Wassergehalt auf als Frauen. (32,34)

Da Cisatracurium ein hydrophiler Wirkstoff ist (17), liegt bei Männern folglich ein größeres peripheres Verteilungsvolumen vor und führt dazu, dass eine größere Menge an Cisatracurium benötigt wird um die gleiche Wirkortkonzentration zu erreichen wie bei Frauen. Dieser mögliche Zusammenhang spiegelt sich auch in der signifikanten positiven Korrelation zwischen  $V_2$  und der Anschlagzeit wieder.

Je größer das Volumen des peripheren Kompartiments,  $V_2$ , ist, desto mehr Zeit wird benötigt, bis die maximale Muskelblockade eintritt.

Die Unterschiede in der Anschlagzeit sind jedoch zu gering, bzw. die Streuung zu groß für eine statistische Signifikanz. Außerdem wird Cisatracurium entsprechend dem Körpergewicht und daher entsprechend  $V_2$  dosiert, wodurch ein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Wirkung maskiert werden könnte.

## **4.3 Vergleich mit anderen Studienergebnissen**

Da in den letzten Jahren das Interesse bezüglich geschlechtsspezifischer Unterschiede im pharmakologischen Verhalten von verschiedenen Arzneimitteln zugenommen hat, liegen einige vergleichbare Studien über Muskelrelaxantien vor. Vor allem Studien über die Beeinflussung aminosteroidaler Muskelrelaxantien durch geschlechtsspezifische Faktoren lieferten erstaunliche Ergebnisse. Bei Frauen konnte eine 20-30% höhere Sensitivität auf aminosteroidale Muskelrelaxantien nachgewiesen werden. (40,44)

Nach einer Rocuronium Bolus- Gabe zeigte sich bei Frauen neben einer signifikant kürzeren Anschlagzeit, und einer tieferen maximalen Muskelblockade auch eine längere klinische Wirkdauer. (79,40,44)

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch bei Vecuronium.

Xue und Kollegen untersuchten in einer pharmakokinetischen Studie bei 15 Frauen und 15 Männern im Verlauf der neuromuskulären Blockade den Abbau von Vecuronium und wiesen bei Frauen signifikant höhere Plasmaspiegel nach als bei Männern. Dieses Ergebnis führten die Autoren auf ein bei Frauen kleineres zentrales Kompartiment und ein geringeres Verteilungsvolumen im Gleichgewichtszustand zurück. (80)

In einer weiteren Studie von Xue und Kollegen zeigten sich auch Unterschiede in der Pharmakodynamik. Die Gesamtdauer der Muskelblockade, die klinische Dauer, sowie die Dauer der maximalen Blockade waren bei Frauen signifikant länger. Bei gleicher Dosierung von Vecuronium war die klinische Wirkdauer bei Frauen verglichen mit Männern um 30% länger. (34)

Auch in anderen Studien fanden sich vergleichbare Ergebnisse.

Semple und Kollegen wiesen nach, dass bei Frauen mit einer um 22% reduzierten Dosierung von Vecuronium die gleiche neuromuskuläre Blockade erreicht wird wie bei Männern. (41)

60 sec. nach der Vecuronium-Gabe liegen bei Frauen bessere Intubationsbedingungen vorliegen als bei Männern. (81)

Auch bei Pancuronium konnte ein Geschlechter- Unterschied nachgewiesen werden.

Nicht nur die Anschlagzeit, sondern auch die Zeit bis zu einer 90%igen neuromuskulären Blockade war bei Frauen signifikant kürzer als bei Männern. Als mögliche Ursache wurde ein geringeres Verteilungsvolumen bei Frauen angenommen. (32)

Im Vergleich zu den aminosteroidalen Muskelrelaxantien sind die bisherigen

Studienergebnisse Atracurium und Cisatracurium betreffend sehr widersprüchlich.

Einerseits wurde nachgewiesen, dass die klinische Wirkdauer von Atracurium bei Frauen länger und die effektive Dosis für eine 50%ige, 90%ige und 95%ige Muskelblockade geringer ist als bei Männern. (33)

In einer anderen Studie wiederum waren die effektiven Dosen bei Männern und Frauen identisch. Da jedoch die Anzahl der Probanden/innen sehr niedrig gehalten wurde (21 Frauen und 17 Männer) ist laut den Autoren das Risiko für ein falsch negatives Ergebnis sehr hoch. (39)

Adamus und Kollegen untersuchten, ob zwischen Männern und Frauen Unterschiede im Verlauf neuromuskulärer Blockaden durch Rocuronium und Cisatracurium vorliegen.

