

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

Intramuskuläre Messung des Kohlendioxidpartialdruckes zur Diagnose einer Disposition zur Malignen Hyperthermie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürden der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Annegret Gardill
aus Bamberg

Würzburg, November 2008

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. M. Anetseder
Koreferent: Prof. Dr. med. N. Roewer
Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 17.07.2009

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
1.1. MALIGNEN HYPERTHERMIE	1
1.1.1. <i>Definition der Malignen Hyperthermie</i>	1
1.1.2. <i>Historisches</i>	1
1.1.3. <i>Physiologie der Muskelzelle</i>	2
Elektromechanische Kopplung	2
Energiehaushalt	4
1.1.4. <i>Pathophysiologie</i>	4
1.1.5. <i>Klinische Präsentation</i>	5
1.1.6. <i>Therapie</i>	7
1.1.7. <i>Diagnostik</i>	7
In-vitro Kontrakturtest	7
Molekulargenetische Diagnostik.....	8
Experimentelle Ansätze	9
1.2. HALOTHAN UND SEVOFLURAN	9
1.3. DAS PRINZIP DER CO ₂ -MESSUNG	10
1.4. FRAGESTELLUNG	12
2. MATERIAL UND METHODEN	14
2.1. PROBANDEN UND VERSUCHSTIERE	14
2.2. MATERIAL	14
2.2.1. <i>CO₂-Partialdruckmessung</i>	14
2.2.2. <i>Injektionslösungen, Spritzen und Pumpen</i>	15
2.3. VERSUCHSPROTOKOLLE	16
2.3.1. <i>Metabolischer Test mit Halothan</i>	16
2.3.2. <i>Metabolischer Test mit Sevofluran</i>	19
2.4. ANALYSE	20
2.4.1. <i>CO₂-Partialdruckmessung</i>	20
2.4.2. <i>Statistik</i>	21

3. ERGEBNISSE	22
3.1. METABOLISCHER TEST MIT HALOTHAN	22
3.1.1. <i>Biometrische Daten</i>	22
3.1.2. <i>CO₂-Partialdruckmessung</i>	22
3.1.3. <i>Monitoring</i>	25
Herzfrequenz und Blutdruck.....	25
Venöse Blutgasanalyse	26
Kreatinkinase und Myoglobin.....	27
Schmerzen.....	28
3.1.4. <i>Fragebogen</i>	28
3.2. METABOLISCHER TEST MIT SEVOFLURAN	30
3.2.1. <i>Biometrische Daten</i>	30
3.2.2. <i>CO₂-Partialdruckmessung</i>	30
3.2.3. <i>Monitoring</i>	32
Vitalparameter	32
Kreatinkinase und Myoglobin.....	33
4. DISKUSSION.....	34
4.1. SYSTEMISCHE NEBENWIRKUNGEN	34
4.2. LOKALE NEBENWIRKUNGEN.....	35
4.3. DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNG	37
4.4. INDIVIDUELLE ERGEBNISSE.....	39
4.5. SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT.....	40
4.6. AKZEPTANZ DES MINIMAL-INVASIVEN MESSVERFAHRENS.....	41
5. ZUSAMMENFASSUNG	43
6. LITERATURVERZEICHNIS	45
7. ANHANG	50

Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
ADP	Adenosindiphosphat
AP	Aktionspotential
atm	physikalische Atmosphäre (1 atm \approx 0,1 bar oder 1×10^{-5} Pa)
ATP	Adenosintriphosphat
BE	Base Excess
Ca ²⁺	Kalzium-Ion
CK	Kreatinkinase
CO ₂	Kohlendioxid
CrP	Kreatinphosphat
d	Tag
DHPR	Dihydropyridinrezeptor
EPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Potential
F _i O ₂	Inspiratorische Sauerstoff-Konzentration
G	Gauge
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
h	Stunde
H ₂	Molekularer Wasserstoff
IQR	Interquartilenabstand
i.v.	intravenös
IVCT	In-vitro Kontrakturtest
K ⁺	Kalium-Ion
KG	Körpergewicht
LDH	Laktatdehydrogenase
m	Männlich
M	Molar
MAC	Minimale alveoläre Konzentration
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MH	Maligne Hyperthermie

Abkürzungsverzeichnis

MHE	MH equivocal
MHS	MH suszeptibel
MHN	MH negativ
min	Minute
mM	Millimolar
mN	Millinewton
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinucleotid (oxidierte Form)
NADH+H ⁺	Nicotinamidadenindinucleotid (reduzierte Form)
Na ⁺	Natrium-Ion
O ₂	Molekularer Sauerstoff
pCO ₂	Kohlendioxid-Partialdruck
pH	Potentia Hydrogenii
P _i	Anorganisches Phosphat
pO ₂	Sauerstoff-Partialdruck
RYR	Ryanodinrezeptor
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
TIVA	Total intravenöse Anästhesie
TnC	Troponin C
T-Tubulus	Transversaler Tubulus
VAS	Visuelle Analogskala
w	Weiblich

1. Einleitung

1.1. Maligne Hyperthermie

1.1.1. Definition der Malignen Hyperthermie

Die Maligne Hyperthermie (MH) ist eine seltene autosomal dominant vererbte „pharmakogenetische“ Myopathie, die bei genetisch prädisponierten Personen durch Exposition gegenüber bestimmten Triggersubstanzen (depolarisierende Muskelrelaxantien und halogenierte volatile Inhalationsanästhetika) zu lebensbedrohlichen Zuständen führen kann. Dabei kommt es durch einen Defekt am sarkoplasmatischen Ryanodinrezeptor (RYR 1) zu einem Kalzium-induzierten Hypermetabolismus der quergestreiften Skelettmuskulatur, der mit systemischer Azidose, Erhöhung der Körperkerntemperatur und Muskelspasmen einhergeht (so genannte fulminante MH-Krise).¹

Die klinische Inzidenz einer MH-Krise während einer Allgemeinanästhesie liegt bei 1:50 000 bis 1:100 000², wohingegen die geschätzte genetische Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung bei 1:10 000 zu suchen ist.

1.1.2. Historisches

Die Geschichte der Malignen Hyperthermie beginnt wohl mit Einführung der Äthernarkose durch Morton im Jahre 1846. Nur wenige Jahre später – zwischen 1900 und 1925 – wird über die ersten Todesfälle während Äther- oder Chloroformnarkosen berichtet, die mit damals unerklärlichen Muskelkrämpfen und „Hitzschlägen“ einhergingen.^{3,4} Die weltweit kritische Begutachtung solcher Zwischenfälle begann jedoch erst 1960 mit dem Bericht von Denborough und Lovell über eine Familie, in der 10 Personen während Allgemeinanästhesien zu Tode gekommen waren.⁵ 10 Jahre später zeigten Kalow et al. anhand von Untersuchungen an isolierten Bündeln quergestreifter Muskulatur, dass es sich bei der MH um eine Fehlregulation der intrazellulären Kalzium-Homöostase handelt⁶ und nicht um den zentralen Verlust der Temperaturkontrolle, wie man vorher angenommen hatte. Dantrolen als wirksames Therapeutikum einer MH-Krise wurde erst 1975 durch Harrisons Untersuchungen an MH-veranlagten

Schweinen entdeckt.⁷ Die bis dato an den verschiedenen Zentren unterschiedlich durchgeführte MH-Diagnostik wurde 1984 mit dem In-vitro Kontrakturtest (IVCT) durch die neu gegründete Europäische MH-Gruppe standardisiert.⁸ 3 Jahre später etablierte die Nordamerikanische MH-Gruppe einen ganz ähnlichen Test.⁹ Ein erster Schritt in Richtung Entwicklung eines nicht-invasiven Testverfahrens wurde 1991 beschritten: die Identifikation einer Mutation im Gen des Ryanodinrezeptors der quergestreiften Muskulatur MH-veranlagter Schweine.¹⁰ Bis heute wurden beim Menschen über 100 solcher mit der MH assoziierten Mutationen entdeckt,¹¹ von denen momentan 33 zu diagnostischen Zwecken genutzt werden.

1.1.3. Physiologie der Muskelzelle

Elektromechanische Kopplung

Im Rahmen eines ankommenden neuronalen Aktionspotentials führt die Membrandepolarisation der präsynaptischen Membran der motorischen Endplatte zur Ausschüttung von Acetylcholin (ACh) in den synaptischen Spalt. Durch Bindung der ACh-Moleküle an die nikotinischen Acetylcholin-Rezeptoren der postsynaptischen Membran bilden sich exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSP) aus, die bei Erreichen eines Schwellenwertes zur Auslösung eines Muskelmembranpotentials (AP) führen. Dieses AP pflanzt sich entlang der transversalen Tubuli (T-Tubuli) bis tief in die Muskelzelle fort, wo es spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle vom L-Typ, die Dihydropyridinrezeptoren (DHPR), aktiviert. Am Kontaktpunkt der T-Tubuli mit dem sarkoplasmatischen Retikulum (SR), der so genannten Triade, stehen die DHPR in direktem Kontakt mit den Ryanodinrezeptoren (RYR 1) des SR, die sie über eine Konformationsänderung aktivieren. Dadurch kommt es bei Ausbildung eines AP zum Ausstrom von Kalzium entlang des Konzentrationsgefälles aus den terminalen Zisternen des SR in das Sarkoplasma der Muskelzelle. Dabei erhöht sich der intrazelluläre Ca^{2+} -Spiegel von 10^{-7} M in Ruhe bis auf 5×10^{-5} M bei Aktivierung.

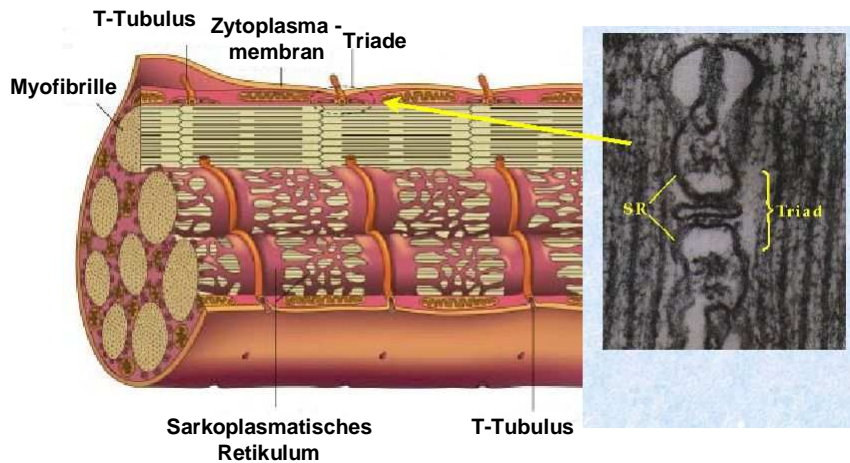


Abb. 1: Schematischer Aufbau einer Muskelfaser mit rasterelektronenmikroskopischer Aufnahme einer Triade. (Nach Prof. Dr. Jochen Röper, Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Philipps-Universität Marburg)

Das frei gewordene Kalzium bindet an die TnC-Untereinheit des Troponins, wodurch die hochaffine Bindungsstelle für Myosin am Aktin frei gegeben wird. Die beiden kontraktile Elemente Aktin und Myosin gleiten nun unter ATP-Verbrauch ineinander und resultieren somit in einer Kontraktion. Intrazelluläre Ca^{2+} -ATPasen pumpen das Kalzium innerhalb von Millisekunden zurück in das SR und beenden damit die Kontraktion.¹

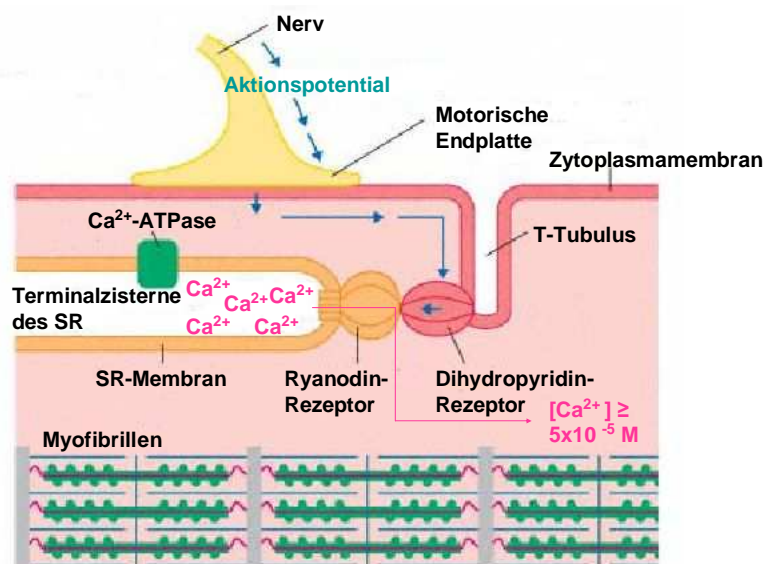
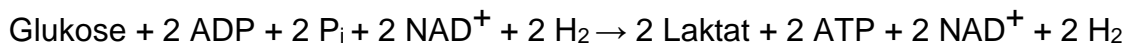


Abb. 2: Durch die Kopplung von Dihydropyridin- und Ryanodinrezeptor kommt es durch das ankommende AP zu einem Ausstrom von Kalzium aus dem SR in das Zytoplasma der Muskelzelle. (Nach Prof. Dr. Jochen Röper, Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Philipps-Universität Marburg)

Energiehaushalt

Die zur Kontraktion benötigte Energie entnimmt die Muskelzelle energiereichen Phosphatverbindungen. Nach der ersten Sekunde sind die ATP-Speicher aufgebraucht, nach 25 Sekunden die Vorräte an Kreatinphosphat (CrP). Die Zelle steigert die Glykolyse, die bei ausreichender Sauerstoffzufuhr unter aeroben Bedingungen verläuft: Aus Glukose entstehen 2 Moleküle Pyruvat, die im Citratcyclus unter ATP-Gewinnung verstoffwechselt werden. Die Regenerierung des reduzierten $\text{NADH}+\text{H}^+$ erfolgt in der Atmungskette und dient somit ebenfalls der ATP-Gewinnung.¹²

Besteht ein Sauerstoffdefizit wird Glukose anaerob zu Laktat abgebaut:



1.1.4. Pathophysiologie

Die pathophysiologischen Vorgänge der MH sind ursächlich in einer Fehlregulation der Kalzium-Homöostase während der elektromechanischen Kopplung zu suchen. In den meisten Fällen ist dafür eine Mutation im RYR 1-Gen auf Chromosom 19 verantwortlich.¹³ Jedoch werden auch Mutationen im Gen des DHPR^{14,15} oder eines Natrium-Kanals¹⁶ als kausal für eine MH angesehen bzw. vermutet.

Die Kombination einer solchen Veranlagung mit weiteren Kofaktoren wie einer Veränderung der zytosolischen Magnesium-Konzentration¹⁷ oder einer erhöhten Körperkerntemperatur¹⁸ kann unter Anwendung von Trigger-Substanzen wie halogenierten Inhalationsanästhetika oder Succinylcholin zum Auslösen einer MH-Krise führen.

Dabei kommt es zu einem so massiv gesteigerten Einstrom von Kalzium-Ionen aus dem SR in das Sarkoplasma der Muskelzelle, dass der adäquate Abtransport des Kalziums durch die sarkoplasmatische Ca^{2+} -ATPase (SERCA 2) nicht mehr gewährleistet ist. Die erhöhte intrazelluläre Kalzium-Konzentration führt zu einer anhaltenden Kontraktur, die sich klinisch als Rigor äußert. Die

dabei benötigten energiereichen Phosphatverbindungen ATP und CrP werden unter O_2 -Verbrauch und CO_2 -Produktion regeneriert. Der dadurch steigende Energieumsatz erzeugt Wärme, resultierend in einer Erhöhung der Körperkerntemperatur. Die zur Energiegewinnung angekurbelte Glykolyse findet primär aerob statt. Reicht jedoch die O_2 -Transportkapazität des Organismus trotz maximaler Steigerung des Herzzeitvolumens nicht mehr aus, wird Glukose anaerob zu Laktat verstoffwechselt. In Kombination mit der erhöhten CO_2 -Produktion führt dies zu einer gemischt metabolisch-respiratorischen Azidose. Gleichzeitig sinkt durch den erhöhten O_2 -Verbrauch der Gewebe O_2 -Partialdruck.

Wird dieser Aktivierungszustand nicht innerhalb kurzer Zeit beendet, so entsteht in der Zelle ein Mangel an energiereichen Phosphatverbindungen, da die anaerobe Glykolyse nur unzureichend Energie bereitstellen kann. Die Na^+ - K^+ -ATPase und die Ca^{2+} -ATPase sind dadurch in ihrer Funktion beeinträchtigt; das Membranpotential kann nicht mehr aufrechterhalten werden und Natrium strömt in die Zelle ein. Es kommt zur hydropischen Schwellung und letztendlich zum Zelluntergang (Rhabdomyolyse).

Dabei werden intrazelluläre Bestandteile in die Blutbahn ausgeschwemmt. Die entstehende Hyperkaliämie kann zu Tachyarrhythmien bis hin zu kardialem Arrest führen, das hochmolekulare Myoglobin zu einem akuten Nierenversagen.

1.1.5. Klinische Präsentation

Anlageträger für eine Maligne Hyperthermie sind im alltäglichen Leben nicht erkennbar.¹⁸ Verschiedene Faktoren können bei einer so veranlagten Person jedoch eine MH-Krise auslösen: Alle volatilen Inhalationsanästhetika sowie das depolarisierende Muskelrelaxans Succinylcholin gelten als Triggersubstanzen. In einzelnen Fällen wird auch über eine Triggerung durch exzessive körperliche Arbeit in großer Hitze,¹³ Benzindämpfe²⁰ oder außerordentlichen Alkohol- oder Drogenkonsum²¹ berichtet.

Die MH hat ein sehr variables Erscheinungsbild: So präsentiert sich die fulminante MH-Krise mit einem generalisierten Rigor, metabolischer sowie

respiratorischer Azidose mit einem Basendefizit von über 10 mmol/l, Hyperkapnie, Hypoxie, einer Erhöhung der Körperkerntemperatur auf über 41°C, Hyperkaliämie und daraus folgenden Herzrhythmusstörungen.²² Aufgrund des erhöhten Sauerstoffbedarfs kann sich trotz ausreichender intravasaler Oxygenierung eine zelluläre Hypoxie einstellen. Eine folgende Rhabdomyolyse mit erhöhten Werten für Kreatinkinase und Myoglobin im Serum kann zum myoglobinurischen Nierenversagen führen.¹⁹ Kardiovaskulär überwiegt initial eine sympatho-adrenerg initiierte hyperdynamische Reaktion: Durch eine Erhöhung der Schlagfrequenz, der linksventrikulären Kontraktilität und des koronaren Blutflusses versucht der Organismus dem Hypermetabolismus der Skelettmuskulatur gerecht zu werden. Durch Hypoxie und Azidose bedingt geht diese Phase in eine zweite, hypodynamische Phase über, die charakterisiert ist durch eine Reduktion von Herzzeitvolumen und systemischem arteriellem Druck und an dessen Ende das Herz-Kreislauf-Versagen steht.²³

Ein solch fulminanter Verlauf einer MH-Krise ist selten. Nach Ørding wird er bei einer von 220 000 Allgemeinanästhesien beobachtet oder bei einer von 62 000 Anästhesien während der sowohl potente Inhalationsanästhetika als auch Succinylcholin verwendet werden. Wesentlich häufiger zeigen sich dagegen abortive Verlaufsformen (1 von 16 000 Anästhesien).²⁴

Die abortive Verlaufsform einer MH ist wesentlich schwieriger zu diagnostizieren als eine fulminante MH-Krise. Oft treten nur einige der genannten Symptome in weitaus geringerer Ausprägung auf und lassen damit an verschiedene Differentialdiagnosen denken. In einigen wenigen Fällen wird eine MH erst einige Zeit später im Aufwachraum apparent.

