

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. N. Roewer

**Methodische Untersuchungen zur Entwicklung  
eines  
minimal-invasiven Tests  
für die  
Diagnostik einer Veranlagung zur  
Malignen Hyperthermie**

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

Vorgelegt von

Thomas Metterlein  
aus Ansbach

Würzburg, April 2006

Referent: Priv. Doz. Dr. med. M. Anetseder

Korreferent: Prof. Dr. med. N. Roewer

Dekan: Prof. Dr. med. G. Ertl

Tag der mündlichen Prüfung: 28.07.2006

Der Promovend ist Arzt

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1	Maligne Hyperthermie.....	1
1.1.1	Definition.....	1
1.1.2	Geschichtliche Entwicklung und Epidemiologie.....	1
1.1.3	Physiologie der Zelle.....	2
1.1.4	Pathophysiologie der Malignen Hyperthermie.....	4
1.1.5	Klinik der Malignen Hyperthermie.....	4
1.1.6	Therapie der Malignen Hyperthermie.....	5
1.1.7	Diagnostik der Malignen Hyperthermie.....	5
1.1.8	Pharmakologie von Koffein und Halothan.....	7
1.2	Mikrodialyse.....	7
1.2.1	Geschichtliche Entwicklung.....	7
1.2.2	Prinzip der Mikrodialyse.....	8
1.2.3	Definition und Bestimmung der „Recovery“.....	9
1.2.4	Beeinflussende Faktoren.....	12
1.3	CO <sub>2</sub> Partialdruck-Messung.....	12
1.3.1	Geschichtliche Entwicklung.....	12
1.3.2	Prinzip und Aufbau des Paratrend-CO <sub>2</sub> -Sensors.....	13
1.3.3	Beeinflussende Faktoren.....	14
1.4	Fragestellung.....	15
<b>2</b>	<b>Methodik.....</b>	<b>16</b>
2.1	Versuchsaufbau.....	16
2.1.1	Probanden.....	16
2.1.2	Vorbereitung der Probanden.....	16
2.1.3	Platzieren der Kanülen.....	17
2.1.4	Einsetzen der Messvorrichtung.....	18
2.1.5	Beginn der Messung.....	19
2.1.6	Stimulation.....	19
2.1.7	Versuchsende.....	19
2.2	Probenanalyse.....	20
2.3	Material.....	21
2.3.1	Mikrodialyse und pCO <sub>2</sub> -Sonden.....	21

## Inhaltsverzeichnis

---

2.3.2	Weiteres Material.....	21
2.3.3	Untersuchungssets.....	22
2.3.4	Triggerlösungen.....	22
2.3.5	Geräte.....	23
2.4	Ermittlung der Standardkurve für Laktat.....	23
2.5	Statistik.....	23
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>25</b>
3.1	Probanden.....	25
3.2	Vitalparameter.....	25
3.3	Schmerzen nach VAS.....	25
3.4	Systemische metabolische Parameter .....	26
3.4.1	Muskelenzyme.....	26
3.4.2	Blutgasanalyse.....	28
3.5	Laktatmessung.....	28
3.6	pCO <sub>2</sub> -Messung.....	31
3.7	Fragebogen.....	33
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>35</b>
4.1	Systemische Reaktion.....	35
4.2	Lokale Reaktion.....	35
4.3	Individuelle Ergebnisse.....	37
4.4	Sensitivität – Spezifität.....	41
4.5	Dosis-Wirkungs-Beziehung.....	42
4.6	Steigungsberechnung.....	44
4.7	Akzeptanz des neuen Verfahrens.....	46
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>48</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>57</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium-Ion
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CK	Kreatinkinase
Cl <sup>-</sup>	Chlorid-Ion
cm	Zentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
Da	Dalton
G	Gauge
G-Protein	Guaninnukleotid Protein
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
IVCT	In-Vitro-Kontraktur-Test
K <sup>+</sup>	Kalium-Ion
MH	Maligne Hyperthermie
mM	Millimolar
μM	Mikromolar
mm	Millimeter
n	Versuchszahl
Na <sup>+</sup>	Natrium-Ion
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinucleotid (oxidierte Form]
NADH/H <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinucleotid (reduzierte Form]
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
pH	Potentia Hydrogenii
P <sub>i</sub>	Anorganisches Phosphat
RYR	Ryanodin-Rezeptor
VAS	Visuelle Analog Skala

---

## 1 Einleitung

### 1.1 Maligne Hyperthermie

#### 1.1.1 Definition

Unter Maligner Hyperthermie (MH) versteht man eine genetisch determinierte, latente Anomalie des Kalziumstoffwechsels von Skelettmuskelzellen. Die Exposition mit MH-Triggersubstanzen, wie volatile Inhalationsanästhetika und depolarisierenden Muskelrelaxantien, führt auf zellulärer Ebene zu einem Anstieg der myoplasmatischen Kalziumkonzentration mit der Folge einer lebensbedrohlichen metabolischen Entgleisung. Für die Veranlagung zur MH gibt es im täglichen Leben keine Anzeichen. Während einer MH-Episode sind eine rechtzeitige Diagnose und eine adäquate Therapie entscheidend.

#### 1.1.2 Geschichtliche Entwicklung und Epidemiologie

Bereits nach der Einführung der Äthernästhesie durch William Thomas Green Morton 1846 im Massachusetts General Hospital in Boston wurden bei Allgemeinanästhesien Hyperthermien beobachtet.<sup>1</sup> Im Jahr 1900 wurde erstmals ein Bericht über einen Zusammenhang zwischen Hyperthermie und Narkose international publiziert.<sup>2</sup> Die Symptomtrias „Hyperthermie, Tachykardie und Tachypnoe“ bei Äthernarkosen wurde 1940 von Burford beschrieben. Als eigenes Krankheitsbild mit einer genetischen Disposition wurde die MH erstmals 1960 von Denborough und Lovell beschrieben.<sup>3</sup> Nach Analyse der Familienanamnese postulierten die Autoren einen autosomal-dominanten Erbgang mit inkompletter Penetranz.

Es kann als gesichert angenommen werden, dass die MH sich bei allen Menschenrassen, bei beiden Geschlechtern und in jedem Alter manifestieren kann. Die Gesamtprävalenz der MH-Veranlagung ist bis heute nicht genau bekannt, wird aber auf 1: 10 000 bis 1:20 000 geschätzt. Die Angaben über die Häufigkeit von MH-Krisen schwanken zwischen 1:25 bei Halothan-Succinylcholin-Narkosen bei Kindern mit Strabismus und 1:250 000 für alle Altersgruppen und Anästhesieverfahren.<sup>4</sup> Die Häufigkeit der MH in England wird auf 1:50 000 bis 1:750 000 beziffert.<sup>5</sup> Eine dänische Studie beziffert die Inzidenz von fulminanten MH-Krisen auf 1:250 000.<sup>6</sup> Für Deutschland wurde von Hartung et al. eine Inzidenz von 1:60 000 bis 1:80 000 für Allgemeinanästhesien angegeben.<sup>7</sup>

### 1.1.3 Physiologie der Zelle

An der motorischen Endplatte wird das Aktionspotential von motorischen Nerven über den Neurotransmitter Acetylcholin auf die Muskelzelle übertragen. Entlang des Sarkolemm pflanzt sich das Aktionspotential bis zu den transversalen Tubuli fort. In diesen steht die Zellmembran mit der Membran des sarkoplasmatischen Retikulums in so genannten Triaden (vgl. Abbildung 1 Miller Anaesthesiology 1036) in enger Verbindung. Dort aktiviert das ablaufende Aktionspotential im Sarkolemm spannungsabhängige Dihydropyridinrezeptoren. Über eine Konformationsänderung dieser aus fünf Untereinheiten bestehenden Rezeptoren kommt es zu einer Stimulation von Ryanodinrezeptoren (RYR), die am sarkoplasmatischen Retikulum lokalisiert sind. An der Signaltransduktion ist weiterhin das Kopplungsprotein FKBP12, das zwischen Dihydropyridin- und Ryanodinrezeptor lokalisiert ist, beteiligt. Bei dem Ryanodinrezeptor handelt es sich um einen Kalzium-Kanal, der durch die Aktivierung geöffnet wird und so zu einer Freisetzung von Kalzium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytoplasma führt. Die Kalziumionen diffundieren dann zu den kontraktiven Elementen der Muskelzelle. Durch Bindung an Troponin wird eine Interaktion zwischen Aktin und Myosin ausgelöst, die eine Kontraktion des Muskels hervorruft. Über ATP-abhängige Kalziumpumpen werden die Ionen anschließend wieder ins sarkoplasmatischen Retikulum zurückgepumpt und somit eine Relaxation des Muskels erreicht (nach <sup>8</sup>).

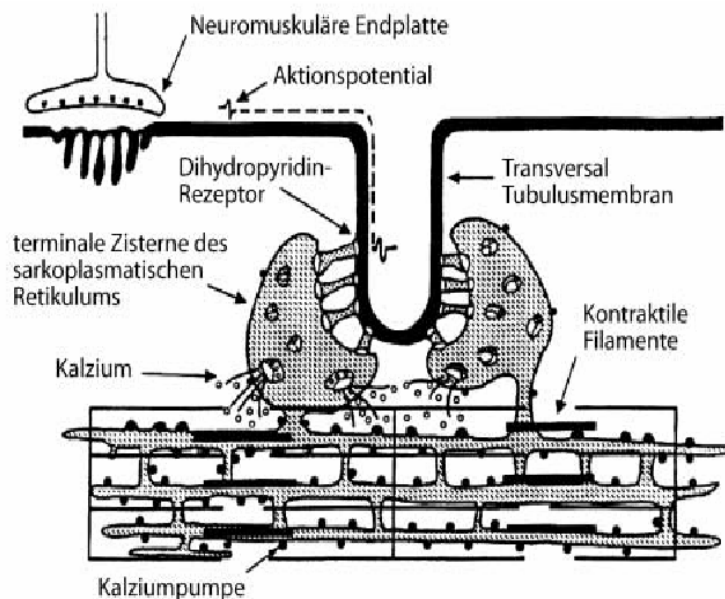


Abbildung 1a: Physiologie der Muskelkontraktion (nach <sup>1</sup>)



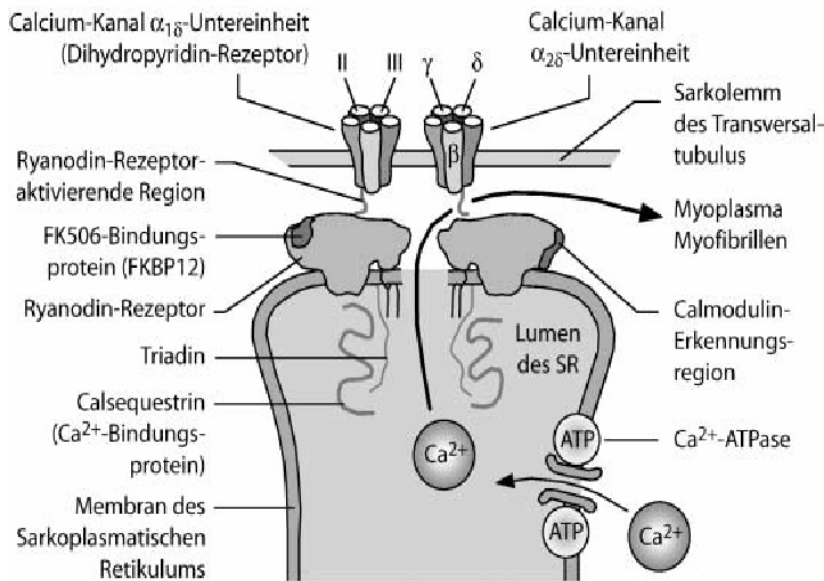


Abbildung 1b: Physiologie der Muskelkontraktion (nach <sup>1)</sup>)

Für viele Stoffwechselabläufe benötigt eine Zelle Energie in Form von Adenosintriphosphat. Durch die Abspaltung eines anorganischen Phosphates wird Energie abgegeben.

$\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i + \text{Energie}$  (die freie werdende Energie beträgt dabei  $-30,5 \text{ kJ/mol}$ )

ATP wird wiederum durch verschiedene Stoffwechselprozesse bereitgestellt. Die im Zytoplasma ablaufende Glycolyse liefert bei der Umwandlung von Glucose zu Pyruvat Energie in Form von ATP und Redoxäquivalente in Form von NADH/H<sup>+</sup>.

$\text{Glucose} + 2 \text{ Pi} + 2 \text{ ADP} + 2 \text{ NAD}^+ \rightarrow 2 \text{ Pyruvat} + 2 \text{ ATP} + 2 \text{ H}_2\text{O} + 2 \text{ NADH/H}^+$

Unter aeroben Bedingungen wird das Pyruvat nach Umwandlung in Acetyl-CoA in den Krebs-Zyklus eingespeist. In diesem werden weitere Redoxäquivalente wie das NADH/H<sup>+</sup> erzeugt. Mit Hilfe der Atmungskette werden diese Redoxäquivalente anschließend regeneriert, d.h. die beiden Wasserstoffatome werden auf Sauerstoffmoleküle übertragen. Dabei wird wiederum Energie in Form von ATP erzeugt. Unter aeroben Bedingungen werden Fette und Aminosäuren nach enzymatischer Umwandlung ebenso in den Krebs-Zyklus eingespeist. Unter anaeroben Bedingungen können die Redoxäquivalente nicht oxidativ regeneriert werden, da die Atmungskette zum Stillstand kommt, was nachfolgend auch den Krebs-Zyklus zum Erliegen bringt.

Um die bei der Glykolyse entstandenen  $\text{NADH}/\text{H}^+$  auch unter anaeroben Bedingungen zu regenerieren werden die beiden Wasserstoffatome auf das Pyruvat übertragen. Diese Reduktion zu Laktat wird von der Laktat-Dehydrogenase katalysiert (nach<sup>9</sup>).

#### 1.1.4 Pathophysiologie der Malignen Hyperthermie

Über welchen Mechanismus die verschiedenen Triggersubstanzen in der Lage sind eine MH auszulösen ist bis jetzt nicht im Detail bekannt. Die Endstrecke wird charakterisiert durch eine unkontrollierte Freisetzung von Kalziumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytoplasma. Durch die anhaltende Aktivierung der kontraktilen Filamente kommt es zur Ausbildung des typischen Rigors. Der erhöhte zytosolische Kalziumspiegel führt auch zu einem erhöhten Energiebedarf der Zelle und damit zu einer Aktivierung des aeroben und anaeroben Stoffwechsels.

An der Erhöhung des intrazellulären Kalziumspiegels ist, elektrophysiologischen Untersuchungen zufolge, eine längere Öffnungswahrscheinlichkeit der Ryanodinrezeptoren beteiligt.<sup>10</sup> Daneben konnte ein gesteigerter Inositoltriphosphatstoffwechsel bei MH-Disposition nachgewiesen werden. Eine Schlüsselrolle spielt dabei der second-messenger 1,4,5-Inositoltriphosphat ( $\text{IP}_3$ ), für den kalziumfreisetzende Eigenschaften nachgewiesen wurden.<sup>11</sup> Eine weitere Rolle in der Pathophysiologie der MH könnte auch die sarkoplasmatische Kalzium-ATPase einnehmen.<sup>12</sup> Diese pumpt Kalzium unter Energieverbrauch zurück in das sarkoplasmatische Retikulum und beendet somit die Muskelkontraktion.

#### 1.1.5 Klinik der Malignen Hyperthermie

Fulminante MH-Krisen sind von ihrem klinischen Erscheinungsbild sehr eindeutig. Die namensgebende Hyperthermie ist dabei allerdings ein Spätsymptom, das durch einen sehr raschen Temperaturanstieg ( $1^\circ$  pro 5 min] gekennzeichnet ist. Ein sensibles Frühzeichen ist eine nicht anderweitig erklärbare Hyperkapnie. Weiter wird anfänglich durch den muskulären Sauerstoffverbrauch eine sympatho-adrenerge Reaktion aktiviert, die mit einer Sinustachykardie und einer Blutdruckerhöhung einhergeht. Im weiteren Verlauf kommt es als Zeichen eines Kreislaufversagens zu kardialen Arrhythmien und einer ausgeprägten Hypotonie. Durch den nicht zu deckenden zellulären Sauerstoffverbrauch bilden sich eine generalisierte Hypoxie und eine gemischten Azidose aus. Auf zellulärer Ebene kommt es zu einer Schädigung der Muskelzellen

mit einer Freisetzung von Kalium und Muskelenzymen wie Kreatinkinase und Myoglobin im Sinne einer Rhabdomyolyse. In der Spätphase einer MH-Krise können sekundäre Komplikationen wie eine Verbrauchskoagulopathie, ein Lungen- und Hirn-ödem sowie ein Leber- und Nierenversagen hinzutreten.<sup>13</sup> Im Gegensatz zu fulminanten MH-Krisen gehen abortive Verlaufsformen nur mit weniger eindeutigen Symptomen wie milde Hyperkapnie, Masseterspasmus oder postoperativer Rhabdomyolyse einher.

### 1.1.6 Therapie der Malignen Hyperthermie

Eine frühzeitige Diagnose und eine adäquate Therapie sind bei der Behandlung elementar. Erster Schritt ist dabei die unverzügliche Beendigung der Zufuhr von Triggersubstanzen. Durch Beatmung mit reinem Sauerstoff und einer Frischgaszufuhr von mindestens 10 l/min sollte die endtidale CO<sub>2</sub>-Konzentration auf Normalwerte eingestellt werden. Zur Beseitigung der hypermetabolen Stoffwechsellage ist weiterhin die schnellstmögliche Infusion von Dantrolen in einer Dosierung von 2,5 mg/kg KG anzustreben. Bei Bedarf kann diese wiederholt werden. Daneben hat eine zügige Korrektur der Azidose Bedeutung. Dazu wird entsprechend der Blutgasanalyse Natriumhydrogenkarbonat verwendet. Erst bei einem Temperaturanstieg auf 38° bis 39° C ist eine aktive Kühlung des Patienten nötig. Nach Stabilisation des Zustandes ist eine intensivmedizinische Überwachung zur Therapie und Prophylaxe von sekundären Komplikationen obligatorisch.<sup>14</sup>

### 1.1.7 Diagnostik der Malignen Hyperthermie

Ein Standardverfahren zur präsymptomatischen Diagnostik der MH ist der In-Vitro-Kontraktur-Test (IVCT), der auf einen Vorschlag der Arbeitsgruppen um Kalow<sup>15</sup> und Ellis<sup>16</sup> zurückgeht. Dazu wird über eine offene Biopsie ein Muskelstück aus dem Musculus Quadriceps femoris entnommen. Die Exposition gegenüber Koffein und Halothan in vitro löst bei MH-Veranlagung eine pathologische Kontraktur des Muskels aus. Um eine Standardisierung der Testergebnisse zu erreichen, wurde 1983 von der European Malignant Hyperthermia Group ein Protokoll für die Testdurchführung eingeführt.<sup>17</sup> Vier Jahre später folgte ein Nordamerikanisches Protokoll.<sup>18</sup> Das Europäische Protokoll erreicht bezüglich der MH-Disposition eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 94%. Bei 7 bis 15% der untersuchten Patienten löst aber entweder nur Koffein oder nur Halothan eine entsprechende Kontraktur des Muskels

aus. Diese Patienten werden weder als MHS (susceptible) noch als MHN (non-susceptible) sondern als MHE für „equivocal“ (MHEc für Koffein oder MHEh für Halothan) eingestuft und aus Gründen der Sicherheit wie MH-positive Patienten behandelt. Das Problem der richtigen Einstufung dieser Gruppe konnte auch durch zusätzliche Tests mit Ryanodin oder Chlorokresol nicht gelöst werden.<sup>19</sup>

Weniger aufwändige Untersuchungen blieben bisher hinter den Erwartungen zurück. Die bei MH-veranlagten Patienten oft leicht erhöhte Kreatinkinase weist nur eine Sensitivität von 70% und eine Spezifität von 50% auf.<sup>20</sup> Untersuchungen auf Abnormalitäten im zellulären Stoffwechsel unter definierten Belastungen mit Hilfe von <sup>31</sup>P-magnetresonanzspektroskopischen Analysen ergaben auch keine eindeutigen Ergebnisse.<sup>21</sup> Andere biochemische Untersuchungen des ATP-Verbrauchs, der glykolytischen Aktivität, der cAMP-, Myophosphorylase-<sup>22</sup> und Adenylatcyclase-aktivität<sup>23</sup> oder der Nachweis pathologischer Proteine sind für die Diagnostik ebenfalls nicht verwertbar.