Während in der Rocuronium-Gruppe eindeutige signifikante Unterschiede in der Anschlagzeit und der klinischen Wirkdauer nachweisbar waren, waren in der Cisatracurium- Gruppe beide pharmakodynamischen Parameter identisch. (44)

Eine Populationsstudie, mit dem Ziel mögliche Einflussfaktoren bezüglich der Pharmakodynamik und Pharmakokinetik von Cisatracurium zu identifizieren, zeigte sich, dass der demografische Faktor Geschlecht geringe Unterschiede in der Clearance und der Wirkortäquilibriumskonstante  $k_{e0}$  verursacht. Ein Einfluss auf die Anschlagzeit und den Erholungsindex konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. (43)

Doch warum kommt es ausgerechnet nur bei aminosteroidalen Muskelrelaxantien zu solch ausgeprägten Geschlechterunterschieden?

Mögliche Ursachen können sowohl, wie bereits erwähnt, Unterschiede in den Verteilungsvolumina zw. Männern und Frauen, aber auch der, im Gegensatz zu den Benzylisochinolin vorliegende, hauptsächlich durch die Niere statt findende organabhängige Abbau sein.

Der organische Abbau von Medikamenten kann durch das Geschlecht beeinflusst werden. Beispielsweise wird die hepatische Metabolisierung sowohl durch das, bei Frauen vorliegende, geringere Herzminutenvolumen, welches zu einer geringeren hepatischen Clearance führt, als auch durch geschlechtsabhängige Unterschiede in der Enzymaktivität beeinflusst. (32)

Von großer klinischer Relevanz sind hierbei die geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Arzneimittel Metabolisierung durch das Cytochrom P450 Enzym System.

Beispielsweise ist vom Cytochrom P450 3A4 sowohl die Konzentration der mRNA als auch die Enzymkonzentration im Lebergewebe bei Frauen ca. doppelte so hoch wie bei Männern. (82)

Weiters können eine Schwangerschaft, der Menstruationszyklus, die Menopause oder die Einnahme von Kontrazeptiva das Cytochrom P-450 System beeinflussen. (32)

Als Beispiel kann Afentanil, ein synthetisches Opioid, angeführt werden, dessen Clearance bei postmenopausalen Patientinnen sinkt, sodass auch die Dosierung dem Alter entsprechend angepasst werden musste. (35)

Jedoch können auch gewisse Konjugationsprozesse, wie die Glukuronidierung, von manchen Wirkstoffen durch das Geschlecht beeinflusst werden. (32)

Die glomeruläre Filtrationsrate wird eher durch das Körpergewicht als durch das Geschlecht beeinflusst. Dadurch konnten noch keine eindeutigen geschlechtsspezifischen Unterschiede im Rahmen der renalen Ausscheidung von Medikamenten festgestellt werden. (32)

Da aminosteroidale Muskelrelaxantien ebenso hydrophil sind wie Benzylisochinoline, kann eine unterschiedliche Polarität als Ursache für die variierenden Geschlechtsunterschiede zwischen Benzylisochinoline und aminosteroidalen Muskelrelaxantien ausgeschlossen werden. (17)

#### **4.4 Konsequenzen der Studienergebnisse**

Ergebnisse von klinischer Relevanz wären vor allem Unterschiede in der Anschlagzeit, welche eine Empfehlung zur Anpassung des Zeitintervalls zwischen Verabreichung von Cisatracurium und Intubation zur Folge hätte, bzw. Unterschiede in der Erholungszeit oder ein gehäuftes Auftreten neuromuskulärer Restblockaden, welche eine entsprechende Dosisanpassung erforderlich machen würden. (43)

Da jedoch weder in der Pharmakokinetik noch in der Pharmakodynamik von Cisatracurium gravierende Geschlechterunterschiede festgestellt werden konnten, ist eine gewichtsspezifische Dosierung ausreichend.