Ein Hinweis auf eine drohende MH-Krise kann der Masseterspasmus, eine starke, anhaltende Kontraktur der Kaumuskulatur sein, der vor allem nach der Gabe von Succinylcholin entsteht. Ungefähr 50% der Patienten mit Masseterspasmus weisen im In-vitro Kontrakturtest eine Veranlagung zur MH auf.²⁵

1.1.6. Therapie

Wichtig für den Therapieerfolg einer Malignen Hyperthermie sind die sofortige Entfernung und Elimination der Triggersubstanz, die ausreichende Applikation von Dantrolen, die Aufrechterhaltung einer suffizienten systemischen Oxygenierung sowie die Komplikationsprophylaxe.

Als erster Schritt muss unverzüglich die Applikation aller potentiellen Triggersubstanzen beendet werden; der Atemkalk sowie die Beatmungsschläuche werden gewechselt. Die Beatmung des Patienten erfolgt mit 100 % Sauerstoff und einem Frischgasfluss von > 12 l/min. Dantrolen wird primär als Bolus von 2,5 mg/kg KG i.v. injiziert. Bei sichtbarer Wirkung wird die Bolusgabe wiederholt. Danach kann eine kontinuierliche Infusion von 10 mg/kg KG/d erfolgen.

Die symptomatische Therapie beinhaltet das Vertiefen der Narkose, die Gabe nicht-depolarisierender Muskelrelaxantien und eine Kreislaufstabilisierung mittels Volumensubstitution und Vasopressoren. Die Azidose wird durch die Gabe von Bicarbonat behandelt. Um einer weiteren Temperaturerhöhung entgegen zu wirken wird der Patient äußerlich sowie durch die Applikation eiskalter Infusionen gekühlt.

Eine engmaschige Kontrolle der Urinausscheidung wirkt einem myoglobinurischen Nierenversagen entgegen. Gegebenenfalls wird mit Volumentherapie, Diuresesteigerung und Alkalisierung behandelt.

Nach Stabilisierung wird der Patient mindestens 24 Stunden auf einer Intensivstation überwacht, um eventuelle Komplikationen frühzeitig erkennen und behandeln zu können.¹⁹

1.1.7. Diagnostik

In-vitro Kontrakturtest

Der momentane Goldstandard der MH-Diagnostik ist der In-vitro Kontrakturtest (IVCT) mit Halothan und Koffein, der seit 1989 nach einem von der

Europäischen MH-Gruppe verfassten Protokoll einheitlich in ganz Europa durchgeführt wird.⁹

Die dafür benötigte Muskelbiopsie wird dem Patienten unter Regionalanästhesie aus der Vastus-Gruppe des Oberschenkels entnommen. Nach Präparation dünner Muskelbündel werden diese in einem oxigenierten Krebs-Ringer-Bad mit den Testsubstanzen Halothan bzw. Koffein in steigenden Konzentrationen inkubiert. Während der gesamten Untersuchungszeit wird das Muskelbündel elektrisch stimuliert. Die Kontraktionen werden über einen isometrischen Kraftaufnehmer registriert und graphisch über die Zeit hin aufgetragen. Eine von der normalen Kontraktions-Relaxations-Folge abweichende Kontraktur von ≥ 2 mN ist als abnorm definiert. Folgende Diagnosen werden dabei unterschieden:²⁶

MHN Kontrakturkraft < 2 mN

MHS Kontrakturkraft ≥ 2 mN unter $\leq 0,44$ mM Halothan *und* ≤ 2 mM Koffein

MHE Kontrakturkraft ≥ 2 mN unter $\leq 0,44$ mM Halothan (MHEh) *oder*
 ≤ 2 mM Koffein (MHEc)

Molekulargenetische Diagnostik

Genetische Untersuchungsmethoden konzentrieren sich auf den Nachweis von Mutationen des Ryanodinrezeptors (RYR 1), in dem bis dato mehr als 100 Punktmutationen nachgewiesen werden konnten.¹¹ Nach den Empfehlungen der Europäischen MH-Gruppe wird erst nach bioptisch gesicherter Diagnose einer familiären MH-Disposition bei einem Patienten eine genetische Suche nach 33 Mutationen vorgenommen, die bewiesenermaßen in einem kausalen Zusammenhang mit der Entstehung einer MH-Krise stehen.²⁷ Wird eine Mutation nachgewiesen, so können weitere Genträger der Familie ohne invasive Muskelbiopsie identifiziert werden, die dann als MH-gefährdet einzustufen sind. Weist ein Familienmitglied die entsprechende Mutation nicht auf, so sollte er sich zum definitiven Ausschluss einer MH-Veranlagung einem IVCT unterziehen.

Allerdings zeigt sich nur in 35-40% der gesicherten MH-Patienten eine dieser 33 Mutationen, da keine in diesem Spektrum enthaltene Mutation eine höhere Prävalenz als 15% unter den Betroffenen erreicht.¹⁹

Experimentelle Ansätze

Da der IVCT eine für den Patienten invasive Muskelbiopsie sowie zeit- und kostenintensive Laboruntersuchungen erfordert und sich aufgrund der polygenetischen Vererbung nicht ausschließlich durch die molekulargenetische Diagnostik ersetzen lässt, sucht man derzeit nach alternativen Methoden um eine Veranlagung zur Malignen Hyperthermie zu diagnostizieren.

Die Quantifizierung verschiedenster Metabolite des Muskelstoffwechsels steht dabei bis dato im Vordergrund: Klingler et al. untersuchten die Sekretion von Protonen als Reaktion auf den Ca^{2+} -Kanal-Agonisten 4-Chloro-m-Cresol anhand von kultivierten Myozyten MHS- bzw. MHN-diagnostizierter Probanden.²⁸ Anetseder und Kollegen beschäftigten sich mit der Bestimmung des intramuskulären pCO_2 sowie mit der Veränderung der intramuskulären Laktat-Konzentration nach lokaler Injektion von Koffein und Halothan und setzten damit den Grundstein zur Entwicklung eines minimal-invasiven Testverfahrens.^{29; 30}

Aber auch die Untersuchung der Ca^{2+} -Homöostase von B-Lymphozyten, die die im Muskel vorkommende Isoform des RYR 1 tragen, wurde als Möglichkeit einer neuen Diagnostik in Betracht gezogen, bleibt aber ausschließlich auf die Bestimmung von Mutationen im RYR 1 begrenzt.³¹

1.2. Halothan und Sevofluran

Halothan ($\text{F}_3\text{C-CHClBr}$) ist ein Inhalationsnarkotikum aus der Gruppe der halogenierten Kohlenwasserstoffe, das bis vor kurzem noch im klinischen Alltag verwendet wurde. Es ist eine bei 50°C siedende, farblose Flüssigkeit, die unter Lichteinfall zu flüchtigen Säuren zersetzt wird und weder brennbar noch explosiv ist. Seine Wirkung ist schwach analgetisch und muskelrelaxierend,

jedoch stark narkotisch. Mit einer MAC (minimale alveoläre Konzentration bei 1 atm bei Patienten mittleren Alters) von 0,8 Vol% besitzt es eine wesentlich größere Wirkungsstärke als Sevofluran (MAC 1,7 Vol%).

Der halogenierte Ether Sevofluran ($\text{FH}_2\text{-O-CHCF}_3\text{-CF}_3$) entstand als Weiterentwicklung aus Enfluran und Isofluran durch den Ersatz von Chlor durch Fluoratome und wurde 1990 auf dem Markt eingeführt. Sein Siedepunkt liegt bei 58,5°C. Bei Raumtemperatur ist es eine klare, nicht entflammare Flüssigkeit. Dank seines niedrigen Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten besitzt es eine bessere Steuerbarkeit als Halothan. Auch sind seine hepatische Biotransformationsrate und damit seine Hepatotoxizität niedriger als die des Halothans.

Der präzise Wirkmechanismus der Inhalationsanästhetika ist nicht bekannt. Die Wirkungsweise erfolgt wohl durch die Beeinflussung der neuronalen Membran sowohl auf prä- als auch auf postsynaptischer Ebene. Dabei kann eine Bindung sowohl an Membranlipide als auch an Membranproteine erfolgen. Aber auch eine Steigerung der Mobilität der Membrankomponenten durch das Eindringen der Gasmoleküle in die Lipidschicht könnte für den anästhetischen Effekt der Inhalationsnarkotika verantwortlich sein.³²

	Blut/Gas-Verteilungskoeffizient	Öl/Gas-Verteilungskoeffizient	MAC (Vol%)	Hepatische Biotransformationsrate
Halothan	2,4	224	0,8	20-40%
Sevofluran	0,7	47	1,7	1-5%

Tab. 1: Kennwerte zu Halothan und Sevofluran

1.3. Das Prinzip der CO₂-Messung

Das seit 1992 in der Intensivmedizin verwendete Verfahren der kontinuierlichen arteriellen Blutgasmessung beruht auf folgendem Prinzip: Eine Sonde mit fiberoptischen Messelementen wird in einer peripheren Arterie (A. brachialis oder A. femoralis) des Patienten platziert. Über eine Verbindung mit der

Messstation werden kontinuierlich die Parameter pH, pCO₂, pO₂ und die Temperatur gemessen und daraus Basenüberschuss, das Bicarbonat, und die O₂-Sättigung berechnet.

Die Technologie der pH-, pCO₂- und pO₂-Messung basiert auf dem optischen Absorptionsprinzip: Ein von einer grünen Leuchtdiode ausgehender Lichtstrahl wird mittels Fiberglasoptik an die Sondenspitze übertragen. Dort wird er an einem Spiegel reflektiert und zu einer Photodiode an der Sondenbasis zurückgeleitet, die die Intensität des ankommenden Lichtstrahls misst. Sowohl auf seinem Hin- als auch auf seinem Rückweg passiert der Lichtstrahl einen mit einer bestimmten Indikatorsubstanz gefüllten Bereich. Die optischen Eigenschaften dieses Indikators werden durch die jeweils zu messende Substanz beeinflusst. Eine semipermeable Membran an der Spitze der fiberoptischen Faser begrenzt den Kontakt zwischen Indikator und Blut auf bestimmte Ionen, so dass durch jede Faser genau eine Substanz gemessen wird.

So ist zum Beispiel die Spitze der CO₂-messenden Faser mit einer hydrophoben Polyethylen-Membran umgeben. Das CO₂ diffundiert durch diese Membran und setzt aus dem als Indikator verwendeten Phenolrot gelöst in Natriumbikarbonatlösung Protonen frei. Dies führt über eine pH-Änderung zu einer Verfärbung des Phenolrots und damit zu einer Veränderung seines Absorptionsvermögens, was letztendlich in einer Abschwächung des grünen Lichtstrahls resultiert. Das Ausmaß dieser Intensitätsminderung ist somit abhängig von der vorhandenen Menge an CO₂.

Um die Messung resistenter gegen etwaige Störfaktoren - wie zum Beispiel das Verdrehen der Sonde - zu machen, werden zwischen den grünen Lichtimpulsen auch rote durch die Fiberoptik geschickt. Da das rote Licht beim Passieren des Indikators seine Intensität nicht verändert, dient es als Referenz für Änderungen der optischen Leitfähigkeit. Das Verhältnis der gemessenen Intensität des grünen Lichts zu der des roten ist somit unabhängig von Störfaktoren und ist damit ein verlässliches Maß für den an der Sondenspitze vorherrschenden CO₂-Partialdruck.

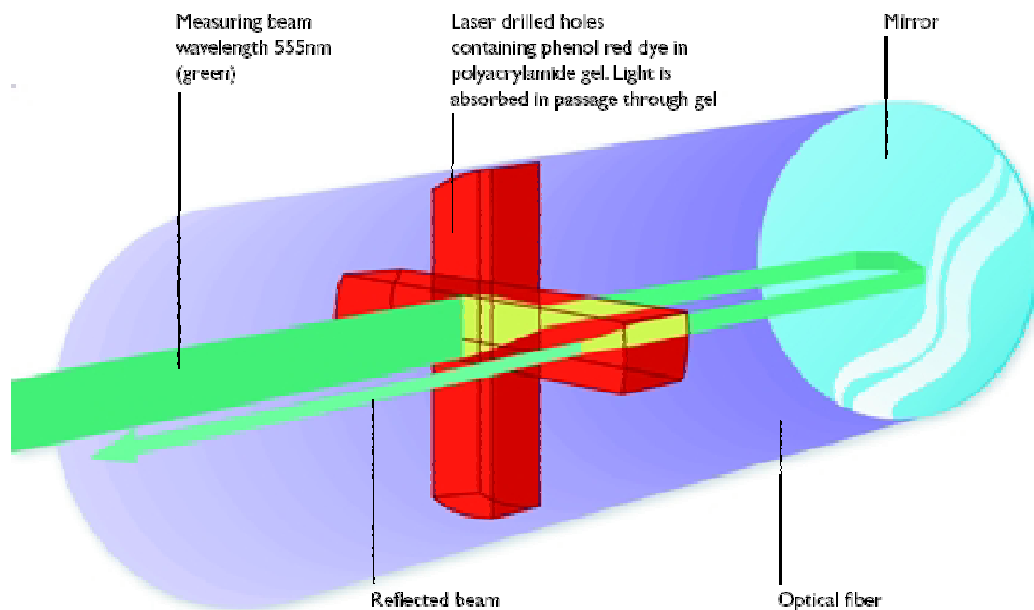


Abb. 3: Funktionsprinzip der verwendeten CO₂-Messsonde Neotrend L (nach Trendcare continuous blood gas monitoring system, Technical Overview, Diametrics Medical)

1.4. Fragestellung

Der nunmehr seit mehr als 20 Jahren durchgeführte In-vitro Kontrakturtest ist der sog. Goldstandard zur Diagnose einer Veranlagung zur Malignen Hyperthermie. Die dazu nötige Muskelbiopsie ist ein für den Patienten invasives Verfahren, das mit Krankenhausaufenthalt, Schmerzen und den allgemeinen Risiken einer Operation wie Blutung, Infektion und Parästhesien im Narbenbereich einhergeht. Der dadurch bedingte Arbeitsausfall des Patienten sowie die kostspieligen Laboruntersuchungen machen den IVCT auch aus ökonomischer Sicht verbesserungsbedürftig. Daher besteht der Bedarf eines minimal-invasiven Testverfahrens zur Diagnose einer Veranlagung zur Malignen Hyperthermie.

In der vorliegenden Arbeit soll gezeigt werden, dass die intramuskuläre Messung des CO₂-Partialdruckes nach lokaler Applikation von Halothan zu einer Unterscheidung zwischen MH-positiven und MH-negativen Probanden führt und somit als minimal-invasives Testverfahren geeignet ist.

Mit dem Erlöschen der Arzneimittelzulassung von Halothan in Deutschland³³ ergibt sich die Frage nach einer Substanz, die Halothan in der Maligne Hyperthermie Diagnostik ersetzen könnte. Das Inhalationsanästhetikum Sevofluran kann bekanntermaßen eine MH-Krise triggern.³⁴ Aber auch im IVCT mit Sevofluran zeigen die Muskelfasern MH-positiver Patienten eine verstärkte Kontraktilität im Vergleich zu denen MH-negativer Patienten.³⁵

In einem zweiten Versuchsprotokoll soll daher am Tiermodell gezeigt werden, dass Sevofluran bei intramuskulärer Applikation und anschließender lokaler CO₂-Partialdruckmessung zu einer Unterscheidung zwischen MH-positiven und MH-negativen Tieren führt und somit auch in einem minimal-invasiven Testverfahren Halothan ersetzen könnte.

2. Material und Methoden

2.1. Probanden und Versuchstiere

Zur Untersuchung der Reaktion auf Halothan 5 bzw. 6 Vol% wurden nach Zustimmung der Ethikkommission der Universität Würzburg und schriftlicher Einverständniserklärung durch die Probanden 8 MHS- und 8 MHN-Probanden randomisiert untersucht. Die Probanden wurden anhand ihrer durch einen IVCT gemäß dem Protokoll der Europäischen Maligne Hyperthermie Gruppe nachgewiesenen Diagnose ausgewählt. Bei allen Probanden lag zusätzlich eine in der jeweiligen Familie bekannte Mutation des RYR 1-Gens vor. Einer der MHS-Probanden war homozygoter Träger, die anderen 7 waren heterozygote Träger der jeweiligen Mutation. Bei den 8 MHN-Probanden wurde die jeweils bekannte Familienmutation ausgeschlossen. Personen mit Verdacht auf andere neuromuskuläre Erkrankungen wurden von vorneherein nicht in die Auswahl einbezogen.

Die tierexperimentelle Untersuchung der Reaktion auf Sevofluran verschiedener Konzentrationen sowie einem Sevofluran-Dantrolen Gemisch erfolgte mit Genehmigung der örtlichen Tierschutzkommission an 14 Pietrain-Schweinen im Alter von 12-16 Wochen. Acht der Schweine waren im Vorfeld mittels genetischer Analyse als homozygot MHS, die restlichen 6 als homozygot MHN diagnostiziert worden.

2.2. Material

2.2.1. CO₂-Partialdruckmessung

Zur CO₂-Partialdruckmessung sowohl an den Probanden als auch an den Versuchstieren wurden sterile, fiberoptische Blutgasmesssonden (Neotrend L, Diametrics Medical Ltd., Buckinghamshire, England) verwendet. Sie wurden vor der Untersuchung kalibriert (TrendCare Calibrator, Diametrics Medical Ltd., Buckinghamshire, England). Zur Injektion der Lösungen dienten 90 cm lange 27G Spinalkatheter (Pajunk, Geisingen, Deutschland) mit einem Totraumvolumen von 160 µl. Um Messsonde und Spinalkatheter in einer

parallelen Position fixieren zu können, wurde ein hämostatisches Ventil (Copilot Bleedback Control Valve, Guidant, Isernhagen, Deutschland) verwendet. Zur Positionierung der Messeinrichtung wurde der Muskel mittels einer 18G Venenverweilkanüle (Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland) punktiert.