Im Rahmen genetischer Untersuchungen wurden auch Mutationen im Ryanodin-Rezeptor (RYR1) Gen auf dem Chromosom 19 gefunden. 23 dieser Mutationen erlauben heute bei entsprechender Konstellation auch ohne IVCT die Diagnostik einer MH. Allerdings gelang es bis jetzt nur in bis zu 40% aller MHS-Familien eine Mutation nachzuweisen. Ein breit einsetzbares genetisches Screening ist aufgrund der vielen noch unbekannt Mutationen in näherer Zukunft nicht zu erwarten.<sup>24</sup> Zudem wurden bisher auch 2 MH-assoziierte Mutationen auf dem Dihydropyridin-Rezeptor<sup>25</sup> nachgewiesen. Da B-Lymphozyten über den gleichen Ryanodin-Rezeptor wie Muskelzellen verfügen, bietet die Untersuchung des Verhaltens der Blutzellen eine weitere neue Ansatzmöglichkeit der Untersuchung. Eine einfache standardisierte Durchführung ist dabei allerdings noch nicht möglich.<sup>26</sup>

Histopathologische Unterschiede bei MHS-Patienten im Vergleich zu gesunden Individuen bestehen nicht. Andererseits sind nach erfolgter Biopsie histopathologische Untersuchungen sinnvoll, um unbekannt Myopathien aufzudecken.<sup>27</sup>

### 1.1.8 Pharmakologie von Koffein und Halothan

Für den IVCT werden die beiden unterschiedlichen Stoffe Koffein und Halothan eingesetzt. Bei Koffein handelt es sich um ein Methylxanthin, welches den Zellstoffwechsel auf verschiedenen Wegen beeinflussen kann. Bereits in relativ niedrigen Konzentrationen blockiert Koffein Adenosin-Rezeptoren. Über ein inhibitorisches

G-Protein erhöhen neuronale A1-Rezeptoren die Öffnungswahrscheinlichkeit von Kaliumkanälen im Gehirn. A2-Rezeptoren steigern die intrazelluläre Konzentration von cAMP. Weiter kommt es aufgrund der Hemmung der Phosphodiesterase zu einer Erhöhung der zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP)-Konzentration. Koffein zeigt auch eine hohe Affinität zum Ryanodin-Rezeptor. Dort wird die Schwelle für eine sarkoplasmatische Kalziumfreisetzung erniedrigt. In höheren Konzentrationen führt Koffein zu einer Kontraktion der Muskulatur.<sup>28</sup>

Halothan ist ein halogeniertes Alkanderivat, das bei Raumtemperatur flüssig ist und mit Hilfe eines Vapors für eine inhalative Applikation verdampft wird. Der genaue zelluläre Wirkmechanismus ist nicht bekannt. Teilweise wird ein direkter Einfluss auf Ionenkanäle vermutet;<sup>29</sup> andererseits könnte auch eine Beeinflussung der „Lipidbilayer“ der Zellmembran zur narkotisierenden Wirkung beitragen.<sup>30</sup> Obwohl alle volatilen Anästhetika eine MH auslösen können, ist Halothan als potentester Trigger anzusehen. Während direkt intravenös verabreichtes Halothan schwere zelluläre Schäden verursachen kann, kommt es zu keiner Zellschädigung, wenn das Narkosegas an einen lipophilen Träger gebunden ist.<sup>31</sup> Bei Schweinen wurde sogar gezeigt, dass mit gelöstem Halothan intravenöse Anästhesien durchzuführen sind.<sup>32</sup>

## 1.2 Mikrodialyse

### 1.2.1 Geschichtliche Entwicklung

Die Mikrodialyse ist ein seit etwa vier Jahrzehnten bekanntes und genutztes Verfahren, das hauptsächlich zur Gewinnung und Untersuchung von Substanzen aus dem Extrazellulärraum dient.<sup>33</sup> Als ein Vorläufer der modernen Mikrodialysesonden kann die 1960 von Gaddium beschriebene "Push-Pull-Sonde" angesehen werden. Dabei wurde Flüssigkeit durch eine Kanüle in das zu untersuchende Gewebe gepumpt (push) und durch eine zweite parallele Kanüle wieder abgezogen (pull). Der Flow in den beiden Kanülen musste dabei exakt gleich gehalten werden, was den hohen technischen Aufwand erklärt. Ein weiterer Nachteil ergab sich aus einer Ödembildung durch eine Flüssigkeitsaufnahme in die Zellen.<sup>34</sup> Ebenfalls zur Gewinnung von Substanzen aus dem Extrazellulärraum wurden von Bito et al. „dialysis sacks“ aus permeablen Membranen in das Subkutangewebe oder Gehirn von Hunden eingepflanzt. Einige Wochen später wurden diese wieder chirurgisch entnommen und ihr Inhalt untersucht. Durch diese Methode konnten allerdings nur Rückschlüsse über einen

größeren Zeitraum gewonnen werden.<sup>35</sup> Delgado et al. gelang 1972 die Vereinigung der beiden Methoden zur Entwicklung der „dialtrode“. Diese bestand aus der einer Push- und einer Pull-Kanüle, die durch einen permeablen Dialysemembranschlauch verbunden waren.<sup>36</sup> Die Mikrodialysetechnik, die auch heute noch benutzt wird, wurde erstmals von Ungerstedt et. al. angewandt, um die Funktion von Blutgefäßen zu imitieren.<sup>37</sup> Die Technik wurde über die letzten Jahre noch verfeinert, um Messungen in verschiedenen Geweben durchführen zu können.<sup>38</sup>

### 1.2.2 Prinzip der Mikrodialyse

Das Wirkprinzip der Mikrodialyse basiert auf der Diffusion von Molekülen entlang eines Konzentrationsgradienten zwischen zwei Kompartimenten, die durch eine semi-permeable Membran getrennt sind. Bei der in-vivo Anwendung ist das Perfusat in der Mikrodialysesonde das eine und der Extrazellulärraum das andere Kompartiment. Dank des bestehenden Konzentrationsunterschiedes können so extrazelluläre Substanzen, wie Stoffwechselendprodukte, in die Perfusionslösung diffundieren. Das durch den zweiten Schenkel der Mikrodialysesonde abfließende Dialysat kann gesammelt und analysiert werden. (Abbildung 2)

Entscheidend für die Diffusion eines Stoffes sind Membraneigenschaften wie die Porengröße und die Ladung. Für das Sammeln von Glucose, Aminosäuren, Laktat oder bestimmter Pharmaka wie Methylxantinen ist eine Porengröße von 3.000 bis 20.000 Dalton nötig. Über Membranen mit größeren Poren bis zu 100.000 Dalton können auch kleinere Proteine diffundieren. Daneben sind für die Diffusion noch Substanzeigenschaften des zu sammelnden Stoffes (Ladungen und Molekülstruktur) und der Perfusionslösung (Hydrophilie oder Lipophilie) von Bedeutung. Weitere Faktoren sind das Ausmaß des Konzentrationsgradienten und die Perfusionsgeschwindigkeit.<sup>39</sup>

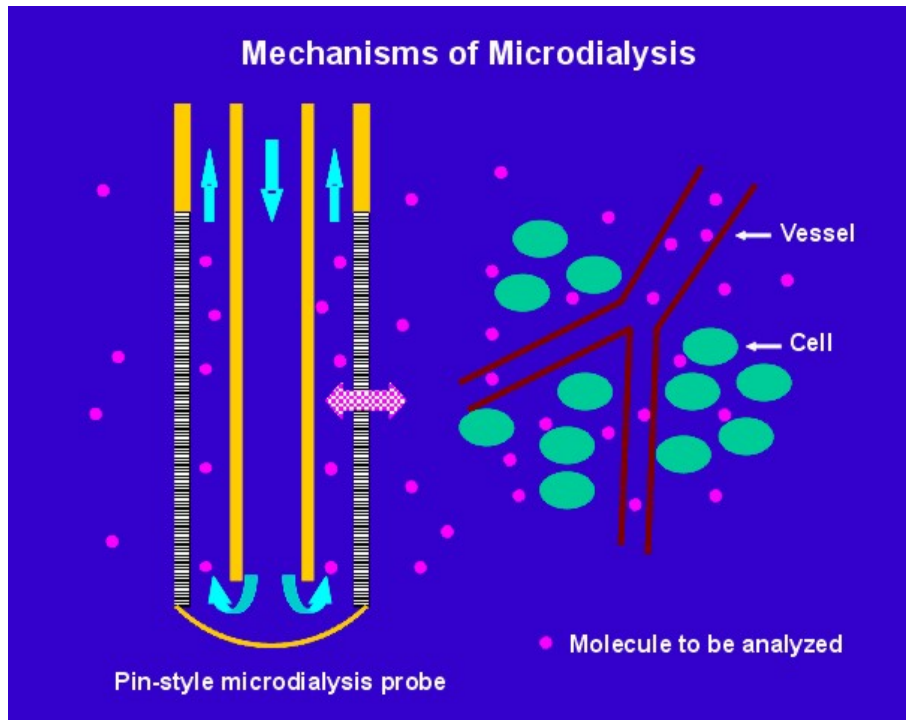


Abbildung 2: Prinzip der Mikro dialyse (nach Agneta Eliason: Application Note: Principle of Recovery CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden, 1991)

### 1.2.3 Definition und Bestimmung der „Recovery“

Die Diffusion eines Stoffes entlang einer Membran lässt sich mathematisch einfach durch das Fick'sche Gesetz beschreiben:

$$\Delta Q / dt = D * F * \Delta C / l$$

$\Delta Q$  entspricht der in der Zeiteinheit  $dt$  bewegten Stoffmenge. Diese ist direkt proportional zu der Austauschfläche  $F$  und dem Konzentrationsunterschied  $\Delta C$  und umgekehrt proportional zu der Diffusionsstrecke  $l$ .

Entsprechend dieser Formel besteht bei gleichmäßigem Fluss der Perfusionslösung ein Gleichgewicht zwischen den Stoffkonzentrationen des Extrazellulärraumes und des Dialysats. Die Konzentration eines Stoffes im abfließenden Dialysat ist abhängig von Ausmaß des Ausgleichs zwischen den beiden Kompartimenten. Dieses Ausmaß wird auch als Recovery bezeichnet. Unterschieden werden dabei eine relative Recovery und eine absolute Recovery. Die relative Recovery ist dabei definiert als der Prozentsatz einer Substanz im Dialysat im Vergleich zum untersuchten Milieu. Es besteht eine negative Korrelation zwischen relativer Recovery und Perfusionsgeschwindigkeit. Die absolute Recovery ist die Gesamtmenge einer Substanz, die

sich in einer vorgegebenen Zeit im Dialysat sammelt. Die absolute Recovery korreliert positiv mit der Perfusionsgeschwindigkeit.<sup>40</sup> (Abbildung 3)

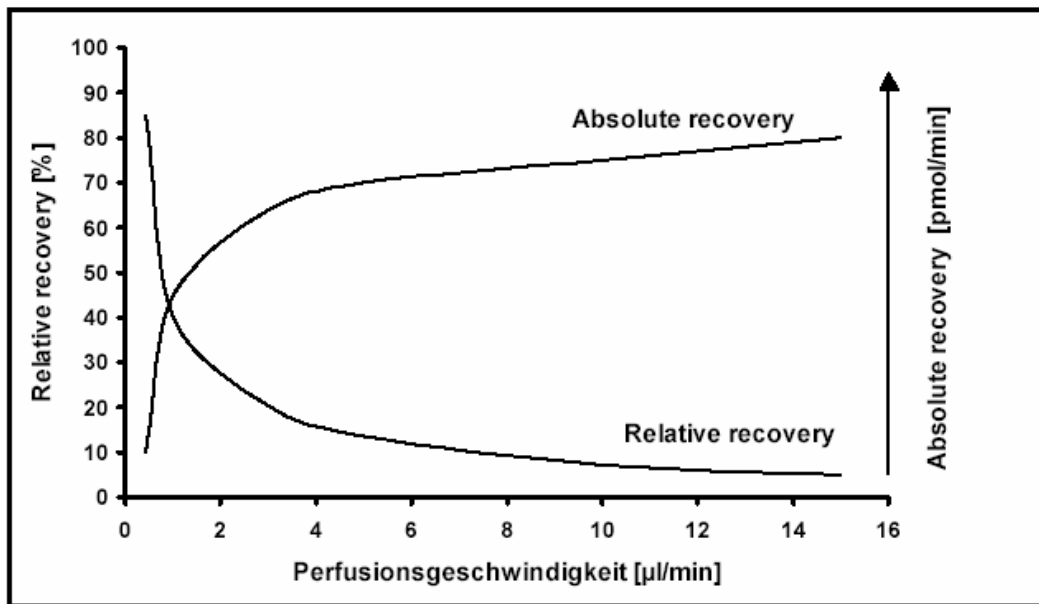


Abbildung 3: Zusammenhang zwischen Perfusionsgeschwindigkeit und Recovery (nach Agneta Eliason: Application Note: Principle of Recovery CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden, 1991)

Um die absolute Konzentration eines Stoffes im untersuchten Extrazellularraum zu errechnen ist die Kenntnis der Recovery nötig. Die Bestimmung der Recovery kann auf verschiedene Weisen erfolgen.

Die In-vitro-recovery kann verhältnismäßig einfach ermittelt werden, indem die Mikrodialysesonde in eine Lösung mit bekannter Konzentration platziert wird. Das Dialysat kann bei bekannter Flussrate analysiert werden. Die relative In-vitro-recovery ergibt sich aus dem Verhältnis zwischen den Konzentrationen im Dialysat und der Ausgangslösung. (recovery =  $c(\text{Dialysat}) / c(\text{Ausgangslösung})$ ).

Die In-vitro-recovery kann verschieden bestimmt werden. (vgl. Abbildung 4). Bei einer Methode wird die Mikrodialysesonde mit verschiedenen Flussraten perfundiert. Die relative Recovery nimmt mit abnehmender Perfusionsgeschwindigkeit zu. Unter der Annahme, dass ohne Fluss die Recovery 100% entspricht, kann über eine nicht-lineare Extrapolation die interstitielle Konzentration errechnet werden. Ein weiteres Verfahren ist die no-net-flux Methode, die von Lönnroth et al. 1987 beschrieben wurde. Dazu werden der Perfusionslösung verschiedene Konzentrationen der zu untersuchenden Substanz beigegeben. Über die gemessene Konzentration im Dialysat



kann dann die Zunahme oder Abnahme der Konzentration berechnet werden. Die extrazelluläre Konzentration ergibt sich rechnerisch an dem Punkt an dem Zu- bzw. Abnahme gleich null werden. Dieser Punkt kann über eine Regressionsgerade bestimmt werden. Bei beiden Verfahren sind allerdings mehrere Messungen nötig. Dies ist einerseits zeitaufwendig und setzt andererseits stabile Verhältnisse im untersuchten Medium voraus.

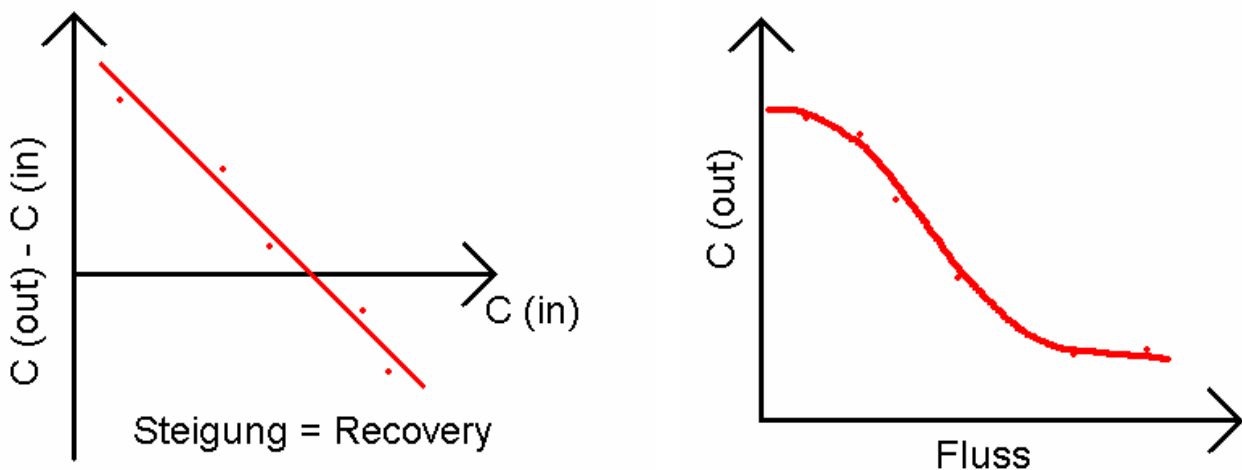


Abbildung 4: Prinzip der Recoverybestimmung (nach Jan Kehr, PhD. Department of Neuroscience, Karolinska Institute, Stockholm, [www.microdialysis.se](http://www.microdialysis.se))

Die Internal-reference-Technik geht von der Annahme aus, dass die Diffusion von Substanzen mit ähnlichen chemischen Eigenschaften in beide Richtungen der Membran gleich ist. Der Perfusionslösung kann so etwa ein markiertes Isotop des zu untersuchenden Stoffes beigegeben werde. Im Dialysat wird dann der prozentuale Verlust der markierten Substanz bestimmt. Der prozentuale Gewinn an unmarkierter Substanz entspricht bei obiger Annahme demselben Wert. Über die Konzentration im Dialysat kann dann leicht die Konzentration im untersuchten Gewebe errechnet werden. Eine entsprechende Indikatorsubstanz kann der Perfusionslösung während des gesamten Versuchs beigegeben werden. Damit können sowohl Veränderungen im untersuchten Milieu wie in den Diffusionseigenschaften gut festgestellt werden.<sup>41</sup>

### 1.2.4 Beeinflussende Faktoren

Entscheidend für die Diffusionseigenschaften einer Mikrodialysemembran sind vor allem das Material und die Porengröße. Lipophile Membranen erschweren die Diffusion von hydrophilen Substanzen genauso wie eine negative geladene Außenseite der Membran, die Verschiebung von negativ geladenen Molekülen behindert. Um kleine Veränderungen im untersuchten Extrazellularraum möglichst gut untersuchen zu können, sollte die Perfusionsflüssigkeit möglichst an die physiologischen Gegebenheiten angepasst werden. Dadurch wird auch eine mögliche Beeinflussung des zu untersuchenden Gewebes gering gehalten. Das beim Platzieren von Mikrodialysesonden entstehende lokale Gewebstrauma scheint keinen dauerhaften negativen Effekt auf das extrazelluläre Milieu zu haben. Eine kurze Äquilibrationszeit von etwa 15 Minuten ist ausreichend, um im menschlichen M. quadriceps femoris stabile Werte für Laktat und Glukose zu bestimmen.<sup>42</sup> Ebenfalls nicht relevant ist der Einfluss der Temperatur der Perfusionslösung auf die Untersuchungsergebnisse.<sup>43</sup> Einen wesentlichen Einfluss auf die Messung hat noch die Perfusionsgeschwindigkeit. Ist diese hoch wird der Konzentrationsunterschied zwischen Dialysat und Interstitium zum einen stark erhöht, zum andern kann es zu einer Filtration von Perfusionslösung in das Gewebe kommen, was das dortige Milieu verändern könnte.

### 1.3 CO<sub>2</sub>-Partialdruck-Messung

#### 1.3.1 Geschichtliche Entwicklung

Während der Polioepidemie in Kopenhagen im Jahre 1952 wurde von Astrup die Notwendigkeit einer pCO<sub>2</sub>-Messung gesehen. Bei seinen Forschungen entdeckte er einen mathematischen Zusammenhang zwischen dem Logarithmus des pCO<sub>2</sub>-Wertes und dem pH-Wert einer Lösung.

Erste Versuche einer Messung des pCO<sub>2</sub>-Partialdrucks mittels einer einfachen Sonde wurden 1953 von dem Chemiker Staw unternommen. Dazu verwendete er die Elektrode eines pH-Meters, die durch eine feuchte Kunststoffmembran von der zu untersuchenden Lösung getrennt war. Das durch die Membran diffundierende Kohlendioxid verursachte Änderungen im pH-Wert. Das störanfällige System wurde von Severinghaus und Astrup über die Jahre noch weiterentwickelt. Durch die Verwendung einer Bikarbonatpufferlösung und spezieller Membranen wurden vor allem stabilere Messergebnisse erreicht.<sup>44</sup> Schon nach wenigen Jahren waren Blutgasanaly-

sen aus vielen Intensivstationen nicht mehr weg zu denken. Durch die Entwicklung immer kleinerer Bauteile wurde es möglich, immer geringere Probenmengen zu analysieren. Ebenso wurden kleine tragbare Messgeräte für verschiedenste Einsatzzwecke entwickelt.

Ebenfalls auf dem Prinzip einer durch Kohlendioxid bedingten pH-Wert-Änderung basiert die optische Messung. Statt mit einer Elektrode wird der pH-Wert mit einer Optode bestimmt. Dabei wird nicht ein messbares Redoxpotential, sondern das optische Verhalten eines Indikators benutzt. Die seit den achtziger Jahren verstärkten Bemühungen, ein Verfahren zur kontinuierlichen Blutgasanalyse zu entwickeln, griffen dabei auf dieses Prinzip zurück.<sup>45</sup>

### 1.3.2 Prinzip und Aufbau des Paratrend-CO<sub>2</sub>-Sensors

Die pCO<sub>2</sub>-Sonde arbeitet nach einem optischen Absorptionsprinzip. Es handelt sich um einen pH-Sensor, der für eine CO<sub>2</sub>-Messung selektiv ist. Die Selektivität wird dadurch erreicht, dass der Sensor durch eine gasdurchlässige Polyethylenmembran vom zu untersuchenden Medium getrennt ist. Das durch diese Membran diffundierende Kohlendioxid reagiert mit dem in der Messlösung enthaltenen Natriumbikarbonat. Dabei werden Protonen freigesetzt. Diese vermindern den in der Lösung bestehenden pH-Wert und ändern so die Farbe des Indikators Phenol-Rot. Die Absorption eines grünen Lichtes der Wellenlänge 555 nm wird durch diese Änderung vermindert. Unterschiede in der Transmission sind somit proportional zum pH-Wert und damit zum Logarithmus des pCO<sub>2</sub>-Wertes.

Eine Form der technischen Umsetzung dieses Prinzips ergibt dabei den Aufbau der Paratrend-Sonde. (Abbildung 5). Vom Trendcare-Monitor werden grüne Lichtimpulse der Wellenlänge 555 nm durch ein fiberoptisches Kabel geschickt. Im Bereich der Messspitze befinden sich Bohrungen, die das Puffer/Indikator-Gemisch enthalten. Der Lichtimpuls läuft durch diese hindurch, wird von einem Spiegel an der Spitze der Sonde reflektiert und passiert erneut die Messlösung. Über einen Photodetektor wird die Intensität des einlaufenden Lichtimpulses gemessen. Durch einen Vergleich zwischen gesendetem und empfangenem Signal kann die Transmission und damit der Partialdruck berechnet werden. Zwischen den grünen Lichtimpulsen werden rote Lichtimpulse mit einer Wellenlänge von 660 nm durch die Messsonde geschickt. Diese Wellenlänge wird durch den Indikator nicht beeinflusst. Änderungen im Verhalten

des roten Lichtimpulses reflektieren damit Änderungen im optischen System, etwa durch Abknicken der Sonde.<sup>46</sup>

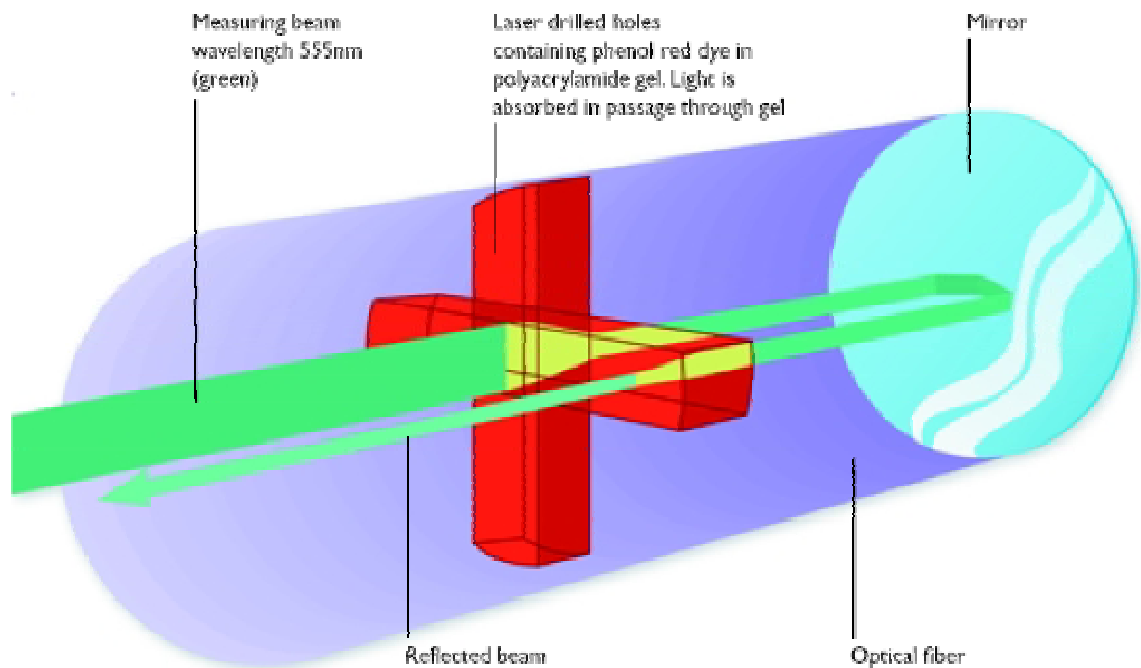


Abbildung 5: Prinzip des Paratrend CO<sub>2</sub>-Sensors (nach Trendcare continuous blood gas monitoring system, Technical Overview Diametrics, Medical)

### 1.3.3 Beeinflussende Faktoren

In etlichen verschiedenen Studien wurde der Paratrend-CO<sub>2</sub>-Sensor auf Tauglichkeit und Verlässlichkeit untersucht. Ein Vergleich der durch den Sensor gemessenen Werte mit denen eines herkömmlichen Blutgasmessgerätes ergab für den Kohlendioxidpartialdruck, wie für die anderen Werte, eine gute Übereinstimmung. Insgesamt ergaben die Untersuchungen, dass es sich bei der Paratrend-Sonde um ein wenig störanfälliges Messsystem handelt. Es zeigte sich allerdings, dass ein zu starkes Abknicken der Sonden zu einem Funktionsausfall führen kann.<sup>47</sup>

Der vom Hersteller angegebene Messbereich für pCO<sub>2</sub> beträgt 10 bis 160 mmHg. Die Genauigkeit wird mit +/- 3mmHg angegeben. Die Responsezeit bei 37 Grad soll 15 Sekunden betragen.