Unterschiede im Erholungsindex bzw. im Auftreten von neuromuskulären Restblockaden konnten mit dieser Studie jedoch nicht ausgeschlossen werden. Dies könnte Gegenstand von zukünftigen Untersuchungen sein.

## **5 Literaturverzeichnis**

1. Bowman WC. Neuromuscular block. *British Journal of Pharmacology*. 2009 2;147(S1):S277-S286.
2. The Civilizing of Curare [Internet]. 1977 März 1 [zitiert 2011 Mai 19]; Available from: <http://han.meduni-graz.at/han/pubmed/www.anesthesia-analgesia.org/content/56/2/305.full.pdf+html?frame=header>
3. Raghavendra T. Neuromuscular blocking drugs: discovery and development. *JRSM*. 2002 7;95(7):363-367.
4. Bowman WC. *Pharmacology of neuromuscular function*. Wright; 1990.
5. Varney RF, Linegar CR, Holaday HA. THE ASSAY OF CURARE BY THE RABBIT "HEAD-DROP" METHOD. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*.

- 1949;97(1):72 -83.
6. Burns BD, Paton WDM. Depolarization of the motor end-plate by decamethonium and acetylcholine. *J Physiol.* 1951 Sep 28;115(1):41-73.
  7. Buckett WR, Hewett CL, Savage DS. Pancuronium bromide and other steroidal neuromuscular blocking agents containing acetylcholine fragments. *J. Med. Chem.* 1973 Okt;16(10):1116-1124.
  8. Kharkevich D. *New neuromuscular blocking agents: basic and applied aspects.* Springer-Verlag; 1986.
  9. Bowman WC, Rodger IW, Houston J, Marshall RJ, McIndewar I. Structure:action relationships among some desacetoxy analogues of pancuronium and vecuronium in the anesthetized cat. *Anesthesiology.* 1988 Juli;69(1):57-62.
  10. Thürmann PA. Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Pharmakokinetik und -dynamik von Arzneimitteln. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsf - Gesundheitsschutz.* 2005 5;48(5):536-540.
  11. Ciccone GK, Holdcroft A. Drugs and sex differences: a review of drugs relating to anaesthesia. *British Journal of Anaesthesia.* 1999 Feb 1;82(2):255 -265.
  12. Schmucker DL, Vesell ES. Underrepresentation of women in clinical drug trials. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1993 Juli;54(1):11-15.
  13. Lohff B. *Gender Medizin: Geschlechtsspezifische Aspekte Für Die Klinische Praxis.* Springer; 2008.
  14. Office of the Commissioner. Participating in Clinical Trials - Women's Participation in Clinical Trials and Gender-Related Labeling: [Internet]. [zitiert 2011 Juni 6]; Available from:  
<http://www.fda.gov/ForConsumers/ByAudience/ForPatientAdvocates/ParticipatinginClinicalTrials/ucm197788.htm>
  15. Anastos K, Charney P, Charon RA, Cohen E, Jones CY, Marte C, u. a. Hypertension in women: what is really known? The Women's Caucus, Working Group on Women's Health of the Society of General Internal Medicine. *Ann. Intern. Med.* 1991 Aug 15;115(4):287-293.
  16. Lüllmann H, Mohr K, Wehling M. *Pharmakologie und Toxikologie.* Georg Thieme Verlag; 2006.
  17. Aktories K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie und Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker.* Elsevier, Urban & Fischer; 2005.
  18. Herdegen T, Luippold GR, Böhm R. *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie.* Thieme; 2008.
  19. Savarese JJ, Lien CA, Belmont MR, Wastila WB. *Die klinische Pharmakologie neuer*