Abb. 4: Verwendetes Material (v.l.n.r.): Zuspritzkatheter, 1 ml Spritze, 18G Venenverweilkanüle, hämostatisches Ventil, CO₂-Messsonde Neotrend L

2.2.2. Injektionslösungen, Spritzen und Pumpen

Zur Applikation in das Muskelgewebe wurde Halothan (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland) in Sojabohnenöl (Lipofundin 20% N, Braun, Melsungen, Deutschland) gelöst. Die Halothanlösung 5 Vol% (19 ml Lipofundin + 1 ml Halothan) bzw. 6 Vol% (23,5 ml Lipofundin + 1,5 ml Halothan) wurde in sterilen, gasdichten Glaskolben 10 Minuten vor Applikation gemischt. Durch einminütiges Schütteln wurde das Halothan in Lösung gebracht.

Auf gleiche Art und Weise entstanden die Sevofluranlösungen. Es wurden eine 2,5%ige (19,5 ml Lipofundin + 0,5 ml Sevofluran (Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland)), eine 5%ige (19 ml Lipofundin + 1 ml Sevofluran), eine 7,5%ige (18,5 ml Lipofundin + 1,5 ml Sevofluran) und eine 15%ige (17 ml Lipofundin + 3 ml Sevofluran) Lösung hergestellt.

Das Sevofluran-Dantrolen Gemisch entstand durch Verdünnen der 15%igen Sevofluranlösung mit Dantrolen (Procter&Gamble Pharmaceuticals,

Weiterstadt, Deutschland) im Verhältnis 1:1, so dass das Gemisch letztendlich 7,5 Vol% Sevofluran und 0,52 mmol/l Dantrolen enthielt.

Die Applikation aller Lösungen erfolgte mittels einer Spritzenpumpe (PHD 2000-Programmable Syringe Pump, Harvard Instruments, Holliston, MA, USA). Verwendet wurden 1 ml Spritzen (1 ml Luer-Lock Syringe, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland).

2.3. Versuchsprotokolle

2.3.1. Metabolischer Test mit Halothan

Die Probanden wurden im Aufwachraum des Zentrums für operative Medizin der Universitätsklinik Würzburg untersucht. Somit waren eine optimale Überwachung, die kontinuierliche Anwesenheit eines Arztes sowie die Verfügbarkeit von Notfallmedikamenten gesichert.

Während der Untersuchung lag der Proband auf dem Rücken in einem Bett, wobei das zu untersuchende rechte Bein in einer Braun'schen Schiene fixiert war. Zur Überwachung wurde in 15-minütigen Intervallen der Blutdruck nicht-invasiv bestimmt. Kontinuierlich wurden die periphere Sauerstoffsättigung und die Herzfrequenz gemessen. Zu Beginn und am Ende der Untersuchung sowie nach 24 Stunden wurden Kalium, CK, LDH, GOT, GPT und Myoglobin im Serum bestimmt, um einen Anhaltspunkt über das Ausmaß der Muskelschädigung zu erhalten. Um den systemisch-metabolischen Status des Probanden zu kontrollieren, wurde am Ende der Untersuchung eine venöse Blutgasanalyse durchgeführt. Das Schmerzempfinden wurde mittels einer visuellen Analogskala (VAS, 0 = kein Schmerz, 10 = maximal vorstellbarer Schmerz) nach Punktion und zum Zeitpunkt der Halothan-Injektion bestimmt.

Nach Anspannen des Beines durch den Probanden wurde der M. vastus lateralis aufgesucht, die Punktionsstellen markiert und die Haut nach Rasur und Desinfektion zur Lokalanästhesie mit 10 ml Scandicain 1% infiltriert.

Während der 20-minütigen Einwirkzeit des Lokalanästhetikums wurden die zwei Messeinrichtungen unter sterilen Bedingungen zusammengesetzt: Nach Entfernung des Mandrins einer 18G Punktionskanüle wurde diese als

Führungshilfe auf das hämostatische Ventil geschraubt. Über die beiden Arme des Ventils wurden die CO₂-Messsonde und der Zuspritzkatheter so in das Ventil eingeführt, dass sie in der Führungshilfe parallel zu liegen kamen. Der Zuspritzkatheter wurde bei 16,5 cm arretiert. Die Messsonde wurde soweit nach vorne geschoben, bis ihre Spitze 3 mm distal der Katheterspitze zu liegen kam. Die Führungshilfe wurde wieder entfernt.

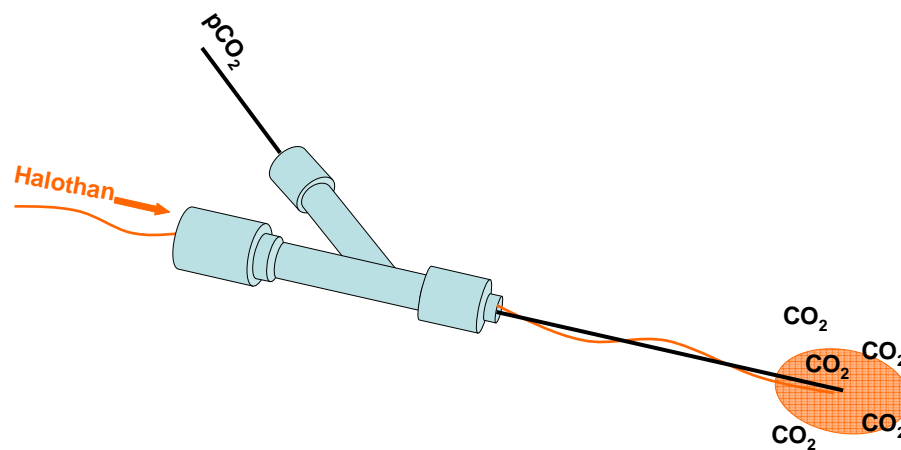


Abb. 5: Schematischer Aufbau der Messeinrichtung: Mittels eines Zwei-Arm-Ventils werden Messsonde (schwarz) und Zuspritzkatheter (orange) parallel geschaltet. Wird durch den Zuspritzkatheter Halothan appliziert, verteilt es sich um die Sondenspitze herum in der Muskulatur und steigert dort die CO₂-Produktion. Der CO₂-Partialdruck wird von der Sonde registriert und mittels Computer aufgezeichnet.

Unter sterilen Bedingungen und Ultraschallkontrolle wurden zwei 18G Punktionskanülen in kranialer Richtung nebeneinander in den M. vastus lateralis eingeführt, so dass ihre Spitzen in einem Abstand von mindestens 2 cm zu liegen kamen. Dieser Mindestabstand verhinderte eine gegenseitige Beeinflussung der beiden Messplätze. Nach Entfernung des Mandrins der Punktionskanüle wurde eine der Messeinrichtungen vorsichtig bis zum Anschlag in den Katheter eingeführt. Der Katheter wurde daraufhin soweit zurückgezogen, bis er an dem hämostatischen Ventil fixiert werden konnte, wodurch die Messsonde und der Zuspritzkatheter frei im Muskel zu liegen kamen.

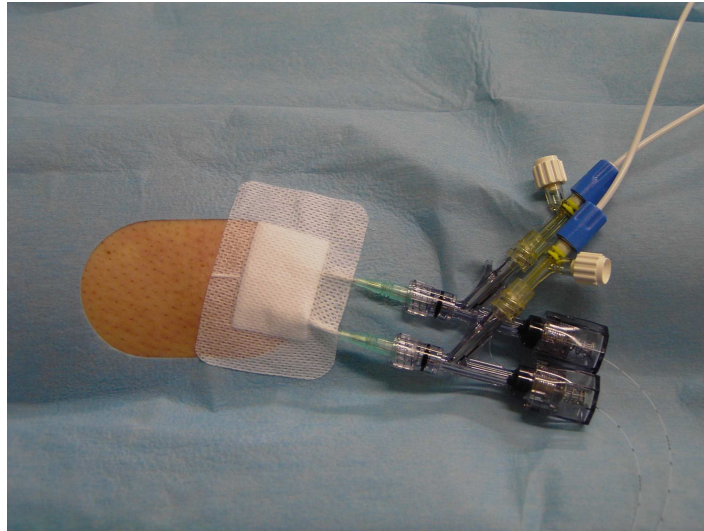


Abb. 6: Unter sterilen Bedingungen wurden zwei der zuvor zusammengesetzten Messeinrichtungen im M. vastus lateralis platziert.

Um die korrekte Lage der Sonde und des Zuspritzkatheters zueinander zu kontrollieren, wurden 200 μ l Ringer-Lösung (Delta-Select, Pfullingen, Deutschland) appliziert. Dabei wurde das Totraumvolumen des Zuspritzkatheters von 160 μ l mitberechnet, so dass eine Gesamtmenge von 360 μ l über eine Minute infundiert wurde. Bei richtiger Positionierung der Messeinrichtung kam es durch den Verdünnungseffekt an der Sondenspitze zu einem deutlichen Abfall des gemessenen CO_2 -Partialdruckes, der dann im Laufe von ca. 30 Minuten wieder auf einen im Muskel physiologischen Wert anstieg.

Die Injektion der Halothan-Lösung erfolgte, sobald der CO_2 -Partialdruck stabile Ausgangswerte erreicht hatte. Die Äquilibration des Ausgangswertes wurde definiert als eine Abweichung des pCO_2 -Wertes von $< 1,6$ mmHg/10 Minuten. Appliziert wurden jeweils 200 μ l Halothan 6 Vol% über den lateralen bzw. 5 Vol% über den medialen Zuspritzkatheter. Nach der Applikation wurde die Messung für weitere 30 Minuten fortgeführt.

Die Aufzeichnung der CO_2 -Partialdrücke erfolgte in einminütigen Intervallen über den gesamten Untersuchungszeitraum.

Am Ende der Untersuchung wurden die Messeinrichtungen aus dem Muskel entfernt. Die Einstichstellen wurden steril abgedeckt (Cutiplast steril, Smith&Nephew, Lohfelden, Deutschland). Durch das Anlegen eines

Kompressionsverbandes (Idealast, Hartmann, Heidenheim, Deutschland) wurde der Entstehung eines Hämatoms entgegengewirkt.

Um die Akzeptanz der Probanden für das minimal-invasive metabolische Testverfahren analysieren zu können wurde den Probanden vier Wochen nach der Untersuchung ein Fragebogen zugeschickt, der sie zu den verschiedenen Aspekten der Untersuchung, der Dauer der Beeinträchtigung, Nebenwirkungen und dem Verlauf der Wundheilung befragte.

2.3.2. Metabolischer Test mit Sevofluran

Die Pietrain Schweine wurden unter TIVA im tierexperimentellen Operationsraum der Universitätsklinik Würzburg untersucht. 30 Minuten vor Anästhesiebeginn wurden die Tiere mit Azaperon 2-3 mg/kg KG und Ketamin 5-6 mg/kg KG intramuskulär prämediziert. Die Narkose wurde mit Thiopental 12-16 mg/kg KG über eine Kanüle in der Ohrvene eingeleitet. Nach endotrachealer Intubation wurden die Tiere mit einer $F_iO_2 = 0,5$ und einem Atemminutenvolumen von 4,5 - 6,0 l kontrolliert beatmet, so dass sich ein endtidales CO_2 von 30 - 35 mmHg einstellte. Die Anästhesie wurde durch kontinuierliche Infusion von Fentanyl 10 - 40 μ g/kg KG/h und Midazolam 0,2 - 0,4 mg/kg KG/h aufrechterhalten.

Die hämodynamisch-metabolische Überwachung umfasste Elektrokardiographie, Pulsoximetrie und Kapnographie, kontinuierliche Messung des arteriellen Blutdrucks in der A. carotis und rektale Temperaturmessung. Um das Ausmaß der Muskelschädigung beurteilen zu können wurden direkt vor sowie am Ende der Untersuchung Myoglobin und CK im Serum bestimmt.

Zur Bestimmung der CO_2 -Partialdruckänderung nach Injektion von Sevofluran wurden Messeinrichtungen mit dem gleichen Aufbau wie bei den Probanden verwendet.

Während der Untersuchung lagen die Schweine auf dem Rücken; Vorder- und Hinterläufe waren am Untersuchungstisch fixiert. Um eine optimale Positionierung der Messeinrichtungen im M. triceps brachii der vorderen

Extremität zu gewährleisten, wurde über einen 8 cm langen Hautschnitt in der Axilla die Muskelfaszie frei präpariert und eröffnet. Jeweils eine der zuvor zusammengesetzten Messeinrichtungen wurde ultraschallkontrolliert in den Muskel der rechten bzw. linken Extremität eingebracht.

Die Kontrolle der korrekten Lage von Zuspritzkatheter zu Messsonde erfolgte, wie bei den Probanden, durch einmaliges Applizieren von 100 µl Ringer-Lösung. Durch den Verdünnungseffekt kam es dabei zu dem bereits beschriebenen typischen Abfall des CO₂-Partialdruckes, der in den folgenden 30 Minuten wieder auf im Muskel physiologische Werte anstieg. Nach Erreichen stabiler Ausgangswerte (Definition s.o.) wurden die Sevofluran-Lösungen appliziert. Dabei wurden jeweils 100 µl Sevofluran 2,5 Vol% auf der rechten und 5 Vol% auf der linken Seite injiziert. Nach Applikation wurde die Messung für weitere 30 Minuten fortgeführt. Die Aufzeichnung der CO₂-Partialdrücke erfolgte dabei in minütlichen Intervallen.

Nach Ende der Messperiode wurden die Messeinrichtungen aus dem M. triceps brachii entfernt und mit einem Mindestabstand von 2 cm zur alten Punktionsstelle neu platziert. Nach erneuter Äquilibration mit 100 µl Ringer-Lösung und Abwarten einer stabilen Baseline, wurden 100 µl Sevofluran 7,5 Vol% auf der rechten und 100 µl des Sevofluran-Dantrolen Gemisches auf der linken Seite appliziert. Es wurde für weitere 30 Minuten gemessen.

Nach erneutem Umplatzen und Spülen der Messeinrichtung erfolgte nach gleicher Art und Weise die Messung der Reaktion auf 15 Vol% Sevofluran an der rechten vorderen Extremität.

2.4. Analyse

2.4.1. CO₂-Partialdruckmessung

Sowohl für die humane als auch für die tierexperimentelle Studie wurden aus den minütlich aufgezeichneten CO₂-Partialdruckwerten die nach Applikation von Halothan bzw. Sevofluran auftretenden maximalen Steigungen berechnet. Dazu wurde für jede Minute x beginnend zum Zeitpunkt der Applikation die Differenz aus Ausgangs-CO₂-Partialdruck und momentanem CO₂-Partialdruck bestimmt

und durch die Zeit x dividiert. Nach Umrechnung in mmHg/h wurde der Maximalwert abgelesen.

2.4.2. Statistik

Die Randomisierung der Probandenuntersuchung erfolgte dadurch, dass die Terminvergabe unabhängig von der jeweiligen MH-Diagnose, sondern nach den Terminwünschen des Probanden durchgeführt wurde.

Auf Grund des geringen Stichprobenumfangs von jeweils 8 MHS- bzw. MHN-Probanden sowie 8 MHS- bzw. 6 MHN-Schweinen wird von nicht normalverteilten Variablen ausgegangen. Die Werte werden als Median und Interquartilenabstand (IQR) angegeben.

Der maximale Anstieg des CO₂-Partialdruckes nach Applikation von Halothan bzw. Sevofluran wurde mittels Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen untersucht.

Die Ergebnisse der CK- sowie der Myoglobinbestimmung direkt vor bzw. 24 Stunden nach der Untersuchung wurden mittels Wilcoxon-Rang-Test auf signifikante Unterschiede untersucht.

Als signifikant unterschiedlich wurde dabei stets $p \leq 0,05$ angenommen.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit den Programmen Win Stat und Microsoft Excel.

Bei den erhobenen Daten handelt es sich um prospektive Ergebnisse, so dass diese übertragbar sind.

3. Ergebnisse

3.1. Metabolischer Test mit Halothan

3.1.1. Biometrische Daten

Die biometrischen Daten der Probanden zeigten keinen Unterschied zwischen der MHS- und der MHN-Gruppe. Die insgesamt 16 Probanden stammten aus 12 Familien. Somit bestand je 2 Mal Blutsverwandtschaft zwischen 2 MHS- bzw. 2 MHN-Probanden.

	Geschlecht (m/w)	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)
MHS	5/3	36 (23-43)	174 (168-179)	75 (67-79)
MHN	6/2	38 (27-42)	172 (167-177)	84 (76-88)

Tab. 2: Biometrische Daten der MHS- und MHN-Gruppe der Probanden. Median (IQR)

3.1.2. CO₂-Partialdruckmessung

Nach dem Einbringen der Messeinrichtungen in den Muskel und dem Spülen mit je 200 µl Ringer-Lösung zwecks Lagekontrolle stabilisierte sich der CO₂-Partialdruck in der lateral positionierten Messeinrichtung bei einem Ruhewert von 37 mmHg (IQR 34-40) in der MHS-Gruppe bzw. 39 mmHg (38-41) in der MHN-Gruppe. In der medial positionierten Messeinrichtung wurde ein Ruhewert von 37 mmHg (36-40) in der MHS- und 40 mmHg (39-40) in der MHN-Gruppe gemessen.

Nach Applikation von 200 µl Halothan 6 Vol% über den lateralen bzw. 200 µl Halothan 5 Vol% über den medialen Zuspritzkatheter kam es durch den Verdünnungseffekt an den Sondenspitzen lateral zu einem Abfall des CO₂-Partialdruckes auf 20 mmHg (18-25) in der MHS-Gruppe und auf 23 mmHg (17-26) in der MHN-Gruppe. Medial fiel der CO₂-Partialdruck in der MHS-Gruppe auf 22 mmHg (18-25), in der MHN-Gruppe auf 15 (12-21) mmHg ab.

Als Reaktion auf Halothan 6 Vol% stieg der CO₂-Partialdruck auf ein Maximum von 108 mmHg (98-121) in der MHS-Gruppe an und war somit signifikant höher

als der maximale CO₂-Partialdruck von 50 mmHg (41-59) in der MHN-Gruppe (p = 0,012). Auch auf Halothan 5 Vol% zeigte sich in der MHS-Gruppe mit 67 mmHg (53-85) ein signifikant höheres Maximum als in der MHN-Gruppe mit 44 mmHg (40-45)(p = 0,027).

