

Körpereigene Schmerzabwehr: Neue Konzepte aus der funktionellen Neuroanatomie, Neurophysiologie, Neurobiologie und Chaosforschung*

J. Sandkühler

II. Physiologisches Institut der Universität Heidelberg

Zusammenfassung. Die moderne Schmerztherapie nutzt die neuronalen Mechanismen der körpereigenen Schmerzabwehr. Neue Ergebnisse aus der Grundlagenforschung haben zu neuartigen Konzepten über die funktionelle Neuroanatomie, Neurophysiologie und Neurobiologie der endogenen Antinozizeption geführt. Wir konnten zeigen, daß nicht die direkte elektrische oder chemische Erregung, sondern daß die Disinhibition durch Blockade GABAerger Rezeptoren im periaquaeductalen Grau des Mittelhirns zu einer *maximalen* Aktivierung der endogenen Antinozizeption führt – ein möglicher Mechanismus der Opioidanalgesie. Dabei erzeugten ‚rein analgetisch‘ wirkende Stimulationsstellen ein charakteristisches Aktivitätsmuster innerhalb des periaquaeductalen Graus und anderen Teilen des Hirnstammes, wie mit der Expression von c-FOS als zellulären Marker aktivierter Neurone gezeigt werden konnte. Neben den beiden klassischen Systemen der körpereigenen Schmerzabwehr durch segmentale und supraspinale, absteigende Neurone existiert offensichtlich ein drittes antinozizeptives Prinzip, das auf hemmenden, intersegmentalen, propriospinalen Neuronen beruht. Die propriospinalen antinozizeptiven Neurone vermitteln einen Teil der absteigenden Hemmung und können durch konditionierende, heterosegmentale, noxische Reize aktiviert werden, spielen also vermutlich bei der Analgesie durch Gegenirritationsverfahren eine Rolle. Zusätzlich zu der schnellen synaptischen Übertragung durch die klassischen Neurotransmitter spielt bei massiven Schmerzreizen auch die extrasynaptische Verteilung von Neuromediatoren, insbesondere von Neuropeptiden, in der Extrazellulärflüssigkeit des Rückenmarks eine wichtige Rolle für Langzeitveränderungen der Nozizeption. Durch die kontrollierte Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche läßt sich eine ähnliche Verteilung von Neuropeptiden im Rückenmark erreichen, wie nach endogener Freisetzung. So konnten wir zeigen, daß Neuropeptide wie die Substanz P zu einer Zunahme der Erregbarkeit nozizeptiver Rückenmarkneurone führen und darüber hinaus die Expression von „immediate-early-genes“ in Neuronen des Rückenmarks *in vivo* induzie-

ren. Solche Veränderungen der Genablesung könnten an chronischen Schmerzsyndromen nach peripheren Traumata beteiligt sein und haben zum Konzept der ‚preemptiven‘ Analgetikagabe geführt. Bislang konnte keine sichere Wirkung der bekannten körpereigenen, antinozizeptiven Systeme auf die Peptidfreisetzung im Rückenmark gezeigt werden. Alle genannten Konzepte der körpereigenen Antinozizeption basieren auf Änderungen in den Entladungsraten nozizeptiver Neurone. Die Hintergrundaktivität nozizeptiver Neurone wurde bislang als stochastisches Hintergrund‚rauschen‘ angesehen. Wir konnten jedoch mit Methoden zur Analyse nichtlinearer Dynamik in Punktprozessen und mit Konzepten aus der Chaosforschung zeigen, daß der Hintergrundentladung der meisten Neurone ein eindeutig deterministischer Prozeß mit wenigen Freiheitsgraden zugrundeliegt. Die hohe Ordnung im Entladungsmuster dieser Neurone wird, zumindest teilweise, durch tonisch aktive, vom Hirnstamm absteigende Bahnen aufrechterhalten. Der spinale Schock, der nach akuten Spinalisationen bei mehreren Spezies zu beobachten ist, könnte also durch den Verlust dieser ordnenden Einflüsse des Gehirns auf das Entladungsverhalten von Rückenmarkneuronen mitverursacht werden. Durch die Anwendung moderner Methoden der funktionellen Neuroanatomie, Neurophysiologie und Neurobiologie läßt sich also die Übertragbarkeit der Ergebnisse der Grundlagenforschung auf klinisch relevante Fragestellungen zum Thema Schmerz weiter verbessern.

Schlüsselwörter: Endogene Antinozizeption – Spinale Neuropeptide – Propriospinale Neurone – Chaos – Genexpression

**Endogenous analgesic mechanism:
new concepts from functional neuroanatomy, neurophysiology, neurobiology and chaos research**

Abstract. Modern concepts of pain therapy involve neuronal mechanisms of endogenous analgesia. Recent animal experiments have provided new insights into the anatomy, physiology and neurobiology of endogenous

* Herrn Professor Dr. M. Zimmermann zum 60. Geburtstag gewidmet.

antinociception. We have shown that antinociception can be maximally activated by disinhibition – and not by direct electrical or chemical excitation – in the mid-brain periaqueductal grey matter. This disinhibition is a likely mechanism of opioid analgesia. ‘Purely analgesic’ stimulation produces a very distinct pattern of activated neurons within the periaqueductal grey matter and other areas of the brain stem, as revealed by the expression of the nuclear c-FOS protein as a cellular marker of activated neurons. In addition to the classic segmental and supraspinal, descending inhibition, a third principle of endogenous antinociception exists: the propriospinal, intersegmental inhibition of nociceptive spinal dorsal horn neurons. Propriospinal antinociception partly mediates the descending inhibition from the brain stem and can be activated by conditioning heterosegmental noxious stimuli, thus possibly contributing to analgesia by counterirritation. In addition to the fast synaptic transmission mediated by classic neurotransmitters, the extrasynaptic transmission of chemical signals such as neuropeptides may play an important role for long-term effects following intense noxious stimulation. The controlled superfusion of the dorsal cord with neuropeptides produces a similar distribution in the spinal cord to that of endogenously released neuropeptide. We have shown that extrasynaptic neuropeptides such as substance P may increase the excitability of nociceptive spinal dorsal horn neurons and may induce the expression of ‘immediate-early genes’ in dorsal horn neurons in vivo. Changes in gene expression following extrasynaptic spread of neuropeptides in the spinal cord may be involved in chronic pain syndromes after massive peripheral trauma. This hypothesis has led to the concept of pre-emptive analgesia. The available evidence suggests that the known systems of endogenous antinociception do not affect the endogenous release of neuropeptides in the spinal cord. All previous concepts of endogenous antinociception are based on changes in discharge rates of nociceptive neurons. Background activity in the absence of noxious stimulation was considered to be purely stochastic ‘noise’. By the use of modern tools for the analysis of nonlinear dynamics in point processes we have, however, shown that background activity of most nociceptive spinal dorsal horn neurons is highly deterministic with a low degree of freedom. The high order in the discharges of these neurons is maintained, at least in part, by tonically active descending systems. Thus, the spinal shock syndrome seen in some species after acute spinalisation may result from the loss of order in spinal neuronal discharges normally provided by the brain. The use of modern methods in studies of the functional neuroanatomy, neurophysiology and neurobiology of endogenous antinociception may help in the achievement of better application of results from basic sciences to clinically relevant pain problems.

Key words: Endogenous analgesia – Spinal neuropeptides – Propriospinal neurons – Chaos – Immediate-early genes

Mechanismen der körpereigenen Schmerzabwehr

Die Mechanismen der körpereigenen Schmerzabwehr sind seit den frühen Arbeiten von Melzack und Wall [34] und Reynolds [40] auf ständig wachsendes Interesse sowohl bei Schmerzforschern, als auch bei Schmerztherapeuten gestoßen. In der Therapie werden Mechanismen der körpereigenen Schmerzabwehr heute erfolgreich genutzt, u.a. bei der transkutanen elektrischen Nervenstimulation und anderen Gegenirritationsverfahren, bei der Akupunktur, bei psychologischen Formen der Schmerzbehandlung, bei Hypnose und Suggestion, aber auch bei der klassischen Opioidanalgesie, deren Wirksamkeit ganz wesentlich auf der Aktivierung der körpereigenen Schmerzabwehr beruht. Man unterscheidet bisher zwei Formen der körpereigenen Schmerzabwehr, die beide durch eine Hemmung nozizeptiver Neurone im Hinterhorn des Rückenmarks zustande kommen:

1. Eine segmentale Hemmung nozizeptiver Neurone und
2. eine supraspinale, absteigende Hemmung im Rückenmark.

Generell wird die antinozizeptive Wirkung bisher ausschließlich auf eine verminderte Erregbarkeit nozizeptiver Neurone und die dadurch bedingte Abnahme nozizeptiver Entladungsraten zurückgeführt (siehe Übersichtsarbeiten von Besson und Chaouch [7] und Gebhart [19]). In der vorliegenden Übersicht werden wir neue Konzepte vorstellen, die zeigen, daß die Informationsübertragung im nozizeptiven System ganz wesentlich durch subtile Veränderungen von Entladungsmustern moduliert werden kann. Dabei spielen nichtlineare Dynamik und chaotisches Verhalten im Entladungsmuster, Rhythmizität und Kohärenz der Entladungen nozizeptiver Neurone wichtige Rollen.

Bei der Pathogenese von Schmerzzuständen kann offenbar die nichtsynaptische Signalübermittlung im Rückenmark beteiligt sein. Wir stellen hier daher neuere Arbeiten vor, die einen Einfluß extrasynaptisch übertragener Substanzen auf das Entladungsverhalten nozizeptiver Rückenmarkneurone belegen. Zunächst werden wir neue Aspekte der funktionellen Anatomie und der Neuropharmakologie der körpereigenen Schmerzabwehr aufzeigen.