#### 1.4 Fragestellung

Seit über 20 Jahren erlaubt der In-vitro-Kontrakturtest als einziges klinisches Verfahren die zuverlässige Diagnostik einer MH-Veranlagung. Dieses Verfahren ist sehr aufwendig, zeit- und arbeitsintensiv und damit auch teuer. Durch die hohe Invasivität des Verfahrens entstehen für die Patienten neben der langen Rekonvaleszenzzeit auch Risiken wie Blutungen, Infektionen und Wundheilungsstörungen. In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob eine minimal-invasive Untersuchung mit Laktat-Mikrodialyse und Kohlendioxid-partialdruckmessung eine metabolische Diagnostik der MH ermöglichen könnte.

## **2 Methodik**

### 2.1 Versuchsaufbau

#### 2.1.1 Probanden

Mit Genehmigung der Ethikkommission der Universität wurden 21 gesunde Individuen im Alter von 18 bis 70 Jahren untersucht. Alle gaben im Vorfeld schriftlich ihre Einwilligung. Fünfzehn Probanden hatten entweder eine persönliche oder familiäre MH-relevante Vorgeschichte. Die MH-Diagnose dieser Probanden war bereits vor der Studie durch den IVCT gesichert worden. Sechs erwiesen sich als MHS und sieben als MHN. Weitere sieben Probanden ohne MH-relevante Vorgeschichte oder Muskelbiopsie wurden ebenfalls mituntersucht. Das Vorliegen weiterer bekannter Myopathien sowie ein BMI von über 35 führten zum Ausschluss von der Studie.

#### 2.1.2 Vorbereitung der Probanden

Alle Untersuchungen fanden im urologischen Aufwachraum der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Würzburg statt. Eine optimale Überwachung sowie die Verfügbarkeit von Notfallmedikamenten waren so jederzeit gewährleistet. Die Probanden wurden in einem normalen Patientenbett gelagert. Die Stabilisierung des untersuchten Beines erfolgte mit einer Beinschiene aus Schaumstoff. Die Messungen wurden in bequemer Rückenlage durchgeführt.

Während der gesamten Untersuchungszeit wurden die Vitalparameter der Patienten (Herzfrequenz, periphere Sauerstoffsättigung, Blutdruck) überwacht. Der Blutdruck wurde im Abstand von 15 Minuten gemessen. Im selben Zeitintervall wurden auch die Schmerzen im untersuchten Oberschenkel anhand einer Visuellen Analog-Skala (VAS) bestimmt und dokumentiert. Für das Platzieren der Kanülen im Oberschenkel wurde ebenso ein Schmerzwert nach VAS ermittelt.

Vor Beginn der Untersuchung erfolgte bei allen Probanden eine venöse Blutentnahme. Dabei sollten Ausgangswerte für die Kreatinkinase (CK) und das Myoglobin (Mb) ermittelt werden.

### 2.1.3 Platzieren der Kanülen

Nach Aufsuchen des Musculus vastus lateralis erfolgte eine Markierung der späteren Einstichstellen im Bereich des distalen Drittels des Muskels. Nach gründlicher Desinfektion des Hautareals folgte unter sterilen Bedingungen eine lokale Betäubung durch Infiltration mit 10 ml Mepivacain 1% (Scandicain 1%, Astra-Zeneca, Wedel, Deutschland). Um eine potentielle Beeinflussung der Messergebnisse zu vermeiden, wurde darauf geachtet, dass es zu keiner Injektion von Lokalanästhetikum in den Muskel kam. Nach einem kurzen Einritzen der Haut, um eine mögliche Narbenbildung durch die Ausstanzung von Gewebe zu verhindern, erfolgte das Platzieren der beiden 14 G Venenverweilkanülen. Beide wurden parallel zueinander in einem Einstichwinkel von 30° zur Haut in kranialer Richtung etwa 7 cm tief in den Vastus lateralis geschoben. Der Abstand der beiden Kanülen betrug dabei mindestens zwei Zentimeter.

Mit Hilfe eines Ultraschallgerätes wurde anschließend die korrekte Lage der Kanülen überprüft. (Abbildungen 6 und 7) Entscheidend war dabei, dass die Enden der beiden Kanülen sicher im Muskel lagen. Mittels Ultraschall wurde der Abstand der beiden Kanülen gemessen. Bei einer unsicheren intramuskulären Lage oder einem Abstand von weniger als 20 mm wurden die Sonden neu platziert. Nach Dokumentation der korrekten Lage konnten die Stahlmandrains entfernt werden.

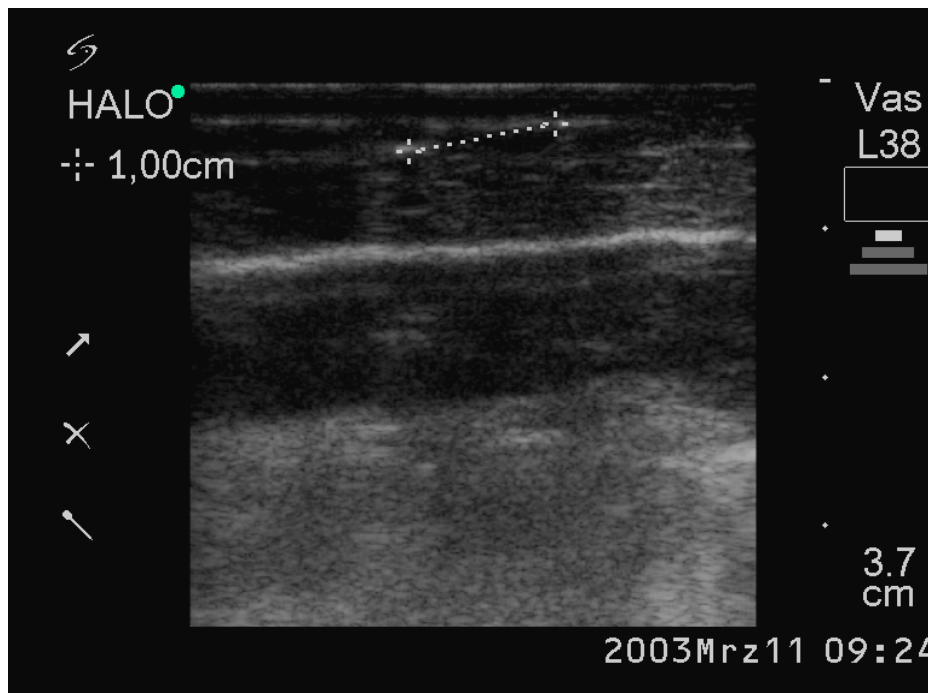


Abbildung 6: Intramuskuläre Lage der Kanülen

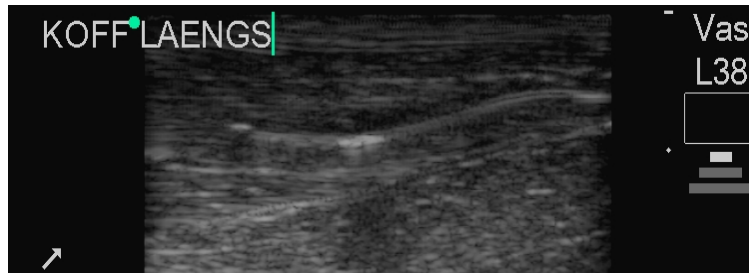


Abbildung 7: Intramuskuläre Lage der Kanülen

#### 2.1.4 Einsetzen der Messvorrichtung (aus Zuspritzkatheter, Mikrodialyse- und CO<sub>2</sub>-Sonde)

Durch Einsetzen der kalibrierten Paratrend-Sonden in den freien Schenkeln der Hämostatischen Ventile wurden die vorgefertigten Sets aus Mikrodialysesonde und Zuspritzkatheter komplettiert. Die CO<sub>2</sub>-Sonde wurde ebenfalls soweit vorgeschoben, bis sie 5 cm aus dem Hämostatischen Ventil hinaus ragte. Dadurch sollte sichergestellt werden, dass Zuspritzkatheter, Mikrodialyse und CO<sub>2</sub>-Sonde auf gleicher Höhe im Muskel zu liegen kamen. (Abbildung 8). Dann wurde der Totraum der Mikrodialysesonde durch Perfusion mit Ringer-Lösung gefüllt. Anschließend erfolgte das Platzieren der Messvorrichtung in den Muskel. Die Sonden und der Zuspritzkatheter wurden bis zum Anschlag in die Venenverweilkanüle eingeführt und diese dann um etwa 2 cm zurückgezogen. Auf diese Weise sollte erreicht werden, dass sowohl der Zuspritzkatheter, die Mikrodialysesonde und die Paratrend-Sonde in unmittelbarer Nachbarschaft im Muskel zu liegen kamen.



Abbildung 8: Messvorrichtung (Mikrodialysesonde fehlt)



### 2.1.5 Beginn der Messung

Noch vor Beginn der Messung wurde begonnen, die beiden Mikrodialysesonden mit Ringerlösung zu perfundieren. Der gewählte Fluss betrug während der gesamten Zeit 1  $\mu$ l pro Minute. Nachdem sichergestellt wurde, dass die beiden Mikrodialysesonden Dialysat förderten, konnte mit der eigentlichen Messung begonnen werden. Dazu wurde in jeweils einem Eppendorf-Gefäß über einen Zeitraum von 15 Minuten das Dialysat gesammelt. Im Abstand von 15 Minuten wurde das Auffanggefäß gewechselt und somit stets 15  $\mu$ l Lösung aufgefangen.

Gleichzeitig mit dem Beginn der Sammlung von Dialysat wurde mit der Aufzeichnung der Kohlendioxidpartialdrücke begonnen. Für jede Minute erfolgte die Bestimmung und Aufzeichnung eines  $p\text{CO}_2$ -Wertes.

### 2.1.6 Stimulation

Mit Beginn der Messungen wurden beide Zuspritzkatheter mit jeweils 500  $\mu$ l Ringerlösung gespült. Die Applikation erfolgte als Bolus durch rasche Applikation mit der Hand.

Dreißig Minuten nach Injektion der Ringer-Lösung wurde über beide Zuspritzkatheter jeweils die Triggerlösung appliziert. Die Injektion von 100  $\mu$ l der 10% Halothanlösung erfolgte in die mediale und die 500  $\mu$ l der 80mM Koffeinlösung in die laterale Messvorrichtung. Um eine möglichst schnelle Applikation zu erzielen, wurden beide Substanzen direkt mit der Hand gespritzt.

### 2.1.7 Versuchsende

Fünfundsiebzig Minuten nach Injektion der Triggerlösungen wurde die Sammlung von Dialysat und Messung der  $\text{CO}_2$ -Werte beendet. Nach Ende der Messungen wurde den Probanden nochmals venös Blut entnommen. Wie zu Beginn des Versuchs erfolgte die Bestimmung von Kreatinkinase (CK) und Myoglobin (Mb). Ebenfalls wurde eine Blutgasanalyse des venösen Blutes durchgeführt.

Nach Durchführung des Versuchs wurden die beiden Messvorrichtungen aus dem Oberschenkel gezogen. Die Versorgung der beiden kleinen Wunden erfolgte mit einem sterilen Verband (Leuko Strip, Beiersdorf, Hamburg, Deutschland). Der betroffene Oberschenkel wurde mit einer elastischen Binde (bmp-Idealbinde, Beiersdorf, Hamburg, Deutschland) gewickelt. Die Probanden wurden anschließend im schmerzfreien Zustand entlassen.

In einem Zeitraum von 12 bis 24 Stunden nach der Untersuchung wurde bei den Probanden nochmals venös Blut entnommen. Wieder erfolgte die Bestimmung der oben erwähnten Werte.

Zwei Wochen nach Durchführung der Untersuchung bekamen die Probanden noch ein Fragebogen zugeschickt. Darin waren Fragen über den Ablauf der Untersuchung und den Verlauf der Wundheilung zu beantworten. Der ausgefüllte Bogen wurde an uns zurückgeschickt und ausgewertet.

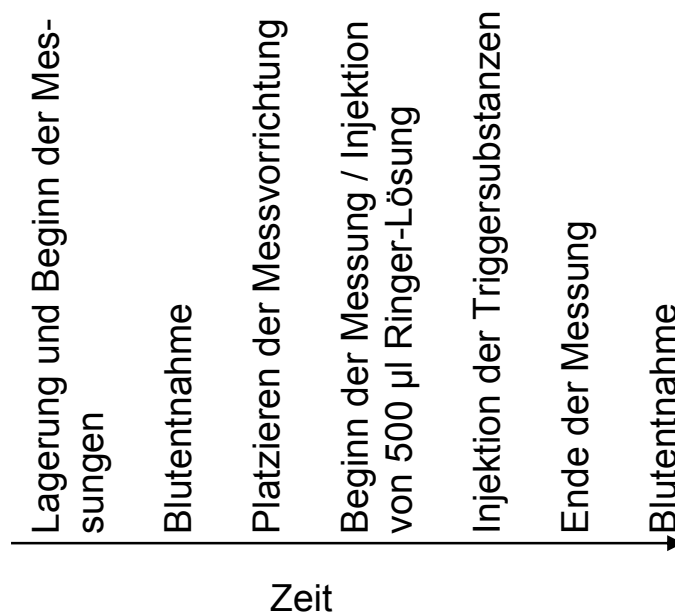


Abbildung 9: Zeitlicher Ablauf der Untersuchung

## 2.2 Probenanalyse

Jeweils 10 µl des gewonnenen Dialysats wurde unmittelbar nach der Untersuchung mit 1 ml Laktatreagenz vermischt und für 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Der durch die oben beschriebene Reaktion entstandene Farbstoff wurde anschließend bei 540 nm spektrometrisch vermessen und so die Laktatkonzentration bestimmt.

## 2.3 Material

### 2.3.1 Mikrodialyse und pCO<sub>2</sub>-Sonden

Für die Messungen von Laktat wurden flexible Mikrodialysesonden (*MAB 7, Microbiotec/se, Stockholm, Schweden*) verwendet. Die 10 mm lange Dialysemembran aus Polyethersulphon hat eine Porengröße von 15.000 Dalton. Der Totraum des Schlauchs beträgt 13,6 µl. Die Länge des zuführenden und des abführenden Schenkels beträgt 200 mm. In vorhergehenden Untersuchungen konnte bei einer Perfusionsgeschwindigkeit von 1 µl/min eine In-vitro-recovery von 70 – 80% bestimmt werden.

Für die Messungen des Kohlendioxidpartialdrucks wurden jeweils Paratrend-Sonden (Trendcare, Diametrics Medical, Highwycombe, England) verwendet. Die Sonden wurden vor der Untersuchung entsprechend der Bedienungsanleitung in-vitro kalibriert.

### 2.3.2 Weiteres Material

Die Platzierung der Messvorrichtung in den Muskel erfolgte mit Venenverweilkanülen von Typ Insyte der Größe 14 G (BD, Heidelberg, Deutschland). Als Zuspritzkatheter für die intramuskuläre Injektion wurden 23 G Epiduralkatheter mit drei seitlichen Öffnungen (Pajunk, Geisingen, Deutschland) verwendet. Um die Mikrodialyse-sonde, die Paratrendsonde sowie den Zuspritzkatheter in die Venenverweilkanüle zu fixieren kam ein rotierendes Hämostatisches Ventil (Guidant, Gießen, Deutschland) zum Einsatz. Für Perfusion und Injektion wurden 1 ml Spritzen mit Luer-Lock (BD, Heidelberg, Deutschland) verwendet.

Zur Perfusion der Mikrodialysesonden wurde Ringer-Lösung (Na 147,1 mM, K 4,0 mM, Ca 2,25 mM, Cl 155,6 mM) (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) eingesetzt. Für die spektrometrische Messung der Laktatkonzentration wurde Laktatreagenz (Sigma Chemicals, Deisenhofen, Deutschland) in 10 ml aqua ad injectabile gelöst. Das Reagenz enthält 400 U/L Laktatoxidase, 2400 U/L Merrettichperoxidase, chromogene Vorstufen, Stabilisatoren und Puffer, die einen pH-Wert von 7,2 herstellen<sup>48</sup>. Das Reagenz wurde vor jeder Messung neu hergestellt.

### 2.3.3 Untersuchungssets

Um den späteren Untersuchungsablauf so zügig wie möglich zu gestalten, erfolgte bereits im Vorfeld das Zusammensetzen der einzelnen Untersuchungssets. (Abbildung 6). Mit Hilfe des Hämostatischen Ventils wurden die Mikrodialysesonde und der Epiduralkatheter so fixiert, dass beide genau 5 cm aus dem Ventilansatz hinausragten, dadurch sollte gewährleistet werden, dass sowohl Messung wie Applikation an der gleichen Stelle im Muskel erfolgten. Alle übrigen für eine Untersuchung nötigen Materialien wurden dem Set zugefügt und anschließend verschweißt.

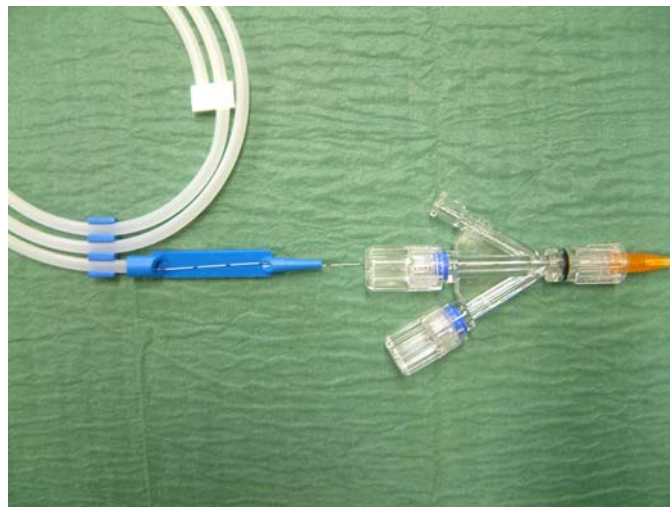


Abbildung 10: Untersuchungssets (Mikrodialysesonde fehlt)

Die zusammengesetzten Sets wurden vor der Verwendung mit Ethylenoxid sterilisiert. Dieses Verfahren hat den Vorteil, für komplexe Geometrien gut geeignet zu sein. Aufgrund der verhältnismäßig tiefen Temperaturen von 55°C ist es auch materialschonender als andere Methoden.<sup>49</sup>

### 2.3.4 Triggerlösungen

Die 80 mM Koffeinlösung stellte die Apotheke des Universitätsklinikums Würzburg her. Dabei wurden 15,534 mg Koffein ( $M=194,19$  g/mol) (Merk, Darmstadt, Deutschland) in einem Liter Ringerlösung (Ringer-Infusionslösung, Braun, Melsungen, Deutschland) aufgelöst. Die entstandene Lösung wurde mittels Ultrafiltration sterilisiert und anschließend in 10 ml Stechampullen steril verpackt.

Die Halothanlösung wurde 30 Minuten vor jeder Untersuchung frisch hergestellt. Durch Mischen von 2 ml Halothan (Eurim-Pharm, Piding, Deutschland) mit 18 ml Li-

pofundin (Braun, Melsungen, Deutschland) in einem gasdichten Glaskolben entstand eine 10% (vol/vol) Halothanlösung. Bis zur Verwendung der Lösung erfolgte die Aufbewahrung im Kühlschrank.

### 2.3.5 Geräte

Zur Perfusion der Mikrodialysesonden wurde eine Präzisions-spritzenpumpe CMA/100 (CMA/Microdialysis, Stockholm, Schweden) verwendet.

Die Bestimmung der Laktatkonzentration erfolgte mit einem HP 8453-UV-Visible Spektrometer (Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland), kombiniert mit einem Vectra XA-Computer (Hewlett Packard) und dem Programm Visible-Chem-Station Software (Hewlett Packard).

Die Blutgasanalysen wurde mit einem ABL 505 Radiometer (Radiometer, Willich, Deutschland) durchgeführt. Alle anderen Blutuntersuchungen fanden im Zentrallabor des Universitätsklinikums Würzburg statt.

