Aus dem Zentrum für Anästhesiologie
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
Direktor: Prof. Dr. med. A. E. Goetz
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Vergleich der Effekte von Halothan und Koffein auf Parameter des Muskelkontraktionszyklus von Maligne-Hyperthermie-positiven Patienten

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät
Universität Hamburg

vorgelegt von
Jana Hartung
aus
Hagenow

Hamburg 2008

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 14.11.2008
Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am:
Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD. Dr. med. G. Schmidt
Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. med. F. Wappler
Prüfungsausschuss, 3. Gutachter/in: PD Dr. med. C. Busch

INHALTSVERZEICHNIS

1.	**Einleitung**	**04**
1.1	Maligne Hyperthermie	04
1.1.1	Definition der Malignen Hyperthermie	04
1.1.2	Historie	04
1.1.3	Epidemiologie	05
1.1.4	Physiologie	06
1.1.5	Pathophysiologie	09
1.1.6	Klinik der Malignen Hyperthermie	10
1.1.7	Therapie	12
1.1.8	Bekannte Triggersubstanzen der Malignen Hyperthermie	13
1.1.9	Identifikation von Anlageträgern	14
1.2	Arbeitshypothese und Fragestellung	17
2.	**Material und Methoden**	**19**
2.1	Patientenauswahl	19
2.2	Ablauf des diagnostischen Procederes	19
2.2.1	Anästhesie	21
2.2.2	Muskelpräparation	21
2.2.3	In-vitro Kontrakturtest	22
2.3	Datenverarbeitung	25
2.3.1	Deskriptive Statistik	25
2.3.2	Log-Rang-Test	26
2.3.3	Kruskal-Wallis-Test	27
2.3.4	Mann-Whitney-Test	27
3.	**Ergebnisse**	**29**
3.1	Demographische Patientendaten	29
3.1.1	Allgemeine Patientenbeschreibung	29
3.1.2	Probandenstatus	29
3.1.3	Clinical Grading Scale	30
3.1.4	Inzidenz von Muskelerkrankungen	31
3.1.5	MH-Diagnose	32
3.2	In-vitro-Kontrakturtest mit Koffein	32
3.2.1	Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung	32

3.2.2 Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation 33
3.2.3 Muskelamplitude 35
3.3 In-vitro Kontrakturtest mit Halothan 37
3.3.1 Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung 37
3.3.2 Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation 38
3.3.3 Muskelamplitude 40
3.4 Überprüfung signifikanter Werte auf prognostischen Charakter 42
3.4.1 Prognostische Werte bei der Anwendung von Koffein 42
3.4.2 Prognostische Werte bei der Anwendung von Halothan 43
3.4.3 Prognostische Werte bei der Anwendung beider Triggersubstanzen zur Einteilung in die jeweilige Diagnosegruppe 45
4. Diskussion 53
5. Zusammenfassung 65
6. Literaturverzeichnis 67
7. Danksagung 75
8. Lebenslauf 76
9. Erklärung 77

1. Einleitung

1.1 Maligne Hyperthermie (MH)

1.1.1 Definition

Die maligne Hyperthermie ist ein potentiell letal endender, pharmakogenetischer Defekt der myoplasmatischen Kalziumhomöostase (Wappler 2001). Dies äußert sich nicht nur beim Menschen, sondern auch bei vielen Tierspezies in einem Anstieg der myoplasmatischen Kalziumkonzentration, was zu einer hyperkatabolen Stoffwechselentgleisung führen kann. Bei Individuen mit vorhandener Disposition können unterschiedliche Faktoren eine Maligne Hyperthermie (MH) auslösen, wobei hier den bei Allgemeinanästhesien verwendeten Inhalationsanästhetika und depolarisierenden Muskelrelaxantien wie Succinylcholin die größte Bedeutung zukommen (Wappler 2001).

1.1.2 Historie

Die ersten Beobachtungen zur MH wurden zu Beginn des letzten Jahrhunderts gemacht und bereits im November 1900 als „postoperativer Hitzschlag“ mit letalem Ausgang beschrieben (Gibson 1900; Moschkowitz 1900). 1916 publizierte Moschkowitz 12 Fälle mit postoperativen Temperaturanstiegen, die als Hitzschlag gedeutet wurden (Moschkowitz 1916). 1929 präsentierte Ombrédanne eine Übersicht postoperativer Hyperthermien bei Kindern und vermutete, dass die verwendeten Narkosemedikamente ursächlich für die Komplikationen waren (Ombrédanne u. Armingeat 1929). Erst zu Beginn der sechziger Jahre aber wurde durch Denborough und Lovell eine familiäre Häufung des Syndroms erkannt und aufgrund dessen eine genetische Disposition diskutiert (Denborough u. Lovell 1960; Denborough 1984). Seitdem wurde das Syndrom der Malignen Hyperthermie als eigenständiges, autosomal dominant vererbtes Krankheitsbild betrachtet. 1966 zeigten Untersuchungen, dass englische Landrasseschweine nach Succinylcholin- bzw. Halothangabe eine letal endende Hyperthermiekrise entwickelten (Berman et al. 1969). Eine Analogie zwischen den Hyperthermie-Krisen des Schweines und der MH des Menschen wurde 1972 von Harrison erkannt, woraufhin er sein grundlegendes

Schweinemodell für die MH-Forschung entwickelte (Harrison 1972). Mitte der siebziger Jahre wird die MH durch Denborough und Eberlein als häufigste Anästhesie-induzierte Todesursache mit einer Letalität von 70-80 Prozent im Falle einer unbehandelten MH-Krise beschrieben. 1975 wurde von Harrison nach Untersuchungen am Schwein Dantrolen als Therapeutikum für die MH vorgeschlagen (Harrison 1975). Die Substanz wurde wenige Jahre zuvor ursprünglich als Antibiotikum entwickelt, kam aber wegen einer von ihm induzierten Muskelschwäche im Tierexperiment als solches nie zum Einsatz (Ellis u. Bryant 1972). Als Ursache hierfür wurde eine Hemmung der elektromechanischen Kopplung festgestellt (Ellis u. Bryant 1972). 1979 konnte durch die Entwicklung der intravenös applizierbaren Darreichungsform von Dantrolen und dessen Einführung als Standardtherapeutikum der MH eine Senkung der Letalitätsrate von 70-80 Prozent (Britt 1970; Gronert et al. 1988, Mauritz et al. 1988, Ranklev u. Fletcher 1986) auf 10-20 Prozent erreicht werden (Harrison 1988; Rosenberg 1988).
1970 gelang erstmals die präsymptomatische Identifikation von Anlageträgern der MH durch den in-vitro-Kontrakturtest (IVKT) (Ellis u. Harriman 1971), der nach der Gründung der European Malignant Hyperthermia Group 1983 durch die bisherigen Forschungsergebnisse standardisiert werden konnte (Ellis 1984). In einer europäischen Studie wurde für diesen Test eine diagnostische Sensitivität von 99,0 Prozent ermittelt, die Spezifität beträgt 93,6 Prozent (Ørding et al. 1997). Auch heute noch ist die Verbesserung der präsymptomatischen MH-Diagnostik Gegenstand intensiver Forschung.

1.1.3 Epidemiologie

Als gesichert gilt, dass beide Geschlechter und sämtliche Altersstufen betroffen sind (Püschel et al. 1989; Roewer 1991). Eine besondere Häufung wurden beim männlichen Geschlecht und bei Jugendlichen festgestellt (Mauritz 1986; Ørding 1985; Wappler 2001). Untersuchungen zufolge beträgt die Inzidenz von schweren MH-Krisen, bezogen auf Allgemeinanästhesien bei Erwachsenen in Europa und Nordamerika 1:50.000 bis 1:150.000, für Kinder beträgt sie sogar 1: 15.000 (Britt 1989). Es besteht eine Diskrepanz zwischen genetischer und klinischer Inzidenz. Sie ergibt sich daraus, dass nicht jedes Individuum mit Disposition zur MH einer Anästhesie mit MH-triggernden Substanzen unterzogen wird (Hartung et al. 1998).

Des Weiteren ist gesichert, dass die Triggersubstanzen nur in einem Teil der Fälle bei der ersten Anästhesie einen Zwischenfall auslösen. Die Genfrequenz der Anlage zur MH dürfte somit sogar um den Faktor zwei über der Inzidenz liegen (Roewer u. Hartung 1996). Die genaue Inzidenz ist durch die Heterogenität der Symptomatik und das Fehlen der Meldepflicht jedoch schwer zu evaluieren (Abbildung 1).

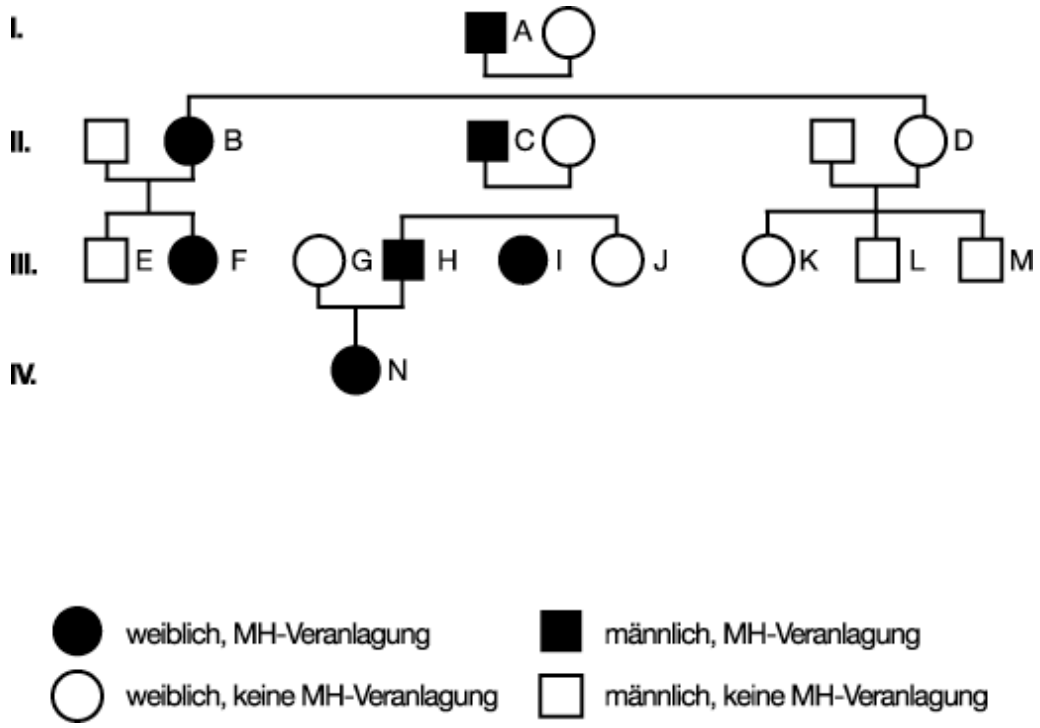

Abbildung 1: Stammbaum einer Familie mit MH- Disposition
("Verein zur Förderung der Forschung und Fortbildung der Anästhesiologie, Intensiv-, Schmerz- und Notfalltherapie" e.V.: Information zur Malignen Hyperthermie, Leipzig, 2000)

1.1.4 Physiologie

Der Exitations-Kontrakions-Mechanismus der Skelettmuskelzelle wird durch Kalziumionen gesteuert. In der ruhenden Muskelzelle liegt die myoplasmatische Kalziumkonzentration im nanomolaren, im Sarkolemm im millimolaren Bereich vor. Dieses Konzentrationsgefälle wird durch ATP-abhängige Kalziumpumpen aufrechterhalten. Im Skelettmuskel liegen in Höhe der Triaden die T-Tubuli (transversales System) und das sarkoplasmatische Retikulum (longitudinales System) sehr eng nebeneinander.

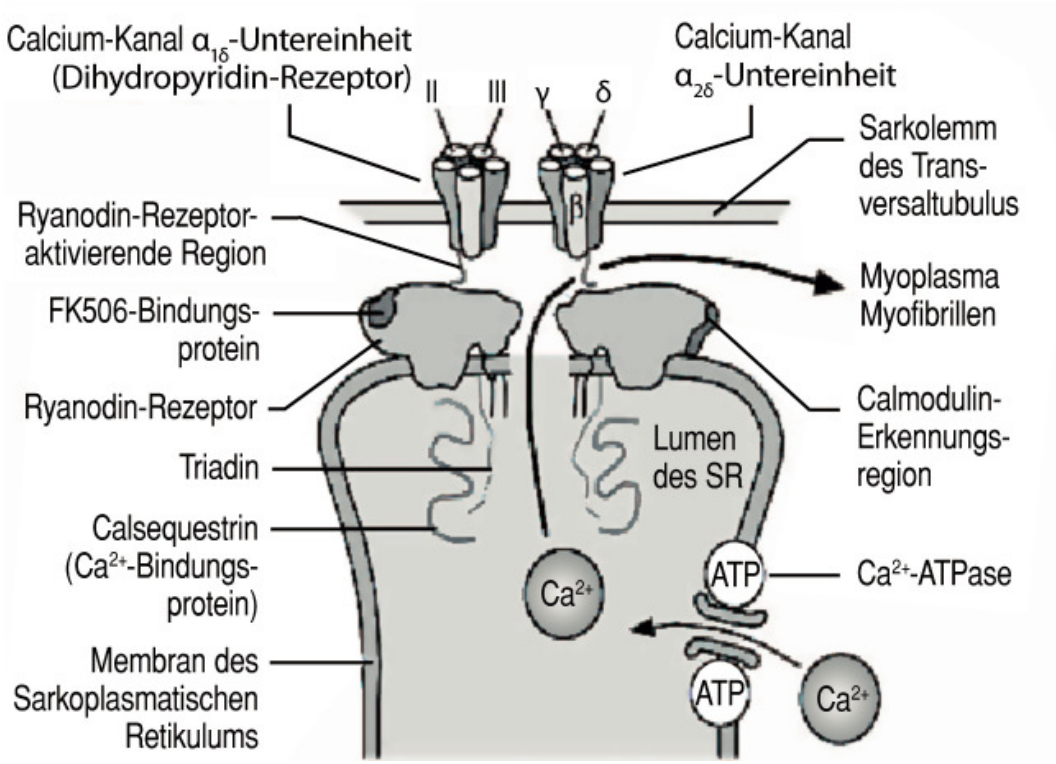

Abbildung 2: Schematische Darstellung der Lokalisation von Dihydropyridin- und Ryanodinrezeptor in der T-Tubulus- und der SR-Membran (nach Steinfath et al. 2002)

So bewirkt ein Aktionspotential im Bereich der Triaden eine Erregung der spannungssensiblen Kalziumkanäle des Sarkolemms, den Dihydropyridinrezeptoren (DHPR), deren α_1-Untereinheit einen langsamen Kalziumeinstrom vom Sarkolemm ins Myoplasma vermittelt. In der benachbarten Membran des sarkoplasmatischen Retikulums (SR) sitzen ebenfalls Reihen von Kalziumkanälen, sog. Ryanodinrezeptoren (RYR), von denen jeder zweite mit einem DHPR assoziiert ist (Abbildung 2). Die Erregung des transversalen Systems erfasst also sehr schnell das longitudinale System. Als Reaktion auf das fortgeleitete Aktionspotential wird gespeichertes Kalzium aus den terminalen Zisternen des SR ins Myoplasma entleert (Abbildung 3). Dieser sehr rasche intrazelluläre Konzentrationsanstieg ist die Grundlage der elektromechanischen Kopplung: Das freigesetzte Kalzium diffundiert zu den Myofilamenten und lagert sich dort an der Kalziumbindungsstelle des Troponin-C-Moleküls an, welches durch Konformitätsänderungen die Bindungsstellen für die Myosinköpfe der Aktinmoleküle frei werden lässt (MacLennan u. Phillips 1992;

Melzer et al. 1995). Dies ist die Voraussetzung für die eigentliche Muskelverkürzung (Filamentgleitmechanismus). Die hierfür benötigte Energie (ATP) wird von den Mitochondrien bereitgestellt. Im Myoplasma bindet das Kalzium an Troponin C und löst eine Lageverschiebung des Tropomyosins aus (Coronado et al. 1994, Rüegg 1987). Nach der Dissoziation des Kalziums bewirken ATP-abhängige Kalziumpumpen eine rasche Wiederaufnahme des myoplasmatischen Kalziums in das SR und damit eine Relaxation des Muskels.

Während die RYR also durch DHPR aktiviert werden, erfolgt eine funktionelle Modulation durch die Proteine Calmodulin, Calsequestrin und Triadin. Außerdem besitzt er Bindungsstellen für ATP, Kalzium- und Magnesiumionen, aber auch für gewisse Medikamente, wie Inhalationsnarkotika und Koffein (Coronado et al. 1994, Pessah et al. 1996).

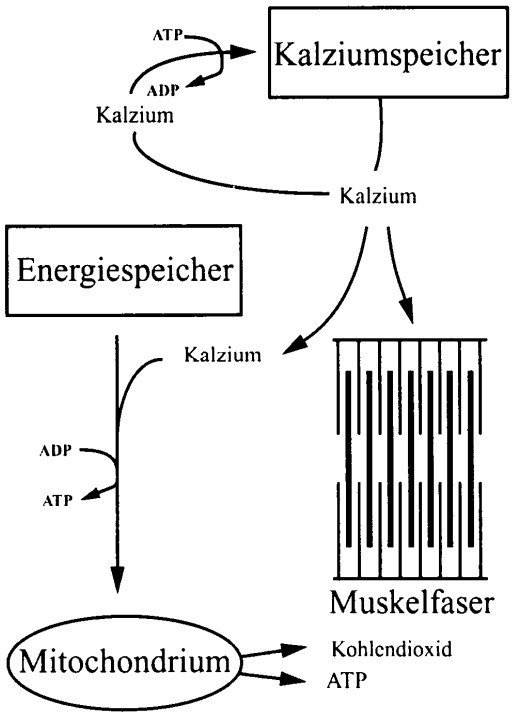

Abbildung 3: Ablauf der physiologischen Kalzium-abhängigen Vorgänge der Kontraktion und Erschlaffung im Muskel (nach MacLennan 1992)

1.1.5 Pathophysiologie

Drei verschiedene Isoformen des Ryanodin-Rezeptors (RYR) sind bekannt. Im Skelettmuskel findet sich hauptsächlich der Typ 1 des Ryanodin-Rezeptors. Der Typ 2 tritt vornämlich im Herzmuskel auf, der Typ 3 im Hirngewebe. Mutationen dieser Rezeptoren werden mit verschiedenen Ionenkanalkrankheiten in Verbindung gebracht.

Die Maligne Hyperthermie ist mit diversen Mutationen am RYR-1-Rezeptor assoziiert (Tilgen et al. 2001). Sowohl für die katecholaminerge und die familiäre polymorphe ventrikuläre Tachykardie, als auch für die arrhythmogene rechtsventrikuläre Dysplasie konnten Mutationen am RYR-2-Rezeptor verantwortlich gemacht werden (Tiso et al. 2001). Von Gurrera wurde die Hypothese eines RYR-3-Gendefektes als Grundlage des Malignen Neuroleptischen Syndroms aufgestellt (Gurrera 2002).