Disinhibition, aber nicht die direkte elektrische oder chemische Erregung von Hirnstammneuronen ist die wirksamste Form, die körpereigene Schmerzabwehr zu aktivieren

Um jene Regionen im Hirnstamm zu identifizieren, von denen antinozizeptive Neurone ihren Ursprung nehmen, wurden in früheren Arbeiten Stimulationselektroden oder Injektionskanülen stereotaktisch in den Hirnstamm implantiert, um durch elektrische Reizung oder durch erregende Substanzen wie z.B. die erregende Aminosäure Glutamat antinozizeptive Systeme zu aktivieren. Aufgrund dieser Untersuchungen wurden dem periaqua-

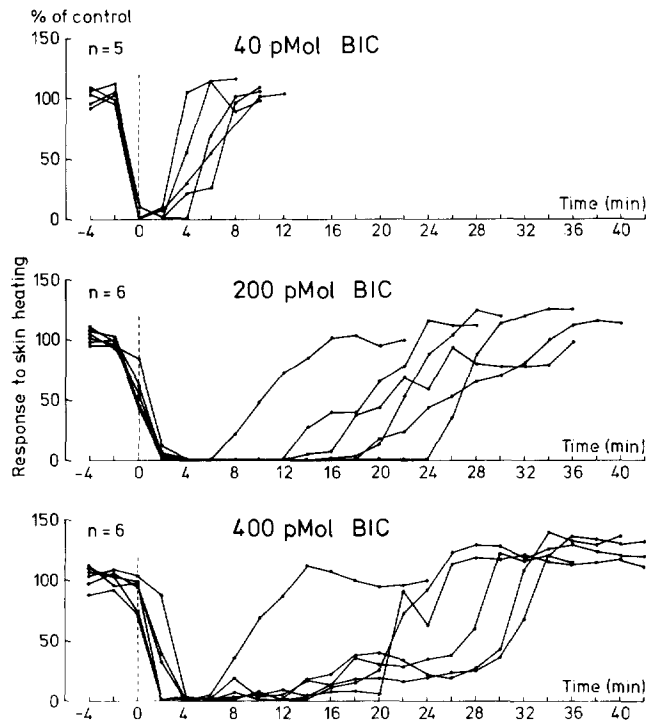


Abb. 1. Disinhibition im periaquaeduktalen Grau durch Blockade von GABA_A-Rezeptoren führt zur vollständigen Unterdrückung nozizeptiver Information im Rückenmark. Gezeigt ist der Zeitverlauf der Hitzeantworten von multirezeptiven Hinterhornneuronen auf noxische Reizung der Haut (50 °C, 10 s) an der Hinterpfote vor und bis zu 40 min nach der Injektion von 40, 200 oder 400 pMol Bicucullin (BIC) in das PAG. Jede Kurve entspricht der Hitzeantwort eines Neurons, angegeben in % der Kontrollwerte vor den Injektionen. Aus [51] mit Genehmigung

duktalen Grau (PAG) im Mittelhirn und dem Nucleus raphe magnus (NRM) in der Medulla oblongata zentrale Rollen bei der körpereigenen Schmerzabwehr zugeschrieben, denn Stimulationen in diesen Hirnarealen führten zur Hemmung nozizeptiver Entladungswerten im Rückenmark und zur Unterdrückung nozizeptiven Verhaltens [4]. Wir konnten zeigen, daß weder elektrische Stimulation noch die Mikroinjektion von Glutamat in Areale des PAGs regelmäßig zu einer *maximalen* Aktivierung der absteigenden Hemmung führen [51]. Vielmehr führten Mikroinjektionen von geringsten Mengen (40–400 pmol) des GABA_A-Rezeptorantagonisten Bicucullin zu einer kompletten Unterdrückung nozizeptiver Entladungswerten im Hinterhorn des Rückenmarks (Abb. 1). Offenbar unterliegen also antinozizeptive Neurone im PAG einer starken tonischen GABAergen Hemmung (s. Abb. 3). Dies könnte auch erklären, warum Opiode, die nicht unmittelbar Neurone im PAG erregen können, dennoch die absteigende Hemmung aktivieren [20] – ebenfalls durch Disinhibition antinozizeptiver Neurone. Eine solche Disinhibition durch Opiode konnte im Hippokampus bereits gezeigt werden [57]. Die geringere Wirksamkeit direkter elektrischer oder chemischer Stimulation läßt sich auf die Miterregung hemmender Interneurone und/oder auf einen Depolarisationsblock der antinozizeptiven Neurone zurückführen.

Eine Optimierung der Wirksamkeit und Spezifität zentral angreifender Analgetika könnte demnach durch eine gezieltere Disinhibition antinozizeptiver Neurone im PAG erreicht werden. Wegen der ubiquitären Verbreitung GABAergen Synapsen im ZNS kommt eine allgemeine Blockade von GABA-Rezeptoren dafür allerdings nicht in Betracht.

Antinozizeptive Stimulation im PAG führt zu charakteristischen Aktivierungsmustern im Hirnstamm und Rückenmark

Bisher wurde allgemein angenommen, daß antinozizeptive Stimulation im PAG zur Erregung von Neuronen führt, die direkt am Ort der Stimulation das PAG verlassen und nach synaptischer Umschaltung im NRM über lange absteigende Bahnen im Funiculus dorsolateralis der weißen Substanz des Rückenmarks eine absteigende Hemmung nozizeptiver Neurone im Rückenmark bewirken [4]. Neuere Arbeiten belegen, daß diese klassische Betrachtungsweise ergänzt und korrigiert werden muß.

Um zu untersuchen, welche Hirnstammareale bei antinozizeptiver Stimulation im PAG tatsächlich aktiviert werden, haben wir die Expression des c-FOS-Proteins als zellulären Marker aktivierter Neurone [12] immunhistochemisch untersucht. Die antinozizeptive Stimulation erfolgte durch Bicucullinmikroinjektionen. Bei diesen Versuchen stellte sich heraus, daß Stimulation in den einzelnen Arealen des PAGs nicht nur Neurone an der Injektionsstelle, sondern z.T. entlang der gesamten rostro-kaudalen Ausdehnung des PAGs aktivieren konnte [41, 49]. Das resultierende Muster der c-FOS Immunreaktivität war dabei für die verschiedenen Stimulationsstellen im PAG charakteristisch [41, 49].

Stimulation im dorsolateralen Quadranten des rostralen PAGs führte z.B. zu einer strikt ipsilateralen Erregung in diesem Quadranten im rostralen PAG, und zu einer massiven Rekrutierung von Neuronen in allen ipsilateralen Arealen des kaudalen PAGs (Abb. 2). Dagegen führten Injektionen in den ventrolateralen Quadranten des PAGs zu umschriebenen Erregungen in diesem Quadranten und der angrenzenden Formatio reticularis des Mittelhirns, nicht jedoch zu wesentlichen Erregungen im dorsalen PAG (Abb. 2). Offenbar bestehen also erregende Verbindungen zwischen einzelnen Arealen des PAGs, die bei Stimulation zu charakteristischen Erregungsmustern führen (Abb. 3). Fokale Stimulation kann daher u.U. Efferenzen entlang der gesamten rostro-kaudalen Ausdehnung des PAGs rekrutieren und neben antinozizeptiven auch zahlreiche andere Wirkungen auslösen. Dies wurde bei Stimulation im dorsalen PAG auch beobachtet, so kommt es zu Vokalisationen [30], Fluchtverhalten [3], Kreislaufreaktionen [9] und beim Menschen zu Mißempfindungen. Stimulationen im ventralen PAG sind dagegen häufig von keinen erkennbaren Nebenwirkungen begleitet und wurden von einigen Autoren daher als „rein analgetische“ Stimulationen bezeichnet [17]. Diese unterschiedlichen Effekte dorsaler und ventraler PAG-Stimulationen werden nun verständ-

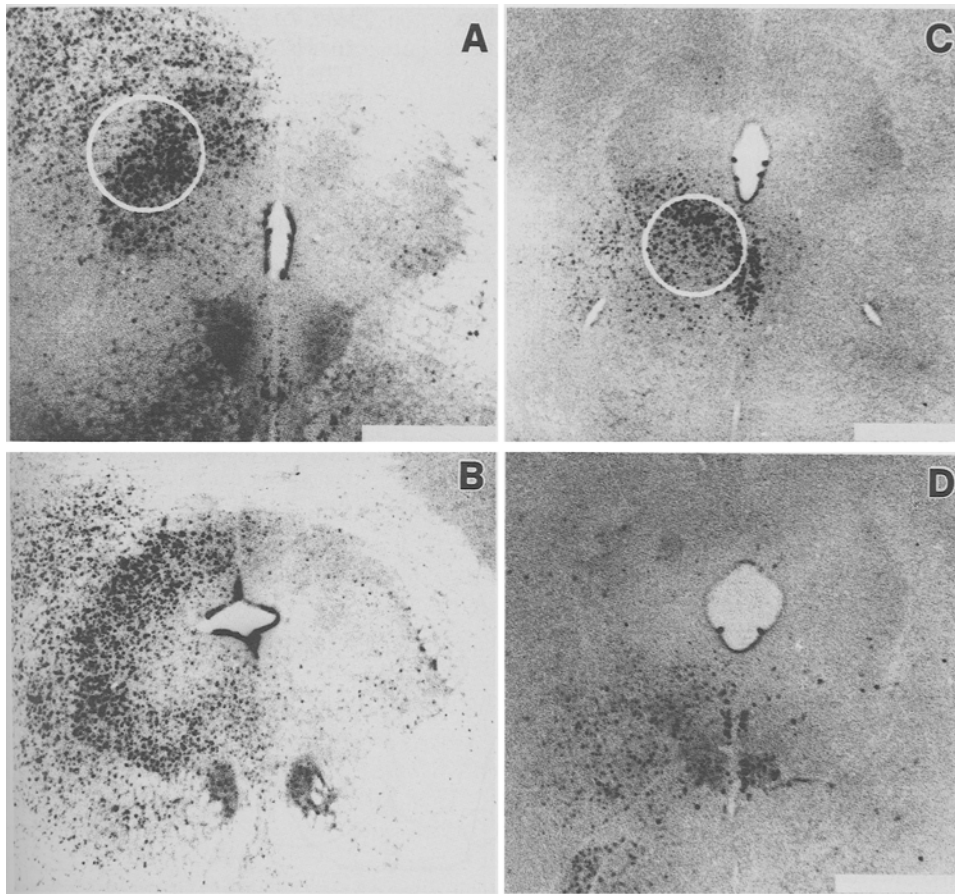


Abb. 2 A–D. Aktivitätsmuster im rostralen (A, C) und kaudalen (B, D) PAG nach Mikroinjektion von Bicucullin in den dorsolateralen Quadranten (Kreis in A) oder den ventrolateralen Quadranten (Kreis in C). Der immunhistochemische Nachweis des c-FOS Proteins wurde hier als zellulärer Marker aktivierter Neurone eingesetzt. Nach dorsolateraler Injektion kommt es zu massiver Rekrutierung von Neuronen in der gesamten Hälfte des ipsilateralen kaudalen PAGs (B), wogegen ventrolaterale Injektionen nur wenige Neurone außerhalb der Injektionsstelle rekrutieren (D)