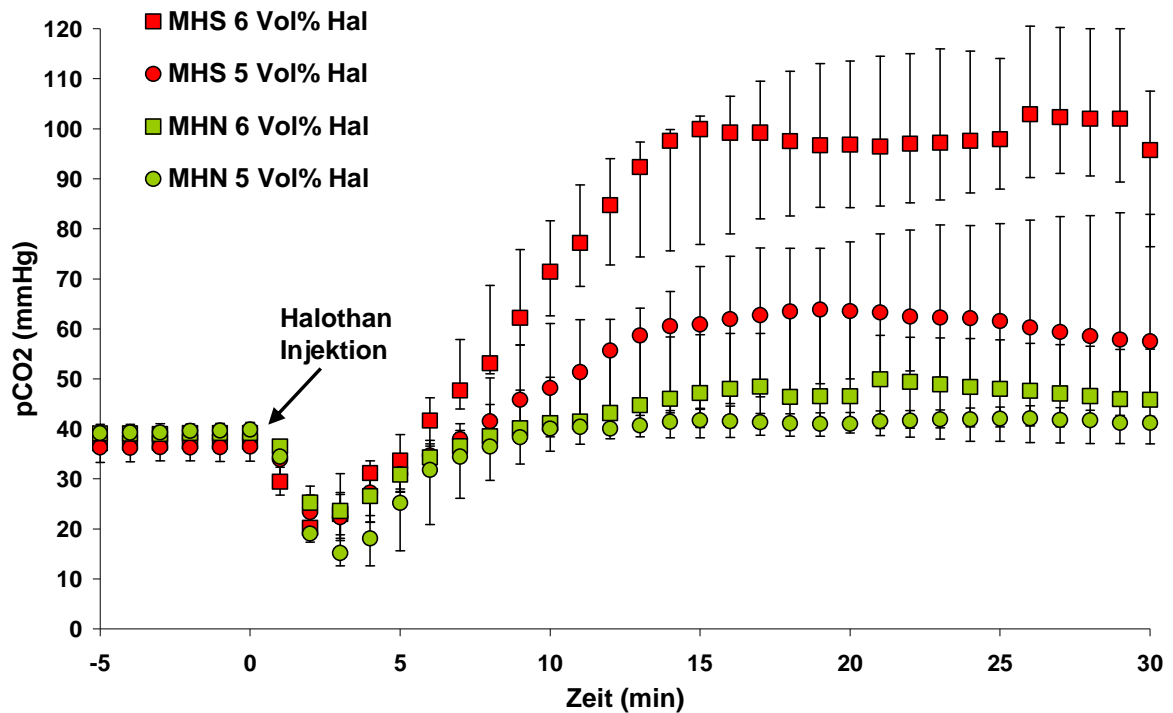


Abb. 7: Verlauf des CO₂-Partialdruckes nach Injektion von 5 bzw. 6 Vol% Halothan in der MHN- bzw. MHS-Gruppe. MHS: n=8, MHN: n=8. Median und IQR

Die maximale Anstiegssteilheit der CO₂-Partialdruckkurve in der MHS-Gruppe war sowohl nach Injektion von Halothan 6 Vol% mit 247 mmHg/h (189-279) als auch nach Injektion von Halothan 5 Vol% mit 138 mmHg/h (43-189) signifikant höher als in der MHN-Gruppe mit einer maximalen Anstiegssteilheit von 34 mmHg/h (13-71) (p = 0,012) bzw. 12 mmHg/h (-5-27)(p = 0,021).

Der homozygote MHS-Proband zeigte pCO₂-Maxima bzw. maximale Anstiegssteilheiten von 100 mmHg bzw. 357 mmHg/h für Halothan 6 Vol% und 94 mmHg bzw. 252 mmHg/h für Halothan 5 Vol% und lag damit für alle Werte mit Ausnahme des Maximalwertes für Halothan 6 Vol% oberhalb der 3. Quartile.

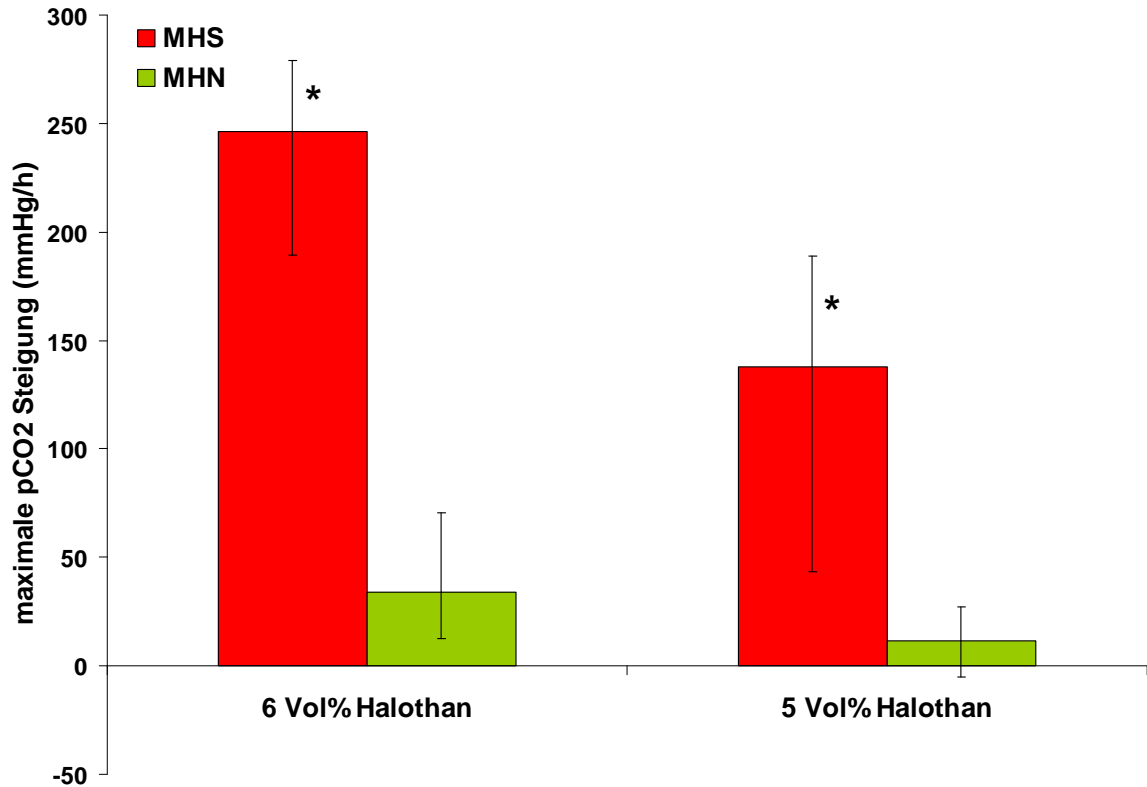


Abb. 8: Maximale Steigung des CO₂-Partialdruckes nach Injektion von Halothan 6 Vol% bzw. 5 Vol% in der MHS- bzw. MHN-Gruppe. MHS: n=8, MHN: n=8. Median und IQR. *: p < 0,05 für MHS- vs. MHN-Probanden

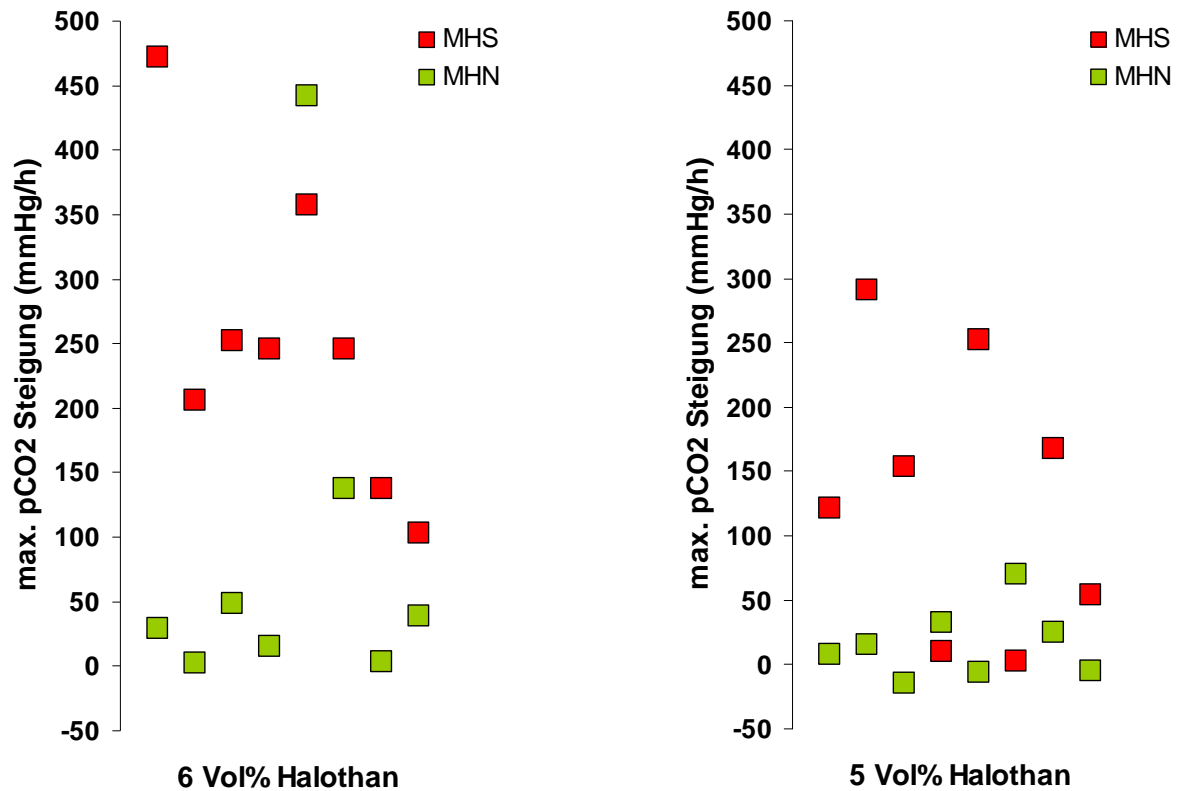


Abb. 9: Individualdaten der max. pCO₂-Steigung in mmHg/h für 6 bzw. 5 Vol% Halothan

3.1.3. Monitoring

Herzfrequenz und Blutdruck

Die Herzfrequenz sowie der Blutdruck unterschieden sich während des gesamten Untersuchungszeitraumes nicht zwischen den zwei Studiengruppen. Die periphere Sauerstoffsättigung lag bei allen Probanden kontinuierlich zwischen 95% und 100%.

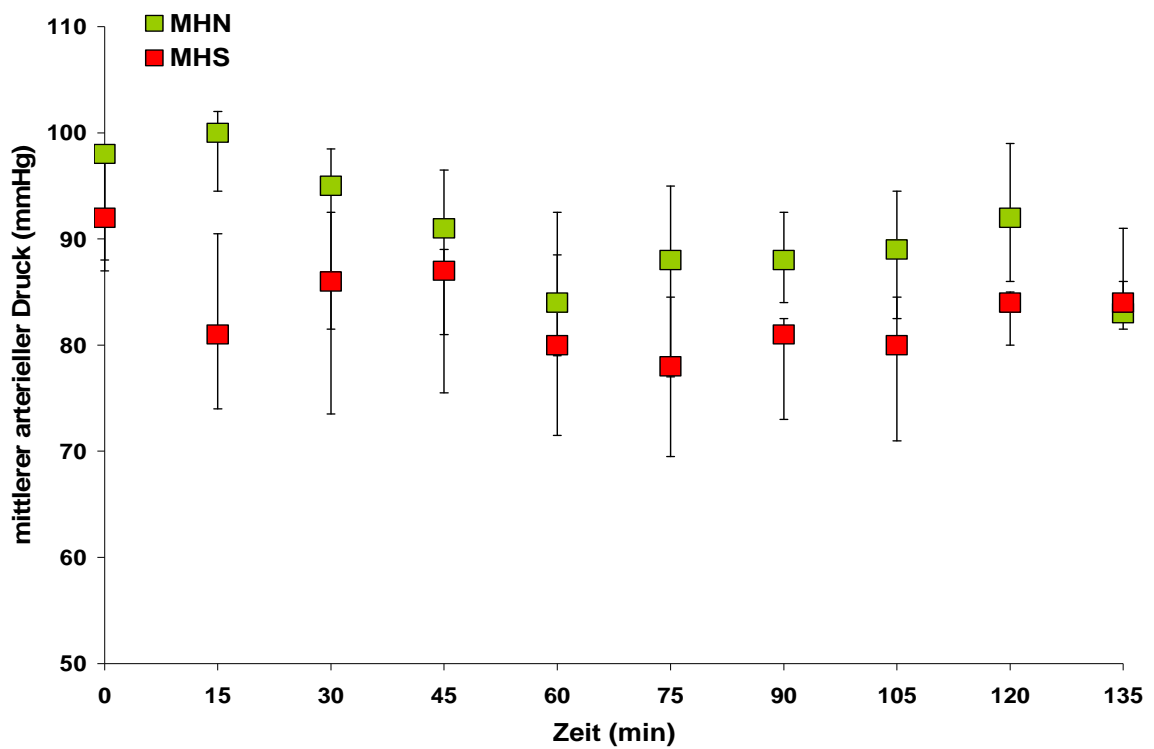


Abb. 10: Mittlerer arterieller Blutdruck in mmHg der MHS- bzw. MHN-Gruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum. MHS: n = 8, MHN: n = 8. Median und IQR

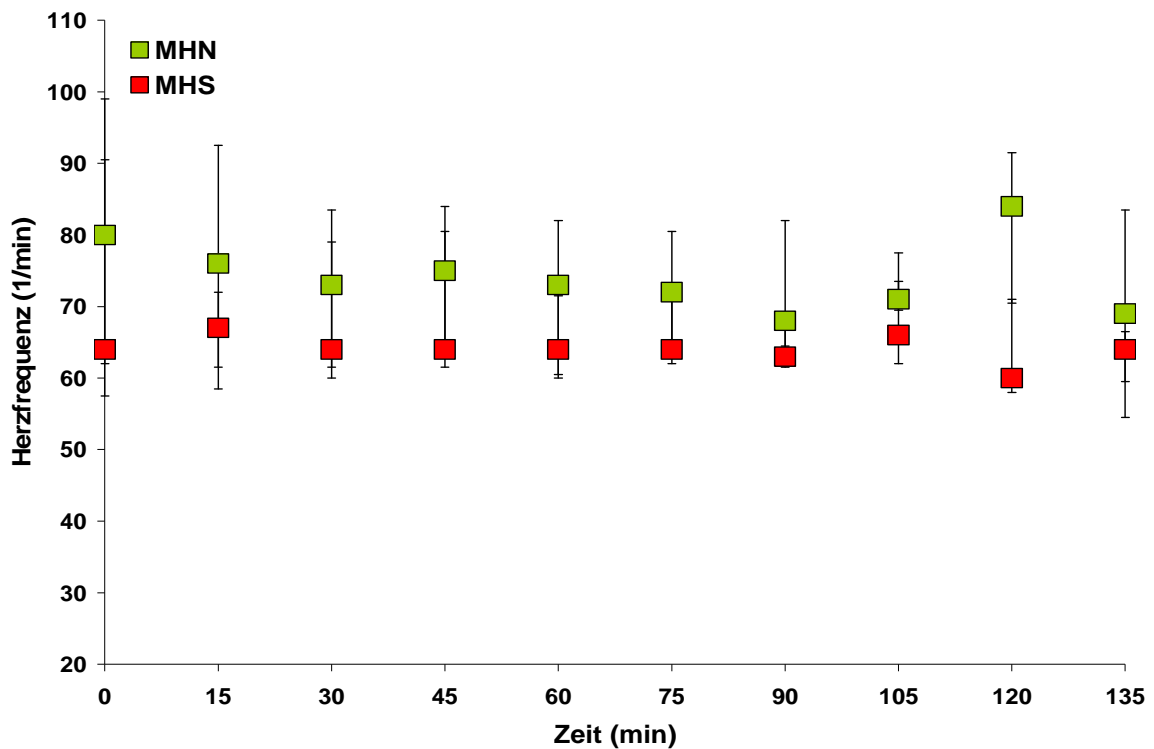


Abb. 11: Herzfrequenz in 1/min der MHS- bzw. MHN-Gruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum. MHS: n = 8, MHN: n = 8. Median und IQR

Venöse Blutgasanalyse

Die nach der Untersuchung durchgeführte venöse Blutgasanalyse gab bei keinem Probanden einen Hinweis auf eine metabolische Stoffwechselsteigerung.

	pH	Basenabweichung (mmol/l)	pCO ₂ (mmHg)
MHS	7,40 (7,39-7,41)	1,8 (1,1-2,4)	44 (43-46)
MHN	7,39 (7,35-7,40)	0,7 (-0,8-2,0)	42 (40-51)

Tab. 3: pH, BE in mmol/l und pCO₂ in mmHg in der venösen Blutgasanalyse nach der Untersuchung. Median (IQR)

Kreatinkinase und Myoglobin

Von allen Probanden wurden vor sowie sofort nach der Untersuchung die Kreatinkinase und das Myoglobin im Serum bestimmt. Die empfohlene erneute Bestimmung der Werte 24 Stunden nach der Untersuchung nahmen nur 12 der 16 Probanden wahr (6 aus der MHS-Gruppe und 6 aus der MHN-Gruppe).

Die Kreatinkinase fiel im Verlauf in der MHS-Gruppe von 243 U/l (186-407) vor der Untersuchung auf 226 U/l (163-350) direkt nach der Untersuchung ab um dann auf ein Maximum von 748 U/l (610-1028) anzusteigen. Damit war sie 24 Stunden nach der Untersuchung signifikant höher als vor der Untersuchung. Auch in der MHN-Gruppe zeigten sich nach 24 Stunden höhere Werte als direkt vor der Untersuchung. Der CK-Anstieg innerhalb von 24 Stunden war mit 363 U/l/24 h (273-551) in der MHS-Gruppe signifikant höher als in der MHN-Gruppe mit 121 U/l/24 h (80-149).

Der maximale CK-Wert wurde mit 1389 U/l bei einem Probanden aus der MHS-Gruppe 24 Stunden nach der Untersuchung bestimmt. Bei jenem Probanden war vor der Untersuchung eine Kreatinkinase von 1059 U/l gemessen worden. Der Proband zeigte keine klinischen Anzeichen einer Myopathie.

	CK prä (U/l)	CK post (U/l)	CK 24 h (U/l)	CK Anstieg innerhalb von 24 h (U/l/24 h)
MHS	243 (186-407)	226 (163-350)	748** (610-1028)	363* (273-551)
MHN	115 (75-284)	101 (68-259)	212 (160-231)	121 (80-149)

Tab. 4: Kreatinkinase im Serum vor der Untersuchung, direkt nach (MHS: n = 8, MHN: n = 8) und 24 Stunden nach der Untersuchung sowie CK Anstieg innerhalb von 24 Stunden (MHS: n = 6, MHN: n = 6). Median (IQR). *: p < 0,05 CK Anstieg MHS vs. MHN-Probanden. **: p < 0,05 CK 24 h vs. CK prä in der MHS-Gruppe

Bei der Bestimmung des Myoglobins zeigte sich ein anderes Bild. Weder in der MHS- noch in der MHN-Gruppe konnte ein Anstieg innerhalb von 24 Stunden nachgewiesen werden. Direkt nach der Untersuchung lag der Myoglobinwert in beiden Gruppen unter dem Ausgangswert. Auch der Anstieg des Myoglobins

innerhalb von 24 Stunden zeigte mit 23 µg/l/24 h (17-47) in der MHS- bzw. 11 µg/l/24 h (6-22) in der MHN-Gruppe keinen Unterschied zwischen den Gruppen. Der höchste Myoglobinwert wurde mit 197 µg/l bei einem Patienten aus der MHS-Gruppe 24 Stunden nach der Untersuchung bestimmt.