- Benzyloisochinolin-Diester-Verbindungen. *Der Anaesthesist*. 1997 10;46(10):840-849.
20. Welch RM, Brown A, Ravitch J, Dahl R. The in vitro degradation of cisatracurium, the R, cis-R'-isomer of atracurium, in human and rat plasma. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1995 Aug;58(2):132-142.
  21. Striebel HW. *Die Anästhesie*. Schattauer Verlag; 2003.
  22. Mellinghoff H, Diefenbach C. Die klinische Pharmakologie von Cisatracurium. *Der Anaesthesist*. 1997 6;46(6):481-485.
  23. Varin F, Ducharme J, Besner JG, Théorêt Y. Determination of atracurium and laudanosine in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1990;529:319-327.
  24. Kisor DF, Schmith VD, Wargin WA, Lien CA, Ornstein E, Cook DR. Importance of the organ-independent elimination of cisatracurium. *Anesthesia & Analgesia*. 1996 Nov 1;83(5):1065 -1071.
  25. Lien CA, Belmont MR, Abalos A, Eppich L, Quessy S, Abou-Donia MM, u. a. The cardiovascular effects and histamine-releasing properties of 51W89 in patients receiving nitrous oxide/opioid/barbiturate anesthesia. *Anesthesiology*. 1995 Mai;82(5):1131-1138.
  26. Belmont MR, Lien CA, Quessy S, Abou-Donia MM, Abalos A, Eppich L, u. a. The clinical neuromuscular pharmacology of 51W89 in patients receiving nitrous oxide/opioid/barbiturate anesthesia. *Anesthesiology*. 1995 Mai;82(5):1139-1145.
  27. Ornstein E, Lien CA, Matteo RS, Ostapkovich ND, Diaz J, Wolf KB. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of cisatracurium in geriatric surgical patients. *Anesthesiology*. 1996 März;84(3):520-525.
  28. Lien CA, Schmith VD, Belmont MR, Abalos A, Kisor DF, Savarese JJ. Pharmacokinetics of cisatracurium in patients receiving nitrous oxide/opioid/barbiturate anesthesia. *Anesthesiology*. 1996 Feb;84(2):300-308.
  29. Laxenaire MC. Drugs and other agents involved in anaphylactic shock occurring during anaesthesia. A French multicenter epidemiological inquiry. *Ann Fr Anesth Reanim*. 1993;12(2):91-96.
  30. Alkhazrajy W, Khorasane AD, Russell WJ. Muscle weakness after muscle relaxants: an audit of clinical practice. *Anaesth Intensive Care*. 2004 Apr;32(2):256-259.
  31. Murphy GS, Brull SJ. Residual Neuromuscular Block: Lessons Unlearned Part I: Definitions, Incidence, and Adverse Physiologic Effects of Residual Neuromuscular Block. *Anesthesia & Analgesia*. 2010 5;:1.
  32. Pleym H, Spigset O, Kharasch ED, Dale O. Gender differences in drug effects: implications for anesthesiologists. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2003 3;47(3):241-259.
  33. Xue FS, Zhang YM, Liao X, Liu JH, An G. Influences of age and gender on dose

- response and time course of effect of atracurium in anesthetized adult patients. *J Clin Anesth.* 1999 Aug;11(5):397-405.
34. Xue FS, Liao X, Liu JH, Tong SY, Zhang YM, Zhang RJ, u. a. Dose-response curve and time-course of effect of vecuronium in male and female patients. *Br J Anaesth.* 1998 Juni;80(6):720-724.
  35. Lemmens HJ, Burm AG, Hennis PJ, Gladines MP, Bovill JG. Influence of age on the pharmacokinetics of alfentanil. Gender dependence. *Clin Pharmacokinet.* 1990 Nov;19(5):416-422.
  36. Sarton E, Olofsen E, Romberg R, den Hartigh J, Kest B, Nieuwenhuijs D, u. a. Sex differences in morphine analgesia: an experimental study in healthy volunteers. *Anesthesiology.* 2000 Nov;93(5):1245-1254; discussion 6A.
  37. Zubieta JK, Dannals RF, Frost JJ. Gender and age influences on human brain mu-opioid receptor binding measured by PET. *Am J Psychiatry.* 1999 Juni;156(6):842-848.
  38. Spranger M, Aspey BS, Harrison MJ. Sex difference in antithrombotic effect of aspirin. *Stroke.* 1989 Jan;20(1):34-37.
  39. Parker CJR, Hunter JM, Snowdon SL. EFFECT OF AGE, GENDER AND ANAESTHETIC TECHNIQUE ON THE PHARMACODYNAMICS OF ATRACURIUM. *Br J Anaesth.* 1993;70(1):38-41.
  40. Mencke T, Solt#x000E9;ez S, Grundmann U, Bauer M, Schlaich N, Larsen R, u. a. Einfluss des Geschlechts auf den Verlauf der neuromuskul#x000E4;ren Blockade nach Rocuronium. *Der Anaesthesist.* 2000 7;49(7):609-612.
  41. SEMPLE P, HOPE DA, CLYBURN P, RODBERT A. Relative potency of vecuronium in male and female patients in Britain and Australia. *British Journal of Anaesthesia.* 1994 Feb 1;72(2):190 -194.
  42. Booij LH, Knape HT. The neuromuscular blocking effect of Org 9426. A new intermediately-acting steroidal non-depolarising muscle relaxant in man. *Anaesthesia.* 1991 Mai;46(5):341-343.
  43. Schmith VD, Fiedler-Kelly J, Phillips L, Grasela TH. Prospective use of population pharmacokinetics/pharmacodynamics in the development of cisatracurium. *Pharm. Res.* 1997 Jan;14(1):91-97.
  44. Adamus M, Gabrhelik T, Marek O. Influence of gender on the course of neuromuscular block following a single bolus dose of cisatracurium or rocuronium. *Eur J Anaesthesiol.* 2008 Juli;25(7):589-595.
  45. Viby-Mogensen J, Østergaard D, Donati F, Fisher D, Hunter J, Kampmann JP, u. a. Pharmacokinetic studies of neuromuscular blocking agents: Good Clinical Research Practice (GCRP). *Acta Anaesthesiologica Scandinavica.* 2000 11;44(10):1169-1190.
  46. Fuchs-Buder T, Claudius C, Skovgaard LT, Eriksson LI, Mirakhur RK, Viby-