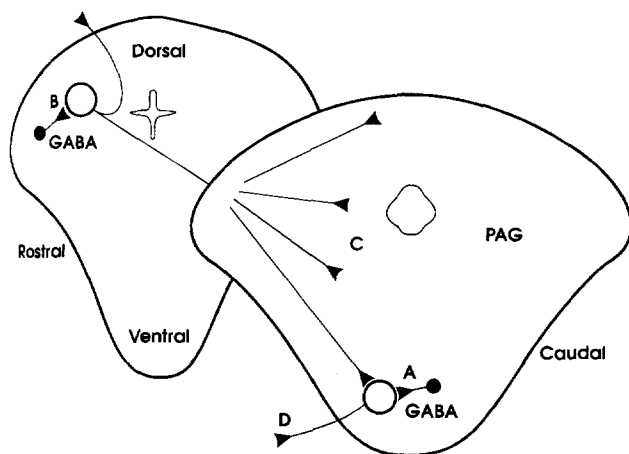


Abb.3. Einige Aspekte der intrinsischen Organisation des PAGs. Antinozizeptive Efferenzen (A) und lokale, erregende Zwischenneurone (B) unterliegen einer tonischen Hemmung, die durch GABA_A-Rezeptoren vermittelt wird. Die Disinhibition durch Mikroinjektion von GABA_A-Rezeptorantagonisten, z.B. Bicucullin, stellt die zur Zeit wirksamste Methode dar, die absteigende Hemmung vom PAGs zu aktivieren. Stimulation in den verschiedenen Unterabschnitten des PAG führt zur Rekrutierung intrinsischer Verbindungen und zu charakteristischen Aktivitätsmustern im PAG. Stimulation im dorsolateralen Quadranten des rostralen PAGs (B) führt z.B. zur Aktivierung von Neuronen in der gesamten ipsilateralen Hälfte des kaudalen PAGs (C), während ventrolaterale Stimulationen (A) vorwiegend Neurone in diesem Quadranten und der benachbarten Formatio reticularis aktivieren (D). Diese Befunde stellen ein funktionell-morphologisches Korrelat für die unterschiedlichen Wirkungen dorsaler und ventraler Stimulation im PAG dar

lich, da dorsale, nicht jedoch ventrale Stimulationen zur Aktivierung zahlreicher Areale im PAG führen. Es ist durchaus denkbar, daß keine direkten antinozizeptiven Efferenzen im dorsalen PAG vorkommen, sondern daß die antinozizeptive Wirkung durch intrinsische Verbindungen zum ventrolateralen Quadranten des kaudalen PAGs zustandekommen. Ebenso unterschiedlich wie die Erregungsmuster innerhalb des PAGs war auch das Aktivitätsmuster in anderen Hirnstammarealen [41]. Zahlreiche Hirnstammgebiete, die an vegetativen Funktionen beteiligt sind, wie z.B. der Nucleus tractus solitarii oder der Nucleus locus coeruleus waren bei dorsaler PAG-Stimulation aktiviert, während ventralen Stimulationen diese Areale meist nicht aktivieren konnten. Eine optimale therapeutische Nutzung der körpereigenen Schmerzabwehr kann erreicht werden, wenn es gelingt, selektiv solche Areale im PAG zu aktivieren, die stark antinozizeptive Wirkung hervorrufen und wenige oder keine erregende Verbindungen innerhalb des PAGs und außerhalb des PAGs insbesondere zu vegetativen Kerngebieten aufweisen.

Propriospinale, antinozizeptive Neurone stellen ein 3. Prinzip der körpereigenen Schmerzabwehr dar

Antinozizeptive Stimulation im Hirnstamm führt nicht nur zu einer charakteristischen Aktivierung von Kernge-

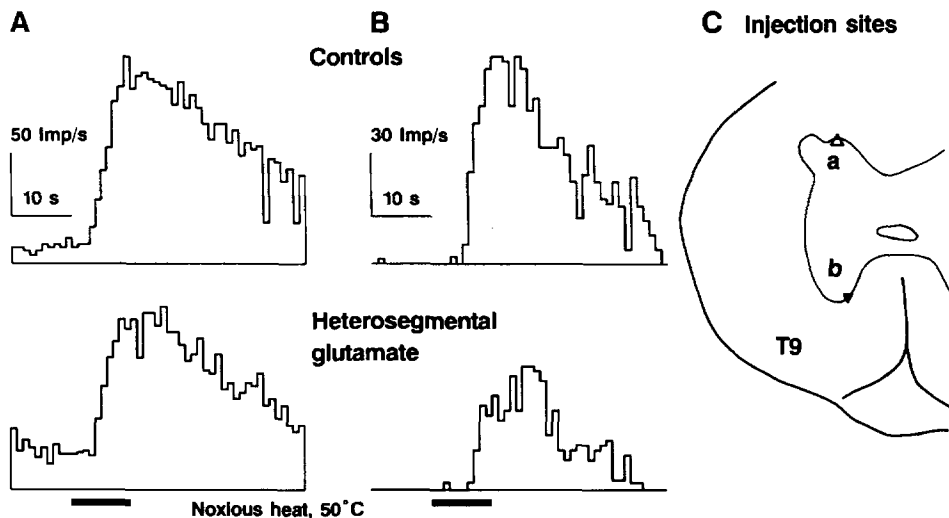


Abb. 4 A–C. Die Erregung propriospinaler, heterosegmentaler Neurone führt zu selektiven Veränderungen der Hintergrundaktivität oder der nozizeptiven Entladungswerten im Hinterhorn des unteren Lumbalmarks. Gezeigt sind Peristimulus-Zeit-Histogramme von 2 multirezeptiven Hinterhornneuronen vor (obere Reihe, Kontrolle) und 2–4 min nach der Mikroinjektion von L-Glutamat in Laminae I/II des ipsilateralen Hinterhorns (a) oder Lamina VIII des Vorderhorns (b) im unteren Thorakalmark. Die Injektion bei (Ca) führte zur Zunahme der Hintergrundaktivität (A), die Injektion bei (Cb) zur Hemmung der Hitzeantwort (B). Aus [50] mit Genehmigung

bieten innerhalb des Hirnstammes, sondern auch zur *Erregung* von Neuronen in der grauen Substanz des Rückenmarks, wie wir elektrophysiologisch und anhand der Expression des c-FOS Proteins nachweisen konnten [42]. Die *aktivierten* Neurone könnten die absteigende *Hemmung* nozizeptiver Neurone im Hinterhorn vermitteln. Um diese Hypothese zu prüfen haben wir zunächst in hoch spinalisierten Katzen systematisch nach den Ursprungsarealen antinozizeptiver Neurone in der grauen Substanz des Rückenmarks gesucht, indem wir nozizeptive Entladungswerten im Hinterhorn des unteren Lumbalmarks abgeleitet haben, und kleine Mengen Glutamat (in 50 nl) in die Laminae verschiedener Rückenmarksegmente rostral oder kaudal der Ableitstellen injizierten [50]. Wir konnten so zahlreiche Stellen identifizieren, von denen antinozizeptive Neurone ihren Ursprung nehmen (Abb. 4 zeigt eine Beispiel), dies ist insbesondere in den Laminae I, II und VIII des unteren Thorakal-, des oberen Lumbal- und des Sakralmarks der Fall und zwar sowohl ipsi- als auch kontralateral zur Ableitstelle im Hinterhorn des unteren Lumbalmarks.

Die heterosegmentale, propriospinale Antinozizeption kann nicht nur durch direkte chemische Erregung, sondern auch durch konditionierende heterosegmentale noxische Hautreize aktiviert werden. So lassen sich nozizeptive Entladungswerten lumbaler Hinterhornneurone durch konditionierende Schmerzreize an einer der Vorderpfoten deutlich hemmen, auch wenn das Rückenmark hoch durchtrennt wurde [21, 50]. Dies unterscheidet die propriospinale Antinozizeption von der länger bekannten „diffuse noxious inhibitory control“, die nur bei intaktem Rückenmark wirksam ist und auf der Aktivierung der absteigenden Hemmung beruht [8, 32].

Wir konnten zeigen, daß propriospinale antinozizeptive Neurone darüber hinaus einen Teil der absteigenden Hemmung vom Hirnstamm vermitteln [47]. Durch Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche mit dem Neurotoxin Kaininsäure in geeigneter Konzentration (4 mM) können wir bei Ratten die synaptische Übertragung in den superfundierten Rückenmarksegmenten

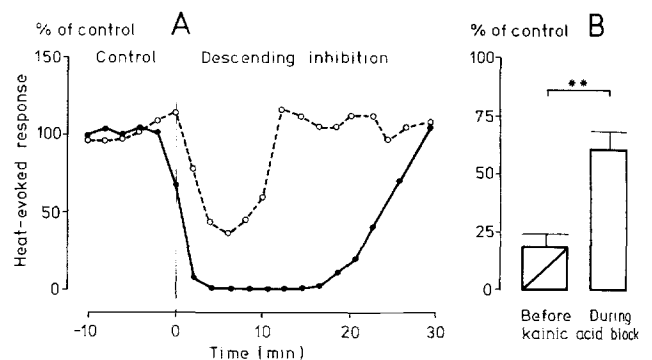


Abb. 5 A, B. Zeitverlauf der absteigenden Hemmung nozizeptiver Entladungswerten im unteren Lumbalmark von Ratten bei intaktem Rückenmark (durchgezogene Linie in A) und bei Blockade der synaptischen Übertragung im unteren Thorakalmark (gestrichelte Linie in A). Die Hitzeantworten eines multirezeptiven Hinterhornneurons sind in % der Kontrollwerte vor der Bicucullininjektion in das PAG gegen die Zeit nach der Injektion aufgetragen. Bei intaktem Rückenmark kommt es zu einer vollständigen Unterdrückung der Hitzeantwort für rund 18 min. Bei Blockade der synaptischen Übertragung ist die Wirksamkeit und die Dauer der absteigenden Hemmung deutlich reduziert (A). Bei 8 Neuronen wurden die Hitzeantworten bei intaktem Rückenmark signifikant stärker gehemmt (B), als bei blockierter synaptischer Übertragung (B). Bei 2 Neuronen war die Wirksamkeit der absteigenden Hemmung unverändert. Aus [47] mit Genehmigung

weitgehend unterdrücken, ohne die Impulsweiterleitung in durchziehenden Fasern zu beeinträchtigen. Bei Unterbrechung der synaptischen Übertragung im unteren Thorakal- und oberen Lumbalmark war die Wirksamkeit der absteigenden Hemmung nozizeptiver Neurone im Hinterhorn des unteren Lumbalmarks bis auf 50% der Kontrollwerte reduziert (Abb. 5). Eine Beteiligung propriospinaler Neurone an der absteigenden Hemmung erklärt nun auch die länger bekannte Tatsache, daß traumatische Durchtrennungen oder Lidocainblockaden der weißen Substanz des Rückenmarks die Wirksamkeit der absteigenden Hemmung niemals vollständig aufheben konnten [48]. Offenbar verlaufen lange, absteigende, hemmende Bahnen, die alle zur körpereigenen Schmerz-