## 2.4 Ermittlung der Standardkurve für Laktat

Für die spektrometrische Messung der Laktatkonzentration im Dialysat ist es nötig eine Eichkurve zu erstellen. Dies erfolgt über die Untersuchung von Standardlösungen (Sigma Chemie, Deisenhofen, Deutschland) bestimmter Konzentrationen. In eine 1,5 ml Küvette (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) werden zu 1 ml Laktatrea-genz jeweils 10 µl der Standardlösung gegeben. Die Mischung wird anschließend für 10 Minuten im Dunkeln inkubiert. Dabei wird die Milchsäure durch die Laktatoxidase zu Pyruvat und Wasserstoffperoxid oxidiert. Die Merrettichperoxidase katalysiert dann die Reaktion des Peroxides mit den chromogenen Vorstufen in der Lösung. Dabei bildet sich ein Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum bei 540 nm. Nach dem Lambert-Beer-Gesetz ist die mit dem Spektrometer gemessene Absorption direkt proportional zur Laktatkonzentration. Aufgrund einer später gemessenen Ab-sorption kann anhand der Eichkurve die unbekannte Konzentration bestimmt werden.<sup>50</sup>

## 2.5 Statistik

Um die Reihenfolge der Probanden zu randomisieren, wurde deren Verfügbarkeit zur Teilnahme an der Studie genutzt. Diese war unabhängig von der MH-Diagnose. Alle Daten sind als Median und Quartilen angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen

den untersuchten Gruppen wurden mit der Kruskal-Wallis Analyse untersucht. Um signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen zu finden, wurde der Mann-Whitney–U-Test verwendet.

Für Veränderungen von Werten erfolgte die Prüfung mittels Wilcoxon Test.

Ein  $p < 0,05$  wurde als signifikant angenommen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Probanden

Die drei untersuchten Gruppen unterschieden sich nicht in Bezug auf die biometrischen Daten.

Gruppe:	Kontrolle	MHN	MHS
Geschlecht [♀:♂]:	2:5	3:3	3:3
Alter [Jahre]:	24 [21/25]	33 [31/34]	42 [30/52]
Größe [cm]:	179 [175/182]	170 [170/173]	170 [165/174]
Gewicht [kg]:	73 [67/76,8]	67 [59/79,5]	72,5 [61,25/84,5]

Zwischen zwei Probanden der MHS-Gruppe bestand eine Verwandtschaft ersten Grades. Bei vier der sechs MHS-Probanden ist eine kausale Mutation bekannt.

Ein Proband wurde nachträglich von der Untersuchung ausgeschlossen, da aufgrund der persistierend hohen Kreatinkinasewerte von ca. 1000 U/l der Verdacht einer bis jetzt noch nicht diagnostizierten Myopathie nicht sicher ausgeschlossen werden konnte.

Die Ergebnisse eines weiteren Probanden wurden nicht verwendet, da aufgrund der Diagnose MHEh eine sichere Einteilung in eine der Gruppen nicht möglich war.

#### 3.2 Vitalparameter

Während des gesamten Versuchs unterschieden sich die drei Gruppen nicht bezüglich der Herzfrequenz und des Blutdrucks. Bei allen Untersuchten bewegte sich der Puls zwischen 50/min und 88/min. Der mittlere arterielle Blutdruck lag zwischen 70 mmHg und 105 mmHg. Alle Probanden hatten über die ganze Zeit eine periphere Sauerstoffsättigung von über 95%.

#### 3.3 Schmerzen nach VAS

Der während der Untersuchung regelmäßig ermittelte VAS-Wert für die Intensität des verspürten Schmerzes zeigte Unterschiede zwischen den Gruppen. Der beim Durchstechen der Muskelfaszie gefühlte Schmerz wurde von den drei Gruppen als fast gleich angegeben (MHS (3,0 [2,25/5,25]; MHN (2,0 [1,25/2,75]; Kontrolle 2,0 [2,0/2,75]). Nach Injektion ergaben sich aber zwischen den Gruppen leichte Unter-

schiede. Am stärksten empfand die MHS-Gruppe Schmerzen nach Trigger-Applikation bei einem VAS von 3,5 [2,25/4]. Die MHN-Gruppe empfand den Schmerz als weniger intensiv mit einem VAS von 2 [1,25/2.75]. Am wenigsten schmerzhaft wurde die Injektion von der Kontrollgruppe empfunden (VAS 1 [0/2]).

Der Schmerz wurde von den meisten Probanden als drückend und einem Muskelkrampf ähnlich beschrieben. Der Muskel an sich war jedoch bei allen Probanden palpatorisch normal weich.

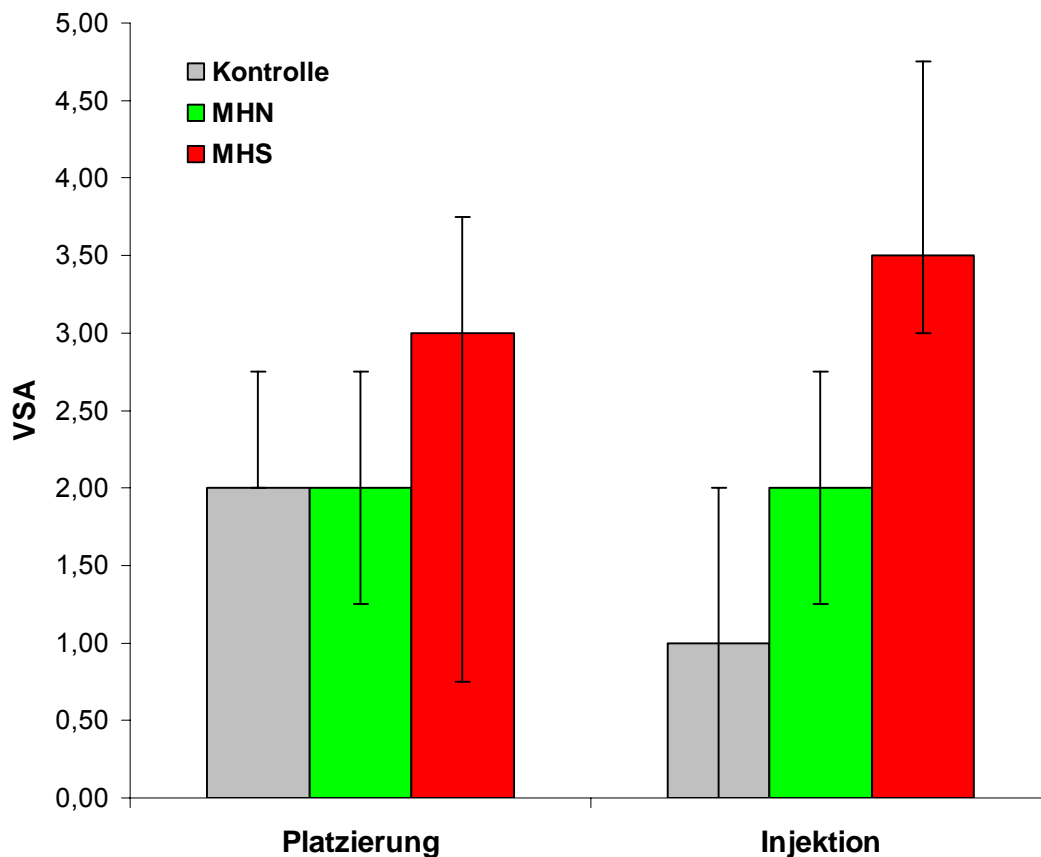


Abbildung 11: Schmerzen bei Platzierung der Kanüle und Injektion von Triggersubstanzen

### 3.4 Systemische metabolische Parameter

#### 3.4.1 Muskelenzyme

Die Kreatinkinase in der MHS-Gruppe war zu Beginn der Untersuchung höher als in den beiden anderen Gruppen. Zwischen diesen beiden bestand kein Unterschied. In der MHS-Gruppe stiegen die Werte von 266 U/l über 236 U/l unmittelbar nach der Untersuchung auf 687 U/l nach 24 Stunden. Der Unterschied zwischen den Aus-



gangswerten und dem 24-Stundenwert war demnach signifikant. In der MHN-Gruppe ergab sich kein Unterschied zwischen Ausgangs- und 24-Stundenwert. Anders verhielt es sich in der Kontrollgruppe. Hier konnte ein Anstieg gezeigt werden.

Der höchste Wert für die Kreatinkinase (CK) lag bei 1174 U/l und wurde 24 Stunden nach der Untersuchung bei einem MH-positiven Probanden gemessen. Der Anfangswert für die CK bei diesem Individuum betrug 899 U/l, ohne dass klinische Zeichen einer Myopathie erkennbar waren.

Kreatinkinase/Gruppe	Kontrolle	MHN	MHS
Vor Untersuchung [U/l]:	105 [91 / 111]	151 [78 / 189]	266 [206 / 499]
Nach Untersuchung [U/l]:	86 [75 / 101]	135 [81 / 174]	236 [180 / 427]
24 Std. nach Unters. [U/l]:	203 [167 / 235]	248 [190 / 262]	687 [380 / 959]

Bei den Myoglobin-Werten ergab sich bezüglich der Gruppenverteilung ein ähnliches Bild. Bei den MH-positiven Probanden waren die Werte am höchsten. Es folgten die MH-negativen Probanden noch vor der Kontrollgruppe.

Bei der MHS-Gruppe stieg das Myoglobin von einem Ausgangswert von 66 U/l auf 95 U/l in der Messung unmittelbar nach der Untersuchung. Bis zur Messung nach 24 Stunden fiel der Wert wieder auf 60 U/l ab.

In der MHN-Gruppe fiel der Wert primär ab, um nach 24 Stunden wieder leicht anzusteigen. In der Kontrollgruppe war keine primärrere Änderung sichtbar, während der 24 Stunden Wert etwas höher lag. Bei der Messung direkt nach der Untersuchung ergab sich ein Unterschied sowohl zwischen der MHS- und der MHN-Gruppe wie zwischen der MHS- und der Kontrollgruppe.

Der höchste Myoglobin-Wert von 290 µg/l wurde bei einem MH-positiven Probanden vor der Untersuchung gemessen.

Myoglobin/Gruppe	Kontrolle	MHN	MHS
Vor Untersuchung [U/l]:	36 [30 / 39]	55 [49 / 62]	66 [55 / 73]
Nach Untersuchung [U/l]:	36 [36 / 42]	49 [48 / 54]	95 [79 / 107]
24 Std. nach Unters. [U/l]:	42 [33 / 56]	58 [46 / 66]	60 [52 / 70]

### 3.4.2 Blutgasanalyse

Zu Ende des Versuchs und damit 75 Minuten nach Applikation der Trigger-Substanzen zeigte die gemessene Blutgasanalyse keine Auffälligkeiten. Die gemessenen pH-Werte, der Kohlendioxidpartialdruck und der Basenüberschuss lagen im physiologischen Bereich und unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen.

ven. BGA/Gruppe	Kontrolle	MHN	MHS
pH-Wert:	7,40 [7,39/7,40]	7,39 [7,38/7,41]	7,40 [7,40/7,42]
pCO <sub>2</sub> [mmHg]:	46,3 [44,6/46,6]	44,3 [38,7/49,7]	44,1 [42,7/45,2]
BE [mmol/l]:	2,65 [1,93/ 3,0]	1,7 [0,78/3,30]	2,3 [1,85/3,2]

### 3.5 Laktatmessung

Nach dem Legen der Kanülen äquilibrierten die gemessenen Laktatkonzentrationen innerhalb von 30 Minuten. Die bei allen Probanden gemessenen Konzentrationen lagen in einem Bereich von 0,15 mM bis 0,88 mM. Der Mittelwert aller 30 Minuten nach Platzierung gemessener Laktatwerte lag bei 0,7 mM. Es zeigten sich dabei keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

In der MHS-Gruppe stieg nach Applikation von Koffein die Milchsäurekonzentration von 0,6 mM [0,5 / 0,9] als Ausgangswert auf den Maximalwert von 2,6 mM [2,3 / 3,6]. Dieses Maximum wurde 45 Minuten nach Injektion von Koffein erreicht. Bei gleicher Stimulation stieg die Laktatkonzentration in der MHN-Gruppe nur von 0,7 mM [0,5 / 0,9] auf ein Maximum von 1,1 mM [0,8 / 1,5]. Dieser Wert wurde ebenfalls nach 45 Minuten erreicht. Bei der Kontrollgruppe war ebenfalls ein weniger stark ausgeprägter Anstieg sichtbar. Innerhalb von 45 Minuten stieg die gemessene Konzentration von 0,7 mM [0,5 / 0,8] auf 0,9 mM [0,8 / 1,0].

Zwischen den drei Gruppen zeigten sich Unterschiede in den erreichten Maximalwerten. So wurde in der MHS-Gruppe die höchsten Werte gemessen, gefolgt von der MHN-Gruppe und der Kontrollgruppe. Zwischen der MH-positiven und den MH-negativen Individuen war der gemessene Unterschied signifikant. Ebenso signifikant war der Unterschied zwischen den MH-positiven und der Kontrollgruppe. MHN- und Kontrollgruppe unterschieden sich nicht.

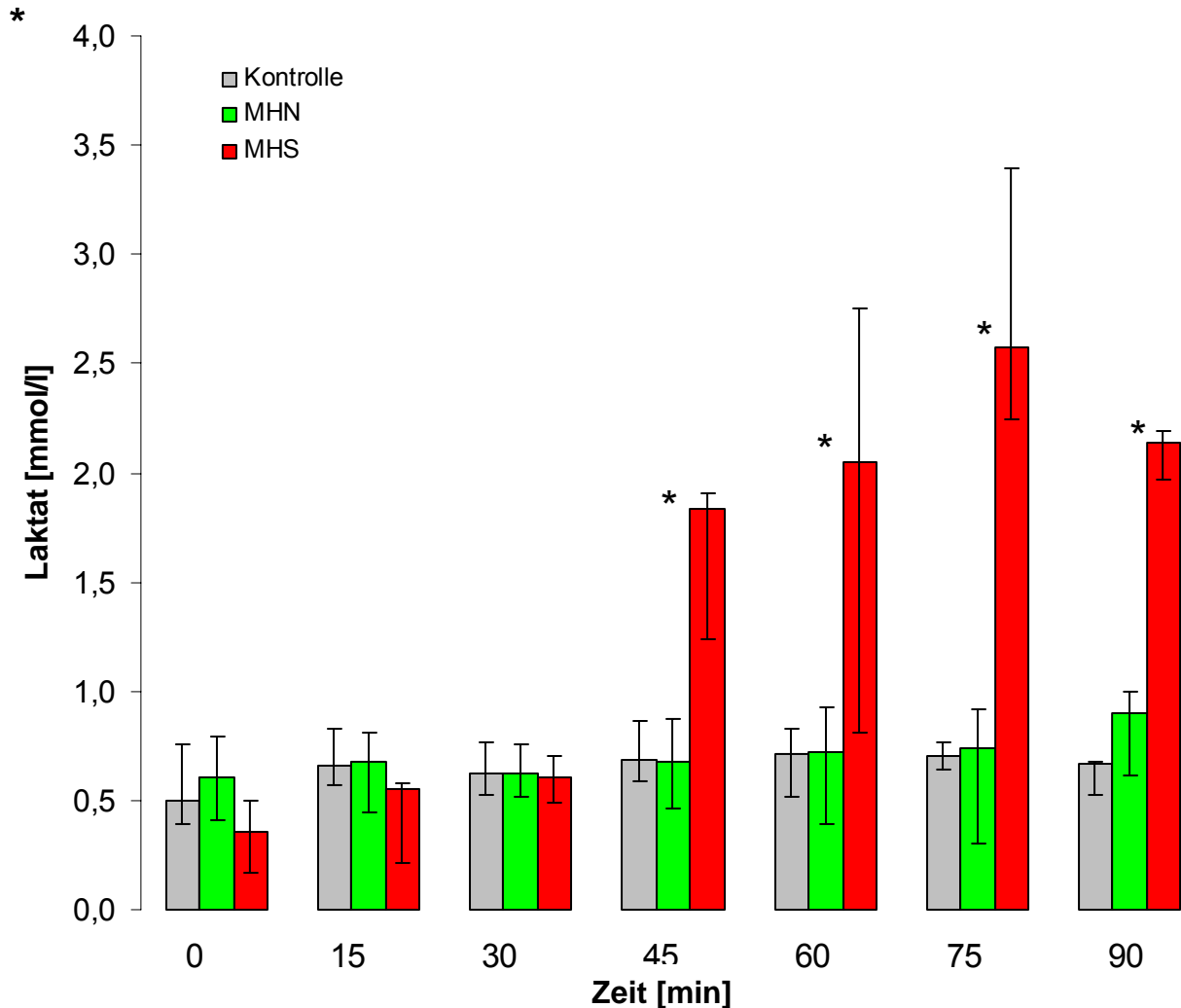


Abbildung 12: Intramuskuläre Laktatkonzentrationen nach lokaler Stimulation mit 500  $\mu$ l Koffein 80 mmol/l. Median und Quartilen; \*:  $p < 0,05$  für MHS vs. MHN.

Nach Applikation von Halothan ergab sich wieder ein ähnliches Bild. Bei den MH-positiven Individuen stieg die Milchsäurekonzentration 30 Minuten nach Halothaninjektion von 0,73 [0,55 / 0,83] mM auf einen Maximalwert von 8,0 [6,2 / 10,1] mM. Der Anstieg war wiederum in der MHN-Gruppe weniger stark ausgeprägt. Von 0,52 mM [0,46 / 0,63] als Ausgangswert stiegen die Werte nur bis zu 5,1 mM [4,3 / 5,5]. Dieses Maximum wurde nach 30 Minuten erreicht. Ähnlich verhielt es sich in der Kontrollgruppe. Auch hier stiegen die Werte von 0,43 mM [0,28 / 0,64] auf 2,7 mM [2,1 / 4,1] innerhalb von 30 Minuten. Wie nach Stimulation mit Koffein erwies sich der Unterschied zwischen MHS- und Kontrollgruppe bzw. MHS und MHN als signifikant. MHN- und Kontrollgruppe unterschieden sich nicht.

Bei allen Probanden fielen die gemessene Laktatkonzentrationen zum Versuchsende wieder ab. In der MHN- und Kontrollgruppe wurden dabei nach Stimulation mit Koffein die Ausgangswerte wieder erreicht. Nach Halothangabe sanken die Laktatkonzentrationen ebenfalls gegen Ende ab, das Ausgangsniveau wurde allerdings nicht erreicht.

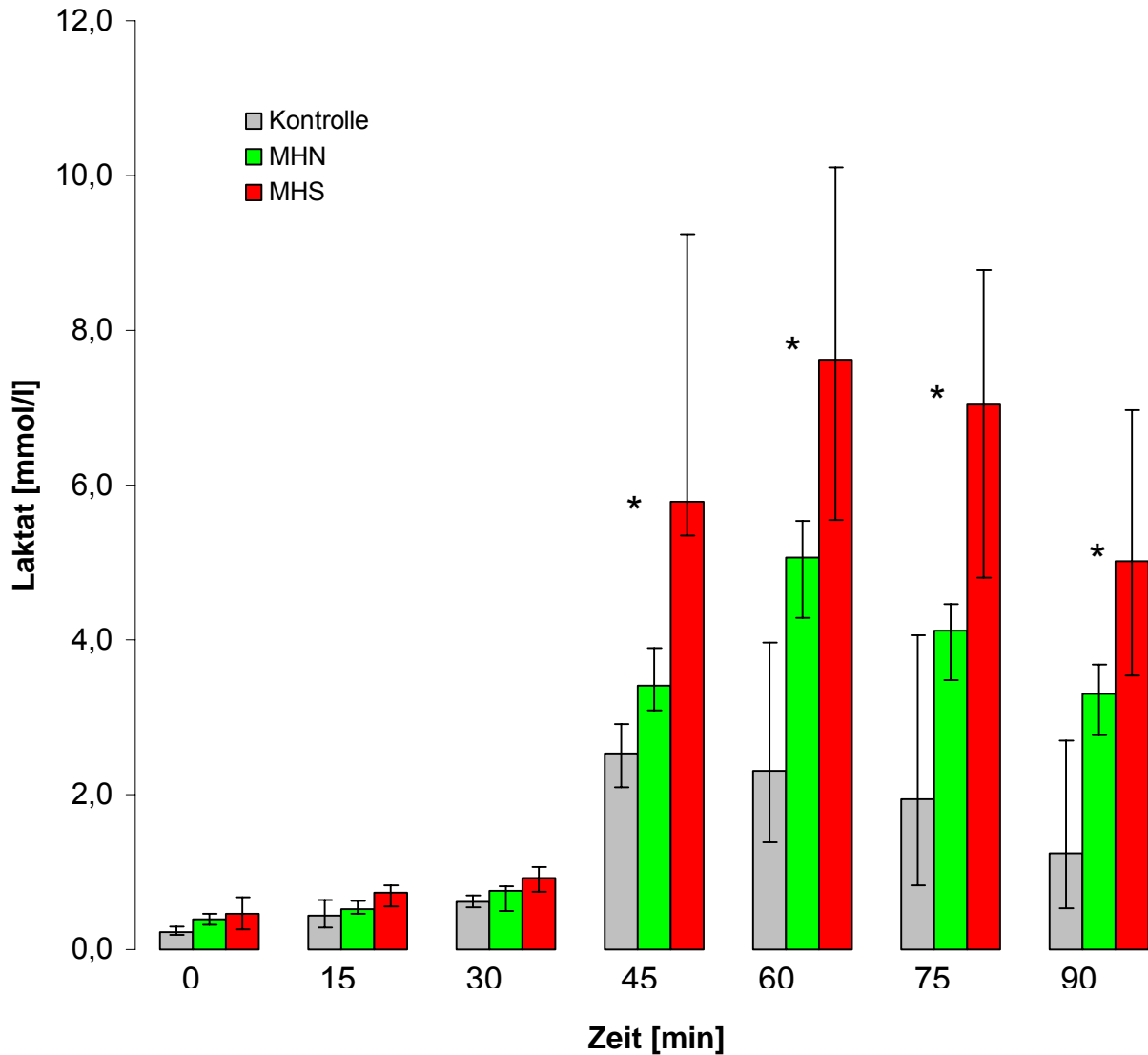


Abbildung 13: Intramuskuläre Laktatkonzentrationen nach lokaler Stimulation mit 100 µl Halothan 10 vol%. Median und Quartilen; \*:  $p < 0,05$  für MHS vs. Kontrolle.

### 3.6 pCO<sub>2</sub>-Messung

Nach Injektion der 500 µl Ringer Lösung stieg der gemessene CO<sub>2</sub>-Partialdruck nach initialem Abfall langsam wieder an, um nach etwa 20 Minuten ein relativ stabiles Niveau zu erreichen. Dieses lag bei allen Probanden in einem Bereich von 32 mmHg bis 44 mmHg.