Bei Schweinen wird die MH-Disposition durch eine Punktmutation des RYR-1-Gens hervorgerufen. Die Mutation bedingt den Austausch von Arginin gegen Cystein an Position 615 des Rezeptorproteins (McCarthy et al. 2000). Derzeit sind über 80 Maligne-Hyperthermie-assoziierte Mutationen im skelettmuskulären Ryanodinrezeptorgen bekannt. Nur ein Teil beeinflusst jedoch die Kalziumhomöostase. Von der European Malignant Hyperthermia Group (EMHG) sind derzeit 28 Mutationen als kausal anerkannt. So ist der Rezeptor bei MH-disponierten Individuen durch eine verlängerte Öffnungswahrscheinlichkeit charakterisiert (Fill et al. 1990, Fill et al. 1991). Weiter scheinen auch Mutationen des DHPR-Rezeptors mit der MH in Verbindung zu stehen (Gerbershagen et al. 2003; McCarthy et al. 2000). Des Weiteren konnte bei MH-positiven Individuen eine gesteigerte Freisetzung und eine verringerte Wiederaufnahme von Kalzium aus dem sarkoplasmatischen Retikululum festgestellt werden (Abbildung 4), sowie eine erhöhte Affinität von Ryanodin an den Rezeptor (Nelson 1983; Mickelson et al. 1988). Dies bedingt einen pathologischen Anstieg der myoplasmatischen Kalziumkonzentration, welches eine Verlängerung sowie Verstärkung der Muskelkontraktion und letztlich eine Muskelkontraktur, sowie eine Aktivierung von kalziumabhängigen Stoffwechselprozessen zur Folge hat. Durch die gesteigerte exzessive Muskelarbeit wird Sauerstoff verbraucht und Kohlendioxid produziert. Es folgt die Umstellung auf eine anaerobe Glykolyse, sowie die Akkumulation von Laktat. Die Laktatazidose und

der intrazelluläre Kalziumanstieg erhöhen die Permeabilität der Zellmembran bis zum Verlust der Zellintegrität, was zum Untergang der Zelle führt (Roewer 1991).

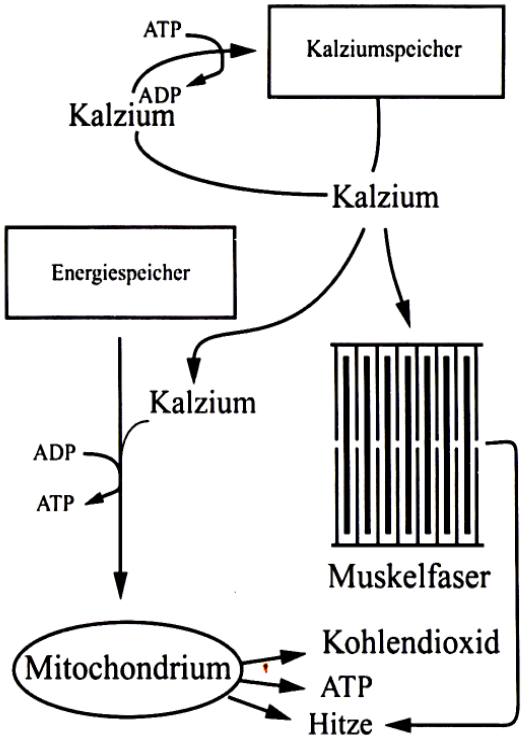

Abbildung 4: Übergang der Kontraktion in eine Kontraktur bei Disposition zur MH (nach MacLennan 1992)

1.1.6 Klinik der Malignen Hyperthermie

Im täglichen Leben ist der Patient mit MH-Disposition meist symptomlos und damit in seiner Gesundheit nicht beeinträchtigt. Erst bei Exposition mit bestimmten Anästhetika kann es zum sehr variablen Erscheinungsbild der MH kommen, zu deren wichtigsten Frühsymptomen Herzrhythmusstörungen, Tachypnoe, Masseterspasmus und eine generalisierte Muskelrigidität gehören (Tabelle 1). Späte klinische Symptome sind Störungen des Elektrolythaushaltes, Verbrauchskoagulopathie, Hirn- und Lungenödem sowie ein exzessiver Temperaturanstieg (Urwyler u. Hartung 1994). Des Weiteren fallen als Folge der massiven Steigerung des zunächst aeroben, später anaeroben Stoffwechsels vermehrt Kohlendioxid und Laktat an (Heffron 1988). Durch die Destruktion der Skellettmuskelzelle treten Hyperkaliämie, Myoglobinämie und ein rapider Anstieg der Kreatininphosphokinase (CK) im Serum

auf (Mauritz et al. 1986; Wappler 2001). Das klinische Erscheinungsbild variiert zwischen abortiven Verläufen und fulminanten MH-Krisen, die durch ein Zusammenspiel der oben genannten Veränderungen ein Entgleisen der gesamten Stoffwechsellage bewirken können (Olthoff 2000; Roewer 1991). Auch der Moment des Auftretens einer MH-Krise ist variabel. Sie kann bereits kurz nach dem Beginn einer Narkoseeinleitung manifest werden, sich aber auch langsam entwickeln sowie nach unauffälligem Narkoseverlauf postoperativ auftreten. Nicht bei jeder MH treten alle klinischen Symptome auf. Die Ursache dieser Variabilität ist bis heute ungeklärt. Sicher spielen hier Expositionsdauer, Konzentration und Potenz der Triggersubstanz, sowie individuelle genetische Dispositionen eine Rolle (Roewer 1991). Fulminante MH-Krisen haben gemessen an der Gesamtzahl bekannter MH-Zwischenfälle einen Anteil von 6-8 Prozent (Mauritz et al. 1997; Olthoff 2000; Ørding et al. 1997). Milde Verläufe machen somit den überwiegenden Teil aus. Sollte eine MH-Krise letal verlaufen, tritt der Tod meist durch kardiales Versagen ein (Mauritz et al. 1997, Olthoff 2000; Ørding et al. 1997).

Tabelle 1: Klinische Symptome der MH (Gerbershagen 2003)

Frühe klinische Symptome	• Tachykarde Herzrhythmusstörung, ventrikuläre und supraventrikuläre Arrhythmien, Extrasystolen, Herzstillstand • Exzessiver Anstieg der endexpiratorisch gemessenen CO_2-Konzentration • Rascher Verbrauch, Erhitzen des CO_2-Absorbers • Tachypnoe (spontanatmender Patient) • Masseterspasmus nach Succinylcholin • Generalisierter Rigor • Zyanose • Diaphorese
Späte klinische Symptome	• Hyperthermie • Hypoxämie • Verlängerte Blutungszeit (dissiminierte intravasale Gerinnung) • Krampfanfälle (cerebrale Schäden) • Weite Pupillen (Hirnödem) • Oligurie, Anurie (Nierenversagen) • Myoglobinurie (Skelettmuskeldestruktion) • Herzkreislaufversagen

1.1.7 Therapie

Die große Varianz des klinischen Bildes einer MH macht die klinische Diagnose oft schwierig. Ist die Verdachtsdiagnose gestellt, muss sofort und konsequent therapiert werden (Tabelle 2). Hierzu gehört zunächst der Abbruch der Narkose bzw. das Absetzen des auslösenden Medikamentes. Die Operation sollte bei einem MH-Zwischenfall möglichst rasch beendet, gegebenenfalls sogar unterbrochen werden. Weitere Sofortmaßnahmen sind die Steigerung des Frischgasflusses auf 10 Liter pro Minute, die Ventilation mit reinem Sauerstoff, die Erhöhung des Atemminutenvolumens auf das 3- bis 4-fache, sowie die Gabe von Natriumbikarbonat und des Muskelrelaxans Dantrolen. Dantrolen wird als Bolus von 2,5 mg/kg Körpergewicht (KG) infundiert. Die Applikation wird gegebenenfalls

wiederholt, bis ein Therapieerfolg zu verzeichnen ist. Danach erfolgt für weitere 24 Stunden eine kontinuierliche Dantroleninfusion von 10 mg/kg KG. Die Therapie mit Dantrolen durchbricht den Triggerungsprozeß durch Hemmung der Kalziumfreisetzung aus dem SR (Gerbershagen 2003). Gegebenenfalls muß eine antiarrhythmische Therapie mit Betablockern erfolgen. Eine „low-dose"-Heparinisierung kann zur Prophylaxe einer Verbrauchskoagulopathie eingesetzt werden. Wichtig sind weiterhin der Elektrolytausgleich, Volumenzufuhr und forcierte Diurese, sowie postoperativ die intensivmedizinische Überwachung (Wappler 2001).

Tabelle 2: Therapeutische Maßnahmen bei Verdacht auf MH entsprechend der Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (Wappler 2002)

- Zufuhr von Triggersubstanzen beenden
- Narkoseverdampfer entfernen
- Frischgasfluß erhöhen, Sauerstoffgabe
- Atemminutenvolumen 3-bis 4-fach erhöhen
- Umstellung auf triggerfreie Narkose
- Applikation von Dantrolen im Bolus von 2,5 mg/kg/KG, Repetition bis klinischer Therapieerfolg zu verzeichnen ist, anschließend 10 mg/kg/KG/Tag Dantrolen als kontinuierliche Infusion
- Möglichst rasches Beenden des chirurgischen Eingriffes
- Ggf. symptomatische Therapie: Azidoseausgleich, antiarrhythmische Therapie, Elektrolytausgleich, Volumenzufuhr, forcierte Diurese
- Kühlung
- Postanästhetisch: Intensivmedizinische Überwachung

1.1.8 Bekannte Triggersubstanzen der MH

Eine Triggerung der MH ist sicher bei allen volatilen Inhalationsanästhetika, wie z.B. Halothan, Enfluran, Isofluran, Sevofluran, Desfluran und Chloroform nachgewiesen, des Weiteren bei depolarisierenden Muskelrelaxantien vom Succinylcholintyp (Wappler 2001). Ein genauer Pathomechanismus ist nicht bekannt, man weiß jedoch,

dass der RYR-1-Rezeptor Bindungsstellen für die oben genannten Anästhetika besitzt.
Eine Triggerung gilt als möglich bei Phenothiazinen und trizyklischen Antidepressiva. Diese Medikamente können selbst keine MH auslösen, aber ähnliche Symptome hervorrufen, deshalb sollte auf ihren Einsatz bei Verdacht auf MH-Disposition verzichtet werden (Fletcher et al. 1989). Auch Medikamente, die als Konservierungsstoff das Phenolderivat 4-Chloro-m-Cresol (4-CmC) enthalten, sind bei disponierten Patienten kontraindiziert, da die Substanz im Schweine-in-vivo-Versuch eine MH-Krise auslösen konnte (Iaizzo et al. 1999; Wappler et al. 1999). Analog zum „porcine stress syndrome“ lassen ungeklärte Todesfälle bei jungen, gesunden Familienmitgliedern aus MH-Familien ein „human stress syndrom“ vermuten. Studien belegen, dass Mitglieder aus MH-Familien im Laufe ihres Lebens eine MH entwickeln können, die in keinem Zusammenhang mit einer Anästhesie steht, sondern in Verbindung mit Infektionskrankheiten, Anstrengung und Stress auftritt. Dieses Phänomen ist im Gegensatz zur substanzgetriggerten MH sehr selten (Wingard 1974; Wingard 1977; Britt 1988).
Sicher einsetzbar sind im Falle eines MH-Verdachtes Benzodiazepine, Barbiturate, Propofol, Opioide, Ketamin, Lachgas, Ester- und Amidlokalanästhetika. Unbedenklich sind ebenfalls kompetetive Muskelrelaxantien wie Atracurium, Vecuronium und Pancuronium, sowie deren Antagonisierung mit Neo- und Pyridostigmin (Wappler 2001).

1.1.9 Identifikation von Anlageträgern

Ein zuverlässiges nicht-invasives Screening der MH-Disposition ist derzeit nicht möglich. Die Anwendung molekularbiologischer Methoden ermöglicht zwar, bei bestimmten Familienmitgliedern von MH-Patienten mittels eines nicht-invasiven Bluttestes eine MH-Disposition festzustellen, die Untersuchung ist jedoch nur als familiäres Screening nach genetischer Typisierung eines MH-Anlageträgers durchzuführen (Urwyler u. Hartung 1994). Aktuell sind 28 Mutationen auf dem Ryanodin-Rezeptor-Gen von der EMHG als für die MH ursächlich anerkannt. Bedingt durch diesen Polymorphismus findet sich in der genetischen Untersuchung nicht das erhoffte einfache Screening-Verfahren. Die wichtigste Rolle in der nicht-invasiven Diagnostik spielen sonst eine sorgfältige Eigen- und Familienanamnese. Es ist

besonders zu achten auf MH-verdächtige Zwischenfälle, wie unerklärte perioperative Temperaturanstiege, Trismus nach Succinylcholingabe und unerklärte postoperative CK-Anstiege, sowie Myopathien. Die CK im Serum ist bei 30-70 Prozent der MH-disponierten Patienten erhöht. 1982 wurde von McPherson eine Studie mit 12 MH-Familien veröffentlicht, in der gezeigt werden konnte, dass ein hoher CK-Level im Serum die Wahrscheinlichkeit eine MH zu entwickeln auf 94 Prozent erhöht, während eine normale CK das Risiko auf 17 Prozent reduziert (McPherson 1982).

Die Clinical Grading Scale (CGS) nach Larach et al. (1994) ist ein Verfahren zur retrospektiven Evaluierung von Maligne Hyperthermie Verdachtsfällen. Da viele klinische Symptome der MH-Episode unspezifisch sind, soll die CGS eine Hilfe zur Einschätzung der qualitativen Wahrscheinlichkeit eines MH-Verdachtsfalles darstellen (von Richthofen et al. 1998). Bewertungskriterien sind Muskelrigidität, Muskelalteration, respiratorische Azidose, Temperaturerhöhung und Rhythmusstörungen. Zusätzliche Punkte werden bei positiver Familienanamnese addiert. Je nach Ausprägung der Symptome werden Punkte vergeben, die nach Addition die Zuordnung zu einem MH-Rang ermöglichen. Je höher die Punktsumme und der MH-Rang, desto höher die Wahrscheinlichkeit für das vorliegen einer MH (Tabelle 4 und 5, Kapitel Material und Methoden). In der Literatur wird jedoch eine unzureichende Korrelation zwischen dem MH-Rang und der MH-Diagnose im IVKT beschrieben.

Als invasive Methode stellt der in-vitro Kontrakturtest (IVKT) mit Halothan und Koffein den Goldstandard der MH-Diagnostik dar. Nach der Erstbeschreibung der Testmethodik wurden in Europa (Ørding et al. 1997) und Nordamerika (Larach et al. 1989) standardisierte Protokolle zur Durchführung des IVKT entwickelt. Der IVKT wird in Europa standardisiert nach dem Protokoll der „European Malignant Hyperthermia Group“ (EMHG) durchgeführt (Ørding et al. 1997). Hierbei wird das Kontraktionsverhalten von Muskelbiopsaten MH-disponierter Patienten in-vitro bei Halothan- bzw. Koffein-Exposition gemessen.

Bei Koffein handelt es sich um ein Methylxanthin, welches den Zellstoffwechsel auf verschiedenen Wegen beeinflussen kann. Bereits in relativ niedrigen Konzentrationen blockiert Koffein Adenosin-Rezeptoren. Weiter kommt es aufgrund der Hemmung der Phosphodiesterase zu einer Erhöhung der zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP)-Konzentration. Koffein zeigt auch eine hohe Affinität zum Ryanodin-Rezeptor. Dort wird die Schwelle für eine sarkoplasmatische

Kalziumfreisetzung erniedrigt. In höheren Konzentrationen führt Koffein zu einer Kontraktion der Muskulatur. Halothan ist ein halogeniertes Alkanderivat, das bei Raumtemperatur flüssig ist und mit Hilfe eines Vapors für eine inhalative Applikation verdampft wird. Obwohl alle volatilen Anästhetika eine MH auslösen können, ist Halothan als potentester Trigger anzusehen.

Einzelne Muskelbündel eines Biopsates aus dem Musculus quadrizeps femoris werden in einer speziellen Testapparatur zwischen zwei Reizelektroden gespannt, die mit einem Kraftaufnehmer verbunden sind. Hierüber können pathologische Kontrakturen registriert werden (Abbildung 5, Kapitel Material und Methoden).

Als diagnostisches Kriterium wird die Zunahme der Grundspannung vom Ausgangswert beurteilt. Als signifikante bzw. pathologische Kontraktur wurde eine Zunahme der Grundspannung der Muskelprobe von über 2 mN definiert.

Bei pathologischer Reaktion der Muskelbündel sowohl auf Halothan als auch auf Koffein wird die Diagnose MH susceptible (MHS) gestellt (Tabelle 3). Tritt keine pathologische Reaktion der Muskelbündel auf, so ist eine MH-Disposition auszuschließen (MHN, MH normal). Bei 10-15 Prozent der Patienten tritt in Mehrfachbestimmung eine pathologische Reaktion entweder bei Halothan- oder bei Koffeinexposition auf. Diese Patienten werden mit der Diagnose MH equivocal (MHE) in eine Zwischengruppe eingestuft und aus Sicherheitsgründen klinisch wie MHS-Patienten behandelt (Larach 1994; Ørding et al. 1997).

In einer europäischen Multicenterstudie wurde für diesen Test eine diagnostische Sensitivität von 99,0 Prozent ermittelt, die Spezifität beträgt 93,6 Prozent (Ørding et al. 1997). Derzeit gibt es kein anderes Verfahren zur Diagnostik der MH-Disposition, dass auch nur annähernd die gleiche Zuverlässigkeit aufweist.

Tabelle 3: Einteilung der Patienten in die drei diagnostischen Kategorien anhand der Schwellenkonzentration entsprechend dem Protokoll der EMHG (Ørding et al. 1997)

MHS („susceptible“ = Disposition zur MH)	Kontraktur ≥2 mN bei Halothan ≤0,44 mmol/l und Koffein ≤2mmol/l
MHN („normal“ = keine Disposition zur MH)	Keine Kontraktur ≥2mN bei Halothan ≤0,44 mmol/l und Koffein ≤2mmol/l
MHE („equivocal“ = MH-Disposition ungeklärt)	Kontraktur ≥2mN nur bei Halothan ≤0,44 mmol/l (MHEH) oder Koffein ≤2 mmol/l (MHEC)

1.2 Arbeitshypothese und Fragestellung

Der in-vitro-Kontraktur-Test ist der „Goldstandard“ in der Diagnostik der Malignen Hyperthermie, wirft jedoch auch einige Probleme auf. Der übliche IVKT hat zwar eine hohe Sensitivität von 99 Prozent und eine Spezifität von 93,6 Prozent, jedoch treten somit falsch negativ oder falsch positiv getestete Personen auf. Bei falsch negativ getesteten Personen könnte das bei Exposition mit Triggersubstanzen zu einem letalen Verlauf führen (Isaacs u. Badenhorst 1993; Wedel u. Nelson 1994). Im Allgemeinen ist die genaue Festlegung der Sensitivität der MH-Diagnostik wegen des seltenen Auftretens der Erkrankung in der Bevölkerung und der noch seltener auftretenden fulminanten MH-Verläufe schwierig. Ungeachtet dessen ist es aufgrund der möglichen letalen Konsequenz eines falsch negativen Tests ein erklärtes Ziel eine Sensitivität von 100 Prozent zu erreichen. Falsch positiv getestete Patienten sind mit Nachteilen auf dem Arbeitsmarkt, mit Verweigerung der Anästhesie in kleineren Krankenhäusern oder der Verweigerung einer Lebensversicherung konfrontiert. Es gilt also folglich auch, die Spezifität zu erhöhen. In diesem Kontext gilt es auch die Häufigkeit von MHE-Diagnosen zu senken, die in europäischen MH-Laboratorien mit einer Häufigkeit zwischen 8 und 30 Prozent gestellt wird (Wappler et al. 1996; Gerbershagen et al. 2002).

