

## Diazepam induziert eine biphasische Hemmung der kortikalen Netzwerkaktivität in C57BL/6 Mäusen

B. Drexler · S. Zinser · H. Hentschke · B. Antkowiak

Sektion Experimentelle Anaesthesiologie, Abteilung für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

### Korrespondenz:

berthold.drexler@uni-tuebingen.de

### Fragestellung

Benzodiazepine zeichnen sich durch eine große therapeutische Breite aus. Sie werden in der Anästhesie zur Anxiolyse, Sedierung und Narkoseeinleitung verwendet. Benzodiazepine modulieren GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren, wodurch die Erregbarkeit zentralnervöser Neurone vermindert wird. In der vorliegenden Studie wird die Hypothese getestet, dass den klinisch bedeutsamen Wirkungen von Diazepam verschiedene molekulare Wirkmechanismen zugrunde liegen.

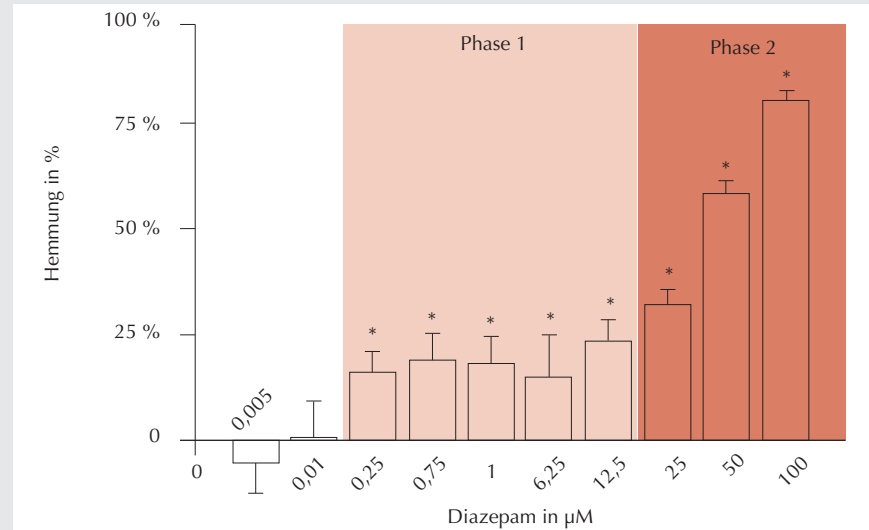
### Methodik

Die Organentnahme wurde dem zuständigen Regierungspräsidium angezeigt. Gewebeschnitte aus dem Neokortex von Mäusen (postnataler Tag 2-4) wurden kultiviert. Das nach zwei Wochen weitgehend ausgereifte neuronale Netzwerk zeigte spontane elektrische Aktivität, welche mittels extrazellulärer Elektroden registriert wurde. Die Rate an Aktionspotenzialen diente als Maß für den Erregungszustand des neuronalen Netzwerkes. Zunächst wurden die Effekte von Diazepam über einen weiten Konzentrationsbereich ermittelt. Im Folgenden wurde die Frage untersucht, inwiefern der Benzodiazepin-Antagonist Flumazenil die Wirkung von Diazepam zu unterdrücken vermag. Die Wirkung von Diazepam wurde als Hemmung bezogen auf die Grundaktivität in Prozent erfasst. Als statistisches Maß wurde der t-test verwendet.

### Ergebnisse

Die Konzentrations-Wirkungs-Beziehung von Diazepam zeigte einen biphasischen Verlauf. Über einen weiten Bereich von 250 nM bis 12,5 µM dämpfte Diazepam die kortikale Aktivität um ungefähr 20 % ( $n \geq 12$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50}$   $19,6 \pm 8,4$  nM, Phase 1). Bei höheren Konzentrationen erfolgte eine weitere, konzentrationsabhängige Hemmung der neuro-

Abbildung 1



Biphasische Hemmung der kortikalen Netzwerkaktivität durch Diazepam. In Phase 1 erfolgt über einen weiten Konzentrationsbereich nur eine geringe Hemmung von ca. 20 % (\*  $p < 0,05$ ). Erst darüber hinaus zeigt sich eine ausgeprägte, konzentrationsabhängige Hemmung (Phase 2), wie sie für intravenöse und volatile Anästhetika in diesem Modellsystem typisch ist [2].

nen Aktivität ( $n \geq 17$ , Phase 2). Die Wirkung einer niedrigen Konzentration (250 nM) Diazepam war in Gegenwart von Flumazenil (250 nM,  $n = 24$ ) aufgehoben, wohingegen die Wirkung einer hohen Konzentration Diazepam (25 µM) von Flumazenil (25 µM,  $n = 16$ ) nicht beeinflusst wurde.

### Interpretation

Kortikale GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren sind maßgebliche Zielstrukturen für die sedierende und hypnotische Wirkung von Benzodiazepinen [1]. In Konzentrationen, welche Bewusstlosigkeit induzieren, unterdrücken intravenöse und volatile Anästhetika die Aktivität kortikaler Neurone [2]. In der vorliegenden Untersuchung wurde eine entsprechende Wirkung von Diazepam im mikromolaren Konzentrationsbereich beobachtet. Hiervon unterscheiden lässt sich eine nanomolare Wirkkomponente, die durch eine moderate Hemmung der neuronalen Aktivität gekennzeichnet ist und in diesem Konzentrationsbereich keine Dosisabhängigkeit zeigt. Diese nanomolare, nicht aber die mikromolare Wirkkomponente wird durch Flumazenil antagonisiert. Diese Befunde implizieren die Existenz von zwei

unterschiedlichen molekularen Wirkorten von Diazepam am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor. Diese Schlussfolgerung wird durch Untersuchungen an exprimierten GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren gestützt [3]. Beide Bindungsstellen sind möglicherweise von klinischer Bedeutung. Während die nanomolare Wirkkomponente wahrscheinlich für die anxiolytischen und sedierenden Eigenschaften von Benzodiazepinen ursächlich ist, könnte die mikromolare Komponente den anästhesierelevanten Wirkungen von Benzodiazepinen wie Hypnose und Dämpfung motorischer Reflexe zugrunde liegen.

### Literatur

1. Zeller A, Crestani F, Camenisch I, Iwasato T, Itohara S, Fritschy JM, Rudolph U. Cortical glutamatergic neurons mediate the motor sedative action of diazepam. *Molec Pharmacol* 2008;73:282-291.
2. Antkowiak B. Different actions of general anaesthetics on the firing patterns of neocortical neurons mediated by the GABA(A) receptor. *Anesthesiology* 1999;91:500-511.
3. Walters RJ, Hadley SH, Morris KD, Amin J: Benzodiazepines act on GABA(A) receptors via two distinct and separable mechanisms. *Nat Neurosci* 2000;3:1274-1281.