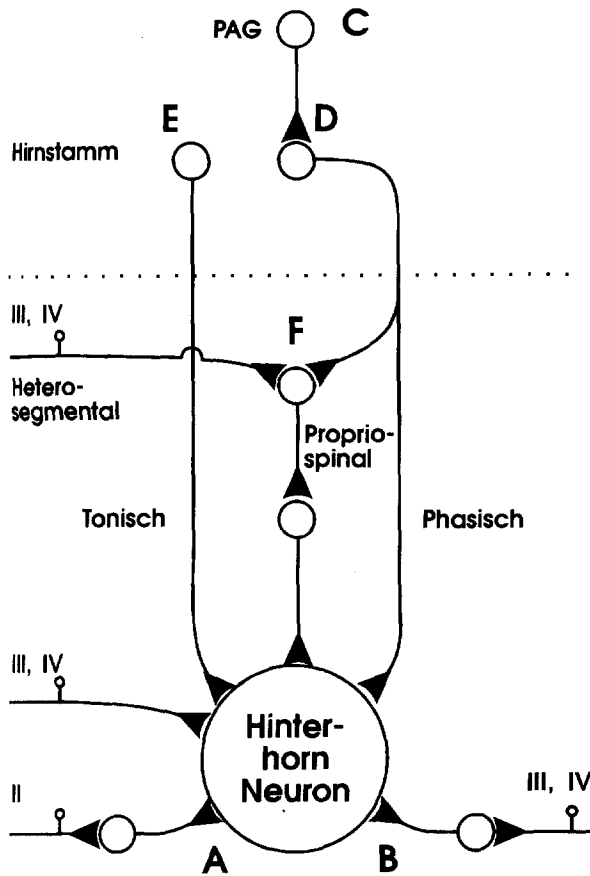


Abb. 6. Schematische Darstellung der 3 heute bekannten Prinzipien der körpereigenen Schmerzabwehr: 1.) Die segmentale Hemmung, die durch Impulse in dicken primären Afferenzen (Gruppe II-Fasern) ausgelöst wird (A). 2.) Die absteigende Hemmung vom Hirnstamm, die über lange, absteigende, bilaterale Bahnen in den Funiculi laterales vermittelt wird (D und E) und 3.) die heterosegmentale Hemmung, die durch absteigende (F) oder aufsteigende (nicht gezeigt) propriospinale, antinozizeptive Neurone zustande kommt. Die propriospinale Antinozizeption kann durch konditionierende heterosegmentale (F) oder durch segmentale, kontralaterale noxische Reize (B) ausgelöst werden. Proprio-spinale antinozizeptive Neurone vermitteln darüber hinaus auch einen Teil der absteigenden Hemmung vom Hirnstamm (D-F)

abwehr beitragen, bilateral in den Funiculi laterales [48] und parallel dazu als propriospinale Bahnen in der grauen Substanz des Rückenmarks [50] (Abb. 6). Die klassische Vorstellung eines einfachen, seriellen absteigenden antinozizeptiven Systems ist also obsolet.

Neuropharmakologie der körpereigenen Schmerzabwehr im Rückenmark

Zur therapeutischen Nutzung der körpereigenen Schmerzabwehr bietet sich die intrathekale Injektion solcher Substanzen an, die bei Aktivierung der körpereigenen Schmerzabwehr im Rückenmark freigesetzt werden. Zur Identifizierung der beteiligten Neurotransmitter und ihrer Rezeptoren wurden Verhaltensversuche an Ratten durchgeführt, bei denen Rezeptorantagonisten gegen serotonerge, adrenerge und Opioidrezeptoren intrathekal injiziert wurden. Die Rezeptorblockaden führten in zahl-

reichen Experimenten von unterschiedlichen Arbeitsgruppen zur deutlichen Abschwächung der absteigenden Hemmung nozizeptiver Reflexe (Wegziehreflexe) oder nozizeptiven Verhaltens (Vokalisation, Vermeidungsverhalten oder Lecken der gereizten Hautpartien) [2, 29], so daß geschlossen werden konnte, daß serotonerge, α -adrenerge und opioiderge Synapsen im Rückenmark an der körpereigenen Schmerzabwehr beteiligt sind.

In elektrophysiologischen Experimenten waren dieselben Rezeptorantagonisten bei iontophoretischer Applikation an der Ableitstelle jedoch nicht in der Lage, die absteigende Hemmung nozizeptiver Hinterhornneurone zu beeinflussen [36, 56]. Da bei iontophoretischer Gabe ein starker Konzentrationsgradient am Applikationsort entsteht, lassen sich u.U. Rezeptoren auf den viele hundert μ m vom Zellkörper entfernten distalen Abschnitten der Dendriten [35] nicht mehr vollständig blockieren, so daß falsch negative Resultate nicht ausgeschlossen werden können. Wir haben daher die kontrollierte Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche eingesetzt, um serotonerge, α -adrenerge und Opioidrezeptorantagonisten im gesamten Ableitsegment zu verteilen, also in einem Bereich, der auch die am weitesten distal gelegenen Rezeptoren erfaßt [52]. Aber auch in diesen Versuchen hatte die Rezeptorblockade keinerlei Effekt auf die Wirksamkeit der absteigenden Hemmung. Diese lange unerklärte Diskrepanz zwischen den Resultaten von Verhaltensversuchen und elektrophysiologischen Arbeiten könnte nun aufgelöst werden: Falls nicht direkt am Ableitort, sondern einige Segmente entfernt serotonerge, α -adrenerge und opioiderge Synapsen die absteigende Hemmung vermitteln, indem propriospinale antinozizeptive Neurone aktiviert würden, dann sollten die intrathekalen Injektionen von Rezeptorantagonisten bei den Verhaltensversuchen auch diese Synapsen blockieren, da sich intrathekal injizierte Substanzen immer auf eine große Zahl von Rückenmarksegmenten verteilen [55]. Dagegen war bei den bisherigen elektrophysiologischen Versuchen die Rezeptorblockade auf den Ableitort (Iontophorese) oder das Ableitsegment (Superfusion) beschränkt.

Die Erfassung propriospinaler Neurone bei allen intrathekalen Injektionen kann therapeutisch bei der Spinalanalgesie genutzt werden, wenn die neuropharmakologischen Grundlagen für die Aktivierung propriospinaler, antinozizeptiver Neurone besser verstanden sind. Nach unseren bisherigen Erfahrungen spielen weder GABA-Rezeptoren, noch die Neuropeptide Somatostatin oder die Substanz P eine Rolle, den Superfusionen verschiedener Rückenmarksegmente mit diesen Peptiden führten niemals zur Aktivierung der propriospinalen Antinozizeption [50]. Dies ist überraschend, da die beiden Peptide bei noxischen Reizen, die ja u.a. die propriospinale Antinozizeption aktivieren können, im Rückenmark freigesetzt werden [13, 38]. Offenbar erfüllen diese Peptide aber andere Funktionen im Rahmen des Schmerzgeschehens (siehe folgenden Abschnitt).

Mit unserem Verfahren kann auch eine kontrollierte Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche direkt

über der Ableitstelle im Hinterhorn durchgeführt werden, ohne die Qualität der Einzelzellableitungen zu beeinträchtigen (Abb. 8). Damit lassen sich die Wirkungen spinaler Analgetika auf der Ebene von Einzelzellen und des Zellverbandes im Rückenmark aufklären. Wir haben so zeigen können, daß Morphin und das Neuropeptid Somatostatin quantitativ und qualitativ die gleiche antinozizeptive Wirkung auf der Ebene des Rückenmarks entfalten, die zugrundeliegenden Mechanismen aber offenbar unterschiedlich sind, da die Morphin-, nicht jedoch die Somatostatinwirkung durch μ -Opioidrezeptoren vermittelt wird [46].

Rolle der nicht synaptischen Signalübermittlung im Rückenmark bei der Pathogenese von Schmerzzuständen

Die massive Reizung von Nozizeptoren, wie sie z.B. bei jeder größeren Gewebeschädigung vorkommt, führt zur Freisetzung von zahlreichen Neuropeptiden im Rückenmark, u.a. von Substanz P [13], Neurokinin A [14], Somatostatin [38], Dynorphin [28], Calcitonin-gene-related peptide und Galanin [37]. Die Neuropeptide werden dabei nicht ausschließlich in den synaptischen Spalt freigesetzt und dort rasch inaktiviert – dann könnte ihre Freisetzung mit den verwendeten Nachweisverfahren auch gar nicht erkannt werden –, sondern können weit verteilt im Extrazellulärraum, z.T. sogar kontralateral zur Seite der Gewebeschädigung [14] und in der Zerebrospinalflüssigkeit [22] in biologisch wirksamen Konzentrationen nachgewiesen werden. Hier liegt eine Form der extrasynaptischen Signalübermittlung vor, wie sie auch in anderen Teilen des Zentralnervensystems beschrieben wurde. Die verschiedenen Formen der extrasynaptischen Übertragung werden zusammenfassend als „volume transmission“ bezeichnet [1], da die Übertragung im Volumen des Extrazellulärraumes erfolgt (Abb. 7). Die Konsequenzen der extrasynaptischen Verteilung von Neuropeptiden für das Schmerzgeschehen sind noch weitgehend unbekannt; als Neurotransmitter der schnellen synaptischen Übertragung kommen sie jedenfalls nicht in Betracht. Möglicherweise steuern sie mittelfristige, 2nd-messenger vermittelte, oder langfristige, über eine Veränderung der Genablesung in Nervenzellen vermittelte, zelluläre Prozesse.