Ziel der Arbeit ist die Frage zu beantworten, ob sich die Parameter des isometrischen Kontraktionszyklus von humanen MHN-Präparaten von MHS- und MHE-Präparaten

in den Halothan- beziehungsweise Koffein-IVKTs unterscheiden und sich somit zusätzlich zu den bereits bestehenden Testkriterien der MH-Diagnostik weitere differenzierende Parameter finden lassen. Dies könnte zu einer Verbesserung von Sensitivität und Spezifität beitragen. Im Hinblick auf die Pathophysiologie der MH mit erhöhter myoplasmatischer Kalziumkonzentration ist besonders eine Beeinträchtigung der Relaxation zu vermuten.

Hierzu wurden die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung (TPT), der halbmaximalen Spannung ($TPT_{½}$), der Relaxation (R) und der halben Relaxation ($R_{½}$) analysiert. Bei jedem Patienten wurde sowohl der Halothan-Kontrakturtest als auch der Koffein-Kontrakturtest zweimal mit jeweils frischen Muskelfaszikeln durchgeführt. Des Weiteren erfolgte eine Evaluierung anhand der Clinical Grading Scale, sowie bei einem Verdacht auf myopathische Veränderungen, eine histologische Untersuchung des Biopsates. Falls Differenzen zwischen den einzelnen Diagnosegruppen auftreten, sind weitere Einflußgrößen, wie Alter, Größe, Gewicht, Geschlecht und der präoperativ und postoperativ bestimmte CK-Wert auf ihren prognostischen Einfluß hin zu überprüfen. Des weiteren ist das Ziel dieser Arbeit die Clinical Grading Scale als Maß des MH-Risikos zu überprüfen.

2. Material und Methoden

2.1 Patientenauswahl

Bei den getesteten Personen bestand der konkrete Verdacht einer MH-Disposition, da entweder in der Eigen- oder in der Familienanamnese im Rahmen einer Allgemeinanästhesie ein MH-Ereignis zu verzeichnen war. Hierunter waren 66 Personen, bei denen bereits ein potentielles MH-Ereignis aufgetreten war (Probanden). Des Weiteren wurden 149 Angehörige dieser Probanden getestet, bei denen bisher keine Allgemeinanästhesie durchgeführt wurde oder kein MH-Ereignis auftrat.
Daraufhin wurden die Patienten in der MH-Sprechstunde der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf vorgestellt. Es wurden Personen beider Geschlechter und jeder Altersgruppe getestet, wobei ein Mindestkörpergewicht von 20 Kilogramm eingehalten wurde. Zwischen dem MH-Ereignis und dem Test lagen mindestens drei Monate. Nach eingehender Aufklärung und schriftlichem Einverständnis wurde diesen Personen eine Muskelprobe für die Diagnostik der MH-Disposition entnommen.

2.2 Ablauf des diagnostischen Procederes

Vor der Biopsieentnahme wurden bei allen Patienten eine Eigen- und Familienanamnese erhoben und die Evaluierung anhand der Clinical Grading Scale nach Larach et al. (1994) durchgeführt (Tabellen 4 und 5). Es wurden relevante Laborparameter, wie Transaminasen, Elektrolyte, Gerinnungsstatus und Blutbild untersucht. Des Weiteren wurde sowohl prä- als auch postoperativ die Creatinkinase bestimmt. Eine besondere Bedeutung lag in der Feststellung von Myopathien, die laut Literatur überzufällig häufig mit der Disposition zur MH assoziiert sind (Wappler 2001). Hierzu wurden die Muskelbiopsate von den Patienten, bei denen ein hochgradiger Verdacht auf eine MH-Disposition bestand, zusätzlich histologisch untersucht.

Tabelle 4: Malignant Hyperthermia Clinical Grading Scale (Larach et al. 1994)

Process I	Rigidität	Generalisierte Muskelrigidität (in Abwesenheit von Shivering bei Hyperthermie; oder während oder sofort nach einer Krise durch Inhalationsnarkotika	15
		Masseterspasmus sofort nach Succinylcholin	15
Process II	Muskelreaktion	CK > 20.000 IU nach Anästhesie incl. Succinylcholin	15
		CK > 10.000 IU nach Anästhesie ohne Succinylcholin	15
		Dunkler Urin in der perioperativen Phase	10
		Myoglobin im Urin > 60 µg/l	5
		Myoglobin im Serum > 170 µg/l	5
		Kalium im Serum > 6,0 mval/l (in Abwesenheit von Niereninsuffizienz)	3
Process III	Respiratorische Azidose	PET_{CO2} > 55 mmHg unter Normoventilation	15
		Arterieller Pa_{CO2} > 60 mmHg unter Normoventilation	15
		PET_{CO2} > 60 mmHg unter Spontanventilation	15
		Arterieller Pa_{CO2} > 65 mmHg unter Spontanventilation	15
		Unklare Hyperkapnie (nach Einschätzung des Anästhesisten)	15
		Tachypnoe (nach Ausschluß anderer Ursachen)	10
Process IV	Temperatur-Anstieg	Unverhältnismäßiger Temperaturanstieg (nach Einschätzung des Anästhesisten)	15
		Temperatur > 38,8°C perioperativ aus ungeklärter Ursache (Sepsis, Wärmestau, Thyreotoxikose, etc.)	10
Process V	Kardiale Beteiligung	Sinustachykardie (nach Ausschluß anderer Ursachen)	3
		Ventrikuläre Tachykardie oder Kammerflimmern	3
Process VI	Familien-geschichte	MH-Familiengeschichte positiv bei Verwandten ersten Grades	15
		MH-Familiengeschichte positiv bei Verwandten weiteren Grades	5
Weitere Indikatoren		Arterieller Base Excess negativer als –8 mEq/l	10
		Arterieller pH-Wert < 7.25	10
		Rapide Besserung von met. oder resp. Azidose nach Dantrolen i.v.	
		MH-Familiengeschichte positiv zusammen mit einem weiteren Indikator aus der Eigenanamnese des Patienten im Bezug auf Narkosen (nicht erhöhte CK-Werte in Ruhe)	5
		CK-Werte in Ruhe erhöht (bei Patienten mit positiver Familiengeschichte für MH)	5
		Summe:	

Tabelle 5: Zuordnung der MH-Gruppen bei CGS (Larach et al. 1994)

Punkte-Ergebnis	Gruppe	MH-Wahrscheinlichkeit
0	1	Fast ausgeschlossen
3-9	2	Unwahrscheinlich
10-19	3	Eher unwahrscheinlich
20-34	4	Eher wahrscheinlich
35-49	5	Sehr wahrscheinlich
50+	6	Fast sicher

2.2.1 Anästhesie

Die Schmerzfreiheit für den Patienten während der Muskelbiopsie wurde entweder durch Regionalanästhesie in Form einer Blockade des Nervus Femoralis mit Prilocain 1% (Xylonest®, Astra Chemicals, Wedel) oder durch Allgemeinanästhesie mit nichttriggernden Anästhetika wie Midazolam (Dormicum®, Roche, Grenzach-Wyhlen), Propofol (Disoprivan®, ICI Pharma, Planckstadt) und Sufentanil (Sufenta® mite, Janssen-Cilag, Neuss) erreicht. Zur Sicherung der Atemwege wurde hier eine Larynxmaske oder ein Endotrachealtubus verwendet. Bei Kindern und Jugendlichen unter siebzehn Jahren wurde die Biopsieentnahme grundsätzlich in Allgemeinanästhesie durchgeführt, erwachsenen Patienten wurde eine Regionalanästhesie mittels Femoralisblockade empfohlen.

2.2.2 Muskelpräparation

Jedem Patienten wurde ein Biopsat aus dem Muskulus vastus lateralis entnommen. Hierfür wurde die Haut in fünf Zentimetern Länge durchtrennt und die Muskelfaszie dargestellt. Es erfolgte eine Spaltung der Faszie in Längsrichtung. Unter Vermeidung von Beschädigung und Überdehnung des Gewebes wurde das Muskelbündel stumpf präpariert und dann proximal und distal scharf durchtrennt. Die Biopsate von ca. 2,5 Zentimetern Länge, einem Zentimeter Dicke und einem Gewicht von ca. 2-3 Gramm wurden umgehend in eine mit 95 Prozent Sauerstoff und 5 Prozent Kohlendioxid präcarbogenisierte Krebs-Ringer-Lösung (Zusammensetzung in mmol/l: NaCl 118,1; KCl 3,4; $CaCl_2$ 2,5; $MgSO_4$ 0,8; KH_2PO_4 1,2; $NaHCO_3$ 25,0; Glucose 11,1) überführt

und in das MH-Testlabor transportiert. Das Operationsgebiet wurde nach sorgfältiger Blutstillung mittels Faszien- und Hautnaht wieder verschlossen.

2.2.3 In-vitro-Kontrakturtest

Nachdem die Muskelbündel entgültig von verbliebenem angrenzenden Gewebe freipräpariert und in Faszikel von je 15-25 Millimeter Länge und 2-3 Millimeter Dicke unterteilt wurden, wurde jeweils ein Faszikel vertikal zwischen zwei Reizelektroden gespannt und in ein auf 37 °C vorgeheiztes, präcarboxygeniertes Krebs-Ringer-Bad eingebracht (Abbildung 5). Das am unteren Ende fixierte Muskelpräparat wurde an einem Kraftaufnehmer (Transducer) spannungsfrei aufgehängt und mit einer Frequenz von 0,2 Hertz elektrisch stimuliert.

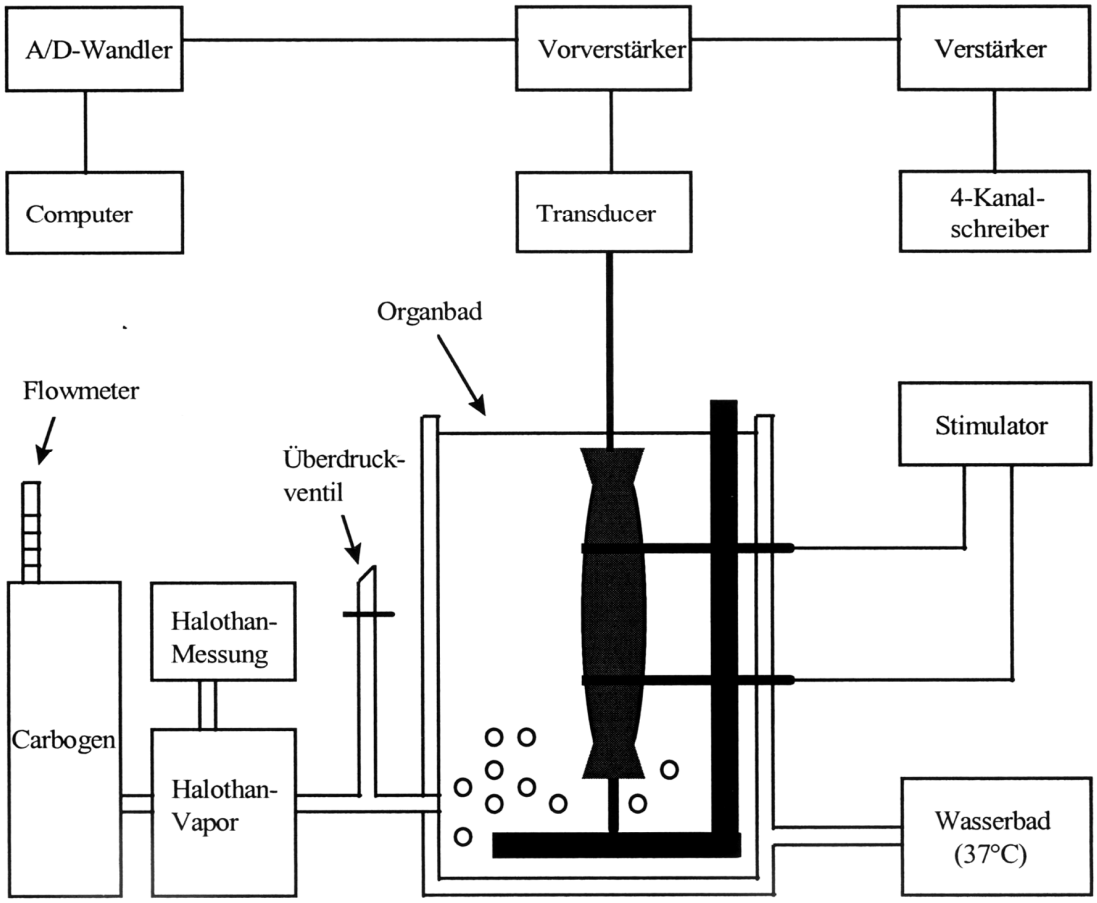

Abbildung 5: Schematische Darstellung der IVKT-Testapparatur gemäß dem Protokoll der European Malignant Hyperthermia Group (Ørding et al. 1997)

Die Grundspannung des Muskels und die induzierten Kontraktionen wurden über den induktiven Kraftaufnehmer, der mit dem oberen Ende des Faszikels flexibel verbunden war, aufgezeichnet. Nach Equilibration wurden dem Organbad die Testsubstanzen zugesetzt. Halothan® (Hoechst, Frankfurt) wurde in dreiminütigen Abständen in aufsteigenden Konzentrationen von 1,0 / 2,0 und 4,0 Volumenprozent mittels eines Narkoseverdampfers (Vapor 19.1, Dräger, Lübeck) dampfförmig zugeführt. In einem zweiten Organbad wurde einem weiteren Muskelfaszikel ebenfalls in dreiminütigen Abständen Koffein (Sigma, Deisenhofen) in Konzentrationsstufen von 0,5 / 1,0 / 1,5 / 2,0 / 3,0 / 4,0 und 32 Millimol pro Liter zugeführt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Testprotokoll der MH-Sprechstunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf entsprechend dem EMHG-Protokoll (Ørding et al. 1997)

	HALOTHAN	KOFFEIN
IVKT 1	Organbad Nr.	Organbad Nr.
0 min	0,11 mM = 1 Vol. %	+100µl (0,5 mM)
3 min	0,22 mM = 2 Vol. %	+100µl (1,0 mM)
6 min	0,44 mM = 4 Vol. %	+100µl (1,5 mM)
9 min	„	+100µl (2,0 mM)
12 min	„	+200µl (3,0 mM)
15 min	15 min = Halothan aus	+200µl (4,0 mM)
18 min	+6,4 ml (32 mM) Koffein	+6,4 ml (32 mM)
21 min		
Gewicht		
Länge		

Die Kontraktionskraft (mN) der Muskelfaszikel bei den verschiedenen Halothan- und Koffeinkonzentrationen im Zeitverlauf, sowie die Grundspannung (mN) wurde über den Kraftaufnehmer kontinuierlich erfasst, verstärkt, in einem Analog-Digital-Wandler umgewandelt, mittels Computer aufgezeichnet und graphisch dargestellt. Bei jedem Patienten wurde sowohl der Halothan-Kontrakturtest als auch der Koffein-Kontrakturtest zweimal mit jeweils frischen Muskelfaszikeln durchgeführt. Hierbei

wurden die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung (TPT), der halbmaximalen Spannung ($TPT_{½}$), der Relaxation (R), der halben Relaxation ($R_{½}$) sowie die Muskelamplitude gemessen und analysiert.

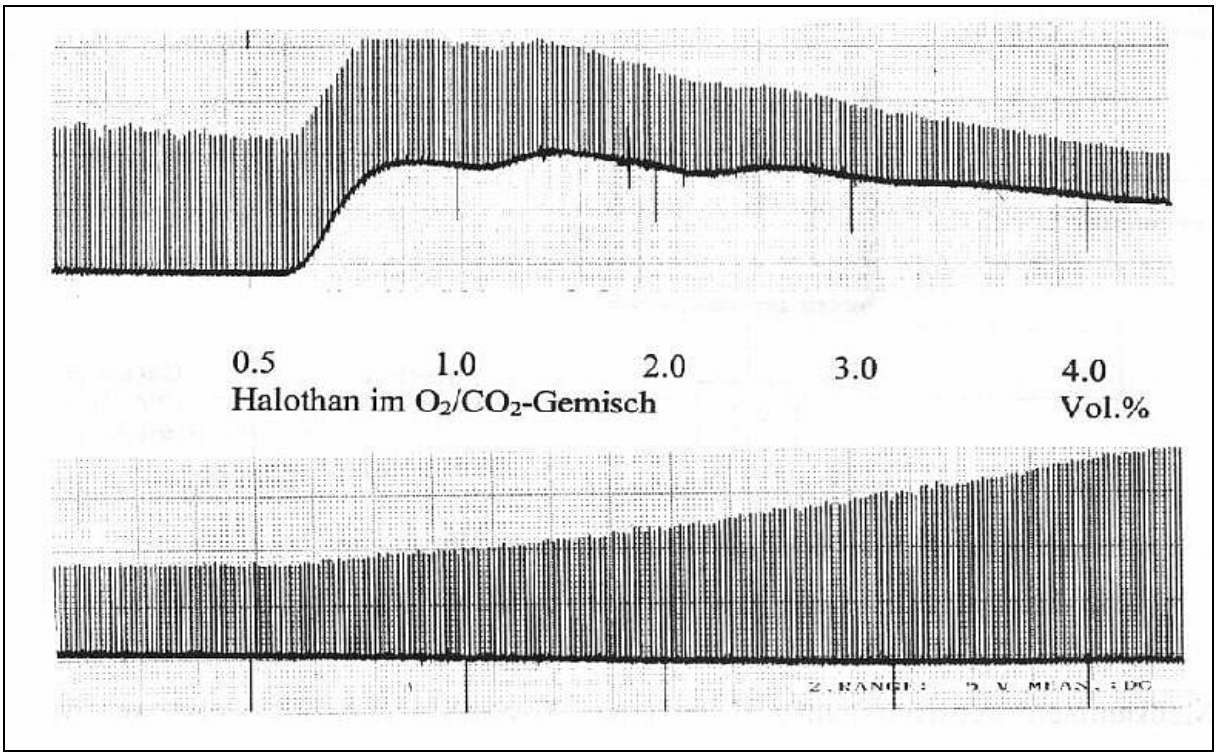

Abbildung 6: Oben: Originalregistrierung eines IVKT bei einem MHS-Patienten. Bei Zugabe von Halothan steigt die Grundspannung an.
Unten: Originalregistrierung eines IVKT bei einem MHN-Patienten. Bei gleichen Versuchsbedingungen steigt die Grundspannung nicht an.
("Verein zur Förderung der Forschung und Fortbildung der Anästhesiologie, Intensiv-, Schmerz- und Notfalltherapie" e.V.: Information zur Malignen Hyperthermie, Leipzig, 2000)