In der MHN-Gruppe fiel nach Injektion von Koffein der gemessene Wert von 40 mmHg [35 / 41] innerhalb von ca. 2 Minuten auf 23 mmHg [22 / 26], um dann langsam wieder anzusteigen. Nach etwa 30 Minuten wurde ein Wert von 41 mmHg [40 / 42] erreicht. Dieser Wert, der in etwa dem Ausgangsniveau entsprach, blieb für den Rest des Versuchs stabil. 75 Minuten nach Triggerapplikation lag der gemessene Wert bei 42 mmHg [39 / 43]. In der Kontrollgruppe zeigte sich ein ähnliches Bild. Unmittelbar nach der Injektion fiel innerhalb von 3 Minuten der Wert von 41 mmHg [38 / 42] ab auf 26 mmHg [21 / 27]. Dann kam es zu einem langsamen Anstieg bis zu 40 mmHg [37 / 44]. Auf diesem Niveau, das etwa 20 Minuten nach dem Minimum erreicht wurde, hielten sich die Werte. Der letzte gemessene Wert, 75 Minuten nach Triggerapplikation betrug dann 40 mmHg [39 / 40]. Bei der Injektion von Koffein zeigte sich in der MH-positiven Gruppe ein etwas anderes Bild. Von 36 mmHg [35 / 38] als Ausgangswert fielen hier die Werte nach Injektion ebenfalls steil ab, um nach ca. 3 Minuten einen Wert von 23 mmHg [22 / 25] zu erreichen. Es folgte ein etwas steilerer Anstieg auf einen Maximalwert von 45 mmHg [42 / 49] nach 11 Minuten. Zum Ende der Untersuchung hin begann der pCO<sub>2</sub> wieder langsam zu fallen. 75 Minuten nach Triggerapplikation lag der Wert bei 42 mmHg [40 / 43].

Bezüglich der erreichten Maximalwerte zeigten sich damit durchaus Unterschiede zwischen den Gruppen. In der MHS-Gruppe wurden die höchsten Werte erreicht. Die Unterschiede in den maximalen pCO<sub>2</sub>-Werten waren dabei jedoch nicht signifikant. Anders verhielt es sich mit der Anstiegsgeschwindigkeit. Diese wurde über die Differenz zwischen Ausgangs- und Maximalwerte dividiert durch die dazwischen liegende Zeitdifferenz errechnet. Nach Koffeininjektion betrug die Anstiegsgeschwindigkeit in der MHS-Gruppe 18 mmHg/h [13 / 42] in der MHN-Gruppe 2 mmHg/h [1 / 8] und bei der Kontrollgruppe 3 mmHg/h [0 / 5]. Der Unterschied zwischen den MH-positiven und den MH-negativen Probanden erwies sich dabei als signifikant. Genauso war der Unterschied zwischen der MHS- und der Kontrollgruppe signifikant. MHN- und Kontrollgruppe unterschieden sich nicht.

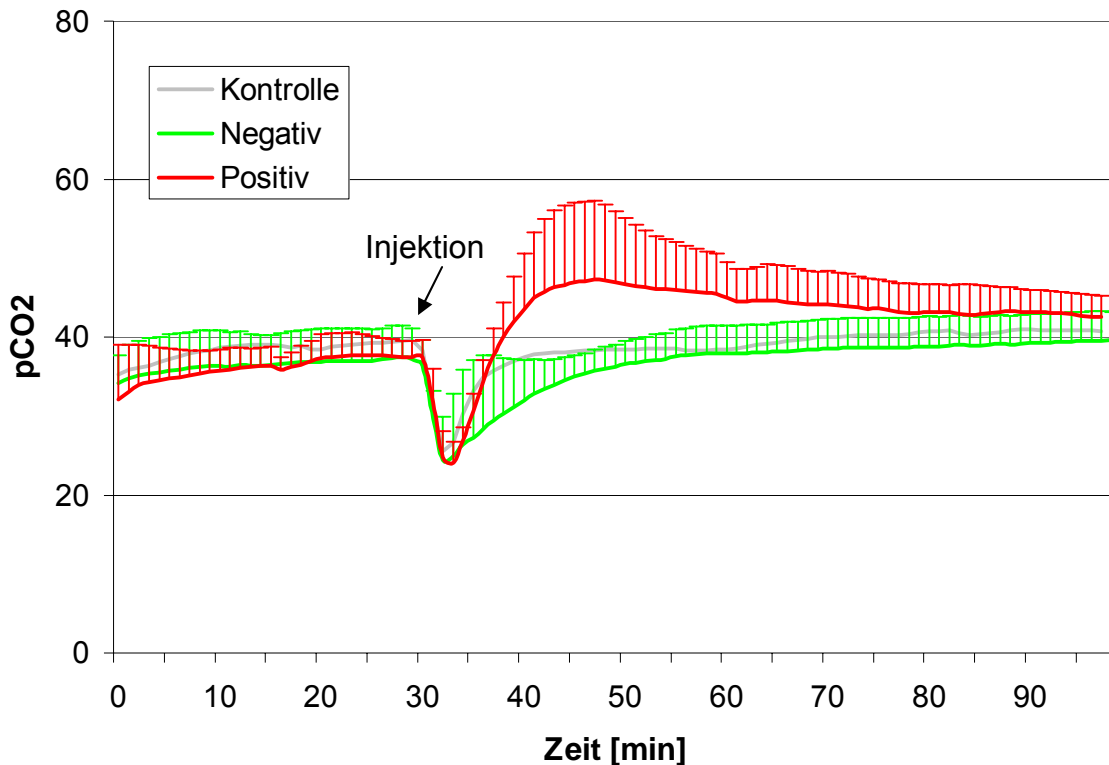


Abbildung 14: Intramuskulärer  $p\text{CO}_2$ -Verlauf nach lokaler Stimulation mit 500  $\mu\text{l}$  Koffein 80 mmol/l.

Bei der Messung an der medialen Kanüle kam es in der MHN-Gruppe nach Injektion der Halothan Lösung zu einem  $p\text{CO}_2$  Abfall von 38 mmHg [35 / 42] auf 25 mmHg [18 / 34] innerhalb von 2 Minuten. Es folgte ein Anstieg auf einen Wert von 51 mmHg [47 / 59] nach 13 Minuten. Danach fiel der Wert wieder langsam ab, um gegen Ende des Versuchs bei 44 mmHg [40 / 44] zu liegen.

In der Kontrollgruppe wurde ein ähnliches Bild sichtbar. Gleich nach Injektion fiel der Wert von 38 mmHg [37 / 40] auf 26 [23 / 28] mmHg ab. Nach Erreichen des Minimums stieg der  $\text{CO}_2$ -Partialdruck wieder an, um nach 22 Minuten ein Maximum von 53 mmHg [47 / 55] zu erreichen. Zu Versuchsende hin fiel der gemessene Wert wieder ab und betrug 75 Minuten nach Triggerapplikation 40 mmHg [40 / 45].

Bei der Gruppe der MH-positiven Probanden fiel der  $p\text{CO}_2$  nach Halothaninjektion innerhalb von 3 Minuten von 39 mmHg [38 / 41] auf 25 mmHg [22 / 30] ab. Es folgte ein steiler Anstieg bis auf 85 mmHg [75 / 92] nach 16 Minuten. Nach Erreichen des Maximums fiel der Wert wieder ab und erreichte zu Ende des Versuchs 50 mmHg [45 / 60].

Wie schon nach Koffeininjektion zeigten sich dabei Unterschiede zwischen den Gruppen. Das erreichte Maximum war in der MHS-Gruppe am höchsten, gefolgt von der MHN-Gruppe und dann der Kontrollgruppe. Jedoch erwies sich dieser Unterschied als nicht signifikant. Die Unterschiede in den Anstiegsgeschwindigkeiten der drei Gruppen waren jedoch auch bei der Triggerung mit Halothan signifikant. Dieselbe Steigungsberechnung ergab dabei folgende Werte: 121 mmHg/h [110 / 175] bei den MH positiven, 33 mmHg/h [24 / 43] bei den MH-negativen und 63 mmHg/h [30 / 80] in der Kontrollgruppe. Während sich MHN- und Kontrollgruppe nicht signifikant unterschieden, ergaben sich entsprechende Werte für den Vergleich zwischen MHN- und MHS- bzw. MHS- und Kontrollgruppe.

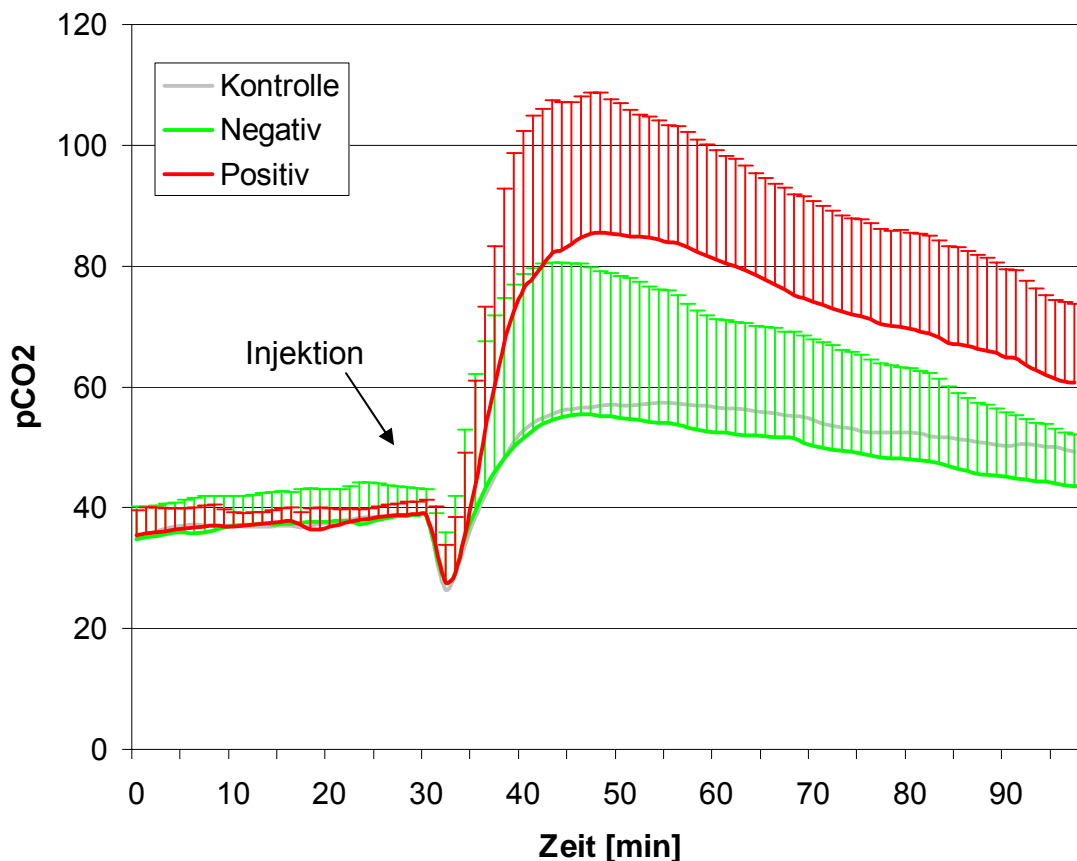


Abbildung 15: Intramuskulärer pCO<sub>2</sub>-Verlauf nach lokaler Stimulation mit 100 µl Halothan 10 vol%.

### 3.7 Fragebogen

Von den zwei Wochen nach der Untersuchung ausgegebenen Fragebögen wurden alle beantwortet zurückgeschickt. Bei der Mehrzahl der Fragen konnten die Probanden auf einer Skala von 1 [gut, wenig] bis 10 [schlecht, stark] eine Bewertung zu einigen Aspekten der Untersuchung abgeben. Bei der Auswertung ergaben sich in

den meisten angesprochenen Bereichen keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Hierzu gehörten die Zufriedenheit mit dem Gesamtverlauf [MHS: 1,5; MHN: 2; Kontrolle: 2], die Informiertheit im Vorfeld der Untersuchung [MHS: 1,5; MHN: 1; Kontrolle: 1] und der Betreuung während der Untersuchung [MHS: 1; MHN: 1; Kontrolle: 1]. [Angegeben sind jeweils nur die jeweiligen Mediane.] Ebenso wenig unterschieden sich die Antworten bezüglich der Fragen über die Wundheilung. Das Auftreten einer Rötung [MHS: 1; MHN: 1; Kontrolle: 1] oder eines Hämatoms [MHS: 1; MHN: 1; Kontrolle: 1] war wie die Dauer bis zum endgültigen Verheilen der Einstichstelle in allen drei Gruppen gleich [MHS: 4 Tage; MHN: 3 Tage; Kontrolle: 5 Tage]. Bei der Dauer bis zum Verschwinden der Einstichstelle streuten die Angaben von zwei bis vierzehn Tagen.

Bezüglich der während der Untersuchung verspürten Schmerzen gab es in einigen Bereichen keine Unterschiede zwischen den Gruppen. So wurde das Legen der Venenverweilkanüle [MHS: 2; MHN: 1,5; Kontrolle: 2], die lokale Betäubung [MHS: 2,5; MHN: 3; Kontrolle: 3] als gleich empfunden. Die Schmerzen beim Platzieren der intramuskulären Kanülen [MHS: 4; MHN: 2,5; Kontrolle: 4] und nach Applikation des Triggers [MHS: 4; MHN: 3,5; Kontrolle: 4] wurden in der MHS- und Kontrollgruppe im Nachhinein etwas was höher empfunden als in der MHN-Gruppe. Nach Entfernung der Kanülen bestanden in der MHS-Gruppe noch leicht stärkere Schmerzen als in den beiden anderen Gruppen [MHS: 4; MHN: 2; Kontrolle: 2]. Die Beeinträchtigung am Tag der Untersuchung [MHS: 3; MHN: 1,5; Kontrolle: 2] sowie am Folgetag [MHS: 1,5; MHN: 1; Kontrolle: 1] war bei den MH-positiven Probanden etwas höher. Unterschiede ergaben sich auch in der Dauer des nach Triggerapplikation empfundenen Schmerzes, die in der MHS-Gruppe [10 min [4 / 13,75] länger war als bei den anderen Probanden [MHN: 1 min [1/ 4], Kontrolle 3 min [1 / 10]]. Die Qualität des Schmerzes wurde verschiedenartig beschrieben [krampfartig, spitz, stumpf, einschneidend]. Eine Abhängigkeit von der Gruppe bestand dabei nicht.

Einig waren sich alle Probanden in der Antwort, dass sie die durchgeführte Untersuchung der Muskelbiopsie vorziehen würden.



## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte, wie in vorhergehenden Studien, gezeigt werden, dass [1] die lokale Applikation von Triggersubstanzen keine systemischen Auswirkungen auf den Stoffwechsel der Probanden hat, [2] lokal der Muskelstoffwechsel durch die Injektion von Koffein bzw. Halothan messbar verändert wird, ferner [3] dass zwischen den untersuchten Gruppen Unterschiede in der gemessenen Laktatkonzentration sowie im  $p\text{CO}_2$ -Anstieg bestehen.

### 4.1 Systemische Reaktion

Nicht auszuschließende systemische Nebenwirkungen waren in dieser Studie ein wichtiger Aspekt. Während der Untersuchung änderten sich die aufgezeichneten Vitalparameter nicht. Es ergaben sich bei keinem der Probanden Anhaltspunkte für eine generalisierte MH-ähnliche Reaktion wie Tachykardie, Tachypnoe oder Blutdruckveränderungen. Auch in der Blutgasanalyse konnten keine derartigen Veränderungen festgestellt werden. In keiner der Gruppen kam es zu einer Verschiebung des pH-Wertes oder des gemessenen Basenüberschusses auf Werte außerhalb des physiologischen Bereichs. Veränderungen im  $p\text{CO}_2$ -Wert, die zu den frühen Symptomen einer MH gehören<sup>51</sup>, konnten nicht festgestellt werden. Aufgrund dieser Beobachtungen kann davon ausgegangen werden, dass bei unserer Untersuchung keine Gefahr des Auslösens einer MH-Krise besteht. Dies ist vermutlich auf die geringe verabreichte Menge an Trigger zurückzuführen. Nach einer kurzen lokalen Reaktion können beide Substanzen aufgrund der hohen Verdünnung keine generalisierte Reaktion mehr auslösen. Zu gleichen Ergebnissen kamen frühere Studien an MH-veranlagten Menschen<sup>52</sup> und Schweinen.<sup>53</sup>

### 4.2 Lokale Reaktion

Durch Platzieren der Messkatheter kommt es zu einem umschriebenen Gewebetrauma. Eine Beeinflussung der weiteren Messungen kann nicht sicher ausgeschlossen werden. In Untersuchungen konnte allerdings gezeigt werden, dass fünfzehn Minuten nach Platzierung von Mikrodialysesonden in die Skelettmuskulatur stabile Ergebnisse erzielt werden können. In der Literatur wird ein basaler Laktatspiegel von 2,5 mM angegeben.<sup>54</sup> Über den gemessenen Mittelwert von 0,668 mM ergibt sich somit eine In-vitro-recovery von 27%, die der von früheren Untersuchungen ent-

spricht.<sup>55</sup> In unserer Untersuchung wurde eine Äquilibrierungszeit von einer halben Stunde gewählt. Durch die geringen Unterschiede in den Laktatkonzentrationen nach 15 bzw. 30 Minuten kann davon ausgegangen werden, dass zum Zeitpunkt der Trigger-Applikation stabile Messverhältnisse vorlagen.

Lokal im Muskel kommt es nach Applikation der Triggersubstanzen zu Reaktionen, die sich über Wirkmechanismen auf zellulärer Ebene erklären lassen. Durch eine Interaktion mit dem Ryanodin-Rezeptor steigert Koffein und Halothan die Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum.<sup>56</sup> Die freigesetzten Kalziumionen führen ab einer intrazellulären Konzentration von 10  $\mu\text{M}$  zu einer Kontraktur des Muskels.<sup>57</sup> Beim IVCT wird dieser Wirkmechanismus ausgenutzt, um eine Veranlagung zur MH zu diagnostizieren. Gleichzeitig kommt es durch direkte Aktivierung der Phosphorylasekinase durch Kalziumionen über die Bildung von Glukose-6-Phosphat zu einer Steigerung der Glykolyse. Durch unkontrollierte Aktivierung des Stoffwechsels übersteigt der zelluläre Sauerstoffbedarf das bestehende Angebot. Unter anaeroben Bedingungen wird Laktat gebildet.

Der komplette Zusammenbruch des zellulären Energiehaushalts führt über die Schädigung der Muskelzellmembran zur Freisetzung von Muskelenzymen. Bei einer generalisierten MH-Krise endet dies in der Entwicklung einer Rhabdomyolyse mit massiv erhöhten Kreatinkinase-Werten.<sup>58</sup> Die Betrachtung des Verlaufs der Muskelenzyme liefert somit die Möglichkeit einer objektiven Betrachtung des entstandenen Muskelschadens.

Der bei obiger Untersuchung nur in der MHS-Gruppe bestehende Anstieg der Myoglobinwerte unmittelbar nach der Untersuchung hatte sich nach 24 Stunden wieder normalisiert. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von 5,5 Stunden ist davon auszugehen, dass der durch die Untersuchung gesetzte Zellschaden einen zeitlich eng begrenzten Rahmen hat. Ein weiteres Zeichen, dass die intramuskuläre Reaktion zeitlich eng begrenzt ablief, ergibt die Betrachtung der intramuskulären  $\text{pCO}_2$ -Werte. Zum Ende der Untersuchung hin kam es zu einer Normalisierung der gemessenen Werte. Innerhalb der beobachteten 105 Minuten nach Triggerapplikation wurden die Ausgangswerte zwar nicht immer erreicht, doch näherten sich auch hier die Werte an ein physiologisches Niveau an.

Über das Gesamtausmaß der Muskelschäden gibt, aufgrund der längeren Halbwertszeit von 18 Stunden, die gemessene Kreatinkinase einen besseren Aufschluss.

Für eine örtliche Begrenzung des entstehenden Muskelschadens sprechen Ergebnisse aus früheren Studien. Dabei kam es an Kontrollpunkten, die 2,5 cm von der Triggerapplikation entfernt waren, zu keiner messbaren Stoffwechselreaktion.<sup>59</sup>

Auffällig war jedoch, dass sowohl der Ausgangswert wie auch der Anstieg der Kreatinkinase in der MHS-Gruppe höher waren als in den beiden anderen Gruppen. Beides ist vermutlich durch die höhere Vulnerabilität der Muskelzellen bei MH-Veranlagung zu begründen.<sup>60</sup> Für MH-gesunde Individuen unterschwellige Reize führen leichter zu einer Schädigung der zellulären Integrität. In unserer Untersuchung war der erzeugte Muskelschaden in der MHS-Gruppe größer als bei den beiden anderen Gruppen.

Diese Annahme wird auch durch den Vergleich der VAS-Werte unterstützt. Bei Platzierung der Kanülen ergaben sich in etwa gleiche Werte. Nach Triggerapplikation waren die von den Probanden mit MH-Veranlagung angegebenen Schmerzen stärker als in der MHN- und Kontrollgruppe. Schmerz ist ein Indikator für Gewebeschädigung. Für die Auslösung eines akuten Schmerzreizes sind freigesetzte Mediatoren wie Kaliumionen, Prostaglandine und Zytokine verantwortlich.<sup>61</sup>

#### 4.3 Individuelle Ergebnisse

Nach Applikation von 80mM Koffeidlösung kam es in allen Gruppen zu einem Anstieg der gemessenen Laktatkonzentration. Dies spricht dafür, dass selbst ohne eine entsprechend Veranlagung Koffein ab einer bestimmten Konzentration in der Lage ist, den Muskelstoffwechsel durch Kalziumfreisetzung zu beeinflussen. In vitro führt Koffein auch ohne Veranlagung ab einer Konzentration von 23 mmol/l zu einer maximalen Muskelkontraktion.<sup>62</sup> Ein der Koffeinstimulation ähnliches Bild ergab sich nach Injektion der Halothanlösung. Der Muskelstoffwechsel wurde bei allen drei Gruppen gesteigert, was sich in einer Änderung in der Laktatkonzentration zeigte. Auch hier ist eine gesteigerte intrazelluläre Kalziumkonzentration maßgeblich an der Steigerung des Stoffwechsels beteiligt. Wie es zu dieser Ionenfreisetzung durch das Narkosegas kommt, ist nicht endgültig geklärt. Allerdings wird eine Interaktion des Halothans mit dem Ryanodin-Rezeptor vermutet.<sup>63</sup>

Nach beiden Formen der Stimulation kam es bei den Probanden mit MH-Veranlagung zu einem stärkeren Anstieg der Werte als in den beiden anderen Gruppen. Grund dafür ist ein stärkeres Ansprechen auf die Stoffe Halothan und Koffein.