Um die elektrophysiologischen neurobiologischen Wirkungen extrasynaptischer Neuropeptide im Rückenmark in vivo zu untersuchen, haben wir die Methode der kontrollierten Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche entwickelt. Mit radioaktiv markierten ^{125}J -Neurokinin A haben wir die Verteilung und die Konzentration des Peptids im Rückenmark nach der Superfusion bestimmt und festgestellt, daß nach 30minütiger Superfusion die Konzentration im dorsalen Hinterhorn etwa 2, und im ventralen Hinterhorn etwa 3 Größenordnungen niedriger ist als im Superfusat [6]. Die räumliche Verteilung ähnelte der nach endogener Freisetzung, dies war auch zu erwarten, da bei unserem Verfahren die dorsale Rückenmarksoberfläche superfundiert

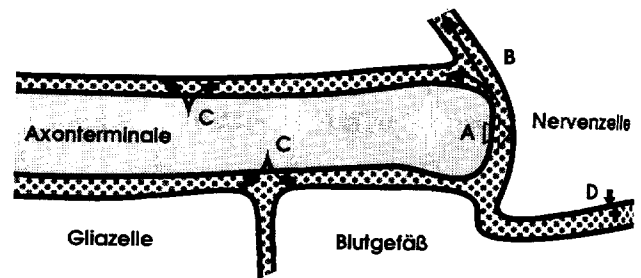


Abb. 7. Konzept der „volume transmission“, also der extrasynaptischen Signalübertragung im Rückenmark. Der offene Pfeil bei A zeigt die Neurotransmitterfreisetzung an einer spezialisierten synaptischen Endigung an. Bei massiver Freisetzung des Transmitters, wie sie z.B. bei starker und langanhaltender Nozizeptorerregung vorkommt, kann die Kapazität von Inaktivierungsmechanismen überschritten werden, so daß z.B. freigesetzte Neuropeptide diffus in den Extrazellulärraum diffundieren (B). Neuropeptide können auch an nicht synaptischen Stellen (buttons en passant, C) freigesetzt werden und so in den Extrazellulärraum gelangen. Bei langanhaltenden, hochfrequenten Entladungen von Neuronenpopulationen können sich auch die Konzentrationen von Ionen im Extrazellulärraum verändern (D). Die Ionen können dann ebenfalls zu entfernten Orten diffundieren. Modifiziert nach Sandkühler (1993) *The Physiological Society Magazine* 7:39

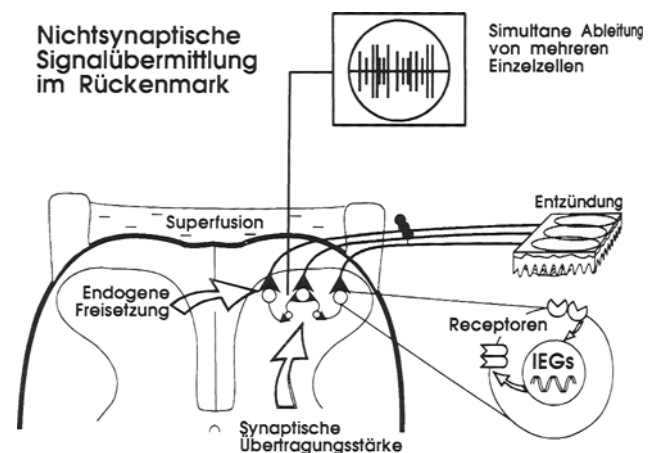


Abb. 8. Schema der Versuchsanordnung zur Bestimmung elektrophysiologischer und neurobiologischer Wirkungen der extrasynaptischen Signalübermittlung im Rückenmark. Die Erregung von Nozizeptoren, z.B. im Rahmen einer umschriebenen Entzündung der Haut, führt zur endogenen Freisetzung eines Neuromediatorgemisches, dessen Zusammensetzung bisher nur teilweise bekannt ist. Die kontrollierte Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche ist besonders gut geeignet, um die Wirkungen einzelner Neuropeptide auf das neuronale Netz im superfundierten Rückenmarksegment zu bestimmen, da hier der Ort der Applikation kaum 200 μm vom Ort der hauptsächlich endogenen Freisetzung im dorsalen Hinterhorn entfernt liegt. Durch simultane Ableitung mehrerer nozizeptiver Hinterhornneurone und den immunhistochemischen Nachweis der Proteinprodukte von „immediate-early-genes“ lassen sich elektrophysiologische und neurobiologische Wirkungen der Neuropeptide bestimmen. Modifiziert nach Sandkühler (1993) *The Physiological Society Magazine* 7:39

wird, die ja nur einige μm von dem Ort der hauptsächlich endogenen Freisetzung im dorsalen Hinterhorn entfernt ist (Abb. 8).

Natürliche noxische Reize oder die elektrische Reizung feiner primärer Afferenzen führen zur endogenen Frei-

setzung eines Neuropeptidgemisches, zu u.U. langanhaltenden plastischen Veränderungen bei nozizeptiven Hinterhornneuronen und zur Expression von *c-fos* [26] und anderen „immediate-early-genes“ [25]. Eine kausale Verknüpfung in Form einer Ursachenkaskade ist bisher nicht bewiesen. Wir konnten aber zeigen, daß natürliche noxische Hautreize und die kontrollierte Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche mit den Neuropeptiden Substanz P oder Neurokinin A, nicht jedoch mit Somatostatin zu vergleichbaren neuroplastischen Veränderungen bei nozizeptiven Hinterhornneuronen und zu einem ähnlichen Expressionsmuster von „immediate-early-genes“ im Rückenmark führen [5]. Welche Rolle der körpereigenen Schmerzabwehr bei der extrasynaptischen Signalübermittlung im Rückenmark und bei den Langzeitfolgen noxischer Reizung zukommt, ist noch nicht abschließend zu beurteilen. Die endogene Freisetzung von Substanz P unterliegt aber vermutlich keiner *tonischen* absteigenden Hemmung [15] und wird auch nicht durch Stimulation von A-Faserafferenzen unterdrückt [27], die ja zur segmentalen Hemmung führt. Morphin, das die körpereigene Schmerzabwehr aktiviert, führt dagegen zu einer Hemmung der Substanz P – Freisetzung im Rückenmark und supraspinale Morphininjektionen, die zu einer Aktivierung absteigender hemmender Bahnen führen [20], können die Expression von *c-fos* im Rückenmark unterdrücken [23]. Möglicherweise kann also die körpereigene Schmerzabwehr nicht nur die kurzfristigen Effekte noxischer Reize, sondern auch die langfristigen, neuroplastischen Folgen, die mit einer veränderten Genablesung einhergehen, wirksam unterbinden. Aus solchen Überlegungen heraus wurde das Konzept der frühzeitigen Analgetikagabe („preemptive analgesia“) bei chirurgischen Eingriffen abgeleitet [31], dessen klinischer Nutzen sich noch erweisen muß.

Das Entladungsmuster nozizeptiver Neurone spielt eine wesentliche Rolle bei der Nozizeption

Die konventionelle Analyse nozizeptiver Entladungswerten basiert auf der Bestimmung von Entladungsrate, also auf der gemittelten Anzahl von Aktionspotentialen pro Zeiteinheit, meist im Bereich von 1 s bis zu 1 min oder länger. Bei diesem Konzept spielt das zeitliche Muster der Aktionspotentialfolgen keine Rolle. Meist wird unterstellt, daß den Entladungszeitpunkten ein stochastischer Prozeß zugrundeliegt, so, wie es für das Öffnungs- und Schließverhalten von Ionenkanälen [10, 18] und für die Exozytose synaptischer Vesikel angenommen wird [54]. Viele der nozizeptiven Hinterhornneurone weisen eine z.T. beträchtliche Hintergrundaktivität auf, ohne daß in ihrem Rezeptiven Feld Reize gesetzt werden. Bisher wurde diese Hintergrundaktivität meist als stochastisches „Rauschen“ angesehen, oder als Folge unbekannter afferenter Zuströme aus bis zu 10^4 Synapsen, die auf ein nozizeptives Neuron konvergieren können. Damit wurde stets eine sehr hohe Zahl oder sogar unendlich viele Freiheitsgrade für den Prozeß der Hintergrundaktivität unterstellt, der als einfacher Er-

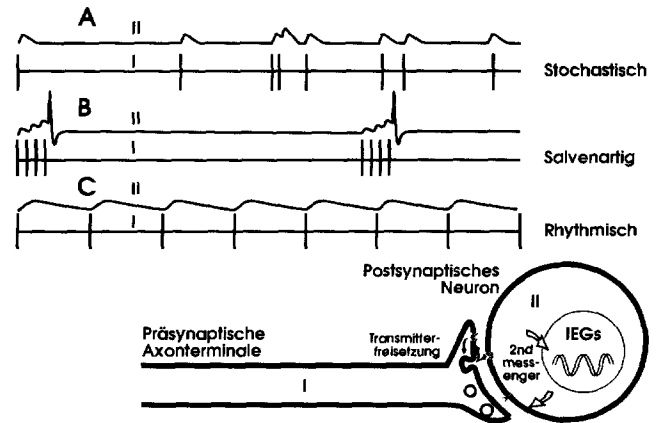


Abb. 9 A–C. Die Wirkung nozizeptiver Neurone auf postsynaptische Neurone wird durch das zeitliche Muster der Entladung wesentlich mitbestimmt. Die Abbildung zeigt schematisch die Entladungszeitpunkte in einer präsynaptischen Terminale als Normpulse (jeweils die untere Spur in A–C) für einen Zeitraum von 1 s. Wegen der meist kurzen Zeitkonstanten postsynaptischer Potentiale (obere Spuren in A und B) führt ein stochastisches Entladungsmuster hier zu keiner überschweligen Erregung im postsynaptischen Neuron (A). Bei gleicher mittlerer Entladungsrate von hier 8 Imp/s führt dagegen eine salvenartige Entladung zur Auslösung von Aktionspotentialen (B). Bei regelmäßiger, rhythmischer Entladung werden in der postsynaptischen Zelle 2nd-messenger vermittelte Prozesse wirksamer als bei stochastischen Pulsfolgen aktiviert (C). Die obere Spur in C gibt die hypothetische Konzentration eines 2nd-messengers in der postsynaptischen Zelle wieder. Das Entladungsmuster kann auch die Freisetzung von Neurotransmittern beeinflussen; so sollen salvenartige Entladungen wirksamer als stochastische oder rhythmische Entladungen zur Freisetzung großer, elektronendichter Vesikel („dense-cored vesikel“) führen, die Neuropeptide oder Monoamine enthalten können, während die kleinen synaptischen Vesikel, die die klassischen Neurotransmitter enthalten können, vermutlich bei jedem Aktionspotential in gleicher Weise exozytieren