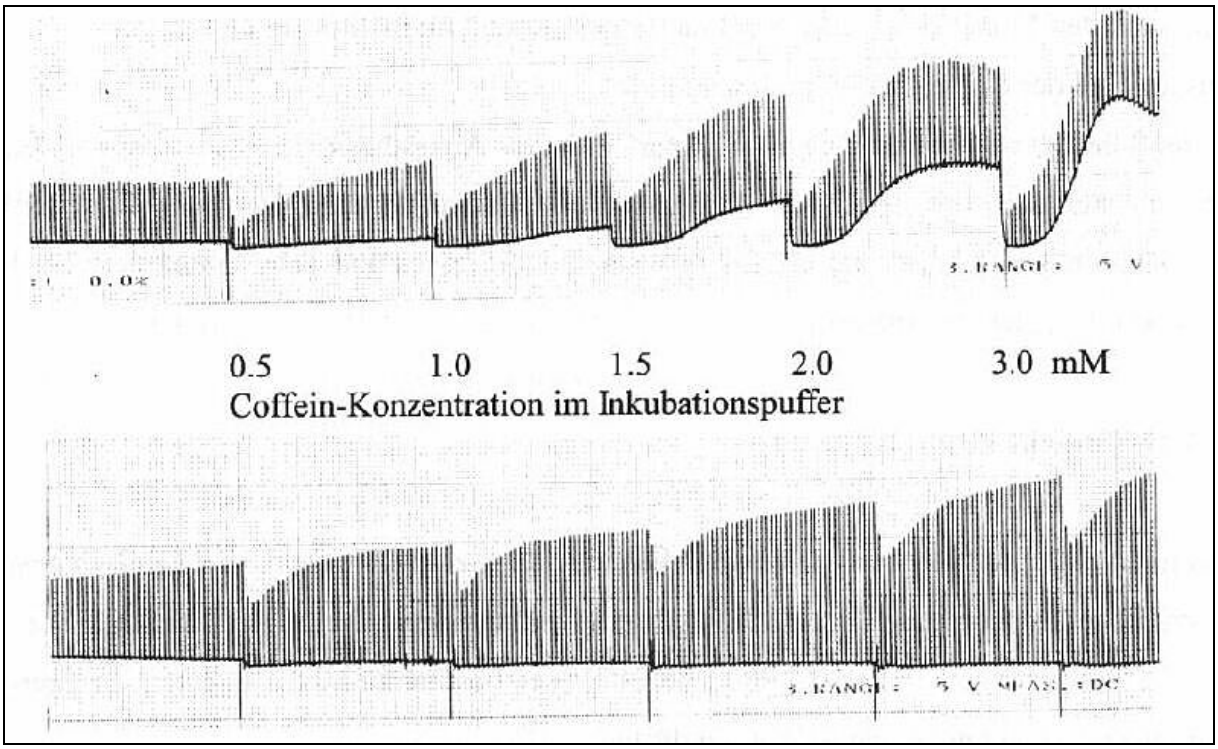

Abbildung 7: Oben: Originalregistrierung eines IVKT bei einem MHS-Patienten. Bei Zugabe von Koffein steigt die Grundspannung an.
Unten: Originalregistrierung eines IVKT bei einem MHN-Patienten. Bei gleichen Versuchsbedingungen steigt die Grundspannung nicht an.
("Verein zur Förderung der Forschung und Fortbildung der Anästhesiologie, Intensiv-, Schmerz- und Notfalltherapie" e.V.: Information zur Malignen Hyperthermie, Leipzig, 2000)

Der wesentliche Unterschied zwischen beiden dargestellten Kurven liegt im dosisabhängigen Anstieg der Grundlinie in der jeweils oberen Registrierung. Dieser Grundlinienanstieg ist spezifisch für die MH-Veranlagung und wird als Kontrakturhöhe gemessen. Die über den gesamten Verlauf beider Registrierungen senkrecht dargestellten Linien sind das Ergebnis der elektrischen Auslösung von Einzelzuckungen (alle 5 Sekunden) und zeigt bei einer Amplitude von ≥10mN an, dass das Muskelbündel vital und somit die Untersuchung verwertbar ist.

2.3 Datenverarbeitung

Die vom Kraftaufnehmer in 5-Sekunden-Abständen aufgezeichneten Daten wurden mit dem Programm MusCo-In-vitro Contructure Test (Version 1.01, Biomed Tech, Sinzing, Deutschland) mittels Computer bearbeitet. Charakteristische

muskelphysiologische Parameter, wie die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung (TPT), der halbmaximalen Spannung ($TPT_{½}$), der Relaxation (R) und der halben Relaxation ($R_{½}$) wurden analysiert. Die in 5-Sekunden-Abständen aufgezeichneten Daten der einzelnen Zeitphasen wurden im standardisierten IVKT mit Koffein in dreiminütige Abstände zusammengefasst, so dass in den sieben Messzeiträumen 36 Messungen vorlagen. Vergleichbar unterteilten wir den Halothan-IVKT ebenfalls in sieben Messzeiträume. Es ist dem Testprotokoll nach zu beachten, dass die ersten 5 Messungen Halothandosiserhöhungen darstellen, die nächsten beiden Messungen aber nur unter der maximalen Dosis von 4,0 Vol. % die Funktion der Penetration der Substanz in den Muskel darstellt. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS ® 11.0 (SPSS Inc., Chicago).

2.3.1 Deskriptive Statistik

Die Daten sind angegeben als Mittelwerte und Standardabweichung. Da bei jedem Patienten vier Präparate aus derselben Muskelprobe entnommen wurden, betrachteten wir die Präparate, die mit derselben Substanz behandelt wurden als Versuchswiederholungen. Daher bezeichnet die mittlere Zeit bis zum Ereignis das geometrische Mittel der Versuchswiederholungen bei gleicher Substanz. Diese Zeiten sind in Millisekunden angegeben. Im Gegensatz dazu bezeichnet die mittlere Muskelamplitude den arithmetischen Mittelwert der Muskelamplituden bei demselben Patienten bei der gleichen Substanz und sind in der Einheit Millinewton angegeben. Bei den untersuchten Personen wurde das Alter in Jahren, die Körpergröße in Zentimetern und das Körpergewicht in Kilogramm angegeben. Die prä- und postoperative bestimmte CK wird in U/l angegeben, die CGS wird in Punktwerten angegeben und bleibt ohne Einheit.

2.3.2 Log-Rang-Test

Mit Hilfe der Überlebenszeitanalyse lässt sich die Wahrscheinlichkeit berechnen, dass ein Ereignis bis zu einem bestimmten Zeitpunkt eintritt. Über die Kaplan-Meier Methode hinaus werden jedoch weitere statistische Verfahren benötigt, mit denen es möglich ist, formale Tests in mehreren Gruppen durchzuführen. Dazu gehören der Log-Rang-Test und aufgrund des engen ideellen Zusammenhangs zur multiplen

logistischen Regression das Cox-Modell. Der Log-Rang-Test gehört zu den nichtparametrischen Tests und ist das Standardverfahren in der Überlebenszeitanalyse für Gruppenvergleiche, wie z. B. der Vergleich unserer zwei Diagnosegruppen. Der Name Log-Rang erklärt sich daher, dass sich das Verfahren aus einem Test herleiten lässt, der auf dem Logarithmus der Ränge der Daten basiert. Da wir zwei mögliche Ereignisse an sieben verschiedenen Messzeitpunkten überprüften, wurde aufgrund der Vielzahl der Tests (14) ein Wert von $p < 0{,}004$ als signifikant definiert, da 14 x 0,05=0,004.

2.3.3 Kruskal-Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test ist ein nichtparametrischer Test zur Prüfung der Signifikanz mehrerer unabhängiger Stichproben hinsichtlich ihrer zentralen Tendenz, durch den festgestellt wird, ob die Stichproben aus derselben Grundgesamtheit stammen oder lediglich zufällig voneinander abweichen. Es handelt sich dabei um eine Erweiterung des Wilcoxon-Tests für mehr als zwei Stichproben. Voraussetzung für seine Anwendung ist das Vorliegen ordinalskalierter Variablen. Die Daten aller k Stichproben werden in eine Rangordnung gebracht, und anschließend die Rangplatzsummen (R_i) der einzelnen Stichproben verglichen.
Die Prüfgröße lautet:

$$H = \frac{12}{N\,(N+1)} \sum_{i=1}^{k} \frac{R_i^2}{n_i} - 3\,(n+1)$$

Enthalten alle Gruppen mindestens jeweils drei Beobachtungen, so ist der Wert H ungefähr chi-quadratverteilt mit k – 1 Freiheitsgraden. Entsprechend 2.3.2 wurde auch hier ein Wert von $p < 0{,}004$ als signifikant definiert.

2.3.4 Mann-Whitney-Test

Der Mann-Whitney-Test ist ein parameterfreier statistischer Test. Er dient zur Überprüfung der Signifikanz der Übereinstimmung zweier Verteilungen, im Speziellen, ob zwei unabhängige Variablen zu derselben Grundgesamtheit gehören. Man vergleicht jeden Wert n_1 der einen Stichprobe mit jedem Wert n_2 der anderen

Stichprobe. Es ergeben sich also n_1 x n_2 Vergleiche. Die Nullhypothese $H_{(0)}$ besagt, dass es keinen Unterschied zwischen den Verteilungen gibt.
Die Prüfgröße lautet:

$$U1 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_1 \cdot (n_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U2 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_2 \cdot (n_2 + 1)}{2} - R_2$$

3. Ergebnisse

3.1 Demographische Patientendaten

3.1.1 Allgemeine Patientenbeschreibung

Im Rahmen der Untersuchungen wurden von 1996 bis 2003 218 Personen getestet. Aufgrund fehlender Akten mussten drei Patienten aus der Analyse ausgeschlossen werden. Eingeschlossen in die Studie wurden somit 215 Patientendatensätze.
Es wurden 88 weibliche und 127 männliche Patienten in die Auswertungen einbezogen. Das Alter lag zwischen 4 und 68 Jahren. Dies ergibt ein Durchschnittsalter der Testpersonen von 31,2 ± 17,2 Jahren. Als durchschnittliche Körpergröße wurde ein Wert von 166,2 ± 19,1 Zentimetern ermittelt, das durchschnittliche Gewicht betrug hierbei 67,2 ± 22,5 Kilogramm.
Bei 51 der getesteten Personen wurde die Muskelbiopsie in Allgemeinanästhesie mit triggerfreien Anästhetika entnommen. 164 Personen entschieden sich bei diesem Eingriff für eine Regionalanästhesie mittels 3-in-1-Block.

3.1.2 Probandenstatus

Hierunter waren 66 Personen, bei denen bereits im Rahmen einer Allgemeinanästhesie ein potentielles MH-Ereignis aufgetreten war (Probanden). Des Weiteren wurden 149 Angehörige dieser Probanden getestet, bei denen bisher keine Allgemeinanästhesie durchgeführt wurde oder kein MH-Ereignis auftrat.

Tabelle 7: Auswertung des Probandenstatus

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumul. Prozente
Gültig	kein Proband	149	68,3	69,3	69,3
	Proband	66	30,3	30,7	100,0
	Gesamt	215	98,6	100,0	
Fehlend	System	3	1,4		
Gesamt		218	100,0		

3.1.3 Clinical Grading Scale

Tabelle 8: Auswertung der Clinical Grading Scale

Punktwert	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumul. Prozente
0	41	18,8	19,1	19,1
1	1	0,5	0,5	19,5
3	1	0,5	0,5	20,0
5	7	3,2	3,3	23,3
10	8	3,7	3,7	27,0
15	124	56,9	57,7	84,7
18	2	0,9	0,9	85,6
20	3	1,4	1,4	87,0
25	14	6,4	6,5	93,5
28	1	0,5	0,5	94,0
30	7	3,2	3,3	97,2
33	2	0,9	0,9	98,1
38	1	0,5	0,5	98,6
40	1	0,5	0,5	99,1
43	1	0,5	0,5	99,5
45	1	0,5	0,5	100,0
Gesamt	215	98,6	100,0	

Die Häufigkeit der Punktwerte der Clinical Grading Scale nach Larach et al. sind in der Tabelle 8 dargestellt. Eine Zuordnung der Clinical Grading Scale zu den einzelnen Diagnosegruppen erfolgte in der Tabelle 9. Insgesamt betrachtet sind die Punktwerte 0 bis 19, also ein eher unwahrscheinliches bis fast ausgeschlossenes MH-Risiko, vom Großteil der Patienten belegt. Hierbei konzentriert sich der Hauptteil der Patienten im Rang 3 bei einem Punktwert von 15. Betrachtet man die Gruppe mit 35 bis 49 Punkten, so ist diese mit 4 Personen belegt. Bei keiner Person wurde ein Wert über 45 Punkten ermittelt.

Tabelle 9: Zuordnung der Clinical Grading Scale zu den Diagnosegruppen

Punktwert	MHN-Gruppe	MHS-Gruppe	MHE-Gruppe	Gesamt
0	23	12	6	41
1	0	1	0	1
3	1	0	0	1
5	5	1	1	7
10	6	1	1	8
15	87	27	10	124
18	0	1	1	2
20	0	1	2	3
25	5	5	4	14
28	1	0	0	1
30	0	5	2	7
33	0	1	1	2
38	1	0	0	1
40	0	1	0	1
43	0	0	1	1
45	0	1	0	1
Gesamt	129	57	29	215

3.1.4 Inzidenz von Muskelerkrankungen

Im Rahmen der Untersuchungen wurden die den Patienten entnommenen Muskelfaszikel nicht nur einem IVKT unterzogen, sondern bei Verdacht auf das Vorhandensein einer myopathischen Veränderung auch eine histologische Untersuchung vorgenommen. In insgesamt 53,2 Prozent der Fälle (bei 116 Patienten) wurde keine histologische Untersuchung durchgeführt. Bei 46 Patienten konnte keine Myopathie festgestellt werden. Bei 53 Patienten (24,3 Prozent) wurden pathologische Veränderungen der Muskelzellen festgestellt. Hierbei ergaben sich nur zwei Mal die Diagnose einer Myopathie, in allen anderen Fällen handelte es sich um geringgradige Veränderungen wie Hypertrophien oder Atrophien.

Tabelle 10: Auswertung der Daten über das Auftreten einer Muskelerkrankung

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumul.Prozente
Gültig	keine Angaben	116	53,2	54,0	54,0
	keine Myopathie	46	21,1	21,4	75,3
	Myopathie	2	0,9	0,9	76,2
	Patholog. Veränder.	51	23,4	23,8	100,0
	Gesamt	215	98,6	100,0	

3.1.6 MH-Diagnose

Es wurden insgesamt 218 Personen getestet, von denen 129 Personen der Gruppe MHN zuzuordnen sind. 57 Personen gehören in die MHS-Gruppe. Die Diagnose MHEH konnte bei 23 Personen, die Diagnose der MHEC bei 9 Personen gestellt werden. Aufgrund der geringen Gruppengröße von MHEC, wird diese in der weiteren statistischen Auswertung nicht berücksichtigt.

Tabelle 11: Einteilung in die diagnostischen Gruppen

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	MHN	129	59,2	59,2	59,2
	MHS	57	26,1	26,1	85,3
	MHEH	23	10,6	10,6	95,9
	MHEC	6	4,1	4,1	100,0
	Gesamt	215	100,0	100,0	

3.2 In-vitro-Kontrakturtest mit Koffein

3.2.1 Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung

Ausgewertet wurde die mittlere Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung. Innerhalb der Diagnosegruppen waren ansteigende Werte zu verzeichnen. Vor

Applikation betrug die Zeit bis zum Erreichen der Maximalspannung im Mittel 71,5 ± 23,0 Millisekunden für MHN, 70,0 ± 22,1 Millisekunden für MHS und für MHEH 69,9 ± 22,6 Millisekunden. Nach Zugabe von 4,0 mM Koffein erhöhten sich diese Werte auf 79,6 ± 19,6 Millisekunden für MHN, 87,7 ± 26,5 Millisekunden für MHS und für MHEH 80,9 ± 30,0 Millisekunden.

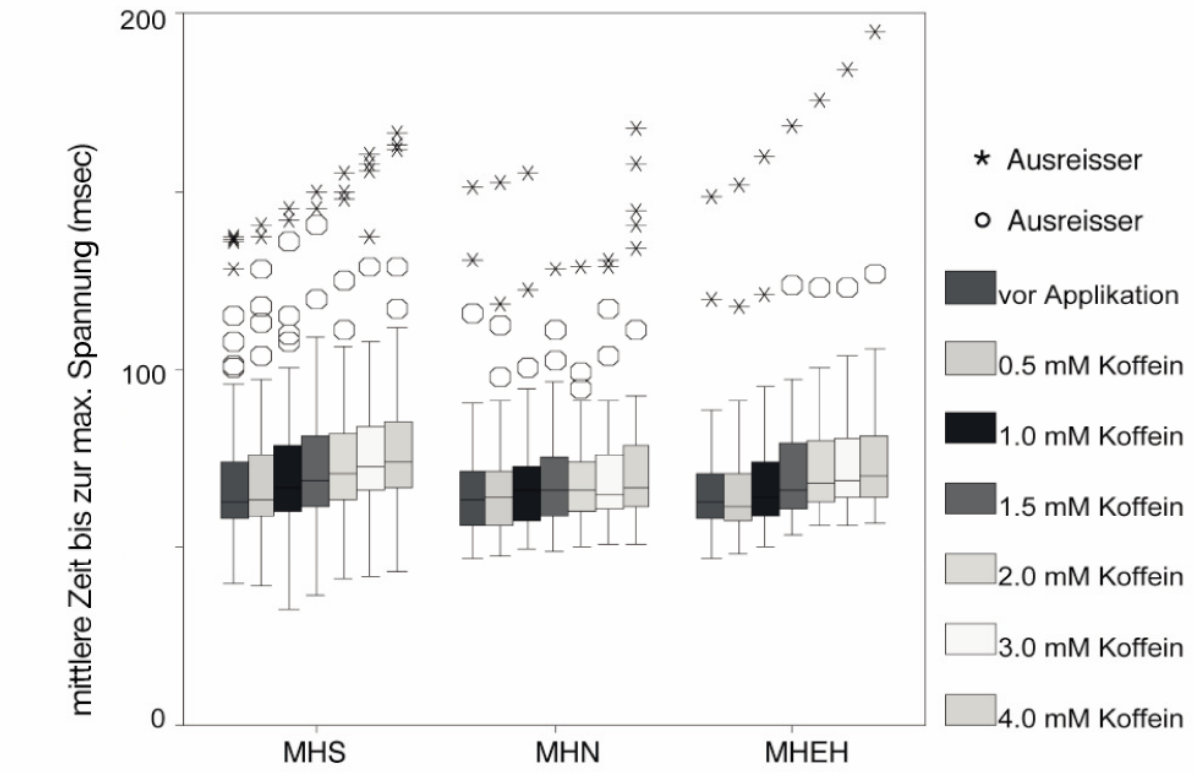

Abbildung 8: Mittlere Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung (msec) bei Verwendung von Koffein geordnet nach Diagnosegruppe und Koffeinkonzentration (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

3.2.2 Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation

Ausgewertet wurde die mittlere Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation. Innerhalb der Diagnosegruppen sind auch hier ansteigende Werte zu verzeichnen. Vor Applikation betrug die Zeit bis zum Erreichen der Maximalrelaxation im Mittel 159,5 ± 63,1 Millisekunden für MHN, 162,3 ± 54,7 Millisekunden für MHS und für MHEH 163,2 ± 71,5 Millisekunden. Nach Zugabe von 4,0 mM Koffein erhöhten sich diese Werte auf 209,5 ± 80,7 Millisekunden für MHN, 313,9 ± 144,1 Millisekunden für MHS und für MHEH 259,5 ± 112,0 Millisekunden.