	Myoglobin prä (µg/l)	Myoglobin post (µg/l)	Myoglobin 24 h (µg/l)	Myoglobin Anstieg innerhalb von 24 h (µg/l/24 h)
MHS	57 (44-90)	44 (43-77)	95 (70-139)	23 (17- 47)
MHN	33 (27-52)	29 (25-44)	42 (39-47)	11 (6-22)

Tab. 5: Myoglobin im Serum vor der Untersuchung, direkt nach (MHS: n = 8, MHN: n = 8) und 24 Stunden nach der Untersuchung sowie Myoglobin Anstieg innerhalb von 24 Stunden (MHS: n = 6, MHN: n = 6). Median (IQR)

Schmerzen

Mittels visueller Analogskala gaben die Probanden der MHS-Gruppe während der Punktion auf einer Skala von 1 bis 10 einen Schmerz von 0,8 (0,2-1,9), die der MHN-Gruppe einen Schmerz von 0,5 (0,5-2,0) an. Es zeigte sich somit kein Unterschied zwischen den Gruppen. Zum Zeitpunkt der Injektion verspürten die Probanden der MHS-Gruppe mit 4,3 (2,4-6,3) einen höheren Schmerz als die der MHN-Gruppe mit 1,5 (0,5-2,9). Bei allen Probanden ließ innerhalb der verbleibenden 30 Minuten Untersuchungszeit der Schmerz nach, so dass alle nach der Untersuchung nahezu beschwerdefrei entlassen werden konnten.

3.1.4. Fragebogen

Von den 16 versendeten Fragebögen wurden 12 zurück geschickt (6 aus der MHS-Gruppe und 6 aus der MHN-Gruppe). Mittels einer Skala von 1 (gut, wenig) bis 10 (schlecht, stark) sollten die Probanden verschiedene Aspekte der Untersuchung bewerten.

In vielen Punkten zeigte sich kein Unterschied zwischen der MHS- und der MHN-Gruppe. So waren alle Probanden sowohl mit dem Gesamtverlauf der

Untersuchung (MHS: 1, MHN: 1,5), als auch der Informiertheit vor (MHS: 1, MHN: 2) und der Betreuung während der Untersuchung (MHS: 1, MHN: 1) durchwegs zufrieden.

Als ähnlich schmerzhaft wurde das Legen der intravenösen Verweilkanüle im Ellenbogen (MHS: 1,5, MHN: 2) und das Einstechen der Messkatheter (MHS: 2, MHN: 2) empfunden. Die vorher applizierte Lokalanästhesie empfand die MHS-Gruppe im Nachhinein als etwas schmerzhafter als die MHN-Gruppe (MHS: 4, MHN: 2). Unterschiede zeigten sich auch bei der Bewertung der Schmerzen direkt nach Injektion der Triggersubstanz Halothan, was den Probanden der MHS-Gruppe mehr Schmerzen bereitete als denen der MHN-Gruppe (MHS: 6, MHN: 3). Auch dauerten diese Schmerzen in der MHS-Gruppe deutlich länger an als in der MHN-Gruppe (MHS: 10 Minuten, MHN: 1,5 Minuten). Die Schmerzqualität wurde dabei vor allem als krampfartig, spitz und kurz einschließend beschrieben. Die Schmerzen direkt nach der Entfernung der Messkatheter (MHS: 3, MHN: 2), am selben Tag nach der Untersuchung (MHS: 3, MHN: 2) sowie am darauf folgenden Tag (MHS: 1,5, MHN: 1) wurden wiederum ähnlich bewertet.

Die Beeinträchtigung am Tage nach der Untersuchung (MHS: 1,5, MHN: 1), die Anzahl der Tage, an denen sich die Probanden beeinträchtigt fühlten (MHS: 0,5 Tage, MHN: 0 Tage) sowie die Anzahl der Tage, nach denen die Einstichstellen verheilt waren (MHS: 3 Tage, MHN: 2,5 Tage) zeigten kaum einen Unterschied. Bemängelt wurde allerdings von zwei Probanden der MHS-Gruppe die Ausbildung eines lokal begrenzten Hämatoms (Einzelbewertung 7 bzw. 8), das sich jedoch im Laufe weniger Tage bei beiden betroffenen Probanden zurückbildete.

Alle Probanden waren sich einig, dass sie das neue Messverfahren einer Muskelbiopsie vorziehen würden.

3.2. Metabolischer Test mit Sevofluran

3.2.1. Biometrische Daten

In der tierexperimentellen Untersuchung an den Pietrain Schweinen war bezüglich des Gewichts mit 30,3 kg (28,0-32,6) in der MHS-Gruppe und 31,0 kg (30,6-33,0) in der MHN-Gruppe kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festzustellen.

Die MHS-Gruppe bestand aus 4 weiblichen und 4 männlichen, die MHN-Gruppe aus 5 weiblichen und einem männlichen Schwein.

3.2.2. CO₂-Partialdruckmessung

Nach Einbringen der Messeinrichtung in den M. triceps brachii der vorderen Extremität und Spülen mit 100 µl Ringer-Lösung stabilisierte sich der CO₂-Partialdruck in der MHS-Gruppe für die Messplätze Sevofluran 2,5 Vol%, 5 Vol%, 7,5 Vol%, 15 Vol% bzw. Sevofluran-Dantrolen Gemisch bei 54 mmHg (50-63), 55 mmHg (49-56), 43 mmHg (40-46), 54 mmHg (48-58) bzw. 51 mmHg (44-61). In der MHN-Gruppe kam es für die entsprechenden Messplätze zu Ausgangswerten von 46 mmHg (42-56), 53 mmHg (50-55), 49 mmHg (42-53), 56 mmHg (50-64) bzw. 52 mmHg (45-59). Es bestand somit kein Unterschied zwischen den Gruppen.

Nach Applikation von 100 µl Sevofluran 2,5 Vol%, 5 Vol%, 7,5 Vol% bzw. 15 Vol% stieg der CO₂-Partialdruck nach initialem Abfall durch den Verdünnungseffekt in der MHS-Gruppe für alle 4 Konzentrationen mit 70 mmHg (60-97), 100 mmHg (87-150), 100 mmHg (85-109) bzw. 110 mmHg (88-134) auf signifikant höhere Maximalwerte als in der MHN-Gruppe mit 46 mmHg (40-52), 53 mmHg (48-56), 50 mmHg (50-60) bzw. 60 mmHg (52-84). Sowohl in der MHS- als auch in der MHN-Gruppe war somit der höchste maximale CO₂-Partialdruck als Reaktion auf Sevofluran 15 Vol% zu finden, der niedrigste maximale CO₂-Partialdruck als Reaktion auf Sevofluran 2,5 Vol%.

Die maximalen Anstiegssteilheiten in der MHS-Gruppe waren mit 100 mmHg/h (54-256) für 2,5 Vol% Sevofluran, 292 mmHg/h (215-850) für 5 Vol%

Sevofluran, 405 mmHg/h (346-425) für 7,5 Vol% Sevofluran und 368 mmHg/h (277-610) für 15 Vol% Sevofluran signifikant höher verglichen mit 2 mmHg/h (-9-7), -3 mmHg/h (-8-5), 37 mmHg/h (15-55) und 10 mmHg/h (-8-57) für die entsprechenden Konzentrationen in der MHN-Gruppe.

Als Reaktion auf das Sevofluran-Dantrolen Gemisch kam es mit einem maximalen CO₂-Partialdruck von 66 mmHg (60-68) in der MHS-Gruppe und 49 mmHg (46-54) in der MHN-Gruppe zu keinem signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Auch die maximalen Anstiegssteilheiten unterschieden sich mit 54 mmHg/h (10-119) in der MHS- und -7 mmHg/h (-11-(-2)) in der MHN-Gruppe nicht voneinander.

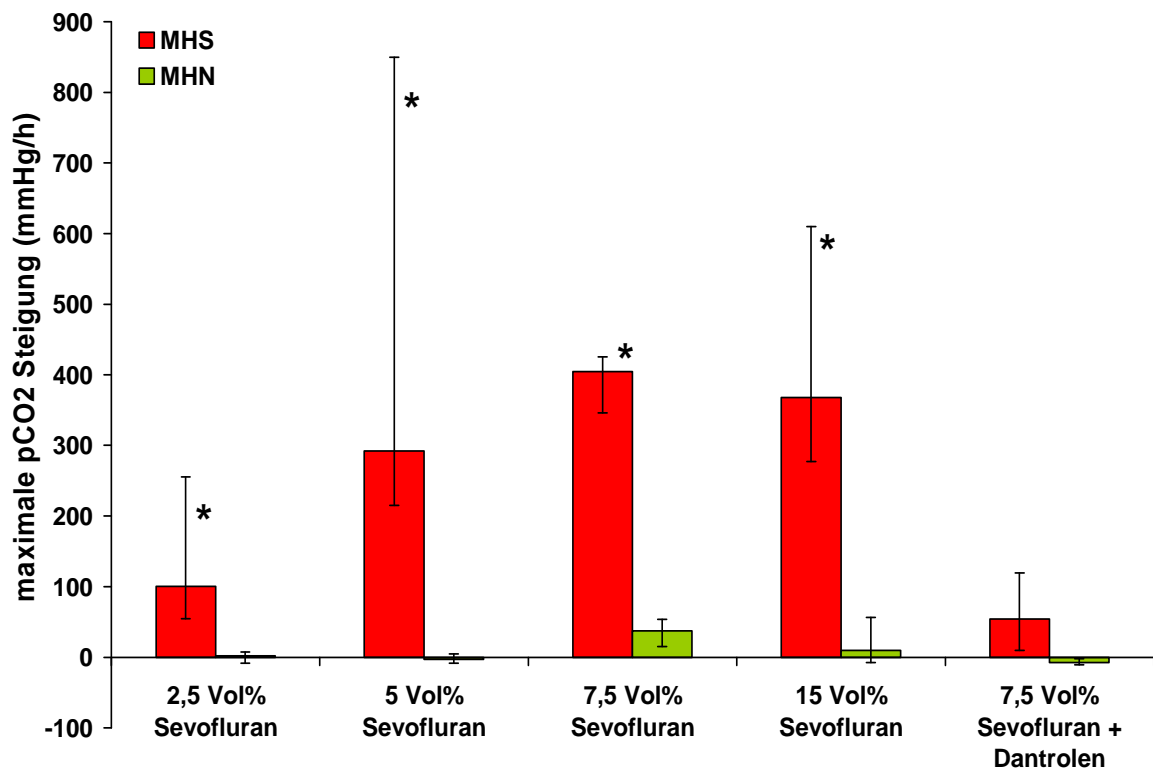


Abb. 12: Maximale Steigung des CO₂-Partialdruckes nach Injektion von Sevofluran 2,5 Vol%, 5 Vol%, 7,5 Vol% und 15 Vol% sowie des Sevofluran-Dantrolen Gemisches in der MHS- bzw. MHN-Gruppe. MHN: n = 6, MHS: n = 8 für 2,5 und 5 Vol%, MHN: n = 6, MHS: n = 6 für 7,5 Vol%, MHN: n = 6, MHS: n = 7 für 15 Vol% und Sevofluran-Dantrolen Gemisch. Median und IQR. *: p < 0,05 für MHS- vs. MHN-Tiere

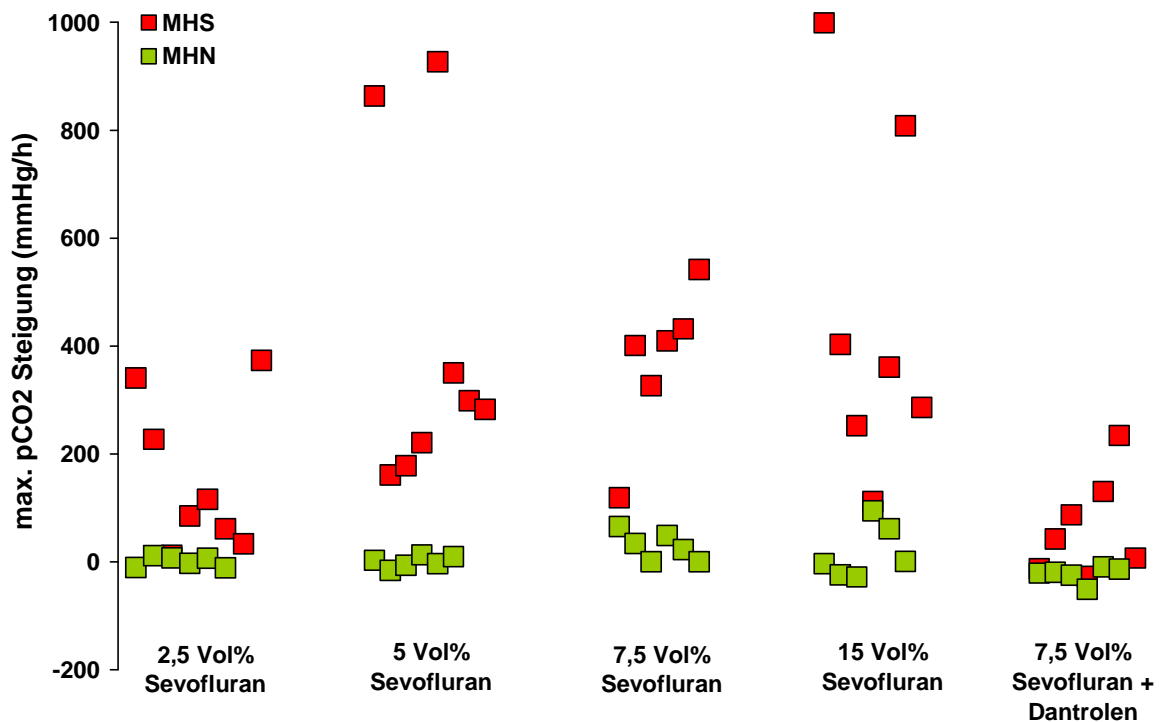


Abb. 13: Individualdaten der maximalen Steigung des CO₂-Partialdruckes nach Injektion von Sevofluran 2,5 Vol%, 5 Vol%, 7,5 Vol% und 15 Vol% sowie des Sevofluran-Dantrolen Gemisches. MHN: n = 6, MHS: n = 8 für 2,5 und 5 Vol%, MHN: n = 6, MHS: n = 6 für 7,5 Vol%, MHN: n = 6, MHS: n = 7 für 15 Vol% und Sevofluran-Dantrolen Gemisch

3.2.3. Monitoring

Vitalparameter

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes unterschieden sich die Herzfrequenz, der arterielle Blutdruck und die rektale Temperatur nicht zwischen den beiden Studiengruppen.

	MAP prä (mmHg)	MAP post (mmHg)	HF prä (1/min)	HF post (1/min)
MHS	78 (74-82)	79 (74-84)	74 (71-80)	72 (71-75)
MHN	74 (70-80)	78 (70-87)	76 (70-80)	72 (69-76)

Tab. 6: Mittlerer arterieller Blutdruck und Herzfrequenz vor bzw. nach der Untersuchung. Median (IQR)

Die periphere Sauerstoffsättigung lag bei allen Tieren kontinuierlich zwischen 97% und 100%. Der Verlauf der Vitalparameter gab zu keinem Zeitpunkt Anhalt für eine systemische Beeinträchtigung.

	Temp. prä (°C)	Temp. post (°C)	SpO ₂ prä (%)	SpO ₂ post (%)
MHS	36,5 (36,5-37,0)	37,0 (36,6-37,3)	98 (98-99)	99 (98-99)
MHN	37,1 (37,0-37,2)	37,0 (36,8-37,3)	98 (97-99)	99 (98-99)

Tab. 7: Rektale Temperatur und periphere Sauerstoffsättigung vor bzw. nach der Untersuchung. Median (IQR)

Kreatinkinase und Myoglobin

In der MHS-Gruppe stieg die Kreatinkinase im Verlauf der Untersuchung von 1364 U/l (1155-1689) auf 1971 U/l (1704-2663) und das Myoglobin von 30 µg/l (28-48) auf 52 µg/l (39-64). Beide Werte waren demnach nach der Untersuchung signifikant höher als vor der Untersuchung. In der MHN-Gruppe zeigte sich weder ein Anstieg der Kreatinkinase noch des Myoglobins.

	CK prä (U/l)	CK post (U/l)	CK Anstieg (U/l)
MHS	1364 (1155-1689)	1971* (1704-2663)	759** (553-1187)
MHN	605 (551-876)	832 (620-1082)	183 (-44-250)

Tab. 8: Kreatinkinase im Serum vor bzw. nach der Untersuchung sowie CK-Anstieg im Zeitraum während der Untersuchung. MHS: n = 8, MHN: n = 6. Median (IQR). *: p < 0,05 CK post vs. CK prä in der MHS-Gruppe. **: p < 0,05 CK Anstieg MHS- vs. MHN-Gruppe

	Myoglobin prä (µg/l)	Myoglobin post (µg/l)	Myoglobin Anstieg (µg/l)
MHS	30 (28-48)	52* (39-64)	17** (8-31)
MHN	26 (23-32)	26 (19-35)	-2 (-5-1)

Tab. 9: Myoglobin im Serum vor bzw. nach der Untersuchung sowie Myoglobin Anstieg im Zeitraum während der Untersuchung. MHS: n = 8, MHN: n = 6. Median (IQR). *: p < 0,05 Myoglobin post vs. Myoglobin prä in der MHS-Gruppe. **: p < 0,05 Myoglobin Anstieg MHS- vs. MHN-Gruppe

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wird in einer humanmedizinischen Untersuchung gezeigt, dass (1) die intramuskuläre Applikation von Halothan zu einer laborchemisch messbaren Erhöhung der Muskelenzyme im Serum führt, diese jedoch keine für den Probanden relevanten Nebenwirkungen hervorruft, dass (2) die intramuskuläre Injektion von Halothan in einer lokal messbaren Veränderung des CO₂-Partialdruckes resultiert und dass (3) die Bestimmung des intramuskulären CO₂-Anstiegs nach Applikation von Halothan eine Unterscheidung zwischen den untersuchten Gruppen ermöglicht.

Des Weiteren wird in einer zweiten, tierexperimentellen Untersuchung gezeigt, dass (1) die intramuskuläre Injektion von Sevofluran eine laborchemisch messbare Erhöhung der Muskelenzyme im Serum bedingt, dass (2) die intramuskuläre Applikation von Sevofluran zu einer lokal messbaren, konzentrationsabhängigen Steigerung des CO₂-Partialdruckes führt, die durch Zugabe von Dantrolen antagonisiert wird und dass (3) die Bestimmung des intramuskulären CO₂-Anstiegs nach Applikation von Sevofluran eine Unterscheidung zwischen den untersuchten Gruppen ermöglicht.