Für eine Nutzung als diagnostisches Verfahren ist es nötig, diagnostische Schwellenwerte fest zu setzen, ab denen eine MH-Veranlagung angenommen werden kann. In der durchgeführten Untersuchung könnte die Schwellenkonzentration für die Koffeinstimulation bei 2 mmol/l Laktat liegen. Nach Halothaninjektion wäre der Wert bei 7 mmol/l Laktat zu setzen.

Die gemessenen pCO<sub>2</sub>-Kurven wiesen bei allen Probanden einen charakteristischen Verlauf auf [vgl. Abbildung: 13]. Nach dem Spülen der Katheter mit Ringerlösung fielen die gemessenen Werte innerhalb weniger Minuten ab, um anschließend langsam wieder auf ein physiologisches Niveau zu steigen. Dieser Abfall der gemessenen Werte kann auf einen einfachen Verdünnungseffekt zurückgeführt werden. Die injizierte Lösung, die mit Raumluft äquilibriert ist, enthält fast kein Kohlendioxid. Verteilt sich Lösung im Bereich der Messsonde fällt der dort gemessene Wert ab. Im Muskel steigt der Kohlendioxidgehalt der Lösung anschließend wieder auf ein physiologisches Niveau, das bis zur nächsten Injektion auch stabil bleibt. Dreißig Minuten nach der ersten Injektion herrschten bei allen Untersuchungen stabile Verhältnisse, die eine weitere Messung ermöglichten.

Nach Injektion der Triggersubstanzen kam es wieder zu einem charakteristischen Abfall der gemessenen Kohlendioxidpartialdrücke, die von einem unterschiedlich verlaufenden Anstieg gefolgt waren. Das Stoffwechselendprodukt Kohlendioxid wird unter aeroben Bedingungen je nach Energiebedarf der Zelle aus dem Krebszyklus freigesetzt. Wird durch zelluläre Vorgänge wie Muskelkontraktionen mehr Energie in Form von ATP benötigt, so versucht die Zelle dieses durch Beschleunigung des Stoffwechsels bereit zu stellen.<sup>64</sup> Ein höherer Energieumsatz führt somit primär zu einer höheren Kohlendioxidproduktion. Aufgrund der guten Diffusionseigenschaften des Gases sind entsprechende Veränderungen im Muskel mit Hilfe der Messsonde gut nachweisbar.

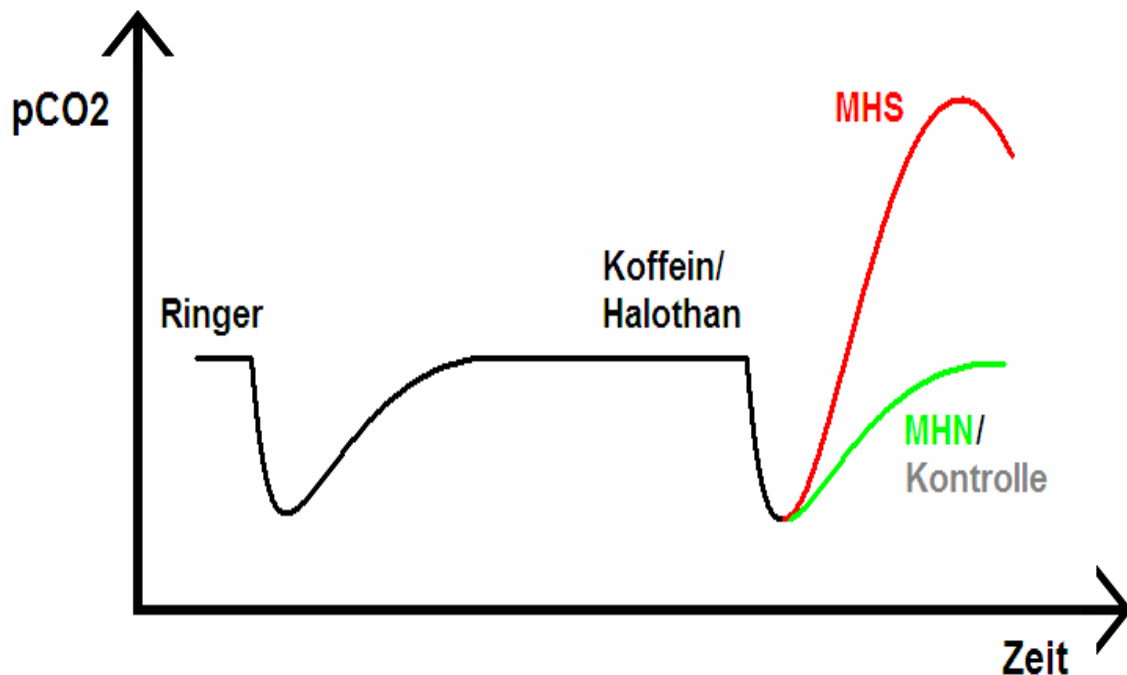


Abbildung 16: Schematischer Idealverlauf der pCO<sub>2</sub>-Kurve

Während in der MHN- und der Kontrollgruppe die pCO<sub>2</sub>-Werte nach Stimulation mit Koffein in etwa das Ausgangsniveau erreichten, stiegen die Werte in der MHS-Gruppe leicht an. Während sich die erreichten Maximalwerte weniger stark zwischen den Gruppen unterschieden, ergaben sich Unterschiede in den Anstiegsgeschwindigkeiten. Bei den MH-positiven Probanden wurden die Maximalwerte im Vergleich zu den beiden andern Gruppen wesentlich schneller erreicht. Nach der Stimulation wurde in einem kürzeren Zeitraum mehr CO<sub>2</sub> produziert. Dies liegt vermutlich auch in der neuen Art der Trigger-Applikation. Durch das rasche Spritzen über den perforierten Katheter verteilt sich das Koffein schneller im Muskel als bei vorherigen Untersuchungen. Es wird schneller eine wesentlich größere Menge an Muskelzellen stimuliert, was zu einem rapideren Anstieg der Kohlendioxidproduktion führt.

Nach Applikation der Halothanlösung kam es in allen Gruppen zu einem pCO<sub>2</sub>-Anstieg, der über die Ausgangswerte hinausging. Selbst bei den Probanden ohne entsprechende Veranlagung erfolgte eine unphysiologische Steigerung des Stoffwechsels. Das injizierte Halothan führte bei einer MH-Veranlagung allerdings zu einer stärkeren Aktivierung des zellulären Energieumsatzes. Es ergab sich auch wieder ein wesentlich stärker ausgeprägter Anstieg der Partialdruckkurve.

Im Gegensatz zu vorherigen Untersuchungen erfolgte in dieser Studie eine Applikation der Triggersubstanzen als rasch injizierter Bolus. Durch die direkte Injektion über einen perforierten Katheter wird in einer kürzeren Zeit mehr Muskelgewebe erreicht als durch eine langsamere Applikation über einen Zuspritzschlauch mit nur einer einzigen Öffnung. Eine größere Anzahl von Muskelzellen kommt dadurch schneller mit den verwendeten Triggerlösungen in Kontakt. Aufgrund dieser Überlegung sollte die insgesamt messbare Stoffwechsel-änderung stärker ausgeprägt sein. Bei direkten Vergleichen mit vorhergehenden Untersuchungen traf dies entsprechend zu. Die rasche Applikation führt auch zu einer höheren intramuskulären Konzentration der Triggersubstanzen. Nach der schnellen Injektion bleibt dem betroffenen Muskelgewebe weniger Zeit, die Triggerkonzentration durch Abbau oder Abtransport zu erniedrigen.

Beide Faktoren tragen vermutlich zu der zu früheren Untersuchungen stärkeren CO<sub>2</sub> Produktion bei. Für die unterschiedlichen Anstiegsgeschwindigkeiten zwischen den Gruppen ist vermutlich eine stärkere Stoffwechselsteigerung bei entsprechender Veranlagung ursächlich. Die im Vergleich zu vorhergehenden Untersuchungen höhere intramuskuläre Halothankonzentration erklärt vermutlich den ausgeprägten pCO<sub>2</sub>-Anstieg in den MHN- und Kontrollgruppen. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass durch Verwendung entsprechend hoher Halothankonzentrationen selbst bei fehlender Veranlagung eine Stoffwechselsteigerung ausgelöst werden kann.<sup>65</sup>

Für den Einsatz als diagnostisches Verfahren ist allerdings auch hier wieder nötig, einen Schwellenwert anzugeben, ab dem von einer MH-Veranlagung auszugehen ist. Mit der durchgeführten Untersuchung liegt der empirisch ermittelte Schwellenwert für die Stimulation mit Koffein bei 15 mmHg/h und für die Halothanstimulation bei 90 mmHg/h pCO<sub>2</sub>-Anstieg pro Zeit.

Auffällig war allerdings bei Betrachtung der verschiedenen Ergebnisse, dass sich in der Kontrollgruppe und in der MHN-Gruppe bei je einem Probanden nach Halothaninjektion ein Kurvenverlauf ergab, der charakteristisch für eine MH-Veranlagung ist. Nach einem kurzen Abfall der Werte stiegen diese rasch auf ein überdurchschnittlich hohes Niveau. Durchgeführte Nachforschungen ergaben bei dem Ausreißer in der Kontrollgruppe anamnestisch nur einen verstärkt und verlängert auftretenden Muskelkater nach Belastung. Bei beiden Probanden zeigte sich aber auch eine für die jeweilige Gruppe überdurchschnittliche Laktatfreisetzung nach Injektion von Halothan. Über Gründe für die verstärkte Reaktion auf Halothan kann nur spekuliert

werden. Subklinische Myopathien oder abortive MH-Formen sind nicht mit Sicherheit auszuschließen. Die Möglichkeit einer nicht bekannten MH-Veranlagung bei dem Probanden in der Kontrollgruppe oder einer falsch-negativen Diagnose bei dem Probanden der MHN-Gruppe ist statistisch eher unwahrscheinlich. Eher ist von einer ungleichungmäßigen Verteilung des Triggers im Muskel auszugehen. Dies führt zu lokal unterschiedlichen Konzentrationen.

#### 4.4 Sensitivität - Spezifität

Bei einem Test zur Diagnose der MH ist es aufgrund des potentiell letalen Verlaufs nötig, eine möglichst hohe Sensitivität zu erreichen. Eine reduzierte Spezifität muss dabei in Kauf genommen werden. Durch die oben angegebenen Schwellenwerte soll eine hohe Sensitivität erreicht werden. Bei jeweils sechs der von uns untersuchten Probanden war im Vorfeld die Diagnose mit Hilfe des IVCT gestellt worden. Werden alle vier Messungen unserer Untersuchung kombiniert, wird eine Sensitivität von 100% erreicht. Die Spezifität beträgt dabei allerdings nur 60%. Die Angaben sind, aufgrund der sehr geringen Probandenzahl pro Gruppe, aber entsprechend vorsichtig zu bewerten. Positive oder negative Vorhersagewerte können wegen der nicht genau bekannten Prävalenz gar nicht bestimmt werden.

Aufgrund der geringen Probandenanzahl ist es auch schwer zu sagen, welche der vier Messungen die besten Ergebnisse liefert. Anhand der Abbildungen 10 bis 14 wird allerdings deutlich, dass die Stimulation mit Koffein im Vergleich zu der mit Halothan zu einer besseren Unterscheidung der Gruppen geführt hat. Nach Stimulation mit dem Narkosegas kam es auch ohne entsprechende Veranlagung zu einer ausgeprägten Reaktion, die eine genauere Differenzierung der Gruppen erschwert.

Ein Vorteil der  $p\text{CO}_2$ -Messung liegt in der besseren Zeitauflösung, dadurch ist es möglich, auch den Verlauf der intramuskulären Stoffwechselprozesse zu beobachten. Während Laktat verzögert nach Umstellung auf einen anaeroben Stoffwechsel entsteht, ist Kohlendioxid das primär entstehende Stoffwechselendprodukt. Veränderungen im  $p\text{CO}_2$ -Wert treten demnach zeitlich vor einem Anstieg der Laktatkonzentration auf. Ein Vergleich der beiden Werte ergibt andererseits auch eine ganz gute Korrelation von  $p\text{CO}_2$  und Laktatkonzentration [vgl. Abbildung 18]. Eine Berechnung nach Pearson ergab einen Korrelationskoeffizienten von 0,84.

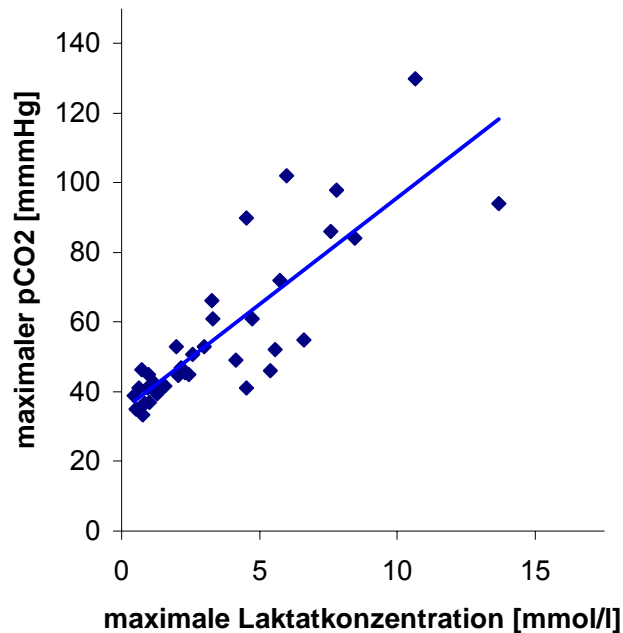


Abbildung 17: Korrelation zwischen pCO<sub>2</sub> und Laktatkonzentration

Des Weiteren hat CO<sub>2</sub> als Gas sehr gute Diffusionseigenschaften. Methodische Probleme wie eine suboptimal platzierte Messsonde wirken sich somit nicht so sehr auf die Messergebnisse aus.

#### 4.5 Dosis-Wirkungs-Beziehung

Ein Grund für den teilweise geringen Unterschied zwischen den Gruppen ist sicher auch die Stoffwechselsteigerung in der MHN- und Kontrollgruppe. Gerade die 10 % Halothanlösung ist in der Lage ohne entsprechende Veranlagung eine Aktivierung des Stoffwechsels zu erreichen. So stiegen in allen Gruppen sowohl die gemessenen pCO<sub>2</sub>- wie auch die Laktatwerte. Nach der Injektion von Koffein war dieses Phänomen weniger stark ausgeprägt.

Diese Beobachtung kann als Anzeichen einer Dosis-Wirkungs-Beziehung gedeutet werden. In Untersuchungen an isolierten Muskelzellen wurde bereits eine von der Halothandosis abhängige Kalziumfreisetzung beobachtet.<sup>66</sup> Selbst das klinische Bild einer MH ist in der Ausprägung sehr verschieden. Der Kontakt mit Triggersubstanzen kann einem fulminanten Verlauf oder lediglich abortive Formen mit Masseterspasmus und/oder Rhabdomyolyse bewirken. Auch unterscheiden sich Kontrakturantworten im



IVCT bei verschiedenen MH-Veranlagten. Die Schwellendosis ist dabei inter- und intraindividuell unterschiedlich.

In den vorhergehenden Untersuchungen wurde nach Applikation von Halothan ein größerer Unterschied in den Gruppen festgestellt.<sup>67</sup> Allerdings wurde hier die Lösung nicht direkt in den Muskel injiziert. Dadurch kam es vermutlich zu einer geringeren an der Muskelzelle einwirkenden Konzentration. Die Annahme zweier versetzter Dosis-Wirkungs-Beziehungen mit sigmoidem Verlauf könnte eine Erklärung dafür liefern. Wie in der Graphik zu erkennen ist, besteht zwischen den Gruppen bei niedrigen Konzentrationen ein stärkerer Unterschied [vgl. Abbildung: 19].

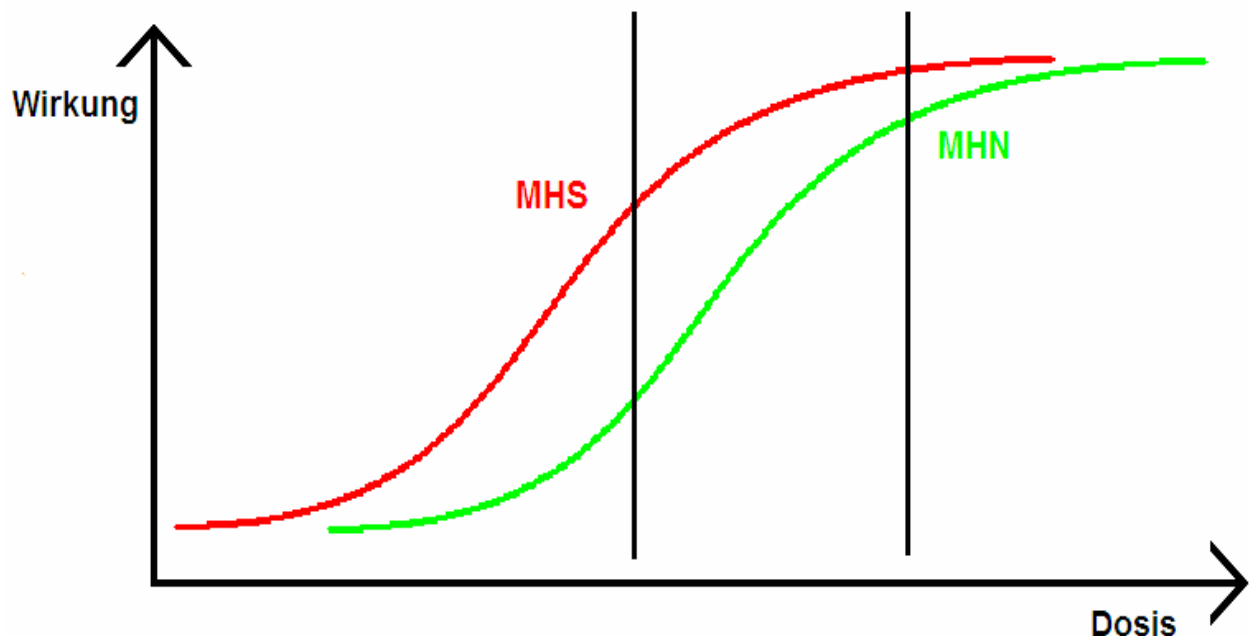


Abbildung 18: Verschobene Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen MHN und MHS

Aus dieser Annahme folgt einerseits, dass bei einer geringer konzentrierten Halothanlösung die Differenzen zwischen den Gruppen möglicherweise stärker gewesen wären. Andererseits ist es vielleicht sogar möglich, durch genügend hohe Konzentrationen auch bei Probanden ohne MH-Veranlagung eine lokale MH ähnliche Reaktion auszulösen.

Bei der Stimulation mit Koffein wird eine deutlichere Unterscheidung zwischen den Gruppen erzielt. Bei der Injektion von geringeren Konzentrationen von Koffein war dies nicht der Fall.

#### 4.6 Steigungsberechnung

Verschiedene Kurvenverläufe gaben auch Anlass über die Berechnung der Steigung nachzudenken [vergleiche Abbildung: 20]. In dem oben erwähnten Verfahren erfolgte die Berechnung durch Subtraktion des Ausgangswertes vom erreichten Maximalwert und der Division durch die dazwischen liegende Zeit. In einer etwas abgewandelten Form der Berechnung wird der Maximalwert der Steigung ausgehend vom Ausgangswert bestimmt. Hier spielt der Maximalwert bei der Berechnung keine Rolle. Stattdessen wird versucht, das Problem graphisch zu lösen.

Bei dieser neuen Form der Berechnung ergeben sich stets leicht höhere Werte für die Steigung. Gerade bei Verläufen mit einem initial raschen Anstieg, der sich später abflacht und langsam auf ein Maximum zuläuft, führt die Modifikation zu entsprechenden Unterschieden. Die neue Steigungsberechnung sollte vor allem die initiale Stoffwechselreaktion stärker berücksichtigen.

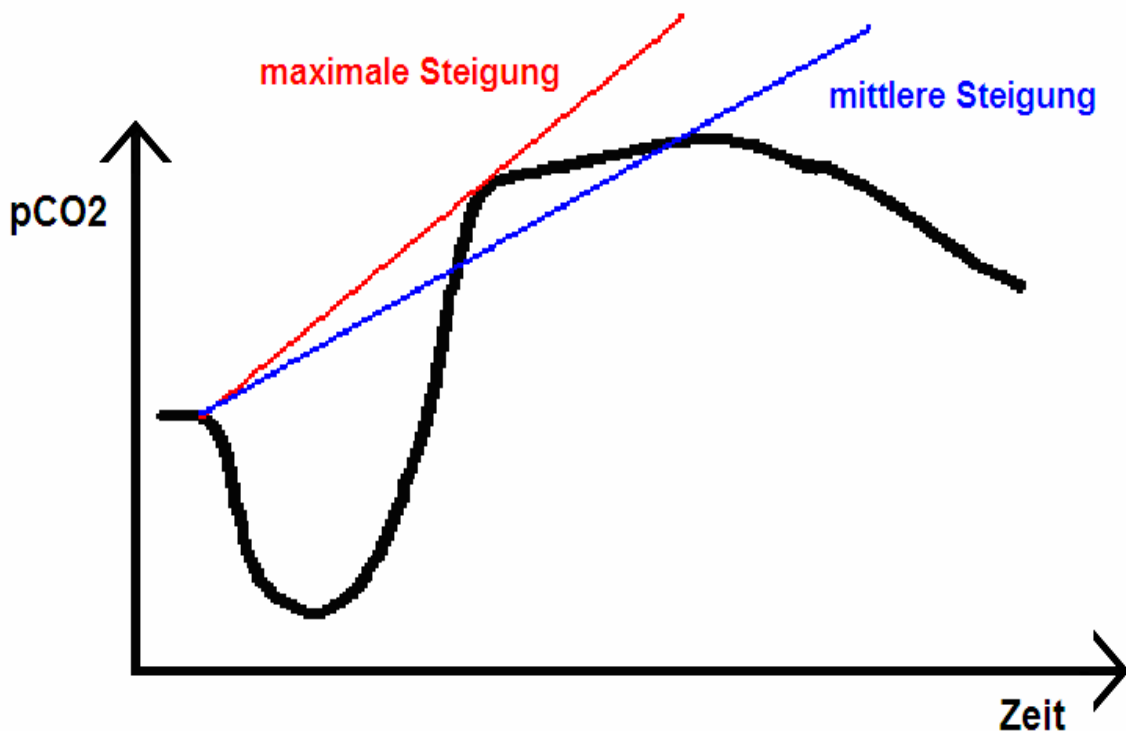


Abbildung 19: Formen der Steigungsberechnung

Bei einigen Kurven der durchgeführten Studie ergaben sich doch teilweise erhebliche Unterschiede in den bestimmten Steigungen [vgl. Abbildung 20 und 21].