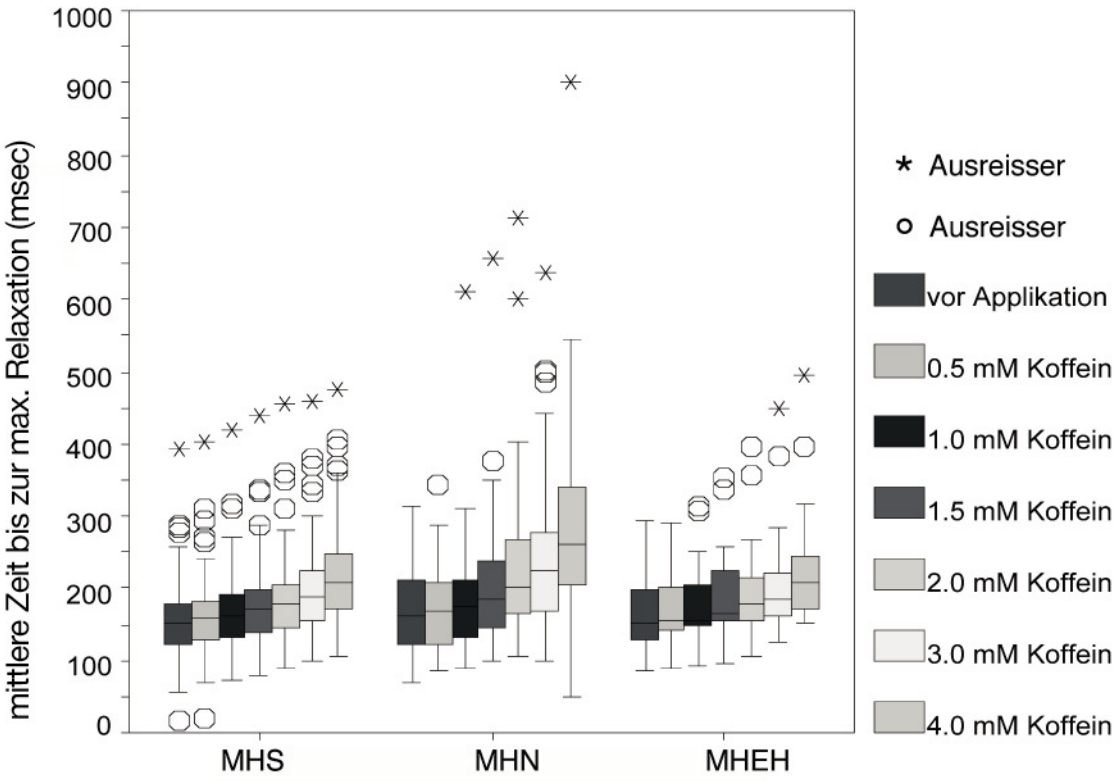

Abbildung 9: Mittlere Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation (msec) bei Verwendung von Koffein nach Diagnosegruppe und Koffeinkonzentration (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Bei Überprüfung der Hypothese, dass bei Verwendung von Koffein die Zeit bis zum jeweiligen Ereignis bei einer Versuchsbedingung von der Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) abhängt, ist jedoch zu beachten, dass aufgrund der Anzahl (14) der Tests nicht ein Signifikanzniveau von $p = 0,05$ gelten kann, sondern die Signifikanz erst bei $0.05/14 < 0.004$ gegeben ist. Damit ergibt sich, dass bei der Zeit zum Erreichen der maximalen Relaxation bei 2,0 mM, 3,0 mM und 4,0 mM signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen, das heisst, dass in diesen Konzentrationen die Zeit bis zum Eintreten des Ereignisses abhängig ist von der Diagnose.

Tabelle 12: *p*-Werte des Log-Rang-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung von Koffein die Zeit bis zum jeweiligen Ereignis bei einer Versuchsbedingung von der Diagnosegruppe abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Versuchsbedingung / Zeitpunkt	maximale Spannung	maximale Relaxation
vor Applikation	0,9783	0,1382
0,5 mM	0,9923	0,3878
1,0 mM	0,9395	0,2492
1,5 mM	0,6761	0,0415
2,0 mM	0,2143	0,0033
3,0 mM	0,1542	0,0001
4,0 mM	0,4975	0,0000

3.2.3 Muskelamplitude

Gegenübergestellt wurde die Muskelamplituden der einzelnen Diagnosegruppen bei ansteigenden Koffeinkonzentrationen. In der MHN- und MHEH-Gruppe ist ein kontinuierlicher Anstieg der Muskelamplituden zu verzeichnen. Bei der MHS-Gruppe hingegen, steigt die Amplitudenlänge mit steigender Koffeinkonzentration zunächst an, fällt dann trotz weiter steigender Konzentration auf den Ausgangswert zurück. Vor Applikation betrug die Muskelamplitude im Mittel 70,2 ± 50,4 mN für MHN, 71,9 ± 51,8 mN für MHS und für MHEH 70,9 ± 50,3 mN. Nach Zugabe von 4,0 mM Koffein erhöhten sich diese Werte auf 101,7 ± 73,1 mN für MHN, 87,6 ± 57,9 mN für MHS und für MHEH 101,4 ± 56,9 mN.

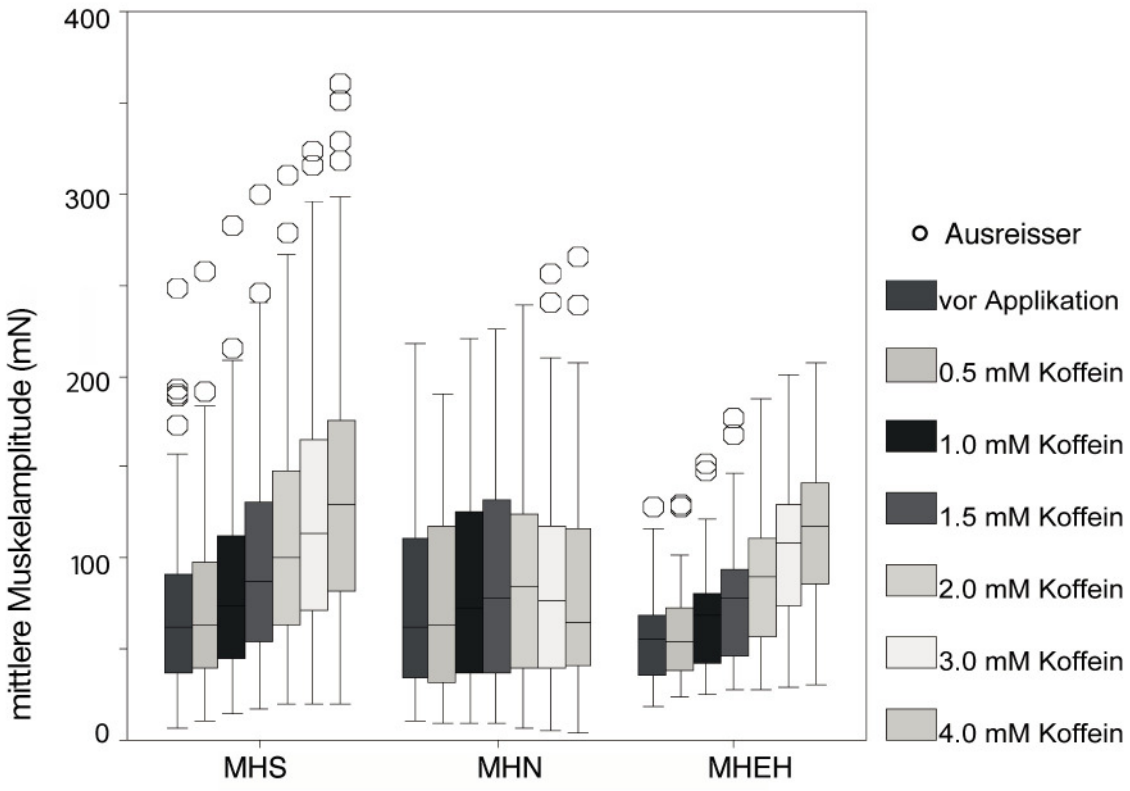

Abbildung 10: Muskelamplitude (msec) bei Verwendung von kumulativen Koffeinkonzentrationen nach Diagnosegruppe (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Beim Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung von Koffein die Muskelamplitude bei einer Versuchsbedingung von der Diagnosegruppe (MHS, MHN, MHEH) abhängig ist, ist wiederum zu beachten, dass aufgrund der Anzahl (14) der Tests nicht ein Signifikanzniveau von $p = 0,05$ gelten kann, sondern die Signifikanz ist erst bei $0.05/14 < 0.004$ gegeben ist. Signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Diagnosegruppen sind bei den Koffeinkonzentrationen 3,0 mM und 4,0 mM zu verzeichnen.

Tabelle 13: *p*-Werte des Kruskal-Wallis-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung von kumulativen Koffeinkonzentrationen die Muskelamplitude von der Diagnosegruppe abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Bedingung	vor Applikation	0,5 mM	1,0 mM	1,5 mM	2,0 mM	3,0 mM	4,0 mM
p-Wert	0,5818	0,5149	0,4812	0,3160	0,0750	0,0031	0,0000

3.3 In-vitro-Kontrakturtest mit Halothan

3.3.1 Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung

Ausgewertet wurde die mittlere Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung während des Halothan-IVKT. Innerhalb der Diagnosegruppen sind ansteigende Werte zu verzeichnen. Vor Applikation betrug die Zeit bis zum Erreichen der Maximalspannung im Mittel 71,5 ± 23,4 Millisekunden für MHN, 70,1 ± 20,9 Millisekunden für MHS und für MHEH 69,9 ± 25,0 Millisekunden. Nachdem kein weitere Zugabe von Halothan mehr erfolgte, erhöhten sich diese Werte auf 79,5 ± 22,3 Millisekunden für MHN, 87,7 ± 26,8 Millisekunden für MHS und für MHEH 80,7 ± 31,0 Millisekunden.

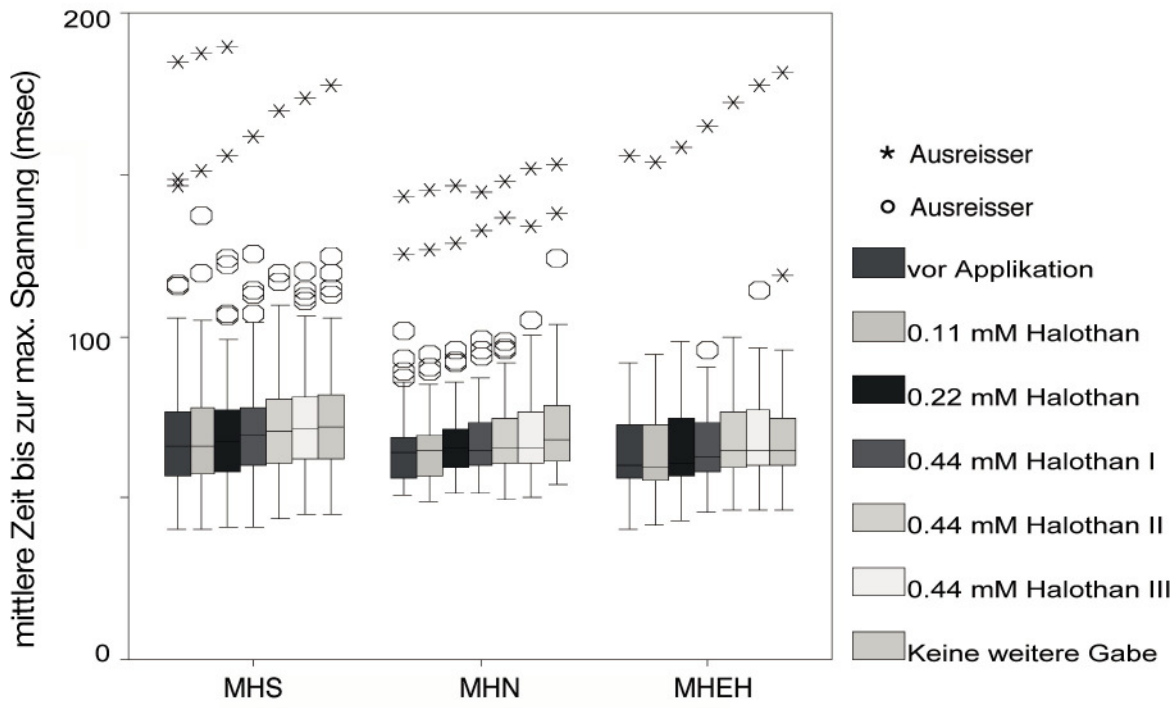

Abbildung 11: Mittlere Zeit bis zur maximalen Spannung (msec) bei Verwendung von kumulativen Halothankonzentrationen nach Diagnosegruppe (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

3.3.2 Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation

Ausgewertet wurde die mittlere Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation bei einer kontinuierlichen Halothankonzentrationssteigerung. Innerhalb der Diagnosegruppen sind auch hier ansteigende Werte zu verzeichnen. Vor Applikation betrug die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation im Mittel 159,5 ± 62,7 Millisekunden für MHN, 162,3 ± 54,2 Millisekunden für MHS und für MHEH 163,3 ± 71,1 Millisekunden. Nach dem keine weitere Halothanzugabe mehr erfolgte, erhöhten sich diese Werte auf 209,2 ± 80,6 Millisekunden für MHN, 314,5 ± 144,3 Millisekunden für MHS und für MHEH 258,7 ± 112,3 Millisekunden.

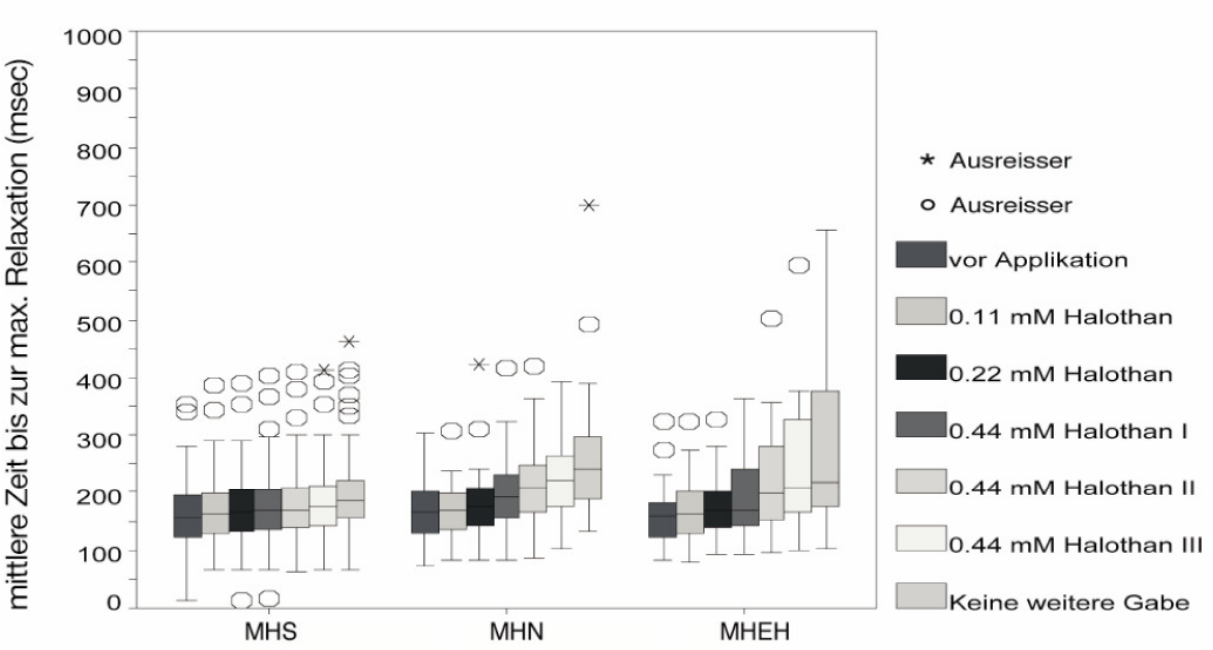

Abbildung 12: Mittlere Zeit bis zur maximalen Relaxation (msec) bei Verwendung von kumulativen Halothankonzentrationen nach Diagnosegruppe (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Da auch hier erst Signifikanzwerte von $p > 0{,}004$ gültig sind, ist die Hypothese, dass bei Verwendung von Halothan die Zeit bis zum Erreichen des jeweiligen Ereignisses bei einer Versuchsbedingung von der Diagnose abhängig ist, nur für die maximale Relaxation ab einer Halothankonzentration von 0,44 mM bestätigt. Wie bereits beschrieben, erfolgte bei einer Halothankonzentration von 0,44 mM keine weitere Halothansteigerung.

Tabelle 14: *p*-Werte des Log-Rang-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung von kumulativen Halothankonzentrationen die Zeit bis zum jeweiligen Ereignis von der Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Versuchsbedingung /Zeitpunkt	maximale Spannung	maximale Relaxation
vor Applikation	0,5105	0,9200
0,11 mM	0,5967	0,9895
0,22 mM	0,5965	0,6488
0,44 mM I	0,5537	0,0403
0,44 mM II	0,6291	0,0001
0,44 mM III	0,7675	0,0000
Keine weitere Halothangabe	0,9831	0,0000

3.3.3 Muskelamplitude

Gegenübergestellt wurde die Länge der Muskelamplituden der einzelnen Diagnosegruppen bei ansteigenden Halothankonzentrationen. Vor Applikation betrug die Länge der Muskelamplitude im Mittel 70,1 ± 50,4 mN für MHN, 71,8 ± 51,8 mN für MHS und für MHEH 71,1 ± 52,5 mN. Nachdem keine weitere Halothanzugabe mehr erfolgte, erhöhten sich diese Werte auf 101,5 ± 73,1 mN für MHN, 85,3 ± 57,3 mN für MHS und für MHEH 103,4 ± 61,8 mN.