4.1. Systemische Nebenwirkungen

Bei keinem der Probanden gab es Hinweise auf eine systemische Reaktion auf das intramuskulär applizierte Halothan. Während der gesamten Untersuchungszeit lagen sowohl der Blutdruck als auch die Herzfrequenz sowie die periphere Sauerstoffsättigung im Normbereich. Eventuelle Frühzeichen einer MH-Reaktion wie der Anstieg des venösen CO₂-Partialdruckes sowie ein Abfall des venösen pH-Wertes²² konnten mittels nach der Untersuchung durchgeführter Blutgasanalyse ausgeschlossen werden.

Auch bei der Untersuchung der Pietrain Schweine zeigte sich keine systemische Reaktion auf das intramuskulär applizierte Sevofluran. Die bestimmten Vitalparameter blieben während der gesamten Untersuchungszeit

im Normbereich. Ein Anstieg der Körperkerntemperatur, ein weiteres typisches Symptom einer bestehenden MH-Krise,³⁷ konnte nicht verzeichnet werden. Anzunehmen ist, dass die schon an sich geringe Menge an applizierter Trigger-substanz (22 µl Halothan bzw. maximal 15 µl Sevofluran) innerhalb kürzester Zeit nach Injektion durch interstitielle Flüssigkeit weiter verdünnt wird und dadurch nicht in der Lage ist, eine MH-Krise zu triggern. Folglich kann davon ausgegangen werden, dass durch die hier vorgestellte Untersuchungsmethode keine erhöhte Gefahr besteht, bei dem Untersuchten eine MH-Krise auszulösen. Dies wurde auch in anderen Studien gezeigt.^{29, 38}

4.2. Lokale Nebenwirkungen

Durch die beschriebene Untersuchungstechnik kommt es auf zweierlei Arten zu einer zeitlich und örtlich eng begrenzten Muskelschädigung: das Einführen der Kanülen in den Muskel führt zu einem rein mechanischen Trauma, das mit dem bei einer i.m. Injektion auftretenden Gewebeschaden vergleichbar ist. Ein Einfluss dieses Gewebeschadens auf die folgende Messung kann nicht völlig ausgeschlossen werden. Allerdings stabilisierte sich der intramuskulär gemessene CO₂-Partialdruck nach Einbringen der Messeinrichtung und dem Spülung mit 200 µl Ringer-Lösung bei allen Probanden bei Werten um 38 mmHg. Ähnliche intramuskuläre CO₂-Partialdrücke wurden auch in anderen Studien als Ausgangswerte beschrieben.^{29;39} Auch bei der Untersuchung der Pietrain Schweine kam es nach dem Spülen des Systems mit 100 µl Ringer-Lösung zur Ausbildung einheitlicher Grundwerte. Somit kann für beide Studienprotokolle von einer stabilen Ausgangslage für die Messung ausgegangen werden.

Eine zweite Gewebeschädigung entsteht durch die Injektion der Triggersubstanzen Halothan und Sevofluran. Beide Substanzen führen über eine Interaktion mit dem sarkoplasmatischen Ryanodin-Rezeptor zu einer Erhöhung der myoplasmatischen Kalzium-Konzentration, was primär in einer massiven Aktivierung des muskulären Stoffwechsels resultiert. Durch den schnellen Verbrauch der zur Verfügung stehenden energiereichen

Phosphatverbindungen und durch die angekurbelte Glykolyse übersteigt der zelluläre Sauerstoffbedarf letztendlich das Sauerstoffangebot. Das nun anaerob entstehende Laktat sowie eine überschießende CO₂-Produktion führen zur Azidose.⁴⁰ Durch den Zusammenbruch des zellulären Energiehaushaltes kommt es schlussendlich zur Lyse der muskulären Zellmembran und damit zur Ausschüttung intrazellulärer Bestandteile wie zum Beispiel der Muskelenzyme Kreatinkinase und Myoglobin in die Blutbahn. Die Quantifizierung solch intrazellulärer Bestandteile im Serum gibt daher Aufschluss über das Ausmaß einer Muskelschädigung.

Die Kreatinkinase gilt dabei als sensibelster Marker.⁴¹ Ist ihr Wert um mehr als das Fünffache erhöht so kann man von einer signifikanten Schädigung der quergestreiften Muskulatur ausgehen.⁴² Bei der Untersuchung der Probanden kam es in beiden Gruppen innerhalb von 24 Stunden zu einer Erhöhung der Kreatinkinase im Serum. Im Median stieg ihr Wert dabei in der MHS-Gruppe jedoch nur um das 2,6-fache, in der MHN-Gruppe um das Zweifache. Dieser Unterschied zwischen den Gruppen ist wohl darauf zurückzuführen, dass die Muskulatur MH-veranlagter Personen auf die Applikation von Triggersubstanzen wesentlich intensiver reagiert als die Muskulatur nicht MH-veranlagter, was zum Beispiel im IVCT zu diagnostischen Zwecken genutzt wird. Dies spiegelt sich auch in der Dauer der durch die Applikation verursachten Schmerzen (10 Minuten in der MHS- vs. 1,5 Minuten in der MHN-Gruppe) sowie in der Schmerzintensität (6 in der MHS- vs. 3 von 10 Punkten in der MHN-Gruppe) wieder.

Bei einem Normbereich von 38-190 U/l lag der maximal erreichte Kreatinkinase-Wert unter den Probanden bei 1398 U/l. Jener Proband war jedoch schon mit einer CK von 1059 U/l zur Untersuchung erschienen. In der Literatur finden sich jedoch auch Fälle von Hochleistungssportlern mit Werten von einigen Tausend U/l, die ohne Beeinträchtigung überstanden wurden.⁴³

Sehr ähnliche Reaktionen zeigten die Pietrain Schweine auf die Applikation von Sevofluran. Hier kam es in der MHS-Gruppe sowohl zu einem Anstieg der Kreatinkinase als auch des Myoglobins. Jedoch kann davon ausgegangen werden, dass auch diese Reaktionen örtlich und zeitlich begrenzt blieben. Dafür

sprechen zum einen Ergebnisse aus früheren Studien,⁴⁴ zum anderen die Tatsache, dass nach dem Zurückziehen der pCO₂-Messsonde um ca. 1 cm die durch die Triggersubstanzen induzierten hohen CO₂-Partialdruckwerte in den Normbereich abfielen (Werte nicht aufgeführt).

4.3. Dosis-Wirkungs-Beziehung

Das klinische Bild einer MH weist große Variabilität auf. So kann die Applikation von Triggersubstanzen bei MH-Veranlagten zu einem einfachen Masseterspasmus oder einer abortiven Verlaufsform, aber auch zu einer fulminanten MH-Krise führen.⁴⁵

Die Schwellendosis, die dabei zu der MH-typischen Reaktion führt, ist inter- und intraindividuell unterschiedlich. In vitro Untersuchungen zeigten jedoch, dass trotz dieser großen Variabilität die Applikation von Halothan zu einer dosisabhängigen Steigerung der intrazellulären Kalzium-Konzentration in isolierten Muskelzellen führt.⁴⁶ Zu vermuten wäre also auch eine erkennbare Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Konzentration der applizierten Triggersubstanz und einer in vivo gemessenen Stoffwechselreaktion, wie sie bei dem hier vorgestellten minimal-invasiven Testverfahren verwendet wird.

Tatsächlich scheint die intramuskuläre Injektion von Halothan 6 Vol% zu einer ausgeprägteren CO₂-Produktion zu führen als die von Halothan 5 Vol%. Dabei kam es nach Applikation von Halothan 5 Vol% bei drei Probanden der MHS-Gruppe allerdings zu einem so geringen Anstieg des lokalen CO₂-Partialdruckes, dass sie sich nicht mehr von den Probanden der MHN-Gruppe unterschieden. Bei weiterer Reduktion der applizierten Dosis würden sich die Reaktionen der MHS- und MHN-Probanden vermutlich immer weiter angleichen, so dass letztendlich keine Unterscheidung zwischen den Gruppen mehr möglich wäre.

In vorhergehenden Untersuchungen wurde gezeigt, dass andererseits eine Erhöhung der Dosis dazu führt, dass auch MH-negative Probanden eine lokale MH-ähnliche Reaktion zeigen und somit fälschlicherweise als positiv

diagnostiziert werden könnten. Die Erhöhung der applizierten Konzentration auf 8 Vol% führt bereits zu solch einem Effekt.⁴⁷

Auf der anderen Seite ist die beobachtete lokale Stoffwechselsteigerung auch abhängig von der Applikationsart der Triggersubstanz. Wird zum Beispiel Halothan 10 Vol% nicht als Bolus sondern kontinuierlich über eine Mikrodialyse-Sonde appliziert, so führt es, trotz der hohen Konzentration zu einer guten Unterscheidung zwischen MH-positiven und MH-negativen Probanden.⁴⁸

Genau wie Halothan führt auch die Triggersubstanz Sevofluran in vitro zu einer dosisabhängigen Freisetzung von Kalzium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum quergestreifter Muskulatur.⁴⁹

Die hier vorgestellten Ergebnisse der Untersuchungen am Tiermodell legen nahe, dass auch die lokale Stoffwechselsteigerung, ausgelöst durch die intramuskuläre Applikation von Sevofluran, in vivo eine Dosisabhängigkeit aufweist.

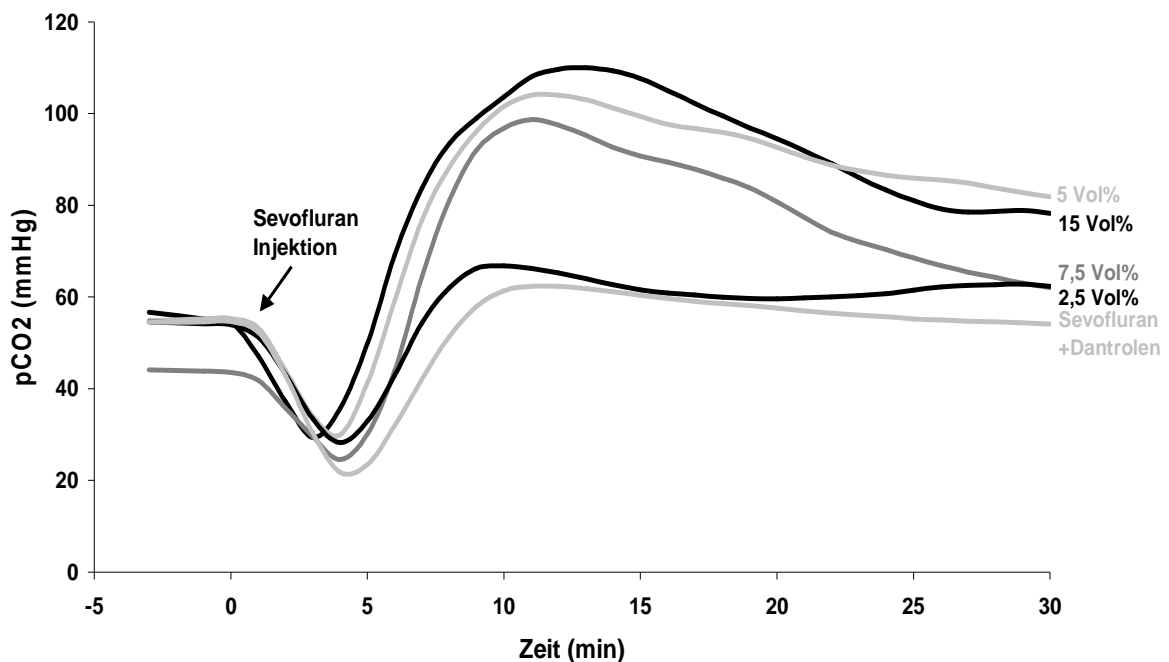


Abb. 14: Schematischer Verlauf der CO₂-Partialdruckwerte für Sevofluran 2,5 Vol%, 5 Vol%, 7,5 Vol% und 15 Vol% sowie für das Sevofluran-Dantrolen Gemisch in der MHS-Gruppe

Der schematische Verlauf der CO₂-Partialdruckwerte zeigt, dass Sevofluran in der MHS-Gruppe in hohen Konzentrationen (15 Vol%, 7,5 Vol% und 5 Vol%) eine schnellere und höhere CO₂-Produktion bewirkt als in der niedrigen

Konzentration von 2,5 Vol%. In der MHN-Gruppe zeigte sich dagegen auch bei der höchsten verwendeten Konzentration von Sevofluran 15 Vol% nur ein minimaler Anstieg des CO₂-Partialdruckwertes über den Ausgangswert. Ob eine weitere Erhöhung der Konzentration zu einer noch besseren Differenzierung zwischen den Gruppen führt oder ob dadurch in der MHN-Gruppe der Schwellenwert erreicht und damit eine MH-ähnliche Reaktion ausgelöst wird, lässt sich allerdings nicht mit Sicherheit sagen.

Auch lassen sich die vorliegenden Ergebnisse womöglich nicht ohne weiteres vom Tiermodell auf den Menschen übertragen. Um eine Aussage darüber treffen zu können, welche Konzentration bei einem minimal-invasiven Testverfahren mit Sevofluran am besten zwischen MH-positiven und MH-negativen Probanden differenziert, müssen entsprechende Studien durchgeführt werden.

4.4. Individuelle Ergebnisse

Sowohl Halothan 5 Vol% als auch Halothan 6 Vol% lösen in der MHS-Gruppe im Vergleich mit der MHN-Gruppe eine deutlich stärkere CO₂-Produktion aus, was eine gute Differenzierung zwischen den Gruppen erlaubt. Für ein diagnostisches Testverfahren sind allerdings die individuellen Ergebnisse ausschlaggebend. Diese zeigen im vorgestellten Testverfahren eine gewisse Schwankungsbreite, teilweise sogar Überlappungen: So zeigten zwei Probanden der MHN-Gruppe nach Injektion von Halothan 6 Vol% einen CO₂-Anstieg, der typisch für einen MHS-Probanden gewesen wäre. Nach Injektion von Halothan 5 Vol% kam es dagegen bei drei Probanden der MHS-Gruppe zu einem so geringen CO₂-Anstieg, dass sie fälschlicherweise als MHN diagnostiziert werden könnten. Ursächlich kommen dafür verschiedene Gründe in Frage:

(1) Die vorher mittels IVCT erstellte Diagnose der betroffenen Probanden könnte falsch sein. Obwohl der IVCT eine Sensitivität von 99 % aufweist, sind Fälle von falsch negativ diagnostizierten Patienten bekannt.⁵⁰ Eine Spezifität von 93,6 % bedeutet auf der anderen Seite, dass schon von 16 untersuchten

Patienten einer falsch positiv diagnostiziert wird.⁵¹ Auf Grund der Übereinstimmung der genetischen Analyse mit der Diagnose des IVCT der hier untersuchten Probanden ist diese Ursache jedoch sehr unwahrscheinlich.

(2) Das Vorliegen einer anderen Myopathie könnte bei MHN-diagnostizierten Probanden fälschlicherweise zu positiven Ergebnissen führen. Myopathien wie die Duchenne'sche Muskeldystrophie erhöhen die Vulnerabilität der Muskulatur und können unter Einfluss von Triggersubstanzen zu schwerer Rhabdomyolyse führen.⁵² Von den zwei betroffenen MHN-Probanden zeigte einer keinerlei klinische Hinweise auf eine Myopathie. Der andere wies jedoch schon vor der Untersuchung deutlich erhöhte CK-Werte auf.

(3) Individuelle Faktoren spielen wahrscheinlich eine wesentliche Rolle: der unterschiedliche interstitielle Wasser- und Fettgehalt beeinflusst die Triggerkonzentration am Applikationsort. Inter- und intraindividuell starke Unterschiede in der Reaktivität auf die Triggersubstanzen erschweren das Festlegen einer klaren Grenze zwischen MHS und MHN.

(4) An methodischen Faktoren beeinflusst vor allem die Positionierung der Messsonde samt Zuspritzkatheter die Untersuchungsergebnisse. Liegt der Applikationsort in unmittelbarer Nähe eines Muskelseptums oder in einem stärker durchbluteten Areal, so fließt die applizierte Triggersubstanz womöglich ab oder wird schnell im Blutstrom abtransportiert. Die genaue Konzentration an Halothan am Applikationsort ist somit nicht bekannt.

4.5. Sensitivität und Spezifität

Soll das vorgestellte Testverfahren diagnostisch eingesetzt werden, so muss ein Grenzwert definiert werden, ab dem ein untersuchter Patient als MH-positiv zu diagnostizieren ist. Auf Grund eines potentiell letalen Verlaufs einer MH-Krise muss dieser Grenzwert so gewählt werden, dass das Testverfahren möglichst eine Sensitivität von 100 % aufweist. Eine reduzierte Spezifität wird dabei in Kauf genommen.

Legt man den Grenzwert bei der Untersuchung mit Halothan 6 Vol% bei einer pCO₂-Steigung von 100 mmHg/h fest, so würden alle MHS-Probanden

tatsächlich als positiv diagnostiziert werden. Zwei MHN-Probanden wiesen dann allerdings auch eine als positiv geltende pCO₂-Steigung auf. Das Testverfahren hätte damit eine Spezifität von 75 %.

Würde man bei der Untersuchung mit Halothan 5 Vol% den Grenzwert so legen, dass er alle MHS-Probanden einschliesse (Grenzwert: 0 mmHg/h) so würden auch fünf Probanden der MHN-Gruppe darunter fallen. Das Testverfahren hätte damit eine inakzeptable Spezifität von 37,5 %. Daher ist die Konzentration von Halothan 5 Vol% für das hier vorgestellte minimal-invasive Testverfahren nicht geeignet. Die Konzentration scheint so gering zu sein, dass sie selbst bei manchen MH-Veranlagten keine Stoffwechselsteigerung triggern kann.

Auf Grund der relativ geringen Gruppengröße der vorgestellten Studie sind die festgelegten Grenzwerte als empirische Schwellenwerte zu betrachten, die in einem größeren Kollektiv bestätigt werden sollten. Positive oder negative Vorhersagewerte lassen sich wegen der nicht genau bekannten Prävalenz der Malignen Hyperthermie nicht bestimmen.

Um bei 100 %iger Sensitivität maximale Spezifität zu erreichen, könnte die intramuskuläre CO₂-Partialdruckmessung nach Applikation von Halothan 6 Vol% noch mit einer CO₂-Partialdruckmessung nach Applikation von Koffein kombiniert werden. Frühere Studien zeigten, dass die Injektion von Koffein 80 mM zu einer sehr guten Differenzierung zwischen MH-positiven und MH-negativen Probanden führt.²⁹

4.6. Akzeptanz des minimal-invasiven Messverfahrens

Anhand der vier Wochen nach der Untersuchung an die Probanden verschickten Fragebögen wurde die Akzeptanz des neuen Verfahrens evaluiert. Alle Probanden waren mit dem Gesamtverlauf der Untersuchung durchwegs zufrieden. Auffallend war, dass die Probanden der MHS-Gruppe nach Applikation der Triggersubstanz einen stärkeren sowie länger andauernden Schmerz verspürten als die der MHN-Gruppe. Direkt nach der Entfernung der Messkatheter, also 30 Minuten nach Injektion, hatte sich dieser Schmerzlevel

jedoch fast wieder an das der MHN-Gruppe angeglichen. Am Tage nach der Untersuchung fühlten sich nur zwei der 16 Probanden noch leicht beeinträchtigt. Die Wundheilung verlief bei allen Probanden weitgehend problemlos. Die Einstichstellen waren im Schnitt nach drei Tagen verheilt.