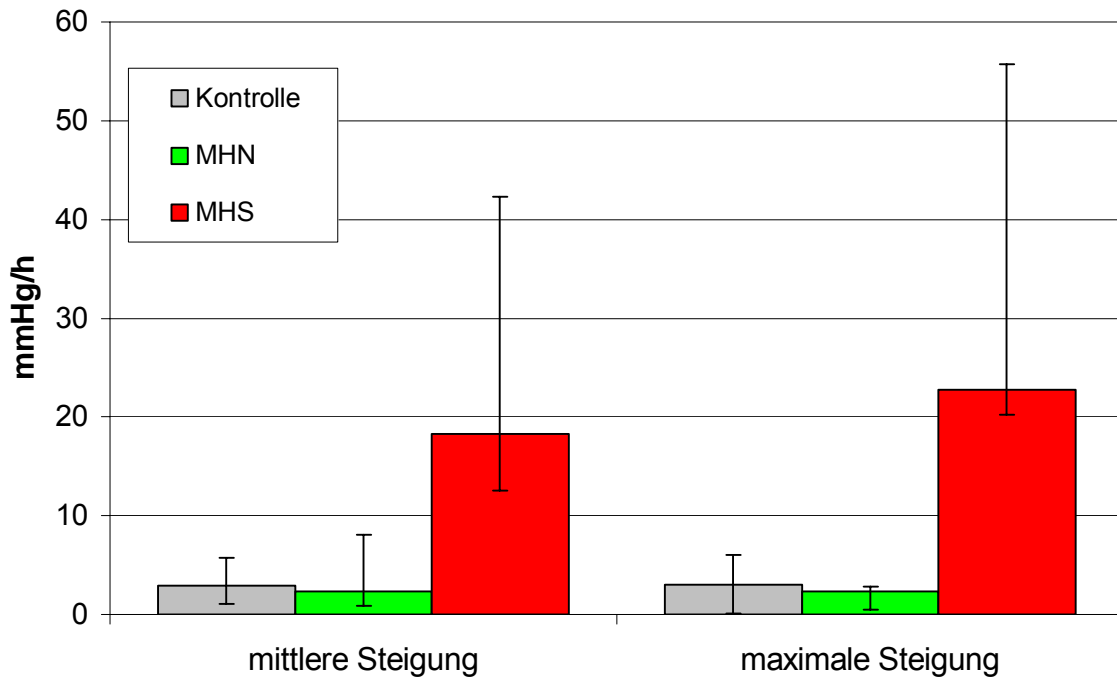


Abbildung 20: Unterschiedliche Steigungsberechnung nach Koffeininjektion

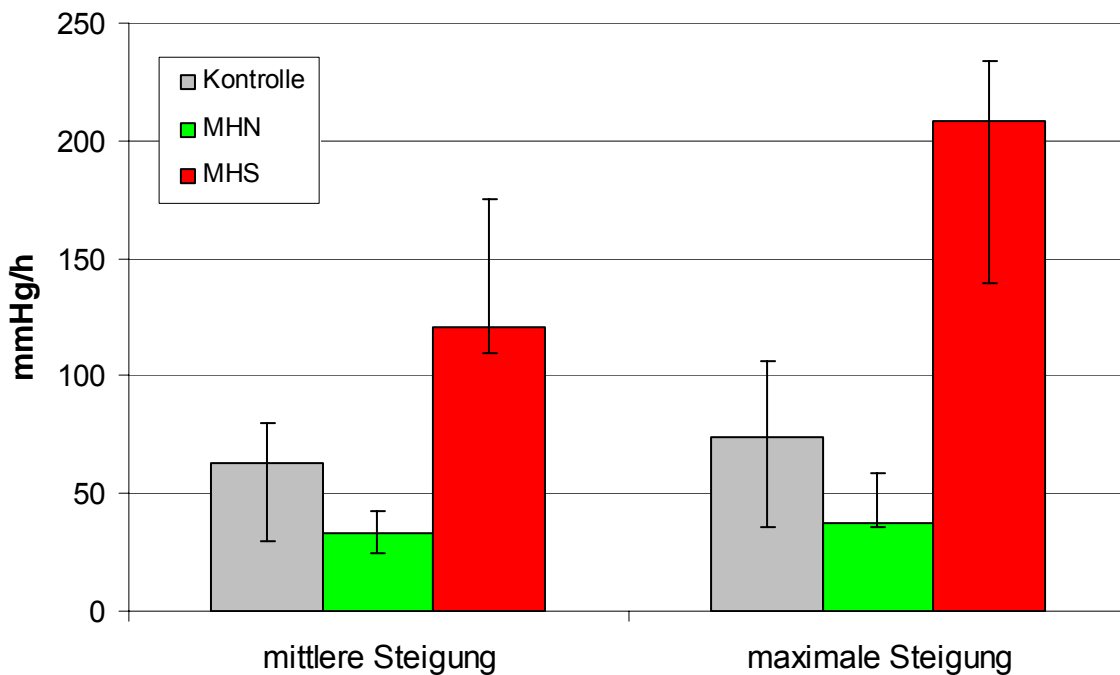


Abbildung 21: Unterschiedliche Steigungsberechnung nach Halothaninjektion

Die modifizierte Steigungsberechnung führte auch zu kleinen Differenzen in den berechneten Wahrscheinlichkeiten. Diese ergeben sich aus der gezeigten Tabelle 1. Eine minimal bessere Unterscheidung der beiden Gruppen ergibt die neue Berechnung allerdings nur für die Anstiegsgeschwindigkeit nach Koffeininjektion.

Vergleich statistische Auswertungen von alter und neuer Steigungsberechnung				
pCO <sub>2</sub> -Anstieg:	Koffein [alt]	Koffein [neu]	Halothan [alt]	Halothan [neu]
Kruskal Wallis	<b>0.025</b>	<b>0.014</b>	0.034	0.035
MHS - MHN	<b>0.016</b>	<b>0.011</b>	0.037	0.037
MHN - Kontrolle	0.886	0.808	0.391	0.475
MHS - Kontrolle	0.022	0.015	0.022	0.022

Tabelle 1: Unterschiedliche Steigungsberechnungen mit entsprechenden Wahrscheinlichkeiten

Durch die neue Steigungsberechnung ändert sich der empirisch ermittelte Schwellenwert für die pCO<sub>2</sub>-Anstiegsgeschwindigkeit nicht. Keine Unterschiede ergeben sich in der ermittelten Sensitivität und Spezifität, was aufgrund der geringen Probandenzahl aber auch nicht unbedingt zu erwarten war. Welches Verfahren der Steigungsberechnung besser geeignet ist, kann wahrscheinlich erst nach Untersuchungen mit einer höheren Probandenanzahl entschieden werden.

#### 4.7 Akzeptanz des neuen Verfahrens

Der etwa zwei Wochen nach der Untersuchung verschickte Fragebogen sollte feststellen, inwieweit das Verfahren als belastend empfunden wird. Dabei fiel unter anderem auf, dass in der MHS-Gruppe die Schmerzen nach der Triggerapplikation länger anhielten. Die Probanden dieser Gruppe fühlten sich unmittelbar nach der Untersuchung auch stärker beeinträchtigt. Bereits am Tag nach der Untersuchung bestanden allerdings keine Unterschiede mehr zwischen den Gruppen. Die Beeinträchtigung am Folgetag wurde insgesamt als sehr gering angegeben. Die Wundheilung verlief problemlos und durch das Einritzen der Haut konnte eine Narbenbildung weitgehend verhindert werden.

Aufgrund der weiteren Antworten lässt sich sagen, dass es sich bei der Untersuchung um ein gut verträgliches Verfahren handelt, das insgesamt als wenig belastend empfunden wird. In Patientenbefragungen nach diagnostischer Muskelbiopsie wurde im Gegensatz dazu ein 6,7 Tage anhaltender Wundschmerz angegeben. Dabei waren die Betroffenen durchschnittlich 10,3 Tage motorisch beeinträchtigt, was mit einer Arbeitsunfähigkeit von 9,5 Tagen verbunden war.<sup>68</sup> Gerade in der Beeinträchtigung nach der Untersuchung ergeben sich somit durchaus entscheidende Unterschiede zwischen der durchgeführten Untersuchung und dem IVCT. Aufgrund der geringen Invasivität besteht auch ein wesentlich geringeres Risiko für Komplika-

onen wie Blutungen, Wundinfektionen sowie Gefäß- und Nervenläsionen. Alle Befragten würden sich für das neue Verfahren und gegen die Muskelbiopsie aussprechen.

Aus ökonomischer Sicht ist der IVCT der hier durchgeführten Untersuchung ebenso unterlegen. Zum einen tragen dazu die wesentlich höheren Kosten des Kontrakturtests bei, zum anderen sind die wirtschaftlichen Ausfälle durch die entstehende Arbeitsunfähigkeit zu rechnen.

## 5 Zusammenfassung

Bei der Malignen Hyperthermie handelt es sich um eine latente Muskelerkrankung, die bei Verwendung von volatilen Inhalationsanästhetika und depolarisierenden Muskelrelaxanzien durch eine unkontrollierte Kalziumfreisetzung in das Zytoplasma der Muskelzelle charakterisiert ist. Dies führt zu einer Aktivierung des kontraktile Apparates und zu einer Beschleunigung des Zellstoffwechsels. Zur Diagnostik einer MH-Veranlagung ist der IVCT im Moment das einzige verlässliche klinische Verfahren.

In dieser Arbeit wurde untersucht, wie durch lokale intramuskuläre Applikation der Triggersubstanzen Halothan und Koffein der Stoffwechsel abhängig von der MH Veranlagung verändert wird. Gemessen wurden dazu das lokal entstehende Kohlendioxid und Laktat. Gleichzeitig sollte untersucht werden, ob es nach der Applikation von Triggersubstanzen zu systemischen Veränderungen kommt.

Bei 21 freiwilligen Probanden [6 MHS, 7 MHN, 7 Kontrollen, 1 MHEh] wurden über eine Venenverweilkanüle eine Mikrodialysesonde, eine pCO<sub>2</sub>-Messsonde und ein Zuspritzkatheter in dem M. vastus lateralis platziert. Nach Applikation von 100 µl 10 % [vol/vol] Halothan- bzw. 500µl 80 mM Koffeinelösung als Bolus wurden Veränderungen der Laktatkonzentration und des Kohlendioxidpartialdrucks gemessen. Gleichzeitig wurden sowohl die Vitalfunktionen aufgezeichnet als auch metabolische Parameter vor und nach Triggerapplikation bestimmt.

Sowohl nach Stimulation durch Koffein als auch durch Halothan kam es zu einem Anstieg der Laktatkonzentration. In den erreichten Maximalwerten gab es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Nach Injektion von Halothan und auch von Koffein kam es in allen drei Gruppen zu einem unterschiedlich starken Anstieg des intramuskulären pCO<sub>2</sub>. Während sich die erreichten Maximalwerte nicht signifikant unterschieden, ergab sich für die errechneten Anstiegsgeschwindigkeiten ein signifikanter Unterschied.

Systemische Auswirkungen auf die Vitalparameter ergaben sich bei keinem der untersuchten Probanden. Auch die Blutuntersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine generalisierte Reaktion.

Wie bereits frühere Untersuchungen zeigt auch diese Studie, dass eine intramuskuläre Stimulation mit Triggersubstanzen zu einer lokalen messbaren Stoffwechselreaktion führt. Die rasche Applikation von Halothan und Koffein führt zu einer schnelleren Änderung der gemessenen Parameter. Bei einer Veranlagung zur Malignen

Hyperthermie erfolgt die Steigerung des Zellstoffwechsels zügiger und ist stärker ausgeprägt. Gleichzeitig kommt es bei der verwendeten Methode zu keinen relevanten systemischen Veränderungen.

Durch Veränderungen in der Triggerapplikation sowie der verwendeten Triggerkonzentrationen erscheint es durchaus möglich, noch größere Unterschiede in der zellulären Reaktion zu erzielen.

Die intramuskuläre Messung des Stoffwechsels nach Triggerapplikation ist ein Erfolg versprechender Ansatz zur Entwicklung eines minimal-invasiven Verfahrens für die Diagnostik einer Veranlagung zur Malignen Hyperthermie.





## 6 Literaturverzeichnis

- 1 Steinfath M., Wappler F., Scholz J.: Maligne Hyperthermie: Allgemeine, klinische und experimentelle Aspekte. *Anaesthesist* 2002; 51: 328-347.
- 2 Gibson C.: Heat stroke as a postoperative complication. *Med News (NY)* 1900; 77: 883-888.
- 3 Denborough M.A., Lovell R.R.H.: Anaesthetic deaths in a family. *Lancet* 1960; 2: 45.
- 4 Ording H.: Epidemiology of Malignant Hyperthermia in: Schulte am Esch J., Scholz J., Wappler F. (Eds) *Malignant Hyperthermia*, Pabst Science Publishers 2000: 26-29.
- 5 Ball S.P., Johnson K.J.: The genetics of malignant hyperthermia. *J Med Genet* 1993; 30: 89-93.
- 6 Ording H.: Investigation of malignant hyperthermia susceptibility in Denmark. *Dan Med Bull* 1996; 43: 111-25.
- 7 Hartung E., Anetseder M., Olthoff D., Deutrich C., Lehmann-Horn F., Baur Ch., Tegazzin V., Doetsch S., Quasthoff S., Hofmann M., Schwefler B., Jantzen J.P., Wappler F., Scholz J.: Die regionale Verbreitung der Malignen-Hyperthermie-Veranlagung in Deutschland: Stand 1997. *Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1998; 33: 238-243.
- 8 Rüegg J.C.: Muskel. In: Schnidt R.F., Thews G (Hrsg) *Physiologie des Menschen*. Springer Verlag. 1997: 67-86.
- 9 Löffler G., Petrides P., *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer-Verlag. 2003: 6. ed: 267-73.
- 10 Fill M., Coronado R., Mickelson J.R., Vilven J., Ma J.J., Jacobson B.A., Louis C.F.: Abnormal ryanodine receptor channels in malignant hyperthermia. *Biophys J* 1990; 57: 471-5.
- 11 Berridge M.J.: Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993; 28; 361: 315-25.
- 12 Schuster F., Muller R., Hartung E., Roewer N., Anetseder M.: Inhibition of sarcoplasmic Ca<sup>2+</sup>-ATPase increases caffeine- and halothane-induced contractures in muscle bundles of malignant hyperthermia susceptible and healthy individuals. *BMC Anesthesiol* 2005; 5: 8.
- 13 Roewer N.: Maligne Hyperthermie heute. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1991; 26: 431-49.
- 14 Steinfath M., Wappler F., Scholz J.: Maligne Hyperthermie: Allgemeine, klinische und experimentelle Aspekte. *Anaesthesist* 2002; 51: 328-347.

- 15 Kalow W., Britt B.A., Terrau M.E., Haist C.: Metabolic error of muscle metabolism after recovery from malignant hyperthermia. *Lancet* 1970; II: 895-898.
- 16 Ellis F.R., Harriman D.G.H., Keaney N.P., Kyei-Mensah K., Tyrell J.H.: Halothan-induced muscle contracture as a cause of malignant hyperpyrexia. *Br J Anaesth* 1971; 43: 721-722.
- 17 The European Malignant Hyperthermie Group: A protocol for the investigation of malignant hyperthermia (MH) susceptibility. *Br J Anaesth* 1984; 56: 1267-1269.
- 18 Larach M.G., For the North American Malignant Hyperthermia Group: Standardization of the Caffein Halothane Muscle Contracture Test. *Aeasth Analg* 1989; 69: 511-515.
- 19 Hartung E., Anetseder M.: The standard in-vitro contracture test. In: Schulte am Esch J., Scholz J., Wappler F. (Eds.) *Malignant Hyperthermie*, Pabst Science Publishers 2000: 251-261.
- 20 Kozack J.K., MacIntyre D.L.: Malignant Hyperthermia. *Phys Ther* 2001; 81: 945-951.
- 21 Bendahan D., Kozak-Ribbens G., Rodet L., Confort-Gouny S., Cozzone P.J.: <sup>31</sup>Phosphorus magnetic resonance spectroscopy characterization of muscular metabolic anomalies in patients with malignant hyperthermia: application to diagnosis. *Anesthesiology* 1998; 88: 96-107.
- 22 Isaacs H., Badenhorst M.E., Du Sautoy C.: *Muscle Nerve* 1989; 12: 203-5.
- 23 Sim A.T., White M.D., Denborough M.A.: Effects of adenylate cyclase activators on porcine skeletal muscle in malignant hyperpyrexia. *Br J Anaesth* 1987; 59 : 1557-62.
- 24 Ruffert H., Olthoff d., Deutrich c., Froster U.G.: Aktuelle Aspekte der Diagnostik der malignen Hyperthermie. *Aneesthesist* 2002; 51: 904-913.
- 25 Weiss R.G., O Connell K.M., Flucher B.E., Allen P.D., Grabner M., Dirksen R.T.: Functional analysis of R1086H malignant hyperthermia mutation in the DHPR reveals an unexpected influence of the III-IV loop on skeletal muscle EC coupling. *An J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: C1094-102.
- 26 Girard T., Cavagna D., Padovan E., Spagnoli G., Urwyler A., Zorzato F., Treves S.: B-lymphocytes from malignant hyperthermia-susceptible patients have an increased sensitivity to skeletal muscle ryanodine receptor activators. *J Biol Chem* 2001; 276: 48077-82.
- 27 von Breunig F., Wappler F., Hagel C., von Richthofen V., Fiege M., Weisshorn R., Stavrou D., Schulte am Esch J.: Histomorphologic examination of skeletal muscle preparations does not differentiate between malignant hyperthermia-susceptible and -normal patients. *Anesthesiology* 2000; 100: 789-94.

- 28 Sawynok J.: Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine. *Drugs* 1995; 49: 37-50.
- 29 Stoelting R.K.: *Pharmacology and Physiology in Aneasthetic Practice*. Lippincott-Raven Publishers 1999: 3rd ed.: 31-32.
- 30 Morgan G.E., Mikhail M.S., Murray M.J., Larson C.P.: *Clinical Anaesthesiology*. Appleton and Lange 1996: 3rd ed.: 133.
- 31 Berman P. Tattersall M.: Self-poisoning with intravenous halothane. *Lancet* 1982; 1: 340.
- 32 Musser J.B., Fontana J.L., Mongan P.D.: The anaesthetic and physiologic effects of an intravenous administration of a halothane lipid emulsion (5% vol/vol). *Anaesth Analg* 1999; 88: 671-5.
- 33 Dabrosin C.: Microdialysis - an in vivo technique for studies of growth factors in breast cancer. *Front Biosci* 2005; 10: 1329-35.
- 34 Gaddum J.H.: Push-Pull cannulae. *J Physiol* 1961; 155: 1-2
- 35 Bito L., Davson H., Levin E., Murray M., Snider N.: The concentrations of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, in vivo dialysate of brain, and blood plasma of the dog. *J Neurochem* 1966; 13: 1057-67.
- 36 Delgado J.M., DeFeudis F.V., Roth R.H., Ryugo D.K., Mitruka B.M.: Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1972; 198: 9-21.
- 37 Ungerstedt U., Pycock C.: Functional correlates of dopamine neurotransmission. *Bull Schweiz Akad Med Wiss* 1974; 30: 44-55.
- 38 Ungerstedt U.: Microdialysis--principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med* 1991; 230: 365-73.
- 39 Plock N., Kloft C.: Microdialysis-theoretical background and recent implementation in applied life-sciences. *Eur J Pharm Sci* 2005; 25: 1-24.
- 40 Dabrosin C.: Microdialysis - an in vivo technique for studies of growth factors in breast cancer. *Front Biosci* 2005; 10: 1329-35.
- 41 Lindefors N., Amberg G., Ungerstedt U.: Intracerebral microdialysis: I. Experimental studies of diffusion kinetics. *J Pharmacol Methods* 198; 22: 141-56.
- 42 Korth U., Merkel G., Fernandez F.F., Jandewerth O., Dogan G., Koch T., van Ackern K., Weichel O., Klein J.: Tourniquet-induced changes of energy metabolism in human skeletal muscle monitored by microdialysis. *Anesthesiology* 2000; 93: 1407-12.

- 43 de Lange E.C., Danhof M., de Boer A.G., Breimer D.D.: Critical factors of intracerebral microdialysis as a technique to determine the pharmacokinetics of drugs in rat brain. *Brain Res* 1994; 12; 666(1): 1-8.
- 44 Severinghaus J.W.: The invention and development of blood gas analysis apparatus. *Anesthesiology* 2002; 97: 253-6.
- 45 Roupie E. E.: Continuous assessment of arterial blood gases. *Crit Care* 1997; 1: 11-14.
- 46 Philips Trendcare continuous blood gas monitoring system, Technical Overview
- 47 Weiss I.K., Fink S., Harrison R., Feldman J.D., Brill J.E.: Clinical use of continuous arterial blood gas monitoring in the pediatric intensive care unit. *Pediatrics* 1999; 103: 440-5.
- 48 Sigma Diagnostics: Reagenz zur Bestimmung von Laktat. Bedienungsanleitung 1994; 1-4.
- 49 [No authors listed]: Choosing a low-temperature sterilization technology. *Health Devices*. 1999; 28 :430-55.
- 50 Krieg B.: *Chemie für Mediziner*. De Gruyter Verlag. 1999: 68-70.
- 51 Roewer N.: Maligne Hyperthermie heute. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1991; 26: 431-49.
- 52 Anetseder M., Hager M., Muller C.R., Roewer N.: Diagnosis of susceptibility to malignant hyperthermia by use of a metabolic test. *Lancet* 2002; 359: 1579-80.
- 53 Anetseder M., Sachs M., Hoyer A., Hartung E., Roewer N.: Local intramuscular application of halothane in MH-susceptible pigs without systemic effects. *Anesthesiology* 2000; 93: 209.
- 54 Korth U., Merkel G., Fernandez F.F., Jandewerth O., Dogan G., Koch T., van Ackern K., Weichel O., Klein J.: Tourniquet-induced changes of energy metabolism in human skeletal muscle monitored by microdialysis. *Anesthesiology* 2000; 93: 1407-12.
- 55 Hager M.: Ein metabolischer Test zur Diagnose einer malignen-Hyperthermie-Veranlagung. Würzburg. 2004: 8-9
- 56 Zucchi R., Ronca-Testoni S.: The sarcoplasmic reticulum Ca-Channel / ryanodine receptor: modulation by endogenous effectors, drugs and disease states. *Pharmacol Rev* 1997; 49; 1-51
- 57 Berchtold M.W., Brinkmeier H., Muntener M.: Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *Physiol Rev* 2000; 80: 1215-65.