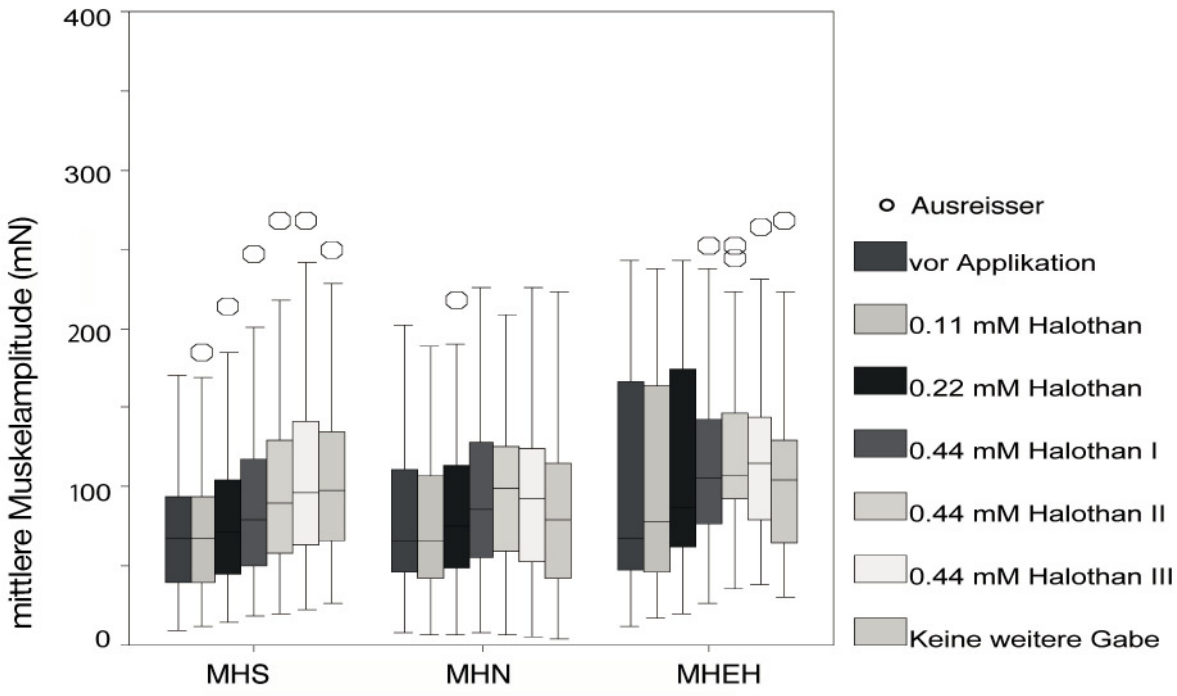

Abbildung 13: Muskelamplitude (msec) bei Verwendung von kumulativen Halothankonzentrationen nach Diagnosegruppe (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Bei keiner Halothankonzentration sind signifikante Unterschiede der Muskelamplituden zu verzeichnen.

Tabelle 15: *p*-Werte des Kruskal-Wallis-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung von kumulativen Halothankonzentrationen die Muskelamplitude von der Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Bedingung	vor Applik.	0,11 mM	0,22 mM	0,44 mM I	0,44 mM II	0,44mM III	keine weitere Gabe
p-Wert	0,4628	0,4507	0,2858	0,2572	0,2209	0,3114	0,0689

3.4 Überprüfung signifikanter Werte auf prognostischen Charakter

3.4.1 Prognostische Faktoren bei der Anwendung von Koffein

Da bei den Koffeinkonzentrationen von 2 mM, 3 mM und 4 mM sowohl bei der Zeit zum Erreichen der maximalen Spannung als auch bei der Zeit zum Erreichen der maximalen Relaxation signifikante Unterschiede zwischen den diagnostischen Gruppen zu finden sind, haben wir diese Ergebnisse nochmals auf potentielle prognostische Faktoren zum Erreichen des Ereignisses untersucht. Hierbei wird deutlich, dass das Alter, das Geschlecht und der BMI nicht mitbestimmend für die Zeit bis zum Erreichen des Ereignisses sind. Auch der Wert der präoperativ abgenommenen Kreatinkinase ist hierfür nicht relevant. Signifikante Werte sind nur im direkten Vergleich zwischen den Gruppen MHN und MHS zu finden und damit ist die diagnostische Gruppe der einzige prognostische Faktor für die Zeit zum Erreichen des bestimmten Ereignisses.

Tabelle 16: Schätzungen für potentielle prognostische Faktoren der mittleren Zeit bis zur maximalen Relaxation bei 2 mM Koffein. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

					95% Konfidenzintervall	
Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	Relatives „Risiko“	*p*-Wert	Untere Grenze	Obere Grenze
Alter			0.99	0.006	0.98	1.00
BMI			1.03	0.045	1.00	1.07
CK-präoperativ			1.00	0.499	1.00	1.00
Geschlecht	männlich	weiblich	0.87	0.334	0.65	1.16
Diagnose	MHN	MHS	0.55	0.001	0.39	0.77
	MHN	MHEH	0.83	0.423	0.52	1.32

Tabelle 17: Schätzungen für potentielle prognostische Faktoren der mittleren Zeit bis zur maximalen Relaxation bei 3 mM Koffein. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

					95 % Konfidenzintervall	
Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	Relatives „Risiko“	*p*-Wert	Untere Grenze	Obere Grenze
Alter			0.99	0.009	0.98	1.00
BMI			1.03	0.066	1.00	1.06
CK-präoperativ			1.00	0.493	1.00	1.00
Geschlecht	männlich	weiblich	0.85	0.283	0.64	1.14
Diagnose	MHN	MHS	0.46	0.000	0.33	0.66
	MHN	MHEH	0.82	0.398	0.51	1.30

Tabelle 18: Schätzungen für potentielle prognostische Faktoren der mittleren Zeit bis zur maximalen Relaxation bei 4 mM Koffein. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

					95 % Konfidenzintervall	
Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	Relatives Risiko*	*p*-Wert	Untere Grenze	Obere Grenze
Alter			0.99	0.047	0.98	1.00
BMI			1.03	0.131	0.99	1.06
CK-präoperativ			1.00	0.725	1.00	1.00
Geschlecht	männlich	weiblich	0.87	0.340	0.65	1.16
Diagnose	MHN	MHS	0.41	0.000	0.29	0.59
	MHN	MHEH	0.81	0.385	0.51	1.30

3.4.2. Prognostische Faktoren bei der Anwendung von Halothan

Auch bei der Halothankonzentration von 0,44 mM in den Zeitabschnitten I, II und III sind sowohl bei der Zeit zum Erreichen der maximalen Spannung als auch bei der Zeit zum Erreichen der maximalen Relaxation signifikante Unterschiede zwischen den diagnostischen Gruppen zu finden. Auch diese Ergebnisse sind deshalb nochmals auf potentielle prognostische Faktoren zum Erreichen des Ereignisses untersucht worden. Auch hier wird deutlich, dass das Alter, das Geschlecht, die präoperativ abgenommene Kreatinkinase und der BMI nicht relevant für die Zeit bis

zum Erreichen des Ereignisses sind. Signifikante Werte sind auch hier nur im direkten Vergleich zwischen den Gruppen MHN und MHS zu finden und damit ist die diagnostische Gruppe der einzige prognostische Faktor für die Zeit zum Erreichen des bestimmten Ereignisses.

Tabelle 19: Schätzungen für potentielle prognostische Faktoren der mittleren Zeit bis zur maximalen Relaxation bei 0,44 mM Halothan II. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

					95 % Konfidenzintervall	
Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	Relatives „Risiko“	*p*-Wert	Untere Grenze	Obere Grenze
Alter			0.99	0.027	0.98	1.00
BMI			1.01	0.412	0.98	1.05
CK-präoperativ			1.00	0.531	1.00	1.00
Geschlecht	männlich	weiblich	0.85	0.284	0.64	1.14
Diagnose	MHN	MHS	0.55	0.000	0.39	0.77
	MHN	MHEH	0.43	0.001	0.26	0.71

Tabelle 20: Schätzungen für potentielle prognostische Faktoren der mittleren Zeit bis zur maximalen Relaxation bei 0,44 mM Halothan III. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

					95 % Konfidenzintervall	
Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	Relatives „Risiko“	p-Wert	Untere Grenze	Obere Grenze
Alter			0.99	0.017	0.98	1.00
BMI			1.01	0.472	0.98	1.05
CK-präoperativ			1.00	0.627	1.00	1.00
Geschlecht	männlich	weiblich	0.85	0.261	0.63	1.13
Diagnose	MHN	MHS	0.51	0.000	0.37	0.71
	MHN	MHEH	0.35	0.000	0.21	0.59

Tabelle 21: Schätzungen für potentielle prognostische Faktoren der mittleren Zeit bis zur maximalen Relaxation bei keiner weiteren Halothangabe. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

					95 % Konfidenzintervall	
Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	Relatives „Risiko“	p-Wert	Untere Grenze	Obere Grenze
Alter			0.99	0.011	0.98	1.00
BMI			1.01	0.492	0.98	1.05
CK-präoperativ			1.00	0.534	1.00	1.00
Geschlecht	männlich	weiblich	0.94	0.656	0.70	1.25
Diagnose	MHN	MHS	0.47	0.000	0.33	0.66
	MHN	MHEH	0.35	0.000	0.21	0.58

3.4.3 Prognostische Faktoren bei der Anwendung beider Triggersubstanzen zur Einteilung in die jeweilige Diagnosegruppe

In den oben genannten Auswertungen zeigt sich, dass das Alter, das Geschlecht, die präoperativ abgenommene Kreatinkinase und der BMI nicht relevant für die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung oder Relaxation sind. Signifikante Werte sind jedoch im direkten Vergleich zwischen den Gruppen MHN und MHS zu finden. Es sollte nochmals überprüft werden ob sich bei den Parametern wie Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, dem Wert der prä- und postoperativ bestimmten CK, dem Punktwert der CGS sowie dem Auftreten einer Myopathie Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen zeigen.

Es zeigen sich signifikante Unterschiede im direkten Vergleich zwischen den Diagnosegruppen bei den Parametern wie Größe, Gewicht, sowie dem prä- und postoperativ bestimmten CK-Wert. Bei dem Auftreten einer Myopathie, dem Geschlecht, dem Lebensalter und dem Punktwert der CGS sind die Unterschiede nicht signifikant. Aufgrund der Vielzahl der Tests (14) wurde auch hier ein Wert von $p < 0,004$ als signifikant definiert, da $14 \times 0,05 = 0,004$.

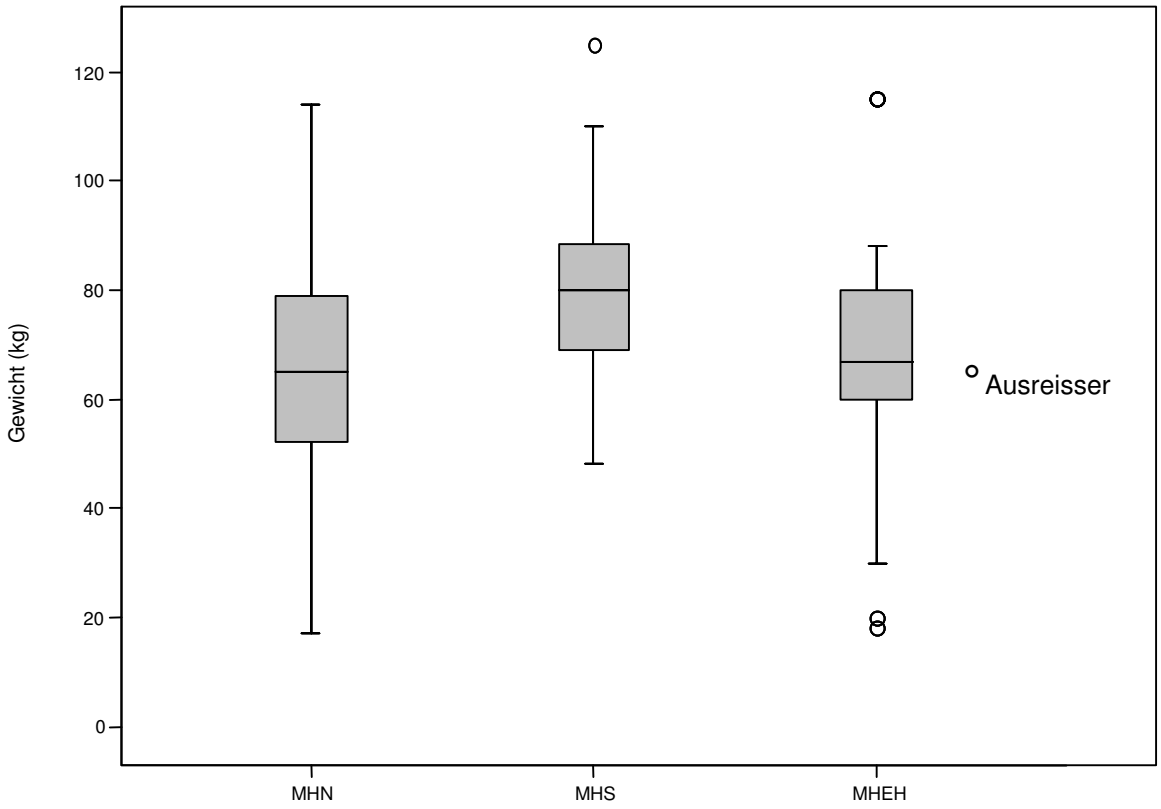

Abbildung 14: Gewicht (kg) nach Diagnosegruppe bei Verwendung beider Triggersubstanzen (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Tabelle 22: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom Körpergewicht abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
Gewicht	MHN	MHS	0,000
	MHN	MHEH	0,550
	MHS	MHEH	0,000

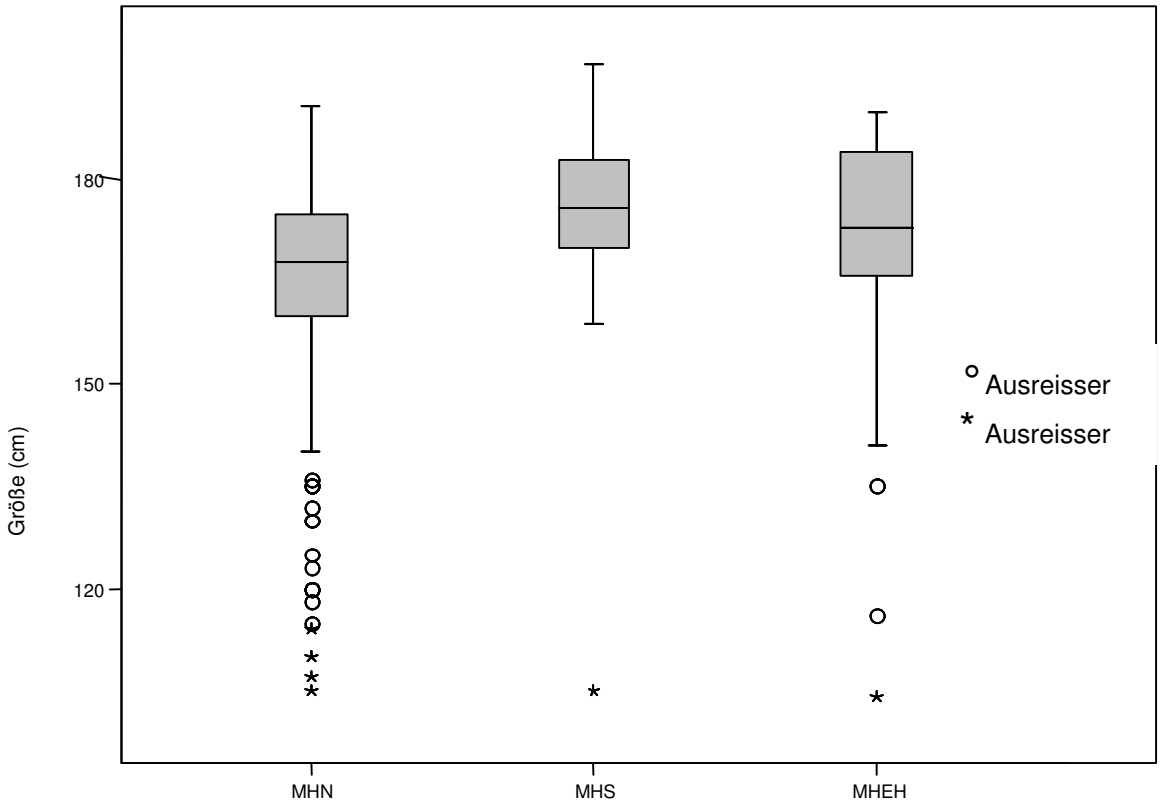

Abbildung 15: Größe (cm) nach Diagnosegruppe bei Verwendung beider Triggersubstanzen (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Tabelle 23: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom der Körpergröße abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
Größe	MHN	MHS	0,000
	MHN	MHEH	0,004
	MHS	MHEH	0,026

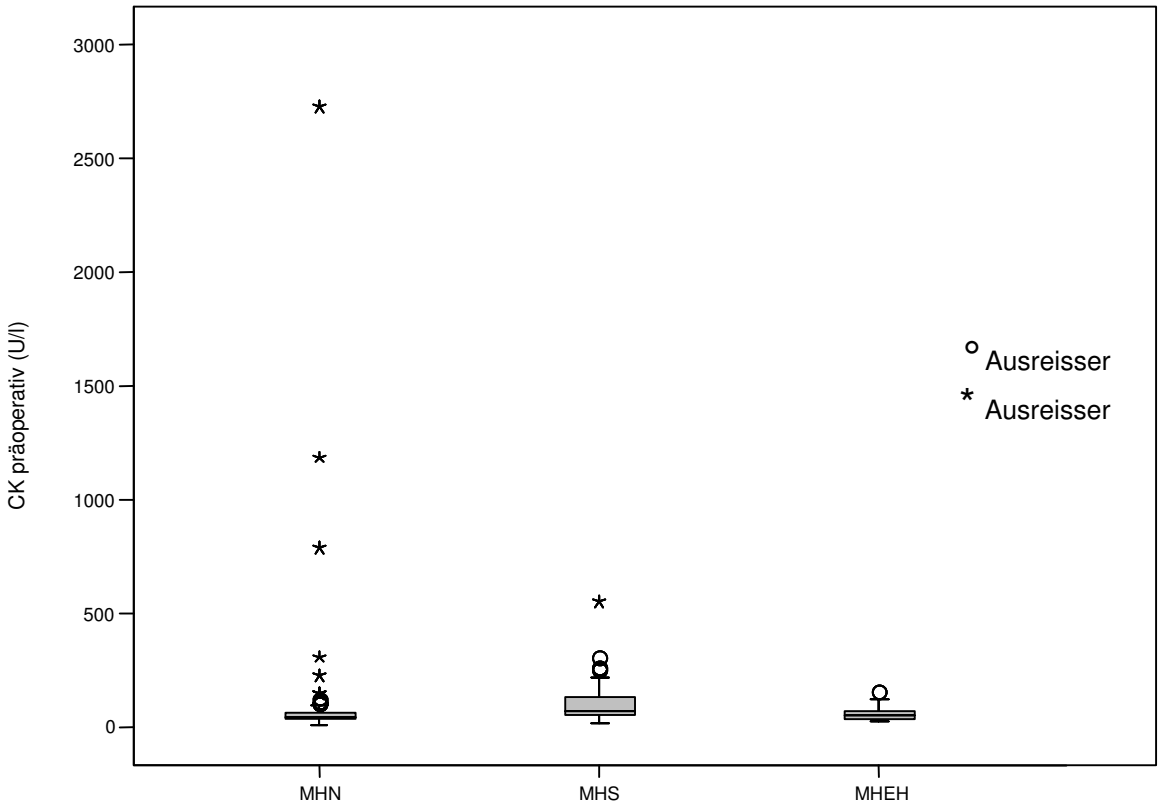

Abbildung 16: CK präoperativ (U/l) nach Diagnosegruppe bei Verwendung beider Triggersubstanzen (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Tabelle 24: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom präoperativ bestimmten CK-Wert abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
Präoperative CK	MHN	MHS	0,000
	MHN	MHEH	0,005
	MHS	MHEH	0,000