Im Vergleich ergab eine Befragung von Patienten, die sich einer Muskelbiopsie zum IVCT unterzogen hatten, eine Schmerzdauer von 6,7 Tagen. Die Dauer der motorischen Beeinträchtigung wurde mit 10,3 Tagen angegeben, resultierend in einer Arbeitsunfähigkeit von 9,5 Tagen.⁵³

Das neue Verfahren erweist sich somit als wesentlich schonender für den Patienten als der momentane Goldstandard der MH-Diagnostik, der IVCT. Vor allem die postoperative Wundheilungsdauer ist deutlich verkürzt, die damit verbundene Einschränkung reduziert. Außerdem ist davon auszugehen, dass sich durch die geringere Invasivität und der damit verbundenen kleineren Wundfläche das Risiko von Komplikationen wie Nervenläsionen, Blutungen oder Infektionen minimieren lässt. Alle Probanden würden das neue Messverfahren einer Muskelbiopsie vorziehen.

Auch aus ökonomischer Sicht weist das neue Messverfahren deutliche Vorteile auf: wirtschaftliche Ausfälle auf Grund von Arbeitsunfähigkeit sind nicht zu erwarten. Des Weiteren liegen die Kosten der Untersuchung deutlich unter denen, die im Schnitt für den aufwendigen IVCT zu veranschlagen sind.

5. Zusammenfassung

Die Maligne Hyperthermie ist eine latente Myopathie, deren Anlageträger im täglichen Leben nicht ohne weiteres zu identifizieren sind. Gerät eine zur MH-veranlagte Person jedoch in Kontakt mit einer der Triggersubstanzen (volatile Inhalationsanästhetika und depolarisierende Muskelrelaxantien), so kommt es durch den vererbten Defekt im Ryanodin-Rezeptor zu einem Hypermetabolismus der Skelettmuskulatur, verbunden mit Laktatazidose, Kohlendioxidanstieg und Temperaturerhöhung.

Der derzeitige Goldstandard der MH-Diagnostik, der In-vitro Kontrakturtest, erfordert eine invasive Muskelbiopsie vom Patienten sowie zeit- und kostenintensive Laboruntersuchungen. Die nicht-invasive molekulargenetische Diagnostik führt nur bei einem Teil der Patienten zur endgültigen Diagnose, da nur bei ungefähr 40 % aller MH-Familien eine der untersuchten Mutationen gefunden wird.

Um ein minimal-invasives Testverfahren zu entwickeln, das auf alle Patienten anwendbar ist, wurde in dieser Arbeit untersucht, ob die intramuskuläre Bestimmung der CO₂-Partialdruckänderung nach lokaler Applikation der Triggersubstanz Halothan zu einem Unterschied zwischen MH-Veranlagten und nicht MH-Veranlagten führt. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob die intramuskuläre Injektion der Triggersubstanz Sevofluran ebenfalls eine messbare Stoffwechseleränderung hervorruft, die zu einer Unterscheidung zwischen den Gruppen führt.

Zur Untersuchung der Reaktion auf Halothan wurden bei 16 freiwilligen Probanden (8 MHS, 8 MHN) je zwei Messeinrichtungen, bestehend aus einem Zuspritzkatheter und einer CO₂-Messsonde, im M. vastus lateralis platziert. Nach Applikation von 200 µl Halothan 5 Vol% bzw. 6 Vol% wurden die CO₂-Veränderungen für 30 Minuten aufgezeichnet. Zur Detektion etwaiger lokaler oder systemischer Nebenwirkungen erfolgte die Registrierung der Vitalfunktionen sowie bestimmter metabolischer Parameter. Die Untersuchung der Reaktion auf Sevofluran erfolgte an 16 Pietrain-Schweinen (8 MHS, 6 MHN) nach gleicher Methode. Appliziert wurden je 100 µl Sevofluran 2,5 Vol%, 5

Vol%, 7,5 Vol% und 15 Vol% sowie ein Sevofluran-Dantrolen Gemisch. Auch hier wurden systemische und metabolische Parameter bestimmt.

Sowohl Halothan als auch Sevofluran führten zu einer lokal gesteigerten messbaren CO₂-Produktion. Dabei ergaben sich für beide Substanzen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sowohl für den jeweils bestimmten maximalen CO₂-Partialdruck als auch für den berechneten maximalen pCO₂-Anstieg. Die Reaktion auf das Sevofluran-Dantrolen Gemisch zeigte keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Ausgeprägte systemische oder lokale Nebenwirkungen wurden in keiner der beiden Versuchsreihen beobachtet.

Wie auch schon in anderen Studien konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die intramuskuläre Applikation von Triggersubstanzen zu einem lokal gesteigerten Stoffwechsel führt, der sich anhand einer lokalen CO₂-Messung verifizieren lässt. Die gemessene Stoffwechselsteigerung ist dabei abhängig von der Art der applizierten Triggersubstanz, ihrer Konzentration sowie dem verwendeten Applikationsverfahren. Bei MH-Veranlagten erfolgt die Steigerung des Stoffwechsels sowohl schneller als auch ausgeprägter, was eine Unterscheidung zwischen ihnen und nicht MH-Veranlagten erlaubt.

Das vorgestellte metabolische Messverfahren nach Applikation von Halothan oder Sevofluran ist somit ein Erfolg versprechender Ansatz zur minimal-invasiven Diagnostik einer Veranlagung zur Malignen Hyperthermie.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Gronert GA, Antognini JF, Pessah IN; Hrsg.: Miller RD: Malignant hyperthermia, in: Anesthesia Vol.1, 2005, S.1069-90
- 2 McCarthy TV, Quane KA, Lynch PJ: Ryanodine receptor mutations in malignant hyperthermia and central core disease. Hum Mut 2000; 15: 410-417
- 3 Gibson C, Tuttle JP: Heat stroke as a postoperative complication. JAMA 1900; 35: 1685-91
- 4 Harrison GG, Isaacs H: Malignant hyperthermia, An historical vignette. Anaesth 1992; 47: 54-6
- 5 Denborough MA, Lovell RRH: Anaesthetic deaths in a family. Lancet 1960; 2: 45
- 6 Kalow W, Britt BA, Terreau ME, Haist C: Metabolic error of muscle metabolism after recovery from malignant hyperthermia. Lancet 1970; 2: 895-98
- 7 Harrison GG: Control of the malignant hyperpyrexia syndrome in MHS swine by dantrolene sodium. Br J Anaesth 1975; 47: 62
- 8 The European Malignant Hyperpyrexia Group: A protocol for the investigation of malignant hyperpyrexia (MH) susceptibility. Br J Anaesth 1984; 56: 1267-69
- 9 Larach MG for the North American Malignant Hyperthermia Group: Standardization of the caffeine halothane muscle contracture test. Anest Analg 1989; 69: 511-5
- 10 Fuji J, Otsu K, Zorzato F, De Leon S, Khanna VK, Weiler JE, O'Brien PJ, MacLennan DH: Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. Science 1991; 253: 448-51
- 11 Robinson R, Carpenter D, Shaw MA, Halsall J, Hopkins P: Mutations in RYR 1 in malignant hyperthermia and central core disease. Hum Mut 2006; 27: 977-89
- 12 Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L: Glycolysis and gluconeogenesis. Biochemistry 5th Edition 2002, 425-64

- 13 Treves S, Anderson AA, Ducreux S, Divet A, Bleunven C, Grasso C, Paesante S, Zorzato F: Ryanodine receptor 1 mutations, dysregulation of calcium homeostasis and neuromuscular disorders. *Neuromuscular Disorders* 2005, 15: 577-87
- 14 Monnier N, Procaccio V, Stieglitz P, Lunardo J: Malignant-hyperthermia susceptibility is associated with a mutation of the alpha 1-subunit of the human dihydropyridine-sensitive L-type voltage-dependent calcium-channel receptor in skeletal muscle. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 1316-25
- 15 Stewart SL, Hogan K, Rosenberg H, Fletcher JE: Identification of the Arg1068His mutation in the alpha subunit of the voltage-dependent calcium channel (CACNA1s) in a North American family with malignant hyperthermia. *Clin Genet* 2001; 59: 178-84
- 16 Olckers A, Meyers DA, Meyers S, Taylor EW, Fletcher JE, Rosenberg H, Isaac H, Levitt RC: Adult muscle sodium channel alpha subunit is a gene candidate for malignant hyperthermia susceptibility. *Genomics*, 1992; 14: 829-31
- 17 Steele DS, Duke AM: Defective Mg²⁺ regulation of RYR 1 as a casual factor in malignant hyperthermia. *Arch Biochem Biophys* 2007; 458: 57-64
- 18 Bourdon L, Canini F: On the nature of the link between malignant hyperthermia and exertional heatstroke. *Medical Hypotheses* 1995; 45: 268-70
- 19 Anetseder M, Müller CR: Maligne Hyperthermie. *Intensivmed* 2003; 40: 324-35
- 20 Anetseder M, Hartung E, Klepper S, Reichmann H: Gasoline vapors induce severe rhabdomyolysis. *Neurology* 1994; 44: 2393-5
- 21 Loghmanee F, Tobak M: Fatal malignant hyperthermia associated with recreational cocaine and ethanol abuse. *Am J Forensic Med Pathol* 1986; 7: 246-8
- 22 Rosenberg H: Clinical presentation of malignant hyperthermia. *Br J Anaesth* 1988; 60: 268-73
- 23 Roewer N, Dziadzka A, Greim CA, Kraas E, Schulte am Esch J: Cardiovascular and metabolic response to anaesthetic-induced malignant hyperthermia in vivo. *Anesthesiology* 1995; 83: 141-59
- 24 Ørding H: Incidence of malignant hyperthermia in Denmark. *Anesth Analg* 1985; 64: 700-4

- 25 Rosenberg H, Fletcher JE: Masseter muscle rigidity and malignant hyperthermia susceptibility. *Anesth Analg* 1986; 64: 161-64
- 26 Rüffert H, Olthoff D, Deutrich C, Froster UG: Current aspects of the diagnosis of malignant hyperthermia. *Anaesthesist* 2002; 51: 904-13
- 27 Urwyler A, Deufel T, McCarthy T, West S for the European Malignant Hyperthermia Group: Guidelines for molecular genetic detection of susceptibility to malignant hyperthermia. *Br J Anaesth* 2001; 86: 283-7
- 28 Klingler W, Baur C, Georgieff M, Lehmann-Horn F, Melzer W: Detection of proton release from cultured human myotubes to identify malignant hyperthermia susceptibility. *Anesthesiology* 2002; 97: 1059-66
- 29 Anetseder M, Hager M, Müller CR, Roewer N: Diagnosis of susceptibility to malignant hyperthermia by use of a metabolic test. *Lancet* 2002; 359: 1579-80
- 30 Anetseder M, Hager M, Müller-Reible C, Roewer N: Regional lactate and carbon dioxide concentrations in a metabolic test for malignant hyperthermia. *Lancet* 2003; 362: 494
- 31 McKinney LC, Butler T, Mullen SP, Klein MG: Characterization of ryanodine receptor-mediated calcium release in human B cells. *Anesthesiology* 2006; 104: 1191-201
- 32 Koblin DD, Hrsg.: Miller RD: Mechanism of action, in: *Anesthesia Vol.1*, 2005, S. 105-126
- 33 Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bundesanzeiger Nr. 2 vom 4.1.2002, S.61 (Beilage)
- 34 Ducart A, Adnet P, Renaud B, Riou B, Krivosic-Horber R: Malignant hyperthermia during sevoflurane administration. *Anesth Analg* 1995; 80: 609-11
- 35 Jonassen AA, Petersen AJ, Mohr S, Andersson C, Skattm J, Kvernebo K, Paulsen OG, Stokland O, Kirkebøen KA: Sevoflurane-induced malignant hyperthermia during cardiopulmonary bypass and moderate hypothermia. *Acta Anesthesiol Scan* 2004; 48: 1062-65
- 36 Snoeck MMJ, Gielen MJM, Tanderman A, van Egmond J, Dirksen R: Contractures in skeletal muscle of malignant hyperthermia susceptible patients after in vitro exposure to sevoflurane. *Anesthesiology* 2006; 104: 1191-201
- 37 Nelson TE: Heat production during anesthetic-induced malignant hyperthermia. *Biosci Rep* 2001; 21: 169-79

- 38 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: A1004
- 39 Metterlein T: Methodische Untersuchungen zur Entwicklung eines minimal-invasiven Tests für die Diagnostik einer Veranlagung zur Malignen Hyperthermie. Würzburg 2006; 31-33
- 40 Zucchi R, Ronca-Testoni S: The sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} channel/Ryanodine receptor: modulation by endogenous effectors, drugs and disease states. *Pharmacol Rev* 1997; 49: 1-51
- 41 Lindner A, Zierz S: Rhabdomyolyse und Myoglobulinurie. *Nervenarzt* 2003; 74: 505-15
- 42 Gabow PA, Kaehny WD, Kelleher SP: The spectrum of rhabdomyolysis. *Medicine* 1982; 61: 141-52
- 43 Skenderi KP, Kavouras SA, Anastasiou CA, Yiannakouris N, Matalas AL: Exertional rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38: 1054-7
- 44 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
- 45 Bendixen D, Skovgaard LT, Ording H: Analysis of anaesthesia in patients suspected to be susceptible to malignant hyperthermia before diagnostic in vitro contracture test. *Acta Anesthesiol Scand* 1997; 41: 480-4
- 46 Girard T, Treves S, Censier K, Mueller CR, Zorzato F, Urwyler A: Phenotyping malignant hyperthermia susceptibility by measuring halothane-induced changes in myoplasmic calcium concentration in cultured human skeletal muscle. *Br J Anaesth* 2002; 89: 571-9
- 47 Holzheid D: Entwicklung eines metabolischen Tests zur Diagnose einer Disposition zur Malignen Hyperthermie. Würzburg 2007
- 48 Hager M: Ein metabolischer Test zur Diagnose einer Maligne-Hyperthermie-Veranlagung. Würzburg 2004; 26-30
- 49 Kunst G, Graf BM, Schreiner R, Martin E, Fink RHA: Differential effects of sevoflurane, isoflurane and halothane on Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle. *Anesthesiology* 1999; 91: 179-86

- 50 Isaacs H, Badenhorst M: False-negative results with muscle caffeine halothane contracture testing for malignant hyperthermia. *Anesthesiology* 1993; 79: 5-9
- 51 Ørding H for the European Malignant Hyperthermia Group: In vitro contracture test for diagnosis of malignant hyperthermia following the protocol of the European MH-Group: results of testing patients surviving fulminant MH and unrelated low-risk subjects. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41: 955-66
- 52 Obata R, Yasumi Y, Suzuki A, Nakajima Y, Sato S: Rhabdomyolysis in association with Duchenne's muscular dystrophy. *Can J Anaesth* 1999; 46: 564-6
- 53 Mueller R, Anetseder M, Hoyer A, Hartung E, Roewer N: Outcome evaluation of patients after muscle biopsy for malignant hyperthermia testing. *Anesthesiology* 2000; 93: A1024

7. Anhang

Fragebogen zur Verträglichkeit der Untersuchung zur MH-Disposition mittels Partialdruckmessung für Frau / Herrn

Bitte bewerten Sie die folgenden Fragen auf einer Skala von 0 bis 10, wobei 0 am wenigsten bzw. besten und 10 am stärksten bzw. schlechtesten ist.

(zum Beispiel: Schmerzen nach der Untersuchung

wenig stark)

1. Waren Sie mit dem gesamten Verlauf der Untersuchung zufrieden?
zufrieden unzufrieden
2. Fühlten Sie sich im Vorfeld vor dem Untersuchungstag ausreichend informiert?
gut schlecht
3. Wie empfanden Sie die Betreuung während der Untersuchung?
gut schlecht
4. Hatten Sie Schmerzen
 - beim Legen bzw. Entfernen der Kanüle in der Ellbeuge? wenig stark
 - bei der örtlichen Betäubung? wenig stark
 - beim Einstechen der Messkatheter im Bein? wenig stark
 - nach dem Spritzen der Medikamente im Bein? wenig stark
 - direkt nach Entfernung der Messkatheter im Bein? wenig stark
 - am selben Tag nach Untersuchung? wenig stark
 - am Tag nach Untersuchung? wenig stark
5. Wie stark fühlten Sie sich **am Tag nach** der Untersuchung noch bei Ihrer täglichen Beschäftigung beeinträchtigt?
wenig stark
6. Wie verlief die Wundheilung an den Einstichstellen der Nadeln?
 - a) Rötung? wenig stark
 - b) Bluterguß? wenig stark
7. Wieviele Tage hat Sie die Untersuchung durch Schmerzen etc. beeinträchtigt?Tage
8. Wie würden Sie die Schmerzen während der Untersuchung beschreiben?
keine Schmerzen, spitz, kurz einschliessend, krampfartig, stumpf
9. Wie lange hielten die durch das Spritzen der Medikamente erzeugten Schmerzen an?min
10. Nach wievielen Tagen waren die Einstichstellen verheilt?Tage
11. Wie entscheiden Sie, wenn Sie noch einmal die Wahl hätten zwischen Muskelbiopsie oder diesem neuen Verfahren mittels Meßkatheter.
Muskelbiopsie oder neues Verfahren mit Meßkatheter
12. Für weitere Kommentare, Meinungen und Anregungen sind wir Ihnen sehr dankbar. Bitte benutzen Sie hierfür die Rückseite

Herzlichen Dank für Ihre Mühen

Anhang 1: Fragebogen zur Verträglichkeit des minimal-invasiven Messverfahrens

Anhang

Proband	Diagnose	Alter	Größe	Gewicht	BMI	Geschlecht
167	MHS	20	1,83	71	21	m
164	MHS	24	1,72	78	26	m
168	MHS	42	1,69	63	22	w
162	MHS	42	1,75	88	29	m
174	MHS	48	1,63	68	26	w
169	MHS	29	1,80	80	25	m
165	MHS	46	1,62	63	24	w
176	MHS	21	1,78	78	25	m
177	MHN	58	1,76	100	32	m
175	MHN	45	1,73	84	28	m
173	MHN	21	1,62	76	29	w
171	MHN	27	1,61	84	32	w
172	MHN	37	1,78	98	31	m
170	MHN	42	1,71	68	23	m
166	MHN	39	1,79	83	26	m
161	MHN	27	1,68	75	27	m