neuerungsprozeß angesehen wurde [53]. Dementsprechend wurde die Rate der Hintergrundaktivität von der der nozizeptiven Entladungen abgezogen, um die „wahre“ nozizeptive Entladungswerte zu ermitteln. Auf diesen Annahmen und den Ergebnissen von entsprechenden Zählstatistiken basieren wesentliche Teile unserer heutigen Konzepte über das nozizeptive System. Die Angabe von Entladungszahlen, die über Zeiträume von Sekunden bis Minuten gemittelt wurden, sind aber vermutlich nur von geringer biologischer Bedeutung. Zumindest können die meisten Neurone aufgrund der kurzen Zeitkonstanten postsynaptischer Potentiale elektrische Informationen über so lange Zeiträume nicht integrieren (siehe Abb. 9). Es ist vielmehr wichtig, ob die Aktionspotentiale in zufälliger Folge, oder z.B. in Salven, in regelmäßigem Rhythmus, oder in anderen deterministischen Mustern auftreten (Abb. 9).

Wir haben daher moderne Analyseverfahren für Punktprozesse eingesetzt, die auch die nichtlineare Dynamik erfassen können, und damit erstmals gezeigt, daß die Hintergrundaktivität der meisten nozizeptiven Neurone kein stochastisches „Rauschen“ darstellt, sondern auf deterministischen Prozessen mit wenigen Freiheitsgraden beruht [11, 43]. Für diese Untersuchungen haben

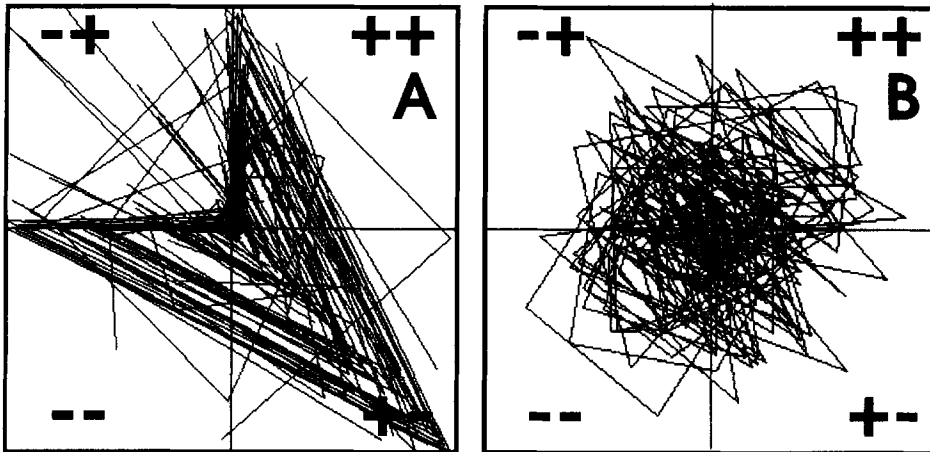


Abb. 10 A, B. Konstruktion eines Phasenraumportraits für Punktprozesse. Wir haben ein zweidimensionales Phasenraumportrait konstruiert, das direkt das Entladungsmuster von Nervenzellen graphisch darstellt. Aus den Entladungszeitpunkten T_n werden die Intervalle $I_n = T_{n+1} - T_n$ gebildet, deren 1. Ableitung ($I'_n = I_{n+1} - I_n$) sind auf der Abzisse gegen die I'_{n+1} auf der Ordinate aufgetragen. Bei zwei aufeinanderfolgenden Zunahmen der Entla-

dungsintervalle resultiert ein Wert im ++ Quadranten, bei einer Zunahme gefolgt von einer Abnahme entsprechend ein Wert im +- Quadranten usw. Hier ist links die Hintergrundentladung eines nozizeptiven Hinterhornneurons dargestellt. Das Entladungsmuster unterscheidet sich deutlich von dem einer rein stochastisch verteilten Impulsfolge (rechts)

wir nozizeptive Hinterhornneurone ausgewählt, deren Hintergrundaktivität nach den konventionellen Kriterien als stationär angesehen werden kann. Für die graphische Darstellung des Entladungsmusters haben wir ein Phasenraumportrait für Punktprozesse entwickelt (Abb. 10) und für die quantitative Bestimmung der Zahl der Freiheitsgrade die D2-Korrelationsdimension nach dem Algorithmus von Grassberger und Procaccia [11, 24] bestimmt. Bei den untersuchten 22 multirezeptiven Neuronen fanden wir 16 Neurone, deren Hintergrundentladung eindeutig auf deterministische Ursachen mit weniger als 11 Freiheitsgraden zurückgeführt werden kann; bei nur 6 Neuronen war die Zahl möglicher Freiheitsgrade größer als 20 und somit mit dem verwendeten Algorithmus nicht mehr sicher von stochastischem Rauschen zu unterscheiden. Dieses hohe Maß an Ordnung im Entladungsmuster der meisten der untersuchten nozizeptiven Hinterhornneurone wird offenbar permanent durch den Einfluß supraspinaler, absteigender Bahnen aufrechterhalten, da eine Spinalisation rostral der Ableitstelle bei 2/3 der Neurone die D2-Korrelationsdimension signifikant erhöhte, also den Grad der Ordnung reduzierte [43].

Aus diesen Befunden ergeben sich zwei wichtige Schlussfolgerungen:

1. Die Hintergrundaktivität nozizeptiver Hinterhornneurone ist kein zufälliger Vorgang, sondern resultiert aus deterministischen Prozessen, denen offenbar nur wenige Freiheitsgrade zugrunde liegen [43]. Die deterministischen Prozesse sind offenbar in der Lage, stochastische Vorgänge bei der Generierung von Aktionspotentialen zu dominieren. Damit wird das Entladungsmuster nozizeptiver Hinterhornneuronen zu einem lohnenden Untersuchungsgegenstand.

2. Die geringere Zahl der Freiheitsgrade im Entladungsmuster der meisten nozizeptiven Hinterhornneurone ba-

siert zumindest teilweise auf dem ordnenden Einfluß tonisch aktiver, absteigender Bahnen vom Gehirn [43]. Dieser Einfluß absteigender Bahnen ist möglicherweise eine Voraussetzung für eine geordnete Funktion des neuronalen Netzwerkes im Rückenmark, denn unmittelbar nach einer Spinalisation wird beim Menschen und einigen anderen Spezies das bekannte Syndrom des spinalen Schocks beobachtet, das mit einem weitgehenden Funktionsverlust einhergeht. Möglicherweise übernehmen im Verlauf einer chronischen Spinalisation propriospinale Systeme (s.o.) einen Teil der ordnenden Funktion, denn ein Teil der Rückenmarkreflexe tritt später wieder auf.

Können nozizeptive Neurone zwischen zwei Funktionszuständen umschalten?

Eine der möglichen Ursachen für eine niedrige D2-Korrelationsdimension ist eine regelmäßige, rhythmische Entladung, die mit Methoden der Spektralanalyse für Punktprozesse beschrieben werden kann. Bei sensorischen Neuronen im Thalamus werden regelmäßige, rhythmische Hintergrundentladungen beobachtet, die als Ausdruck eines Übertragungsblockes für die sensorische Information (α -Block) angesehen werden, denn solange diese Neurone rhythmisch entladen, können sie keine Information über sensorische Reize übermitteln. Der Transfermode dieser thalamo-kortikalen Neurone ist entsprechend durch ein nichtrhythmisches Entladungsmuster gekennzeichnet [39].

Wir haben bei mehr als 50% der nozizeptiven Neurone im Hinterhorn des Rückenmarks deutlich rhythmische Entladungsmuster in der Hintergrundaktivität festgestellt [16, 44]. Die Generatoren der Rhythmizität liegen für die meisten Neurone offenbar innerhalb des Rückenmarks, da bei 2/3 der Neurone die Rhythmizität auch während der reversiblen Kälteblockspinalisation erhal-

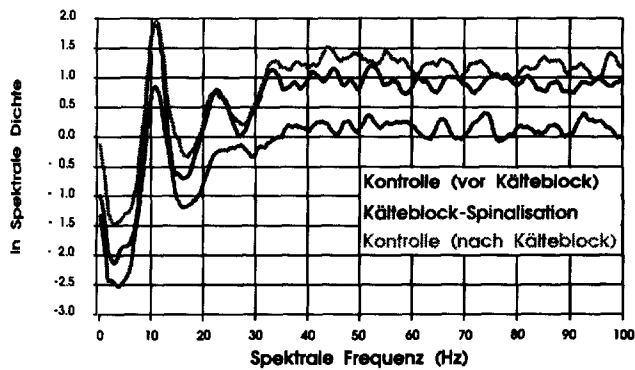


Abb. 11. Die Spektraldichtefunktion der Hintergrundaktivität eines nozizeptiven Hinterhornneurons zeigt eine deutliche Fundamental Frequenz bei 12 Hz (*dunkle Linie*). Die Generatoren dieser Rhythmizität liegen nicht supraspinal, da die reversible Spinalisation rostral der Ableitstelle zu keiner Änderung der Rhythmizität führt (*graue Linie*). Die helle Linie zeigt die Spektraldichtefunktion nach Aufhebung des Kälteblocks

ten blieb (Abb. 11). Bei dem restlichen Drittel der Neurone führte die funktionelle Leitungsunterbrechung vom Gehirn dagegen zu einer kompletten Unterdrückung der Rhythmizität, unabhängig von Änderungen der Entladungsraten. Bei gleichzeitig abgeleiteten Hinterhornneuronen kann Spinalisation die Entladungsraten und die Entladungsmuster in qualitativ und quantitativ unterschiedlicher Weise beeinflussen [45]. Impulse in primären afferenten Fasern sind aller Wahrscheinlichkeit nach nicht an der Entstehung der Rhythmizität beteiligt, da die meisten unserer Neurone afferenten Zustrom aus der Haut erhalten, der in aller Regel keine Hintergrundaktivität aufweist und zumindest die Neurone in den oberflächlichen Laminae keinen direkten Zustrom von rhythmisch aktiven Afferenzen haben.