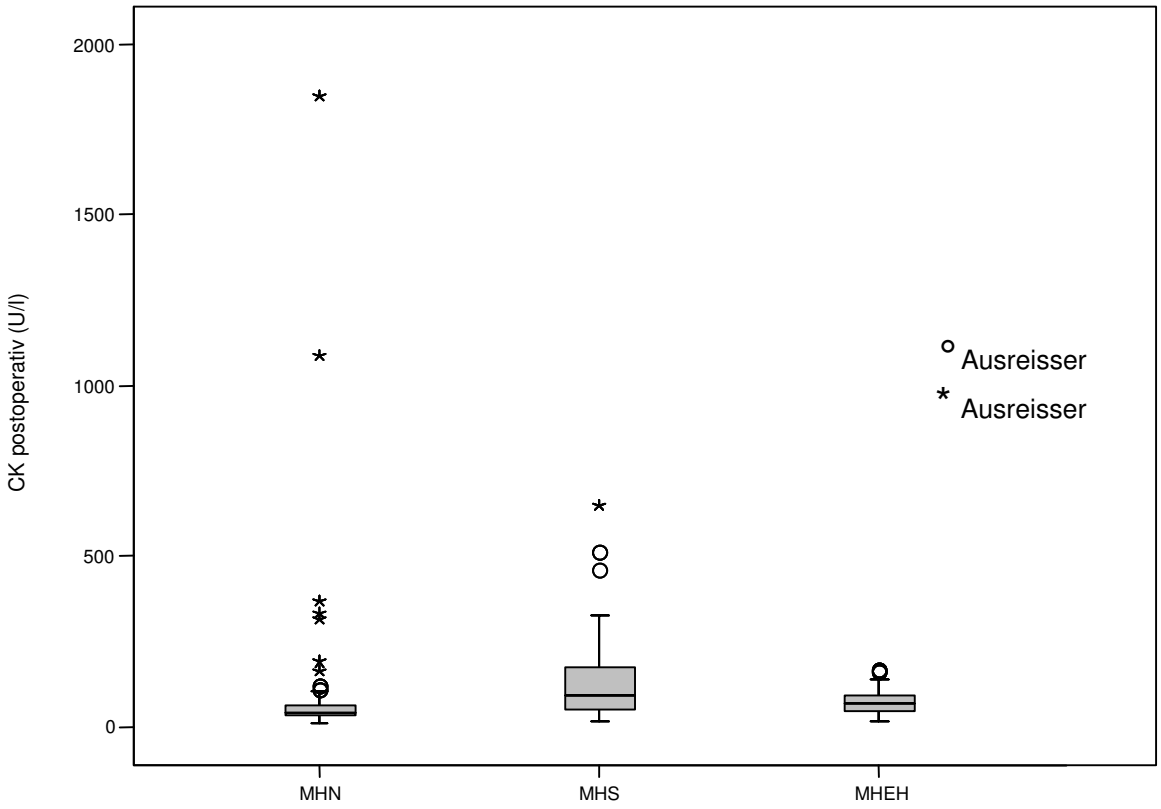

Abbildung 17: CK postoperativ (U/l) nach Diagnosegruppe bei Verwendung beider Triggersubstanzen (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Tabelle 25: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom postoperativ bestimmten CK-Wert abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
Postoperative CK	MHN	MHS	0,000
	MHN	MHEH	0,000
	MHS	MHEH	0,002

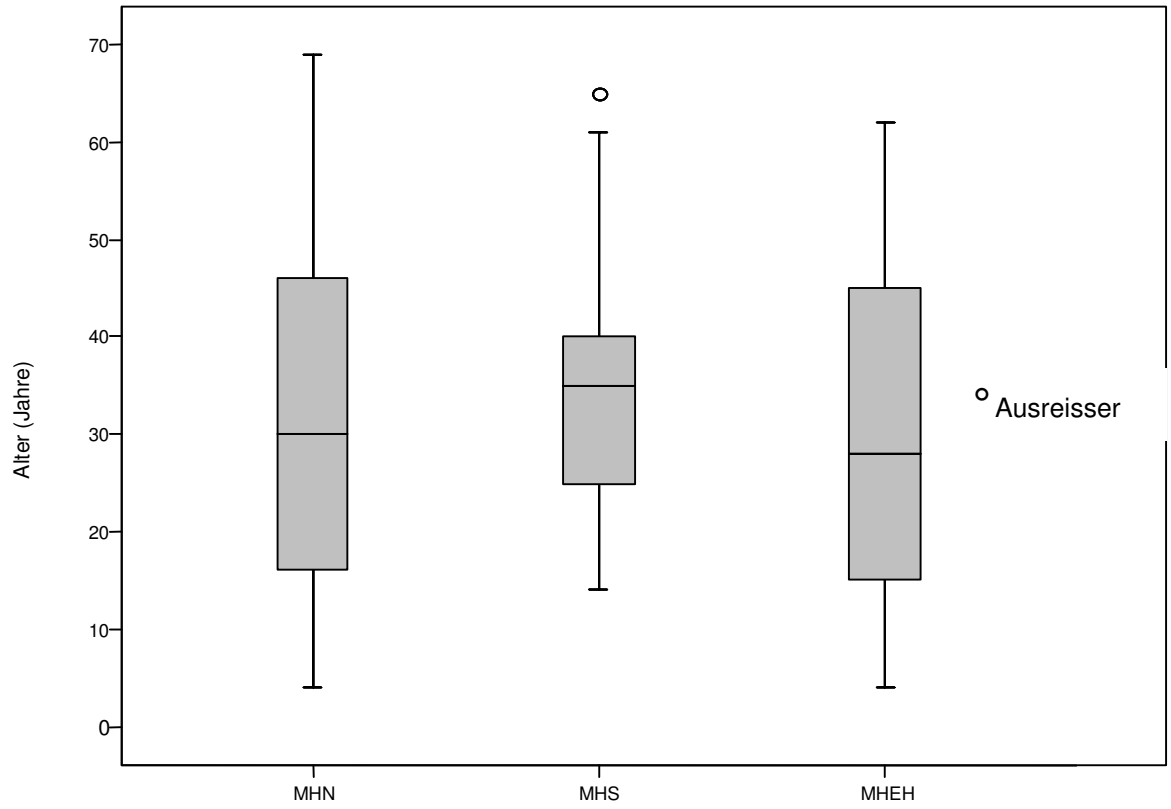

Abbildung 18: Alter (Jahren) nach Diagnosegruppe bei Verwendung beider Triggersubstanzen (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Tabelle 26: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom Lebensalter abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
Alter	MHN	MHS	0,008
	MHN	MHEH	0,452
	MHS	MHEH	0,011

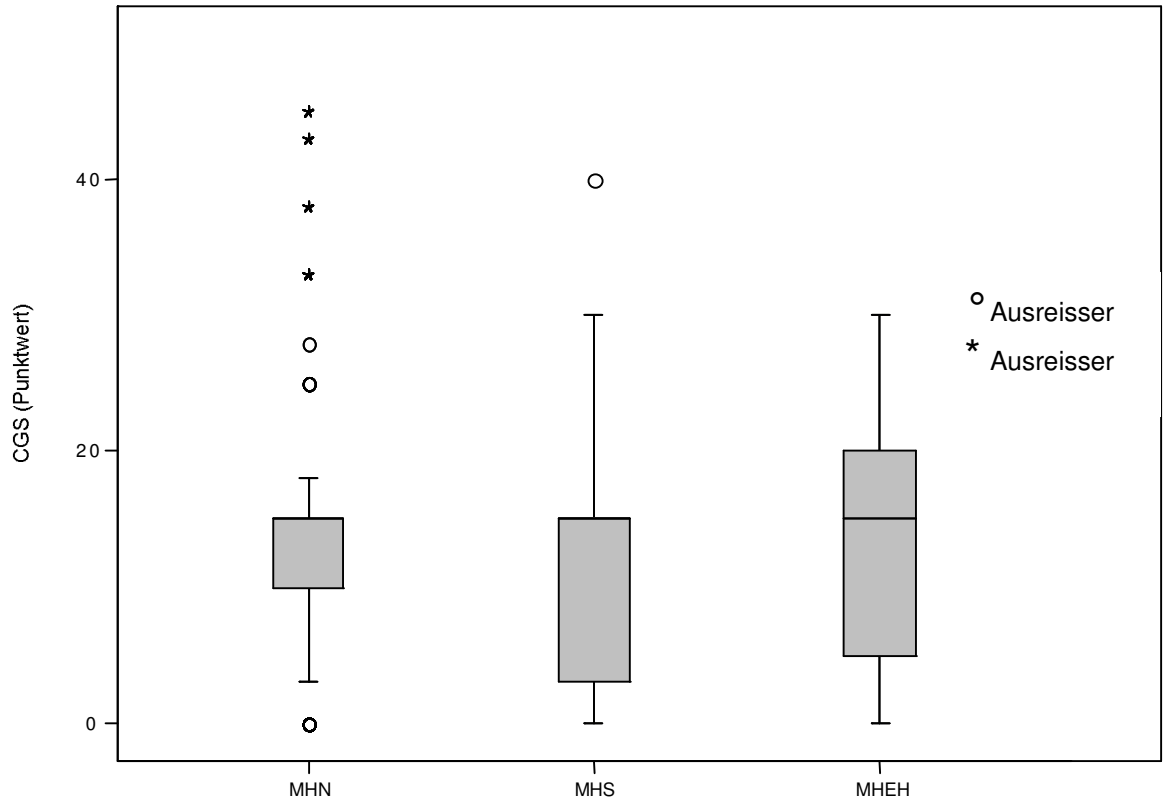

Abbildung 19: CGS (Punktwert) nach Diagnosegruppe bei Verwendung beider Triggersubstanzen (Mediane und Quartile dargestellt als Boxplot).

Tabelle 27: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom Punktwert der CGS abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
CGS	MHN	MHS	0,417
	MHN	MHEH	0,073
	MHS	MHEH	0,386

Tabelle 28: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom Geschlecht abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
Geschlecht	MHN	MHS	0,013
	MHN	MHEH	0,076
	MHS	MHEH	0,563

Tabelle 29: *p*-Werte des Mann-Whitney-Tests zum Überprüfen der Hypothese, dass bei Verwendung beider Triggersubstanzen die Diagnosegruppe (MHS, MHN oder MHEH) vom Auftreten einer Myopathie abhängt. Signifikante Werte sind farblich hervorgehoben.

Prognostischer Faktor	Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	p-Wert
Auftreten einer Myopathie	MHN	MHS	0,862
	MHN	MHEH	0,075
	MHS	MHEH	0,120

4. Diskussion

4.1. Darstellung studienrelevanter Voruntersuchungen

Bei der Malignen Hyperthermie handelt es sich um eine hypermetabole Stoffwechselentgleisung der Skelettmuskelzellen, die bei prädisponierten Personen durch volatile Anästhetika, depolarisierende Muskelrelaxantien und das in einigen Medikamenten als Konservierungsmittel verwendete 4-CmC ausgelöst werden kann. Die Pathophysiologie der Malignen Hyperthermie ist noch nicht in allen Einzelheiten bekannt, ist jedoch mit diversen Mutationen am RYR-1-Rezeptor assoziiert (Tilgen et al. 2001).
Der gegenwärtige „Goldstandard“ der präoperativen Identifizierung von MH-disponierten Patienten ist der in-vitro-Kontrakturtest (IVKT) mit Halothan und Koffein, der in Deutschland nach dem standardisierten Protokoll der European Malignant Hyperthermia Group durchgeführt wird und bei dem pathologische Veränderungen des Kontrakturverhaltens festgestellt werden können (Ørding et al. 1997). Dieses Untersuchungsverfahren ist zwar durch eine hohe Sensitivität und Spezifität gekennzeichnet, es bleibt aber weiterhin eines der wesentlichen Ziele der Forschung auf dem Gebiet der MH, die Diagnostik weiter zu verbessern und damit die Sicherheit der Patienten zu erhöhen. Hierzu wurden in den letzten Jahren eine Vielzahl von in-vivo und in-vitro-Untersuchungen durchgeführt mit dem Ziel ein kostengünstiges, nicht-invasives Screening-Verfahren zu entwickeln.

Die Clinical Grading Scale (CGS) nach Larach et al. (1994) ist ein Verfahren zur retrospektiven Evaluierung von Maligne Hyperthermie Verdachtsfällen. Da viele klinische Symptome der MH-Episode unspezifisch sind, soll die CGS eine Hilfe zur Einschätzung der qualitativen Wahrscheinlichkeit eines MH-Verdachtsfalles darstellen (von Richthofen et al. 1998). Es handelt sich um ein non-invasives Verfahren, bei dem die Punktwerte verschiedener klinischer Diagnosen, wie z.B. Muskelrigidität, respiratorische Azidose und kardiale Beteiligung unter Berücksichtigung der Familiengeschichte eine Gruppeneinteilung zuließen (siehe Kapitel Material und Methoden, Tabelle 4 und 5). 1998 wurde bereits postuliert (Richthofen von et al. 1998), dass die Skala keine Aussage über die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer MH zulässt. In einer damals durchgeführten

Studie an 92 Patienten, bei denen zusätzlich zum IVCT eine Evaluation mittels CGS stattfand, erreichte der größte Teil der Patienten (72 Prozent) zwischen 10 und 34 Punkten. Dies entspricht analog zur Einteilung nach Larach den Gruppen drei und vier, also einer unwahrscheinlichen bis wahrscheinlichen MH-Disposition. Einer der Patienten, die laut CGS eine Einstufung in die Gruppe eins, bei der die Entwicklung einer MH fast ausgeschlossen ist, wurde im IVKT MHS getestet, andererseits wurde kein Patient mit Einstufung in die Gruppe sechs im IVKT MHN getestet. Es wurde festgestellt, dass der CGS nur sehr ungenau mit dem IVKT korreliert. Rund ein Drittel der Parameter der Skala beruhen nur auf der Einschätzung des Anästhesisten, damit sind Fehleinschätzungen in beide Richtungen möglich (Richthofen von et al. 1998). Des Weiteren muss für die korrekte Anwendung des CGS eine lückenlose Dokumentation vorliegen, da ansonsten einzelne Parameter nicht bewertet werden können. Die CGS wurde als klinisch nicht einsetzbar deklariert und konnte den IVKT nicht ersetzen. Auch in den Tests dieser Studie wurde zusätzlich zum IVKT eine Evaluation mittels CGS vorgenommen, auch hier zeigte sich, dass die CGS eine nur sehr ungenaue Einschätzung des MH-Risikos möglich macht.

Es wurde festgestellt, dass die individuellen Ruhewerte der Serumkreatinkinase bei Patienten mit MH-Disposition erhöht sind (Isaacs u. Barlow 1970). Es wurde als wichtig erachtet, dass die Blutabnahme zur CK-Bestimmung am hängenden Arm unter Verzicht auf Venenstauung stattfindet, und dass extreme körperliche Anstrengung, CK-erhöhende Medikamente wie Antibiotika und Statine sowie intramuskuläre Injektionen in den vorangegangenen Tagen anamnestisch ausgeschlossen werden. Die CK-Bestimmung wurde erstmals 1970 von Isaacs und Barlow als Screening-Methode empfohlen. Zahlreiche folgende Untersuchungen bestätigten zwar einerseits, dass bei MH-positiven Patientenkollektiven die CK-Mittelwerte erhöht sind, dass aber andererseits die häufigen Befundüberlappungen mit CK-Werten MH-negativer Patienten keine Trennung zwischen den Gruppen zulassen (Isaacs u. Barlow 1970). Mauritz et al. veröffentlichten 1988 eine Studie mit 158 Patienten, bei denen verschiedene diagnostische Methoden der MH verglichen wurden. Die mittleren CK-Serumwerte betrugen in der MHS-Gruppe 108 ± 74 mU/ml, in der MHE-Gruppe 74 ± 67 mU/ml und in der MHN-Gruppe 54 ± 58 mU/ml. Es ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen MHS- und MHN-Gruppe. Doch auch hier wurden Überlappungen der Ergebnisse von MH-negativen und –positiven

Patienten festgestellt. 73,6 % der MHS-Patienten, 53 % der MHE-Patienten und 22 % der MHN-Patienten wiesen erhöhte CK-Werte auf. So lassen trotz der errechneten Signifikanz die Befundüberschneidungen keine Trennung zwischen den Gruppen zu. Es besteht für die CK-Bestimmung keine diagnostische Bedeutung (Mauritz et al. 1988).

Ferner wurde in den achtziger Jahren von Solomons et al. (Solomons u. Masson 1984) ein Thrombozytenmodell zur Diagnostik der MH vorgestellt. In einer damals durchgeführten Studie fanden sich bei MHS-Patienten und klinisch positiven MH-Patienten im Vergleich zu Kontrollpatienten eine signifikante Reduktion des Nukleotidpools (AMP, ADP, ATP, Hypoxanthin). Die Autoren sprachen dem Test damals einen hohen Grad an Spezifität und Reproduzierbarkeit zu. Schon kurze Zeit später wurde die Reproduzierbarkeit des Tests von Britt und Scott (Britt u. Scott 1986) in Frage gestellt, da sie in eigenen Studien keine signifikanten Unterschiede zwischen MH-positiv und MH-negativ getesteten Patienten im Nukleotidpool Halothan-exponierter Thrombozyten finden konnten. In den folgenden Jahren bemühte man sich um eine Optimierung der Methodik. Aufbauend auf diesen Untersuchungen wurde an der medizinischen Akademie in Erfurt versucht, das von Solomons et al. beschriebene Versuchsprotokoll weiterzuentwickeln, in der Hoffnung ein verlässliches nicht-invasives Screening verfahren zur MH-Diagnostik zu finden (Hofmann et al. 1986; Hofmann 1989). Jedoch erfüllte keine der bisher vorgelegten Untersuchungen die Kriterien eines diagnostischen Testes (Hartung u. Preis 1991).