Anhang 2: Biometrische Daten der Probanden

Proband	Diagnose	Start	Minimum	Maximum	Ende	Anstieg
167	MHS	35,8	22,8	81,8	81,8	121,9
164	MHS	41,0	30,7	173,0	173,0	290,6
168	MHS	36,8	12,7	71,9	61,4	154,0
162	MHS	39,7	22,8	42,1	36,2	10,3
174	MHS	29,6	11,3	94,2	86,0	252,5
169	MHS	39,6	34,9	40,8	40,8	2,4
165	MHS	35,7	19,3	62,9	47,8	168,0
176	MHS	36,1	21,9	57,0	53,6	54,4
177	MHN	40,0	33,4	43,1	41,6	7,7
175	MHN	39,7	10,3	44,2	41,3	15,8
173	MHN	41,3	13,0	36,0	34,0	-14,6
171	MHN	39,3	16,5	44,0	38,0	32,3
172	MHN	34,9	9,5	31,9	31,9	-6,0
170	MHN	39,4	18,9	51,6	46,1	70,5
166	MHN	40,0	13,9	46,7	45,3	25,3
161	MHN	43,4	28,6	41,0	41,1	-4,9

Anhang 3: Rohdaten der intramuskulären CO₂-Partialdruckwerte in mmHg bzw. mmHg/h (Anstieg) nach Applikation von 200 µl Halothan 5 Vol% der Probanden

Anhang

Proband	Diagnose	Start	Minimum	Maximum	Ende	Anstieg
167	MHS	32,5	14,0	189,0	189,0	472,5
164	MHS	38,6	25,3	128,0	124,0	206,3
168	MHS	40,8	18,1	119,0	69,7	252,8
162	MHS	40,1	16,5	115,0	102,0	246,4
174	MHS	32,5	21,2	100,0	78,7	357,3
169	MHS	33,9	18,0	100,0	100,0	246,0
165	MHS	36,2	25,4	62,4	55,5	138,0
176	MHS	40,0	29,9	91,4	91,4	120,0
177	MHN	38,5	18,3	46,5	43,6	28,9
175	MHN	38,9	26,0	39,4	37,3	2,1
173	MHN	36,9	14,3	53,5	48,1	48,4
171	MHN	37,5	12,9	40,9	39,6	15,7
172	MHN	40,7	24,5	176,0	114,0	441,6
170	MHN	43,2	21,9	74,2	67,2	137,5
166	MHN	39,5	30,2	41,0	40,7	3,5
161	MHN	44,3	26,7	54,5	52,2	38,6

Anhang 4: Rohdaten der intramuskulären CO₂-Partialdruckwerte in mmHg bzw. mmHg/h (Anstieg) nach Applikation von 200 µl Halothan 6 Vol% der Probanden

Proband	Diagnose	Myo prä	Myo post	Myo 24h	CK prä	CK post	CK 24h
167	MHS	63	52		929	806	
164	MHS	92	81	120	1059	784	1398
168	MHS	37	34		144	129	
162	MHS	88	73		410	340	662
174	MHS	95	95	197	228	197	834
169	MHS	57	44	69	243	226	1092
165	MHS	35	41		114	99	501
176	MHS	51	44	70	403	359	592
177	MHN	23	25	48	104	94	231
175	MHN	31	25	43	125	108	193
173	MHN	21	25	26	34	43	149
171	MHN	28	31	38	75	69	231
172	MHN	69	54	98	342	294	514
170	MHN	46	41	40	74	64	129
166	MHN	70	56		320	300	
161	MHN	35	27		272	247	

Anhang 5: Rohdaten der Muskelenzyme Myoglobin in µg/l und Kreatinkinase in U/l vor, direkt nach und 24 Stunden nach der Probandenuntersuchung

Anhang

Proband	Diagnose	pH	BE	pCO ₂
167	MHS	7,38	0,6	43,6
164	MHS	7,41	2,3	43,7
168	MHS	7,39	2,6	46,3
162	MHS	7,39	0,7	43,1
174	MHS	7,41	1,5	41,3
169	MHS	7,37	1,2	45,9
165	MHS	7,43	2,0	40,2
176	MHS	7,40	4,7	48,7
177	MHN	7,41	0,8	40,1
175	MHN	7,40	0,5	41,2
173	MHN	7,40	-1,4	37,9
171	MHN	7,34	-1,4	45,0
172	MHN	7,42	-0,6	36,2
170	MHN	7,35	3,3	52,7
166	MHN	7,38	4,2	50,3
161	MHN	7,33	1,5	54,8

Anhang 6: Rohdaten der venösen Blutgasanalyse direkt nach der Probandenuntersuchung. BE in mmol/l, pCO₂ in mmHg

Proband	Diagnose	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min	135 min
162	MHS	88	90	96	94	102	92	96	92	98	112
164	MHS	92	62	84	88	72	62	64	66	78	78
165	MHS	100	84	92	88	86	84	82	82	86	
167	MHS	92	78	88	92	96	80	82	84	84	84
168	MHS	108	92	74	74	70	70	80	72	82	84
169	MHS	84	74	72	76	76	76	74	78	74	
174	MHS	98	96	94	86	84	86	84	86	84	
176	MHS	78	74	72	70	68	68	70	68		
161	MHN	72	72	72	78	74	74	78	84	84	82
166	MHN	98	102	100	100	100	98	98	100	98	
170	MHN	82	84	74	74	76	74	74	78	82	80
171	MHN	90	102	98	96	82	84	86	78	88	84
172	MHN	98	98	92	92	92	92	88	90	92	92
173	MHN	112	112	104	90	86	102	88	94	104	
175	MHN	100	100	84	82	80	78	92	88		
177	MHN	98	100	98	98	94	94	94	96	100	

Anhang 7: Rohdaten des mittleren arteriellen Blutdrucks in mmHg während der Probandenuntersuchung

Anhang

Proband	Diagnose	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min	135 min
162	MHS	60	68	60	62	58	60	60	62	54	68
164	MHS	64	52	78	78	68	62	64	68	60	62
165	MHS	102	104	82	92	82	90	92	96	94	
167	MHS	64	66	58	58	60	66	62	62	58	52
168	MHS	62	62	60	60	60	62	62	64	64	66
169	MHS	98	84	88	88	92	82	78	78	78	
174	MHS	88	68	66	64	66	68	64	72	58	
176	MHS	62	60	62	64	62	62	60	58		
161	MHN	56	60	60	68	64	66	68	70	68	56
166	MHN	68	70	66	68	68	68	68	70	68	
170	MHN	56	54	48	50	48	50	48	50	50	50
171	MHN	98	92	88	90	82	80	82	82	90	82
172	MHN	92	82	80	82	82	82	82	76	92	88
173	MHN	102	94	82	82	78	76	68	72	78	
175	MHN	58	50	62	52	50	62	54	68		
177	MHN	108	100	98	98	94	94	94	96	100	

Anhang 8: Rohdaten der Herzfrequenz in 1/min während der Probandenuntersuchung

Anhang

Proband	Diagnose	Verlauf	Information	Betreuung	S: Venenkanüle	S: Lokalanästhesie	S: Legen d. Katheter	S: Halothaninjektion	Schmerzdauer in min	S: nach Entf. Katheter	S: am Untersuchungstag	S: am Tag nach Unters.	Beeinträchtigung	Rötung	Hämatom	Schmerzen in d	Dauer Wundheilung in d	neues Verfahren/Biopsie
167	MHS	2	3	1	2	2	2	3	0	3	2	2	3	2	2	0	10	neu
164	MHS	1	1	1	1	2	2	3	10	4	2	1	0	1	0	0	1	neu
168	MHS	1	1	1	5	4	2	5	1	2	3	4	2	2	8	14	4	neu
162	MHS	Fragebogen nicht zurückgesendet																
174	MHS	1	1	1	1	4	1	8	17	3	3	1	1	4	4	0	3	neu
169	MHS	2	1	1	2	4	1	7	10	3	4	1	1	1	1	1	2	neu
165	MHS	1	1	1	1	6	2	8	10	5	5	3	3	0	7	2	3	neu
176	MHS	Fragebogen nicht zurückgesendet																
177	MHN	Fragebogen nicht zurückgesendet																
175	MHN	2	2	2	2	2	2	3	1	2	2	2	2	1	1	0	4	neu
173	MHN	1	1	1	2	5	2	2	0	2	2	2	1	1	1	0	4	neu
171	MHN	Fragebogen nicht zurückgesendet																
172	MHN	1	2	1	3	2	1	3	3	3	3	1	1	2	4	1	2	neu
170	MHN	2	2	1	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0	2	neu
166	MHN	2	2	2	2	3	2	3	0	2	2	1	1	1	1	0	3	neu
161	MHN	1	1	1			1	4	0	1	1	1	1	1	3	0	0	neu

Anhang 9: Rohdaten der Fragebögen aus der Probandenuntersuchung auf einer Skala von 1 bis 10, wobei 1 gut bzw. wenig und 10 schlecht bzw. stark entspricht (S = Schmerz)

Anhang

Tier	Diagnose	Gewicht	Geschlecht
17	MHS	29,5	m
18	MHS	28,0	m
21	MHS	36,7	w
22	MHS	36,0	w
23	MHS	31,1	m
26	MHS	34,8	w
27	MHS	26,6	m
28	MHS	32,6	w
19	MHN	30,6	m
20	MHN	30,5	w
24	MHN	31,1	w
25	MHN	32,9	w
29	MHN	31,0	w
31	MHN	31,6	w

Anhang 10: Biometrische Daten der Pietrain Schweine

Tier	Diagnose	Start	Minimum	Maximum	Anstieg
17	MHS	66,2	24,1	136,0	340,8
18	MHS	63,0	43,5	90,1	227,0
21	MHS	62,4	32,6	68,6	12,4
22	MHS	48,1	20,2	58,2	84,9
23	MHS	56,6	24,1	71,3	115,7
26	MHS	50,8	15,3	60,8	61,3
27	MHS	48,6	31,2	52,5	33,4
28	MHS	49,8	10,0	117,0	373,2
19	MHN	68,4	40,1	63,3	-10,4
20	MHN	58,1	18,7	52,9	11,3
24	MHN	49,1	22,7	50,5	7,5
25	MHN	41,4	17,1	40,3	-3,0
29	MHN	35,3	8,6	36,4	6,6
31	MHN	43,5	27,6	40,2	-11,0

Anhang 11: Rohdaten der intramuskulären CO₂-Partialdruckwerte in mmHg bzw. mmHg/h (Anstieg) nach Applikation von 100 µl Sevofluran 2,5 Vol% der Pietrain Schweine

Anhang

Tier	Diagnose	Start	Minimum	Maximum	Anstieg
17	MHS	56,4	25,8	199,0	849,6
18	MHS	60,3	15,9	87,4	156,0
21	MHS	55,5	26,2	75,7	173,1
22	MHS	48,4	13,3	17,3	215,1
23	MHS	50,2	14,8	199,0	912,0
26	MHS	49,0	18,3	99,6	342,8
27	MHS	59,2	22,3	105,0	292,0
28	MHS	54,6	27,0	97,0	276,0
19	MHN	54,8	20,1	54,8	0,0
20	MHN	62,3	24,4	57,6	-18,8
24	MHN	52,1	14,9	50,7	-9,0
25	MHN	36,1	15,7	37,5	9,8
29	MHN	48,6	5,9	47,4	-6,6
31	MHN	45,3	19,7	48,7	6,7

Anhang 12: Rohdaten der intramuskulären CO₂-Partialdruckwerte in mmHg bzw. mmHg/h (Anstieg) nach Applikation von 100 µl Sevofluran 5 Vol% der Pietrain Schweine

Tier	Diagnose	Start	Minimum	Maximum	Anstieg
17	MHS	Nicht gemessen			
18	MHS	Nicht gemessen			
21	MHS	45,1	17,8	65,3	125,3
22	MHS	46,6	20,7	103,0	400,5
23	MHS	36,9	17,8	80,6	327,8
26	MHS	41,5	21,3	97,8	409,0
27	MHS	39,4	13,2	111,0	430,7
28	MHS	58,3	24,8	135,0	537,8
19	MHN	59,2	12,4	72,7	73,6
20	MHN	55,0	21,7	62,5	42,8
24	MHN	48,6	19,5	50,4	9,8
25	MHN	38,7	12,9	49,4	57,3
29	MHN	39,4	10,7	46,1	32,0
31	MHN	43,7	17,4	47,3	9,8

Anhang 13: Rohdaten der intramuskulären CO₂-Partialdruckwerte in mmHg bzw. mmHg/h (Anstieg) nach Applikation von 100 µl Sevofluran 7,5 Vol% der Pietrain Schweine

Anhang

Tier	Diagnose	Start	Minimum	Maximum	Anstieg
17	MHS	Nicht gemessen			
18	MHS	40,8	19,7	149,0	998,4
21	MHS	58,2	16,6	118,0	409,7
22	MHS	65,9	18,5	110,0	260,7
23	MHS	57,7	32,5	79,9	121,8
26	MHS	52,2	20,6	96,8	367,7
27	MHS	54,0	24,9	156,0	810,0
28	MHS	42,9	25,3	74,7	294,0
19	MHN	49,4	25,4	50,8	7,8
20	MHN	70,8	21,2	64,3	-13,0
24	MHN	60,1	18,7	55,8	-16,6
25	MHN	51,3	21,6	90,4	104,6
29	MHN	65,5	32,3	96,4	71,5
31	MHN	36,1	12,9	38,4	12,0

Anhang 14: Rohdaten der intramuskulären CO₂-Partialdruckwerte in mmHg bzw. mmHg/h (Anstieg) nach Applikation von 100 µl Sevofluran 15 Vol% der Pietrain Schweine

Tier	Diagnose	Start	Minimum	Maximum	Anstieg
17	MHS	Nicht gemessen			
18	MHS	39,4	11,8	39,3	-0,2
21	MHS	50,9	12,3	59,5	54,0
22	MHS	58,8	37,8	68,6	98,0
23	MHS	62,9	21,9	59,6	-14,3
26	MHS	47,8	12,1	67,8	140,3
27	MHS	41,0	15,7	77,5	242,3
28	MHS	62,8	31,1	65,7	19,1
19	MHN	55,3	31,2	51,3	-8,0
20	MHN	49,3	18,5	47,3	-6,6
24	MHN	59,9	11,9	55,3	-11,6
25	MHN	72,1	15,5	56,9	-37,2
29	MHN	36,8	28,7	36,4	3,3
31	MHN	43,6	14,1	44,9	-0,8

Anhang 15: Rohdaten der intramuskulären CO₂-Partialdruckwerte in mmHg bzw. mmHg/h (Anstieg) nach Applikation von 100 µl des Sevofluran-Dantrolen Gemisches der Pietrain Schweine

Anhang

Tier	Diagnose	CK prä	CK post	Myo prä	Myo post
17	MHS	1017	1777	27	45
18	MHS	1040	1971	30	33
21	MHS	1111	1631	41	61
22	MHS	1289	2881	47	57
23	MHS	1200	1942	29	40
26	MHS	1607	3671	48	95
27	MHS	1685	2444	62	54
28	MHS	1114	1620	25	104
19	MHN	422	369	25	16
20	MHN	507	500	22	19
24	MHN	604	832	31	26
25	MHN	550	761	19	19
29	MHN	554	883	32	33
31	MHN	1091	1246	33	36

Anhang 16: Rohdaten der Muskelenzyme Kreatinkinase in U/l und Myoglobin in µg/l vor sowie direkt nach der Untersuchung der Pietrain Schweine

Tier	Diagnose	HF prä	HF post	MAP prä	MAP post
17	MHS	65	65	78	75
18	MHS	74	71	83	74
21	MHS	71	75	81	79
22	MHS	74	76	75	78
23	MHS	80	77	70	71
26	MHS	68	70	74	72
27	MHS	83	72	77	74
28	MHS	72	78	83	81
19	MHN	89	67	79	86
20	MHN	75	77	70	69
24	MHN	71	71	84	85
25	MHN	73	64	70	88
29	MHN	76	77	73	72
31	MHN	65	72	80	79

Anhang 17: Rohdaten der Herzfrequenz in 1/min und des mittleren arteriellen Blutdrucks in mmHg vor sowie nach der Untersuchung der Pietrain Schweine

Anhang

Tier	Diagnose	SpO2 prä	SpO2 post	Temp. prä	Temp. post
17	MHS	100	99	36,5	36,6
18	MHS	98	99	36,5	37,0
21	MHS	99	99	37,1	37,3
22	MHS	100	98	36,9	37,4
23	MHS	100	100	36,5	36,6
26	MHS	97	100	36,4	36,3
27	MHS	100	100	36,5	36,5
28	MHS	99	99	36,5	36,6
19	MHN	100	98	37,0	36,7
20	MHN	97	100	37,2	36,8
24	MHN	97	97	37,3	37,3
25	MHN	97	98	37,2	36,6
29	MHN	97	98	37,3	37,4
31	MHN	98	99	37,6	36,6

Anhang 18: Rohdaten der peripheren Sauerstoffsättigung in % und der rektalen Temperatur in °C vor sowie nach der Untersuchung der Pietrain Schweine

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. N. Roewer, Direktor der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie der Universität Würzburg, danke ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die Übernahme des Koreferats.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Anetseder für die kontinuierliche Unterstützung während dieser Arbeit. Ohne sein Engagement und seine stete Diskussionsbereitschaft wäre diese Studie nicht möglich gewesen.

Dank auch an Herrn Dr. med. A. Redel für die vielen Anregungen.

Danken möchte ich außerdem dem Team der perioperativen Anästhesiestation des Zentrums für operative Medizin sowie allen Mitarbeitern des MH-Labors für die kollegiale Atmosphäre und die freundliche Hilfe während den Untersuchungen.

Abschließend möchte ich allen Probanden danken, die an der Untersuchung Teil genommen haben. Ohne ihre großartige Mithilfe wäre das Gelingen dieser Studie unmöglich gewesen.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name Annegret Gardill
Adresse Greiffenbergstr. 11c
96052 Bamberg
Email annegret.g@rdill.de
Geburtsdatum/-ort 6.1.1982 in Bamberg
Familienstand ledig

SCHULBILDUNG

1988 - 1992 Grundschule St. Kunigund, Bamberg
1992 - 1998 Dientzenhofer-Gymnasium, Bamberg
1998 - 1999 Hazelwood West High School, Missouri, USA
im Rahmen des Parlamentarischen Patenschaftsprogrammes
1999 Abschluss: American High School Diploma
1999 - 2001 Dientzenhofer-Gymnasium, Bamberg
2001 Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

EUROPÄISCHER FREIWILLIGENDIENST

2001 - 2002 European Voluntary Service in Syöte, Finland

HOCHSCHULBILDUNG

2002 - 2004 Vorklinisches Studium, Universität Würzburg
2004 Ärztliche Vorprüfung
2004 - 2008 Klinisches Studium, Universität Würzburg
2007-2008 PJ in Bozen (Italien), Heiden (Schweiz) und Würzburg
2008 Ärztliche Prüfung

FAMULATUREN

2004-2007 Anästhesie, unfallchirurgische Ambulanz, Neurochirurgie, Kinderchirurgie,
Hand- und plastische Chirurgie

PREISE

2006 3. Vortragspreis, Promomed Kongress, Würzburg
2007 1. Vortragspreis, 18th European Students' Conference, Berlin

SONSTIGES

2004 - 2008 Dissertation über die Diagnostik der Malignen Hyperthermie
2008 International Diploma of Mountain Medicine