- Mogensen J. Good clinical research practice in pharmacodynamic studies of neuromuscular blocking agents II: the Stockholm revision. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2007 Aug;51(7):789-808.
47. Tran TV, Fiset P, Varin F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium after a short infusion in patients under propofol anesthesia. *Anesth. Analg.* 1998 Nov;87(5):1158-1163.
  48. Dahaba AA, Suljevic I, Bornemann H, Wu XM, Metzler H. No regional difference in cisatracurium dose-response and time-course-of-action between patients in China and Bosnia. *British Journal of Anaesthesia.* 2010 12;106(3):331-335.
  49. The Contributions of A. W. Hofmann [Internet]. 2003 Feb 1 [zitiert 2011 Mai 13]; Available from: <http://han.meduni-graz.at/han/pubmed/www.anesthesia-analgesia.org/content/96/2/622.long>
  50. Farenc C, Audran M, Lefrant JY, Mazerm I, Bressolle F. High-performance liquid chromatographic method for the determination of atracurium and laudanosine in human plasma. Application to pharmacokinetics. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 1999 März 5;724(1):117-126.
  51. Schwedt G. *Chromatographische Trennmethode: Theoretische Grundlagen, Techniken und Analytische Anwendungen.* Wiley-VCH Verlag GmbH; 1994.
  52. Hallbach J. *Klinische Chemie für den Einstieg.* Georg Thieme Verlag; 2006.
  53. Kaltenböck K. *Chromatographie für Einsteiger.* Wiley-VCH; 2008.
  54. Wachter H, Hausen A, Reibnegger G. *Chemie für Mediziner.* Walter de Gruyter; 2002.
  55. Kretz F. *Anästhesie und Intensivmedizin.* Springer; 2006.
  56. Thiel H, Roewer N. *Anästhesiologische Pharmakotherapie: von den Grundlagen der Pharmakologie zur Medikamentenpraxis.* Georg Thieme Verlag; 2009.
  57. Schneemann H, Wurm G. *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Folgebd. 1. Waren und Dienste.* Springer; 1995.
  58. Methode der kleinsten Quadrate – Wikipedia [Internet]. [zitiert 2011 Aug 3]; Available from: [http://de.wikipedia.org/wiki/Methode\\_der\\_kleinsten\\_Quadrate](http://de.wikipedia.org/wiki/Methode_der_kleinsten_Quadrate)
  59. Regressionsanalyse – Wikipedia [Internet]. [zitiert 2011 Aug 3]; Available from: <http://de.wikipedia.org/wiki/Regressionsanalyse>
  60. *pkmodelle2010.pdf* [Internet]. [zitiert 2011 Juli 18]; Available from: <http://www.meduniwien.ac.at/user/rudolf.karch/ssm3/pkmodelle2010.pdf>
  61. Dahaba AA, Oettl K, Klobucar F, Reibnegger G, List WF. End-stage renal failure reduces central clearance and prolongs the elimination half life of remifentanyl. *Can J Anesth/J Can Anesth.* 2002 4;49(4):369-374.