Die Rhythmizität der Hintergrundaktivität ging bei etwa 60% der Neurone durch Erregung hitzesensitiver Nozizeptoren in eine nichtrhythmische Entladungsantwort über, unabhängig von der Stärke der Zunahme der Entladungsraten [16, 44]. Dies könnte also wie bei den thalamo-kortikalen Neuronen darauf hinweisen, daß auch nozizeptive Neurone im Hinterhorn des Rückenmarks zwei Funktionszustände einnehmen können:

1. einen Transfermode, der durch nichtrhythmische Entladungsantworten gekennzeichnet ist und
2. einen Transferblock mit rhythmischer Hintergrundentladung.

Der Rhythmizität, die zum Transferblock führt, könnte eine weitere wichtige biologische Funktion zukommen, da 2nd-messenger vermittelte zelluläre Prozesse offenbar durch rhythmische Pulse wirksamer als durch nicht-rhythmische, stochastische Pulsfolgen aktiviert werden können [33]. Im rhythmischen Transferblock könnten die nozizeptiven Hinterhornneurone also z.B. vorwiegend trophische Wirkungen auf die postsynaptischen Neurone ausüben, während sie im Transfermode schnelle Informationen über noxische Reize übermitteln. Diese Hypothese steht im Einklang mit der Beobach-

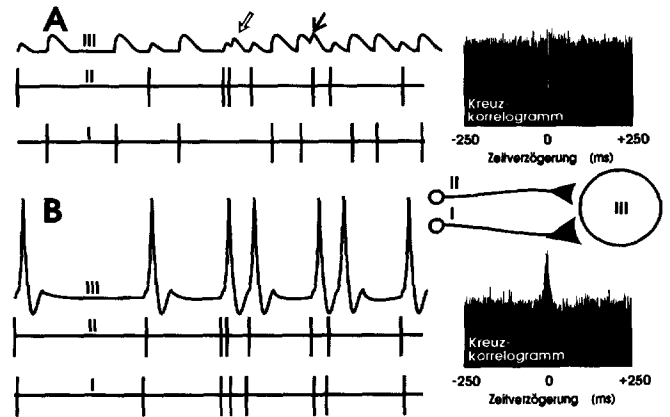


Abb. 12 A, B. Durch Zunahme der Synchronizität der Entladungen von Neuronen, die auf das gleiche Neuron konvergieren, kann die Übertragung nozizeptiver Information verbessert werden, ohne Änderungen in den mittleren Entladungsraten. Die Entladungszeitpunkte der Neurone I und II sind in den mittleren und in den unteren Spuren in A und B als Normpulse angezeigt. In den oberen Spuren ist schematisch das Membranpotential von Neuron III aufgetragen. Bei nicht synchronen Entladungen, die durch ein flaches Kreuzkorrelogramm gekennzeichnet sind (*oben rechts*), bleiben die EPSPs untersehwellig. Dies gilt auch für die Summation kleiner EPSPs bei kurzen Intervallfolgen (*offener Pfeil in A*) und wenn der zeitliche Abstand der Aktionspotentiale der Neurone I und II zu groß ist (*geschlossener Pfeil in A*). Bei geringen Zeitunterschieden der Entladungen von Neuron I und II ergibt sich im Kreuzkorrelogramm eine enge Spitze um die Nulllatenz (*unten rechts, B*) und es können überschwellige EPSPs bei Neuron III erzeugt werden

tung, daß die Unterbrechung aufsteigender Schmerzbahnen im Rückenmark mit Funktionsverlusten thalamischer Neurone und u.U. schwer behandelbaren thalamischen Schmerzen einhergehen kann, möglicherweise mitverursacht durch den Wegfall trophischer Effekte aufsteigender, rhythmisch entladender Hinterhornneurone.

Die Informationsübertragung im nozizeptiven System kann durch synchrone Entladungen zunehmen

Alle bisher besprochenen Konzepte basieren auf den Entladungen einzelner nozizeptiver Hinterhornneurone. Durch die simultane Ableitung von 2 oder mehr eng benachbarten nozizeptiven Hinterhornneurone fanden wir Hinweise, daß die Kohärenz der Entladungen eine biologisch bedeutende Rolle spielen könnte. Bei Neuronen, die auf das gleiche postsynaptische Neuron konvergieren, ist eine erhebliche synergistische (oder antagonistische) Wirkung nur dann zu erwarten, wenn die Entladungszeitpunkte in engen Grenzen übereinstimmen, die Entladungen also eine Synchronizität aufweisen (Abb. 12). Tatsächlich fanden wir bei der Mehrzahl der gleichzeitig an derselben Stelle im Hinterhorn des Rückenmarks abgeleiteten nozizeptiven Neurone Synchronizität sowohl in der Hintergrundaktivität, als auch in den nozizeptiven Entladungsantworten. Bei einem Teil der

Neuronenpaare fanden wir jedoch bei intaktem Rückenmark, d.h. unter dem Einfluß tonischer absteigender Systeme, keine Synchronizität in den Entladungen (Abb.12). Spinalisation rostral der Ableitstelle führte dann bei einigen dieser Neuronenpaare zu einer deutlichen Synchronizität ihrer Entladungen (Abb. 12). Durch eine solche neu auftretende Synchronizität kann auch unabhängig von Änderungen der Entladungsraten die Wirkung auf postsynaptische Neurone beträchtlich verstärkt werden.

Absteigende, supraspinale Systeme können also nicht nur die Entladungsraten und -muster nozizeptiver Neurone kontrollieren, sondern darüber hinaus auch den Informationstransfer steuern, indem sie die Synchronizität der Entladungen benachbarter Neurone modifizieren.

Schlußfolgerungen

Durch Anwendung moderner Methoden der Elektrophysiologie, der Mathematik und der Neurobiologie läßt sich die Übertragbarkeit von Ergebnissen der Grundlagenforschung auf klinisch relevante Fragestellungen verbessern. So läßt sich zum Beispiel durch die umfassende Kartographierung von Neuronen, die bei antinozizeptiver Stimulation im Hirnstamm erregt werden, Aussagen über die Wirkungen elektrophysiologischer Stimulationen gewinnen, die über Veränderungen in den Entladungsraten einzelner Neurone hinausgehen und ein Korrelat für potentielle „Nebenwirkungen“ der Stimulation liefern. Durch Simultanableitungen von mehreren nozizeptiven Hinterhornneuronen gelingt es besser als mit Einzelzellableitungen, die generellen Wirkungen antinozizeptiver Systeme auf die spinale Nozizeption zu erfassen. Die Anwendung leistungsfähiger Analyseverfahren ermöglicht es, biologisch relevante Entladungsmuster zu identifizieren, die Vorhersagen über mögliche kurz- und langfristige Effekte auf postsynaptische Zielzellen erlauben. Die kontrollierte Superfusion der dorsalen Rückenmarksoberfläche stellt ein Verfahren dar, mit dem die Wirkungen der pathophysiologisch relevanten extrasynaptischer Übertragung im Rückenmark auf Eigenschaften nozizeptiver Hinterhornneurone und die Expression von Genen erfaßt werden können. Dieses Superfusionsverfahren erlaubt darüber hinaus die Wirkungsweise von spinalen Analgetika auf der Ebene von Einzelzellen aufzuklären.

Danksagung

An der Datenerhebung und -auswertung waren Frau Dipl.-Biol. Heidemarie Beck, Dr. S. Debus, Dr. A.A. Eblen-Zajjur, Dr. Q.-G. Fu, Dr. C. Helmchen, Frau Dr. Brigit Stelzer, Frau Dr. Esther Willmann sowie Dr. S. Schröck vom I. Physiologischen Institut und Dr. T. Herdegen aus der Arbeitsgruppe von Prof. M. Zimmermann beteiligt. Die hier vorgestellten Konzepte sind aus Diskussionen mit allen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe sowie weiteren Kollegen des II. Physiologischen Instituts hervorgegangen. Die wissenschaftliche Bearbeitung der Themenbereiche „absteigenden Hemmung vom Mittelhirn“ und „Expression von IEGs“ wurde von Prof. M. Zimmermann und Mitarbeitern (E. Carstens, T. Her-

degen und J.D. Leah) in Heidelberg initiiert. Die hier vorgestellten Arbeiten des Autors wurden mit Beihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SA 435) und des Ministeriums für Wissenschaft und Kunst, Baden-Württemberg gefördert.