- 58 Kozack J.K., MacIntyre D.L.: Malignant Hyperthermia. *Phys Ther* 2001; 81: 945-951.
- 59 Schuster F., Schöll H., Hager M., Müller R., Roewer N., Anetseder M.: The dose-response relationship and regional distribution of lactate after intramuscular injection of Halothane and caffeine in malignant hyperthermia-susceptible pigs. *Anesth Analg* 2006; 102: 468-72.
- 60 Paasuke R.T., Brownell A.K.: Serum creatine kinase level as a screening test for susceptibility to malignant hyperthermia. *JAMA* 1986; 255: 769-71.
- 60 Wallace M.S., Staats P.S.: *Pain Medicine & Management*. McGraw-Hill Medical Publishing Division 2005: 8.
- 61 Hartung E., Anetseder M.: The standard in-vitro contracture test. In: Schulte am Esch J., Scholz J., Wappler F. (Eds.) *Malignant Hyperthermie*, Pabst Science Publishers 2000: 251-261.
- 62 Fill M., Coronado R., Mickelson J.R., Vilven J., Ma J.J., Jacobson B.A., Louis C.F.: Abnormal ryanodine receptor channels in malignant hyperthermia. *Biophys J* 1990; 57: 471-5.
- 63 Löffler G., Petrides P.: *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer-Verlag. 2003: 6. ed: 419-21.
- 64 Schuster F., Schöll H., Hager M., Müller R., Roewer N., Anetseder M.: The dose-response relationship and regional distribution of lactate after intramuscular injection of Halothane and caffeine in malignant hyperthermia-susceptible pigs. *Anesth Analg* 2006; 102: 468-72.
- 65 Blanck T.J., Peterson C.V., Baroody B., Tegazzin V., Lou J.: Halothane, enflurane, and isoflurane stimulate calcium leakage from rabbit sarcoplasmic reticulum. *Anesthesiology* 1992; 76: 813-21.
- 66 Anetseder M., Hager M., Müller C.R., Roewer N.: Diagnosis of susceptibility to malignant hyperthermia by use of a metabolic test. *Lancet* 2002; 359: 1579-80.
- 67 Mueller R., Anetseder M., Hoyer A., Hartung E., Roewer N.: Outcome evaluation of patients after muscle biopsy for malignant hyperthermia testing. *Anaesthesiology* 2000; 93: 210.



## 7 Anhang

Tabelle 1: Biometrische Daten

Untersuchungstag	Proband	Diagnose	Alter	Größe	Gewicht
10.07.2003	110	Kontrolle	25	178	60
02.06.2003	91	Kontrolle	26	178	65
05.06.2003	92	Kontrolle	25	174	78
18.06.2003	93	Kontrolle	21	183	73
20.06.2003	94	Kontrolle	20	172	55
21.07.2003	97	Kontrolle	25	190	100
21.07.2003	98	Kontrolle	25	179	73
26.05.2003	90	MHN	26	170	75
23.06.2003	95	MHN	33	168	59
05.08.2003	99	MHN	33	174	86
10.09.2003	105	MHN	31	170	59
14.07.2003	109	MHN	33	170	53
23.09.2003	108	MHN	37	179	81
07.07.2003	96	MHS	18	175	65
12.08.2003	101	MHS	40	169	59
13.08.2003	102	MHS	44	162	60
13.08.2003	103	MHS	54	164	100
18.08.2003	104	MHS	26	189	80
11.09.2003	106	MHS	60	170	86

Tabelle 2: Rohdaten der intramuskulären Laktatkonzentration in mmol/l nach lokaler Stimulation mit 500 µl Koffein 80 mmol/l

Proband	Diagnose	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	KoffMax
110	Kontrolle	0,35	0,53	0,73	0,50	0,91	1,07	1,31	1,30
91	Kontrolle	0,55	0,71	0,74	0,49	0,57	0,69	0,65	0,74
92	Kontrolle	0,44	0,61	0,41	0,79	0,97	0,61	0,60	0,97
93	Kontrolle	0,77	0,77	0,68	0,79	0,64	0,71	0,84	0,84
94	Kontrolle	0,17	0,45	0,46	0,32	0,95	1,02	0,68	1,02
97	Kontrolle	0,08	0,42	0,57	0,59	0,50	0,55	0,65	0,65
98	Kontrolle	0,62	1,19	0,89	0,90	0,78	0,78	0,93	1,19
90	MHN	0,85	0,94	0,74	0,92	0,51	0,52	0,88	0,94
95	MHN	0,66	1,14	0,99	0,98	2,17	1,52	1,29	2,17
99	MHN	0,37	0,56	0,47	0,41	0,57	0,66	0,78	0,78
105	MHN	1,55	0,79	0,72	0,86	0,89	0,82	0,92	1,55
109	MHN	0,55	0,53	0,53	0,48	1,12	1,29	1,27	1,30
108	MHN	0,19	0,48	0,31	0,50	0,44	0,53	0,63	0,63
96	MHS	0,14	0,53	0,47	2,43	3,29	2,98	2,71	3,29
101	MHS	0,20	0,41		0,93	1,31	2,57	2,14	2,57
102	MHS	1,50	2,60	0,50	3,30	4,52	2,90	2,09	4,52
103	MHS	0,43	0,53	0,60	1,75	2,05	1,74	1,74	2,05
104	MHS	0,58	1,00	0,83	1,83	1,35	1,20	2,31	2,31
106	MHS	0,29	0,58	0,72					

Tabelle 3: Rohdaten der intramuskulären Laktatkonzentration in mmol/l nach lokaler Stimulation mit 100 µl Holothan 10 vol %

Proband	Diagnose	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	HalMax
110	Kontrolle	0,51	0,48	0,76	6,03	4,70	3,23	1,85	6,00
91	Kontrolle	0,31	0,70	0,72	2,43	1,21	0,71	0,52	2,43
92	Kontrolle	0,19	0,34	0,31	0,45	0,43	0,46	0,37	0,46
93	Kontrolle	0,11	0,26	0,58	2,64	4,39	4,52	2,97	4,52
94	Kontrolle	0,26	0,53	0,53	1,98	1,91	1,19	0,59	1,98
97	Kontrolle	0,19	0,00	0,64	6,45	6,61	5,69	4,66	6,61
98	Kontrolle	0,39	0,68	0,85	3,01	2,71	2,69	1,90	3,01
90	MHN	0,43	0,50	0,50	3,15	4,74	3,90	2,64	4,74
95	MHN	0,59	0,90	0,82	3,68	5,58	4,50	3,76	5,58
99	MHN	0,48	0,66	0,94	3,96	4,13	3,34	3,15	4,13
105	MHN	0,20	0,25		0,28	0,52	0,36	0,39	0,52
109	MHN	0,36	0,45	0,49	3,07	7,84	5,78	4,21	7,80
108	MHN	0,30	0,54	0,76	4,26	5,40	4,35	3,45	5,40
96	MHS	0,24	0,51	0,52	10,69	12,60	13,67	11,18	13,67
101	MHS	0,34	0,85	0,78	3,09	3,30	2,93	2,74	3,30
102	MHS	0,99	0,78	1,06	10,38	10,66	9,18	5,58	10,66
103	MHS	0,59	0,69	1,07	5,74	5,14	4,24	3,23	5,74
104	MHS	0,70	1,07	1,13	5,83	8,46	6,50	4,45	8,46
106	MHS	0,18	0,43	0,73	5,22	6,78	7,58	7,43	7,58

Tabelle 4: Rohdaten der intramuskulären pCO<sub>2</sub>-Werte in mmHg nach lokaler Stimulation mit 500 µl Koffein 80 mmol/l

Proband	Diagnose	Start	Min	Max	End	Inject- Max/min	Diff:Ausg- Max	Anstieg
110	Kontrolle	39,4	22,5	40	39,8			4,00
91	Kontrolle	39,9	27,6	46,4	40,1	13	6,5	30,00
92	Kontrolle	41,4	24,7	45	45,5	60	3,6	3,60
93	Kontrolle	37	27,5	36,8	39	56	-0,2	-0,21
94	Kontrolle	35	18,8	37	37,1	60	2	2,00
97	Kontrolle	41,8	26,5	35,3	40	11	-6,5	-35,45
98	Kontrolle	42,3	20,4	42,5	40	60	0,2	0,20
90	MHN	42	27,1	41	40,9	55	-1	-1,10
95	MHN	44	23,4	46,8	50,3	17	2,8	9,88
99	MHN	32,3	21,8	33,4	34,6	60	1,1	1,10
105	MHN	39,4	32,5	41,6	42,1	60	2,2	2,20
109	MHN	33,6	10,2	39,5	38			13,62
108	MHN	39,6	22,2	41,2	43,3	44	1,6	2,18
96	MHS	38,2	20,5	66,3	40	17	28,1	99,18
101	MHS	37	24,4	50,6	43	16	13,6	51,00
102	MHS	34	22,3	41,2	40,5	13	7,2	33,23
103	MHS	41,3	21,5	44,6	43,3	29	3,3	6,83
104	MHS	35,9	27,9	45,5	43,9	29	9,6	19,86
106	MHS	34,9	24,6	40,5	38,2	20	5,6	16,80



Tabelle 5: Rohdaten der intramuskulären pCO<sub>2</sub>-Werte in mmHg nach lokaler Stimulation mit 100 µl Halothan 10 vol %

Proband	Diagnose	Start	Min	Max	End	Inject- Max/min	Diff:Ausg- Max	Anstieg
110	Kontrolle	42	25	102	60			212
91	Kontrolle	38	25	45	46	60	8	7
92	Kontrolle	38	22	39	39	44	1	1
93	Kontrolle	40	28	90	70	40	50	75
94	Kontrolle	37	27	53	40	20	16	48
97	Kontrolle	40	28	55	40	15	15	60
98	Kontrolle	36	22	53	40	21	17	49
90	MHN	42,3	32	61	44	24	19,7	48
95	MHN	36	18	52		28	16	34
99	MHN	43	34	49	40	12	6	30
105	MHN	33	15	35	36	60	2	2
109	MHN	40	34	98	58			290
108	MHN	35	18	46	44	18	10	37
96	MHS	38	19	94	40	24	56	140
101	MHS	38	31	61	48	12	24	115
102	MHS	42	35	130	52	12	88	440
103	MHS	42	22	72	73	9	30	200
104	MHS	35	27	84	44	16	49	184
106	MHS	39	23	86	62	30	47	94

Tabelle 6: Rohdaten Muskelenzyme (CK [U/l]; Myoglobin [µg/l]) vor unmittelbar nach und 24 Stunden nach der Untersuchung

Proband	Diagnose	Myogl prä	Ckprä	Myogl post	CK post	Myogl 24h	CK 24h
110	Kontrolle	29	138	51	128	28	335
91	Kontrolle	39	119	42	103	46	220
92	Kontrolle	28	104	28	77	32	240
93	Kontrolle	38	87	36	74	256	250
94	Kontrolle	28	65		56	28	65
97	Kontrolle	42	113	49	95	59	186
98	Kontrolle	34	105	36	106	37	161
90	MHN	50	343	48	278	46	248
95	MHN	60	59		64	58	190
99	MHN	94	167	90	160	78	423
105	MHN	38	135	35	110	37	171
109	MHN	49	59	54	71		
108	MHN	62	196	49	179	66	262
96	MHS	73	262	108	255	71	919
101	MHS	59	187	76	167	52	354
102	MHS	30	120	104	118	45	456
103	MHS	54	270	86	217	53	331
104	MHS	73	575	64	485	67	972
106	MHS	290	899	180	813	181	1174

Tabelle 7: Rohdaten der venösen Blutgasanalyse unmittelbar nach der Untersuchung

Proband	Diagnose	BGA_pH	BGA_BE	BGA_pCO2
110	Kontrolle	7,34	3,3	56,3
91	Kontrolle	7,399	1,5	43,7
92	Kontrolle	7,396	1,7	44,1
93	Kontrolle	7,394	2,7	46,6
94	Kontrolle	7,402	3,1	46,2
97	Kontrolle	7,379	3,1	48,2
98	Kontrolle	7,385	2,6	46,4
90	MHN	7,376	3,7	51,8
95	MHN	7,42	0,2	36,7
99	MHN	7,439	1,3	37,1
105	MHN	7,393	2,1	45,3
109	MHN	7,386	0,6	43,3
108	MHN	7,384	5,1	51,2
96	MHS	7,405	1,7	42,3
101	MHS	7,401	1,1	45,6
102	MHS	7,438	2,3	39,1
103	MHS	7,422	3,6	44
104	MHS	7,383	3,5	50,1
106	MHS	7,399	2,3	44,1

Tabelle 8: Rohdaten Herzfrequenz während der Untersuchung

Proband	Diagnose	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
110	Kontrolle	80	85	84	82	86	89	92
91	Kontrolle	52	55	54	53	55	60	57
92	Kontrolle	75	78	80	80	77	75	70
93	Kontrolle	65	70	67	60	67	70	65
94	Kontrolle	60	65	60	63	65	64	67
97	Kontrolle	52	51	53	50	52	50	54
98	Kontrolle	70	63	68	60	60	63	60
90	MHN	58	55	53	55	57	62	65
95	MHN	80	85	88	85	88	85	80
99	MHN	63	63	64	70	70	68	73
105	MHN	65	64	66	68	69	69	65
109	MHN	80	82	85	81	80	76	78
108	MHN	65	65	65	65	60	65	70
96	MHS	61	60	62	63	60	60	62
101	MHS	70	65	68	70	72	72	70
102	MHS	90	90	83	80	80	85	83
103	MHS	60	68	70	70	70	72	75
104	MHS	60	65	70	70	66	70	66
106	MHS	55	55	55	55	55	50	50

Tabelle 9: Rohdaten MAP während der Untersuchung

Proband	Diagnose	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
110	Kontrolle	90	85	84	82	86	89	92
91	Kontrolle	75	75	73	72	75	80	80
92	Kontrolle	83	87	85	85	87	85	83
93	Kontrolle	86	83	85	78	75	78	80
94	Kontrolle	83	80	80	78	82	80	77
97	Kontrolle	70	74	72	70	68	70	74
98	Kontrolle	80	85	83	80	85	83	82
90	MHN	86	89	88	93	82	85	90
95	MHN	90	85	88	85	80	83	86
99	MHN	88	89	90	93	86	85	88
105	MHN	75	70	73	78	80	80	78
109	MHN	73	75	76	74	78	73	70
108	MHN	105	95	105	105	105	105	105
96	MHS	78	75	73	70	75	75	78
101	MHS	90	95	90	89	93	90	92
102	MHS	80	85	83	78	80	82	83
103	MHS	100	98	100	96	98	100	103
104	MHS	75	70	73	73	70	75	75
106	MHS	90	85	85	90	85	85	85

Tabelle 10: Einzelwerte der mittleren und maximalen Steigung in mmHg/h nach entsprechender Stimulation (500 µl Koffein 80 mmol/l und 100 µl Halothan 10 vol%)

Proband	Diagnose	Koffein (mittl)	Koffein (max)	Halothan (mittl)	Halothan (max)
91	Kontrolle	32,73	34,5	8,28	9,22
92	Kontrolle	2,88	5,33	3,22	4
93	Kontrolle	0,62	0,62	84,69	111
94	Kontrolle	2,94	3	75	102
97	Kontrolle	-2,76	-2,76	62,57	74,4
98	Kontrolle	-0,6	-0,6	51,16	61,38
110	Kontrolle	6,48	6,48	202,67	339,43
90	MHN	-0,36	0,36	45,75	65,57
95	MHN	9,88		34	35,14
99	MHN	0,49	0,49	32,73	39
105	MHN	2,52	2,85	2,82	3,29
108	MHN	2,16	2,29	21,41	36
109	MHN	12,22	12,48	289	422
96	MHS	66,2	124,5	115,66	192,43
101	MHS	50,25	66,55	107,54	113
102	MHS	10,7	19,64	481,09	564
103	MHS	5,82	10	125,71	223,5
104	MHS	18,6	22,13	191,6	237,6
106	MHS	18	23,4	90,77	121,26

Tabelle 10: Einzelergebnisse des Fragebogens (Schmerz abgekürzt S.)

Proband	Diagnose	Gesamtverlauf	Information im Voraus	Betreuung	S: Venenkanüle	S: Lokale Betäubung	S: Platz. Katheter	S: Applikation	S: nach Entf. Katheter	S: nach Untersuchung	S: Tag nach Untersuchung	allgem. Beeinträchtigung	Rötung	Hämatom	Tage beeinträcht	Schmerzqualität	Schmerzdauer [min]	Verheilt [Tage]	Biopsie / neues Verfahren
91	Kontr	2	1	1	2	2	2	4	4	3	2	1	3	1	3	stumpf	2	3	
92	Kontr	2	2	1	1	3	6	6	2	2	1	1	3	1	1	einschiess	3	5	
93	Kontr	1	1	1	3	2	4	1	3	5	4	3	4	5	2	kein Schmerz	0	7	
94	Kontr	2	3	1	1	1	2	6	5	4	2	1	1	1	1	stumpf	60	7	
97	Kontr	2	1	1	2	3	5	1	1	1	1	1	1	2	0	stumpf	0	14	
98	Kontr				2	3	4	3	1	1	1	1	1	2	1	einschiess	15	4	
110	Kontr	2	1	1	2	3	3	4	2	1	1	1	1	1	0	krampfartig	5	4	
90	MHN		1	1	1	3	2	2	2	2	2	2	1	1	0	kein Schmerz	0	4	neu
95	MHN	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	0	krampfartig	1	2	neu
99	MHN	2	2	1	2	3	3	2	2	1	1	1	1	1	0	spitz	1	2	neu
105	MHN	3	5	2		3	3	4	2	3	1	1	1	1	0	einschiess	5	3	neu
108	MHN	3	1	2		2	2	2	2	2	2	2	3	1	1	einschiess	1	4	neu
109	MHN	1	1	1	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	0	stumpf	5		neu
96	MHS	2	3	1	2	3	3	5	4	3	2	2	1	3	4	krampfartig	15	8	neu
101	MHS	1	1	1	1	1	8	2	2	2	1	1	1	5	0	einschiess	2	5	neu
102	MHS	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	0	kein Schmerz	10	3	neu
103	MHS	3	6	1	3	3	4	4	4	5	4	8	1	1	1	stumpf	20	3	neu
104	MHS	1	1	1	2	2	4	2	4	3	1	1	1	1	0	einschiess	0,5	3	neu
106	MHS	2	2	1	3	7	6	4	6	8	9	9	2	1	9	krampfartig	10	8	neu
106	MHS	2	2	1	3	7	6	4	6	8	9	9	2	1	9	krampfartig	10	8	neu

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Norbert Roewer, Direktor der Klinik für Anaesthesiologie der Universität Würzburg, danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und für die Übernahme des Korreferats.

Besonders danken möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. med. Martin Anetseder für seine stete Diskussionsbereitschaft und seine mir jederzeit gewährte Unterstützung, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Den gesamten Mitarbeitern des Anästhesie-Labors sage ich herzlichen Dank für die freundliche Hilfe während meiner Untersuchungen.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei dem Pflege-Team des Urologischen Aufwachraums des Universitätsklinikums Würzburg.

Dank auch allen Probanden ohne deren großartige Mithilfe das Gelingen der Studie sicher nicht möglich gewesen wäre.



## Lebenslauf

### **PERSÖNLICHE DATEN**

Name Thomas Markus Metterlein  
Adresse Grenzstr. 30  
91522 Ansbach  
E-mail tom.metterlein@gmx.net  
Geburtsdatum, -ort 06. Mai 1978 in Ansbach

### **SCHULISCHE AUSBILDUNG**

1985 – 1989 Grundschule St. Canisius München  
1989 – 1995 Platen-Gymnasium, Ansbach  
1995 – 1996 Governor Mifflin High School, Shillington, Pennsylvania, USA  
1996 Abschluss Governor Mifflin High School, Shillington, PA, USA  
1996 – 1998 Kollegstufe des Platen-Gymnasiums, Ansbach  
1998 Abitur am Platen-Gymnasium, Ansbach

### **ZIVILDIENTST**

1998 – 1999 Ambulante Krankenpflege der Caritas, Ansbach

### **AUSBILDUNG**

1999 Ausbildung zum Rettungssanitäter im BRK  
2000 Ausbildung zum Mitarbeiter in Rettungsleitstellen des BRK  
2001 – 2002 Ausbildung zum Rettungsassistenten in Werdau

### **HOCHSCHULAUSBILDUNG**

1999 – 2001 Vorklinisches Studium, Universität Regensburg  
2001 – 2005 Klinisches Studium, Universität Würzburg  
2002 – 2004 Studium der Rechtswissenschaften neben dem Medizinstudium  
2004 – 2005 PJ Chirurgie, Universitätsklinikum Würzburg  
2005 PJ Innere Medizin, University of Rochester, New York, USA  
2005 PJ Anästhesie, Regionalspital Emmental, Burgdorf, Schweiz  
Oktober 2005 Abschluss des Studiums

### **FAMULATUREN**

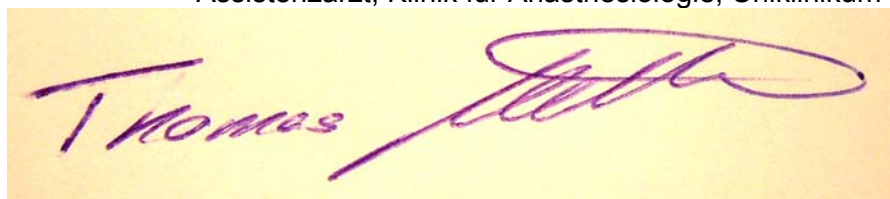
2002 Anästhesie, Verbundkrankenhaus Dinkelsbühl  
2002 Allgemeinmedizin und Anästhesie, Praxis, Ansbach  
2003 Pädiatrie, Praxis, Ansbach  
2003 Intensivmedizin, Klinikum Ansbach

### **SONSTIGES**

1997 C-Trainerschein Tischtennis, Bayerischer Landessportverband  
1999 Pflegepraktikum, Reading Medical Center, Pennsylvania, USA  
2000 Aufnahme in die Studienstiftung des Deutschen Volkes  
2003 – 2006 Promotion über Diagnostik der Malignen Hyperthermie

### **BERUFLICHE TÄTIGKEIT**

2005 – jetzt Assistenzarzt, Klinik für Anästhesiologie, Uniklinikum Würzburg



Würzburg, den 26/04/2006