62. Fuchs-Buder T, Mencke T. [Neuromuscular monitoring]. *Anaesthesist*. 2001 Feb;50(2):129-138.
63. Ali HH, Utting JE, Gray C. Stimulus frequency in the detection of neuromuscular block in humans. 1970. *British Journal of Anaesthesia*. 1998 Apr 1;80(4):530 -541.
64. Fuchs-Buder T. *Neuromuskuläres Monitoring in Klinik und Forschung*. Springer; 2008.
65. Larsen R. *Anästhesie*. Elsevier, Urban&Fischer Verlag; 2006.
66. Minto CF, Schnider TW, Gregg KM, Henthorn TK, Shafer SL. Using the time of maximum effect site concentration to combine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Anesthesiology*. 2003 Aug;99(2):324-333.
67. Bardenheuer HJ, Forst H, Rossaint R, Spahn DR. *Weiterbildung für den Anästhesisten 2004*. Springer; 2005.
68. Cortínez LI, Nazar C, Muñoz HR. Estimation of the plasma effect-site equilibration rate constant ( $ke_0$ ) of rocuronium by the time of maximum effect: a comparison with non-parametric and parametric approaches. *Br J Anaesth*. 2007 Nov;99(5):679-685.
69. statamanual.pdf [Internet]. [zitiert 2011 Juli 19]; Available from: <http://timfrey.files.wordpress.com/2008/09/statamanual.pdf>
70. Stata – Wikipedia [Internet]. [zitiert 2011 Juli 19]; Available from: <http://de.wikipedia.org/wiki/Stata>
71. Weia C. *Basiswissen Medizinische Statistik*. Springer; 2010.
72. Kessler W. *Multivariate Datenanalyse in der Bio- und Prozessanalytik*. Wiley-VCH; 2006.
73. Sorooshian SS, Stafford MA, Eastwood NB, Boyd AH, Hull CJ, Wright PM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium in young and elderly adult patients. *Anesthesiology*. 1996 Mai;84(5):1083-1091.
74. Arain SR, Kern S, Ficke DJ, Ebert TJ. Variability of duration of action of neuromuscular-blocking drugs in elderly patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2005 März;49(3):312-315.
75. Matteo RS, Ornstein E, Schwartz AE, Ostapkovich N, Stone JG. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Rocuronium (Org 9426) in Elderly Surgical Patients. *Anesthesia & Analgesia*. 1993 Dez;77(6):1193 -1197.
76. Lien CA, Matteo RS, Ornstein E, Schwartz AE, Diaz J. Distribution, elimination, and action of vecuronium in the elderly. *Anesth. Analg*. 1991 Juli;73(1):39-42.
77. Leykin Y, Pellis T, Lucca M, Lomangino G, Marzano B, Gullo A. The effects of cisatracurium on morbidly obese women. *Anesth. Analg*. 2004 Okt;99(4):1090-1094,

table of contents.

78. Meyhoff CS, Lund J, Jenstrup MT, Claudius C, Sørensen AM, Viby-Mogensen J, u. a. Should Dosing of Rocuronium in Obese Patients Be Based on Ideal or Corrected Body Weight? *Anesthesia & Analgesia*. 2009 9;109(3):787-792.
79. Xue FS, Tong SY, Liao X, Liu JH, An G, Luo LK. Dose-response and time course of effect of rocuronium in male and female anesthetized patients. *Anesth. Analg.* 1997 Sep;85(3):667-671.
80. The pharmacokinetics of vecuronium in male and female patients. [Internet]. 1998 Juni 1 [zitiert 2011 Apr 22]; Available from: <http://han.meduni-graz.at/han/pubmed/www.anesthesia-analgesia.org/content/86/6/1322.full.pdf+html?frame=header>
81. Houghton IT, Aun CS, Oh TE. Vecuronium: an anthropometric comparison. *Anaesthesia*. 1992 Sep;47(9):741-746.
82. Wolbold R, Klein K, Burk O, Nüssler AK, Neuhaus P, Eichelbaum M, u. a. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology*. 2003 Okt;38(4):978-988.