Literatur

1. Agnati LF, Fuxe K, Zoli M, Ozini I, Toffano G, Ferraguti F (1986) A correlation analysis of the regional distribution of central enkephalin and beta-endorphin immunoreactive terminals and of opiate receptors in adult and old male rats. Evidence for the existence of two main types of communication in the central nervous system: the volume transmission and the wiring transmission. *Acta Physiol Scand* 128:201
2. Aimone LD, Jones SL, Gebhart GF (1987) Stimulation-produced descending inhibition from the periaqueductal gray and nucleus raphe magnus in the rat: mediation by spinal monoamines but not opioids. *Pain* 31:123
3. Bandler R, Carrive P (1988) Integrated defence reaction elicited by excitatory amino acid microinjection in the midbrain periaqueductal grey region of the unrestrained cat. *Brain Res* 439:95
4. Basbaum AI, Clanton CH, Fields HL (1976) Opiate and stimulus-produced analgesia: functional anatomy of a medullospinal pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 73:4685
5. Beck H, Sandkühler J (1993) Role of volume transmission for spinal nociception: extrasynaptic mediators of immediate early gene expression. *Proc 7th World Congress Pain Abstr* 472
6. Beck H, Schröck H, Sandkühler J (1992) Distribution of neurokinin A during controlled superfusion of the rat spinal cord dorsum. *Soc Neurosci Abstr* 18:132
7. Besson JM, Chaouch A (1987) Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiol Rev* 67:67
8. Cadden SW, Villanueva L, Chitour D, Le Bars D (1983) Depression of activities of dorsal horn convergent neurones by propriospinal mechanisms triggered by noxious inputs; comparison with diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Brain Res* 275:1
9. Carrive P, Bandler R (1991) Viscerotopic organization of neurons subserving hypotensive reactions within the midbrain periaqueductal grey: a correlative functional and anatomical study. *Brain Res* 541:206
10. Colquhoun D, Hawkes AG (1981) On the stochastic properties of single ion channels. *Proc R Soc Lond [Biol]* 211:205
11. Debus S, Sandkühler J (1990) Chaotic dynamic of EEG in long-term studies. *Clin Neurophysiol* 20:62
12. Dragunow M, Faull R (1989) The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J Neurosci Meth* 29:261
13. Duggan AW, Hendry IA (1986) Laminar localization of the sites of release of immunoreactive substance P in the dorsal horn with antibody-coated microelectrodes. *Neurosci Lett* 68:134
14. Duggan AW, Hope PJ, Jarrott B, Schaible H-G, Fleetwood-Walker SM (1990) Release, spread and persistence of immunoreactive neurokinin A in the dorsal horn of the cat following noxious cutaneous stimulation. Studies with antibody microprobes. *Neuroscience* 35:195
15. Duggan AW, Morton CR, Hutchison WD, Hendry IA (1988) Absence of tonic supraspinal control of substance P release in the substantia gelatinosa of the anaesthetized cat. *Exp Brain Res* 71:597
16. Eblen-Zajjur A, Sandkühler J (1992) Properties of lumbar spinal dorsal horn neurons with rhythmic background activity. In: Elsner N, Richter DW (eds) *Rhythmogenesis in neurons and networks. Proceedings of the 20th Göttinger Neurobiology Conference*. Thieme, Stuttgart, New York, p 126
17. Fardin V, Oliveras J-L, Besson JM (1984) A reinvestigation of the analgesic effects induced by stimulation of the periaque-

- ductal gray matter in the rat. II. Differential characteristics of the analgesia induced by ventral and dorsal PAG stimulation. *Brain Res* 306:125
18. French AS, Stockbridge LL (1988) Fractal and Markov behaviour in ion channels kinetics. *Can J Physiol Pharmacol* 66:967
 19. Gebhart GF (1988) Descending inhibition of nociceptive transmission. In: Olesen J, Edvinsson L (eds) *Basic mechanisms of headache*. Elsevier, Amsterdam, p 201
 20. Gebhart GF, Sandkühler J, Thalhammer JG, Zimmermann M (1984) Inhibition in spinal cord of nociceptive information by electrical stimulation and morphine microinjection at identical sites in midbrain of the cat. *J Neurophysiol* 51:75
 21. Gerhart KD, Yezierski RP, Giesler GJ, Willis WD (1981) Inhibitory receptive fields of primate spinothalamic tract cells. *J Neurophysiol* 46:1309
 22. Go VLW, Yaksh TL (1987) Release of substance P from the cat spinal cord. *J Physiol (Lond)* 391:141
 23. Gogas KR, Presley RW, Levine JD, Basbaum AI (1991) The antinociceptive action of supraspinal opioids results from an increase in descending inhibitory control: Correlation of nociceptive behavior and c-fos expression. *Neuroscience* 42:617
 24. Grassberger P, Procaccia I (1983) Measuring the strangeness of strange attractors. *Physica D* 9:189
 25. Herdegen T, Tölle TR, Bravo R, Zieglgänsberger W, Zimmermann M (1991) Sequential expression of JUN B, JUN D and FOS B proteins in rat spinal neurons: cascade of transcriptional operations during nociception. *Neurosci Lett* 129:221
 26. Hunt SP, Pini A, Evan G (1987) Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* 328:632
 27. Hutchison WD, Morton CR (1989) Electrical stimulation of primary afferent A fibres does not reduce substance P release in the dorsal horn of the cat. *Pain* 37:357
 28. Hutchison WD, Morton CR, Terenius L (1990) Dynorphin A: in vivo release in the spinal cord of the cat. *Brain Res* 532:299
 29. Jensen TS, Yaksh TL (1984) Spinal monoamine and opiate systems partly mediate the antinociceptive effects produced by glutamate at brain stem sites. *Brain Res* 321:287
 30. Jürgens U, Pratt R (1979) Role of the periaqueductal grey in vocal expression of emotion. *Brain Res* 167:367
 31. Katz J, Kavanagh BP, Sandler AN, Nierenberg H, Boylan JF, Friedlander M, Shaw BF (1992) Preemptive analgesia: Clinical evidence of neuroplasticity contributing to postoperative pain. *Anesthesiology* 77:439
 32. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM (1979) Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). II. Lack of effect on non-convergent neurones, supraspinal involvement and theoretical implications. *Pain* 6:305
 33. Li Y-X, Goldbeter A (1992) Pulsatile signaling in intracellular communication: Periodic stimuli are more efficient than random or chaotic signals in a model based on receptor desensitization. *Biophys J* 61:161
 34. Melzack R, Wall PD (1965) Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150:971
 35. Miletic V, Hoffert MJ, Ruda MA, Dubner R, Shigenaga Y (1984) Serotonergic axonal contacts on identified cat spinal dorsal horn neurons and their correlation with nucleus raphe magnus stimulation. *J Comp Neurol* 228:129
 36. Mokha SS, McMillan JA, Iggo A (1985) Descending control of spinal nociceptive transmission. Actions produced on spinal multireceptive coeruleus (LC) and raphe magnus (NRM). *Exp Brain Res* 58:213
 37. Morton CR, Hutchison WD (1989) Release of sensory neuropeptides in the spinal cord: studies with calcitonin gene-related peptide and galanin. *Neuroscience* 31:807
 38. Morton CR, Hutchison WD, Hendry IA, Duggan AW (1989) Somatostatin: evidence for a role in thermal nociception. *Brain Res* 488:89
 39. Nunez A, Amzica F, Steriade M (1992) Intrinsic and synaptically generated delta (1–4 Hz) rhythms in dorsal lateral geniculate neurons and their modulation by light-induced fast (30–70 Hz) events. *Neuroscience* 51:269
 40. Reynolds DV (1969) Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science* 164:444
 41. Sandkühler J (1991) Induction of the proto-oncogene c-fos as a cellular marker of brainstem neurons activated from the PAG. In: Depaulis A, Bandler R (eds) *The midbrain periaqueductal gray matter*. Plenum Press, New York, p 267
 42. Sandkühler J, Bett K (1992) Map of spinal neurons activated by chemical stimulation in the ventromedial medulla of the awake, drug-free rat. *Soc Neurosci Abstr* 18:311
 43. Sandkühler J, Debus S, Eblen-Zajjur AA (1993) Chaos, rhythm and white noise in discharges of nociceptive spinal dorsal horn neurons. *Proc 7th World Congress Pain Abstr*, 466
 44. Sandkühler J, Eblen-Zajjur A, Liu X-G (in press) Differential effects of skin inflammation, extrasynaptic substance P and noxious skin heating on rhythmicity, synchrony and nonlinear dynamics in rat spinal dorsal horn. In: Gebhart GF (ed) *Proceedings of the 7th World Congress on Pain*. IASP Publications, Seattle
 45. Sandkühler J, Fu Q-G, Forster C (1990) Are single neuron recordings a reliable means of evaluating endogenous antinociception? *Pain [Suppl 5]*:272
 46. Sandkühler J, Fu Q-G, Helmchen C (1990) Spinal somatostatin superfusion in vivo affects activity of cat nociceptive dorsal horn neurons: comparison with spinal morphine. *Neuroscience* 34:565
 47. Sandkühler J, Fu Q-G, Stelzer B (1991) Propriospinal neurons are involved in the descending inhibition of lumbar spinal dorsal horn neurons from the mid-brain. In: Bond MR, Charlton JE, Woolf CJ (eds) *Proceedings of the VIth World Congress of Pain*. Elsevier, Amsterdam, p 313
 48. Sandkühler J, Fu Q-G, Zimmermann M (1987) Spinal pathways mediating tonic or stimulation-produced descending inhibition from the periaqueductal gray or nucleus raphe magnus are separate in the cat. *J Neurophysiol* 58:327
 49. Sandkühler J, Herdegen T (1991) Map of brainstem neurons activated by chemical stimulation in the rat periaqueductal gray as revealed by the expression of the c-FOS protein. *Soc Neurosci Abstr* 17:198
 50. Sandkühler J, Stelzer B, Fu Q-G (1993) Characteristics of propriospinal modulation of nociceptive lumbar spinal dorsal horn neurons in the cat. *Neuroscience* 54:957
 51. Sandkühler J, Willmann E, Fu Q-G (1991) Characteristics of midbrain control of spinal nociceptive neurons and nonsomatosensory parameters in the pentobarbital-anesthetized rat. *J Neurophysiol* 65:33
 52. Sandkühler J, Zimmermann M (1988) Neuronal effects of controlled superfusion of the spinal cord with monoaminergic receptor antagonists in the cat. *Progr Brain Res* 77:321
 53. Steedman WM, Zachary S (1990) Characteristics of background and evoked discharges of multireceptive neurons in lumbar spinal cord of cat. *J Neurophysiol* 63:1
 54. Stern P, Edwards FA, Sakmann B (1992) Fast and slow components of unitary EPSCs on stellate cells elicited by focal stimulation in slices of rat visual cortex. *J Physiol (Lond)* 449:247
 55. Yaksh TL, Rudy TA (1976) Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 17:1031
 56. Yezierski RP, Wilcox TK, Willis WD (1982) The effects of serotonin antagonists on the inhibition of primate spinothalamic tract cells produced by stimulation in nucleus raphe magnus or periaqueductal gray. *J Pharmacol Exp Ther* 220:266
 57. Zieglgänsberger W, French ED, Siggins GR, Bloom FE (1979) Opioid peptides may excite hippocampal pyramidal neurons by inhibiting adjacent inhibitory interneurons. *Science* 205:415

Priv.-Doz. Dr. J. Sandkühler
 II. Physiologisches Institut der Universität
 Im Neuenheimer Feld 326
 D-69120 Heidelberg