In den späten 1970er und frühen 1980er Jahren zeigten Studien und Fallberichte mit sehr kleinen Kollektiven, die keine statistische Auswertung erlaubten, dass Patienten mit MH-Disposition und deren Angehörige eine hohe Inzidenz von unspezifischen myopathischen Veränderungen aufwiesen (Gullotta u. Spieß-Kiefer 1983). Spätere Untersuchungen mit weitaus größeren Fallzahlen, die den IVKT als diagnostisches Mittel einsetzten, stellten diese anfänglich optimistisch beurteilte Methode in Frage. Die von Mauritz et al. 1988 veröffentlichte Studie mit 158 Patienten, bei denen verschiedene diagnostische Methoden der MH verglichen wurden, konnte keine signifikanten Unterschiede der histologischen Befunde zwischen den Gruppen MHS, MHE und MHN feststellen. 62% der untersuchten Muskelproben wiesen keinerlei pathologischen Veränderungen auf, 33% wiesen unspezifische und nur 5%

spezifische Befunde im Sinne einer Myopathie auf und treffen ohne signifikante Unterschiede alle drei Diagnosegruppen (Mauritz et al. 1986). Andere Studien hingegen ergaben histologische Unterschiede zwischen den diagnostischen Gruppen und postulierten eine erhöhte Disposition zur Malignen Hyperthermie bei Vorliegen einer neuromuskulären Erkrankung (Mortier u. Breucking 1993; Brownell 1988). In einer von Wappler et al. 1998 vorgelegten Studie an 29 Patienten wurden 69% der Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen nach den Kriterien der EMHG als MH-disponiert klassifiziert. Alle Patienten mit Central Core Disease wurden im IVKT als MHS diagnostiziert. Bei Patienten mit Muskeldystrophien wurden 57% positive IVKT-Resultate verzeichnet. Auch bei Patienten mit Myotonien bzw. Paramyotonien konnte in 80% der Fälle ein MH-Veranlagung gezeigt werden. Diese Ergebnisse weisen auf ein erhöhtes Narkoserisiko bei Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen hin (Wappler et al. 1998). Die 1998 von Von Richthofen et al. veröffentlichte Studie ergab eine erhöhte Rate an unspezifischen myopathischen Veränderungen sowie Veränderungen der Nukleolen und myofibrilläre Nekrosen bei MH-positiv getesteten Patienten. Ein spezifisches histologisches Bild der Malignen Hyperthermie besteht jedoch nicht (Richthofen von et al. 1998; von Breunig 2004).

Mit der Entdeckung des Gen-Clusters auf dem Chromosom 19 in der Region q11.2-13.2 zu Beginn der 1990er Jahre, schien der Weg für molekulargenetische Untersuchungen vorgezeichnet (McCarthy et al. 1990). Der Vorteil der genetischen Diagnostik gegenüber der üblichen Diagnostik mittels IVKT, besteht darin, dass die Diagnose über eine Blutentnahme gesichert werden kann und keine Muskelbiopsie mehr nötig ist. In der Folge konnte bei mehreren Familien die Kopplung der MH-Disposition, diagnostiziert mittels IVKT, mit Markern in dieser Region nachgewiesen werden (McCarthy et al 1990). Etwa zur gleichen Zeit kartierte man das Gen für den Ca^{2+}-freisetzenden Ca^{2+}-Kanal, den Ryanodin-Rezeptor (RYR-1) in dieselbe Chromosomenregion und die Beziehung einiger MH-Familien zum RYR-1-Lokus konnte belegt werden (MacLennan et al. 1990). Im Folgenden konnte bei einigen Familien die Lokalisation der MH-Anlage auf der RYR-1-Region auf Chromosom 19 mit hoher Sicherheit ausgeschlossen werden. Bislang wurde für über 30 Genloci ein Zusammenhang mit einer Prädisposition zur MH beschrieben, somit ist die MH eine genetisch heterogene Erkrankung (Roewer u. Hartung 1996). Die bisher beschriebenen Mutationen sind nur bei etwa 50% der MH-Familien nachweisbar, so

dass davon ausgegangen werden muss, dass längst nicht alle Mutationen gefunden wurden. Die indirekte Genotypanalyse ist durch das Vorliegen der genetischen Heterogenität der MH äußerst erschwert. Sie kann nur herangezogen werden, wenn es sich um Mitglieder einer Familie handelt, für die eine Kopplung an einen bestimmten Genlocus bekannt ist. Allerdings ist hierfür die Untersuchung von Muskelbiopsien zahlreicher Familienmitglieder im IVKT und eine parallele Untersuchung von genetischem Material mit Genmarkern erforderlich. Erst dann kann für zusätzliche Familienmitglieder, z.B. für Kinder, denen man keine Muskelbiopsie zumuten möchte, eine Risikoanalyse allein durch eine Kopplungsanalyse vorgenommen werden. Eine direkte Genotypanalyse bei einzelnen Individuen für die am häufigsten auftretenden Punktmutationen wäre zwar durchführbar, aber eine sichere Aussage bezüglich des MH-Risikos ist nicht zu treffen, da es sich bei negativem Testergebnis auch um eine sehr selten auftretende Mutation handeln könnte (Lehmann-Horn u. Deufel 1993). Somit ergibt sich, dass genetische Koppungsuntersuchungen und molekulargenetische Studien den IVKT bis heute nicht ersetzen können.

Im Jahre 2002 wurde die Möglichkeit einer geringer-invasiven MH-Diagnostik publiziert (Anetseder et al. 2002). Der Studie liegt die These zugrunde, dass mittels des applizierten Koffeins eine lokale MH-Reaktion ausgelöst und deren Eintreten anhand der Analyse des Laktatwertes mittels Mikrodialyse des Laktates aus dem Skelettmuskel diagnostiziert werden kann. Es wurde sowohl betroffenen MH-Patienten, als auch einer Kontrollgruppe lokal kontinuierlich Koffein in den Oberschenkelmuskel appliziert. Dies führte bei Patienten mit MH-Disposition zu einer Freisetzung von Kalzium im Muskel, zu einer Steigerung der Stoffwechselvorgänge und damit verbunden zu einem signifikanten Anstieg des Kohlendioxidwertes, im Vergleich zu gesunden Versuchpersonen (Anetseder et al. 2002). In weiteren Versuchen wurde das Meß- und Stimulationssystem standardisiert und die Medikamentenapplikation auf eine Bolusinjektion umgestellt. Damit sollte die diagnostische Differenzierung zwischen MHN, MHS und MHE erneut überprüft werden. Es stellte sich heraus, dass bei MHS-Probanden sowohl Koffein als auch Halothan die intramuskulären Laktat- und pCO_2-Werte erhöhen, dass es aber auch bei MHN-Probanden zu einer Erhöhung des Laktates kam. Es wurde eine Sensitivität von 100 % ermittelt, die allerdings einer eingeschränkten Spezifität von 60%

gegenüber steht. Eine weitere Modifikation des Meß- und Stimulationsystems ist notwendig und Gegenstand weiterer Untersuchungen. Derzeit erlaubt diese Methodik jedoch keine valide MH-Diagnostik.

Anfang der achtziger Jahre fanden Gulotta und Spieß-Kiefer in Elektromyogrammen von MH-verdächtigen Individuen unspezifische Hinweise auf eine Myopathie. Bei einem Teil dieser Individuen zeigten sich zusätzlich auch histopathologische Skelettmuskelveränderungen (Gulotta u. Spieß-Kiefer 1983). In der von Mauritz 1988 veröffentlichen Studie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Elektromyogrammen von MHS- und MHN-Patienten. Das EMG gilt seitdem als unbrauchbar zur primären MH-Diagnostik und liefert des Weiteren keine verlässlichen Zusatzhinweise.

Im Jahre 1998 veröffentlichten Etchrivi et al. einen direkten Vergleich mechanischer Parameter während der isometrischen Kontraktions- und Relaxationsphasen bei MHN- und MHS-Patienten im IVKT. Zuvor waren bereits etliche grundlegende Unterschiede im Kontraktionszyklus von MH-positiven und MH-negativen Individuen beschrieben worden, aber Kontaktionsparameter-vergleichende Studien wurden bis zu diesem Zeitpunkt nicht veröffentlicht. Bei 12 von 27 Patienten wurde die Diagnose MHS gestellt, 15 Patienten wurden der Gruppe MHN zugeordnet. Es sollte aufgezeigt werden, welchen Einfluß die MH bedingten Regulationsveränderungen im SR auf den Zeitablauf des Muskelkontraktionszyklus haben. Es sollten die zeitlichen Beziehungen zwischen isometrischer Kontraktion und Relaxation in der MHN- und MHS-Gruppe untersucht werden. Hierzu wurden die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung, die maximale Spannung, sowie die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen Relaxation untersucht. Mit dieser Studie konnte aufgezeigt werden, dass MHN- und MHS-Muskelbündel verschieden auf die Zufuhr von Halothan reagieren. Ohne Zufuhr von Halothan waren bei den Messwerten der maximalen Spannung und der Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung keine signifikanten Unterschiede zu erkennen.
Unerwartet stellte sich heraus, dass die Effekte von Halothan während der Kontraktionsphasen auf den MHN-Muskel höher sind als auf den MHS-Muskel und umgekehrt, dass die Effekte von Halothan während der Relaxationsphasen auf den MHS-Muskel höher sind als auf den MHN-Muskel. Im Detail zeigte sich unter

Halothanzufuhr im MHN-Muskel ein Anstieg der maximalen Spannung von 40%, die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen Relaxation zeigte keine signifikanten Unterschiede. Im MHS-Muskel zeigte sich unter Halothanzufuhr ein Anstieg der maximalen Spannung von nur 10%, jedoch verlängerte sich die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen Relaxation signifikant. Der Mechanismus hierfür ist nicht vollständig geklärt (Etchrivi et al. 1998).

Es wurden also eine Vielzahl von Untersuchungen durchgeführt, um den gegenwärtigen „Goldstandard“ der präoperativen Identifizierung, den invasiven IVKT durch einfachere, nicht-invasive und kostengünstigere Verfahren zu ersetzen. Es konnte bislang allerdings keine sichere diagnostische Alternative gefunden werden. Aus der Summe dieser genannten Forschungsergebnisse ergeben sich jedoch diagnostische Ansatzpunkte, von denen einige in der vorliegenden Studie genauer untersucht werden sollten.

In der vorliegenden Untersuchung wurden in Anlehnung an die Ergebnisse der von Etchrivi et al. 1998 veröffentlichten Studie mechanische Parameter während der isometrischen Kontraktions- und Relaxationsphasen bei MHN- und MHS-Patienten im IVKT verglichen und in Bezug zur Clinical Grading Scale und weiteren Einflußgrößen, wie Alter, BMI, Geschlecht und präoperativ bestimmtem CK-Wert gesetzt.

4.2 Interpretation der Studienergebnisse

Insgesamt 218 Personen unterzogen sich einem IVKT. Die Indikation zur MH-Diagnostik war gegeben durch einen MH-Verdacht in der Eigenanamnese, einen MH-Verdacht in der Familienanamnese, eine persistierende Erhöhung der Creatinphosphokinase, einen unklaren Myopathieverdacht oder eine bestehende Myopathie, sowie ein Malignes Neuroleptisches Syndrom in der Eigenanamnese. Hier wird deutlich, dass die Vorstellung in einem MH-Zentrum und die Indikationsstellung zur MH-Diagnostik von der subjektiven Einschätzung und der prompten Reaktion verschiedener behandelnder Ärzte abhängig ist. In unseren Auswertungen waren 129 Personen der Gruppe MHN zuzuordnen. 57 Personen gehören in die MHS-Gruppe. Die Diagnose MHEH konnte bei 23 Personen, die

Diagnose der MHEC bei 9 Personen gestellt werden. Aufgrund der geringen Gruppengröße für MHEC, wird diese in der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt. Zusammengefasst stellten wir bei 32 (14,7 %) der Patienten die Diagnose MHE. Das entspricht der in der Literatur angegebenen Anzahl der in europäischen MH-Laboratorien gestellten MHE-Diagnosen von 8 bis 30 % (Gerbershagen et al. 2002).

Unser Testkollektiv bestand aus 66 Personen mit potentiellem MH-Ereignis in der Vergangenheit, sowie 149 Angehörigen dieser sogenannten Probanden. Bei allen mittels in-vitro-Kontrakturtest untersuchten Muskelpräparate wurden parallel sowohl die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen und maximalen Spannung als auch die Zeit bis zum Erreichen der maximalen und halbmaximalen Relaxation gemessen. Die Muskelamplituden während der Kontraktions- und Relaxationsphasen unter Zufuhr von Halothan und Koffein wurden ebenfalls bestimmt. Es wurde untersucht, ob einer der oben genannten Parameter prädiktiv für die MH-Diagnose ist. Ausgewertet haben wir die Ergebnisse an sieben verschiedenen Zeitpunkten bei verschiedenen Konzentrationen von Koffein und Halothan.

Beim In-vitro-Kontrakturtest mit Koffein sind innerhalb der Diagnosegruppen ansteigende Werte bis zum Erreichen der maximalen Spannung zu verzeichnen. Auch die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation nimmt innerhalb der Diagnosegruppen zu. Dies ist vermutlich durch die verlängerte Öffnung der Kalziumkanäle unter Koffeinzufuhr zu begründen. Es zeigte sich jedoch, dass die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung unabhängig von der jeweiligen Diagnosegruppe ist. Zwischen den Diagnosen MHN, MHS und MHE konnten wir nach der Applikation von Koffein keine signifikanten Differenzen in der Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung nachweisen. Betrachtet man allerdings die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation, zeigen sich ab einer Koffeinkonzentration von 2,0 mM signifikante Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen. In den niedrigen Koffeinkonzentrationen bis 1,5 mM läßt sich im IVKT somit keine eindeutige Einteilung in die diagnostischen Gruppen vornehmen. Zur Verbesserung der Diagnostikschärfe ist eine Mindestkoffeinkonzentration von 2,0 mM ist nötig, um anhand der Zeiten bis zum Erreichen der maximalen Spannung eine Einteilung in die jeweilige Diagnosegruppe vornehmen zu können.

Beim In-vitro-Kontrakturtest mit Halothan zeigten sich ebenfalls ansteigende Werte innerhalb der Diagnosegruppen bis zum Erreichen der maximalen Spannung und der

maximalen Relaxation. Vergleicht man die einzelnen Diagnosegruppen, zeigen sich keine signifikanten Unterschiede bis zum Erreichen der maximalen Spannung. Es ist aber für alle Diagnosegruppen vergleichbar, eine signifikante Verlängerung der Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation ab einer Halothankonzentration von 0,44 mM zu erkennen.

Stellt man die Muskelamplitude der einzelnen Diagnosegruppen bei ansteigender Koffeinkonzentration gegenüber, fällt auf, dass für die Diagnosegruppen MHN und MHEH ein kontinuierlicher Anstieg der Amplituden zu verzeichnen ist. In der MHS-Gruppe jedoch steigt die Amplitude bis zu einer Koffeinkonzentration von 1,5 mM zunächst an und fällt danach auf den Ausgangswert zurück. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ergeben sich jedoch erst ab einer Koffeinkonzentration von 3,0 mM. Bei ansteigender Halothankonzentration zeigt sich ein ähnlicher Verlauf der Muskelamplituden. Hier fällt jedoch bei steigender Stoffkonzentration (0,44 mM) nicht nur die Amplitude der MHS-Gruppe, sondern auch die Amplitude der MHEH-Gruppe kontinuierlich ab. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Diagnosegruppen sind allerdings nicht zu verzeichnen. Der Mechanismus hierfür ist nicht ausreichend geklärt. Zu postulieren ist eine stetige Zunahme der aus dem SR freigesetzten myoplasmatischen Kalziumkonzentration, bedingt durch die kumulativen Halothan- beziehungsweise Koffeinkonzentrationen. Die ATP-abhängige Kalziumpumpe (SERCA) des SR, die für die Rückaufnahme der Kalziumionen in das SR verantwortlich ist, unterliegt einer Sättigungskinetik. Ist diese erreicht, folgt ein verstärkter Anstieg der myoplasmatischen Kalziumkonzentration. Die Aktin-Myosin-Interaktion kann nicht gänzlich gelöst werden, welches eine Kontraktur und eine verzögerte Relaxation bedingt. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die MHS-Gruppe sich für beide Substanzen durch eine Verlängerung der Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation auszeichnet. Allerdings traten für beide Substanzen und jeder dieser Konzentrationen Überlappungen zwischen MHN und MHS auf, so dass die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation diagnostisch nicht zu verwerten ist.

Des Weiteren fiel die Einteilung in die diagnostischen Gruppen MHEH und MHEC auf. In unseren Ergebnissen sind mehr als doppelt so viele (9 MHEC-Patienten vs. 23 MHEH-Patienten) Patienten der Diagnose MHEH zuzuordnen. Dies kann dadurch bedingt sein, dass der Halothan-Test sensitiver ist als der IVKT mit Koffein, jedoch

weniger spezifisch (Ørding et al. 1997). Demnach könnten mehr falsch positive Ergebnisse in der MHEH-Gruppe zu verzeichnen sein.

Vor der Biopsieentnahme wurden bei allen Patienten eine Eigen- und Familienanamnese erhoben und die Evaluierung anhand der Clinical Grading Scale nach Larach et al. (1994) durchgeführt. Es erreichten 41 (19,1 %) der getesteten Patienten 0 Punkte. Somit gilt bei 19,1 % der Fälle die Diagnose einer Malignen Hyperthermie als fast ausgeschlossen. Nach den Indikatoren der CGS sollte sich in diesem Testkollektiv somit kein Punktwert 0 ergeben, da für die Gruppe der Angehörigen eine positive MH-Familiengeschichte 5-15 Punkte zählt und für die Gruppe der Probanden der klinische Indikator für das potentielle MH-Ereignis in der Vergangenheit in die Punktwertung eingeht. 0 Punkte sind im Grunde nur denkbar, wenn man die Möglichkeit der schlechten Dokumentation oder Fehleinschätzungen des MH-Verdachtsfalles in der Vergangenheit der Gruppe der Probanden berücksichtigt. Bei 124 Personen (57,7 %) wurden 15 Punkte vergeben. Dieser Punktwert ist vermutlich durch die große Gruppe der Personen (n=149) mit MH-positiven Familienangehörigen bedingt.

Auffällig ist auch, dass 76,6 % der Fälle auf den Punktwerten 0 und 15 lagen. Die übrigen Punktwerte sind kaum belegt. Hier scheint die Scala das MH-Risiko nicht ausreichend zu differenzieren.

Insgesamt betrachtet sind die Punktwerte 0 – 19, also ein eher unwahrscheinliches bis fast ausgeschlossenes MH-Risiko, von 184 (85,6 %) der Personen belegt, wir erhielten jedoch mittels IVKT nur 129 (59,2 %) MHN-Diagnosen. Es ist also anzunehmen, dass der mit der CGS erreichte MH-Rang nur unzureichend mit der MH-Diagnose korreliert. Dies wird dadurch unterstützt, dass 134 Personen (62,3 %) mittels CGS dem MH-Rang 3 und 27 Personen (12,6 %) dem MH-Ring 4 zuzuordnen sind. Den Rängen 3 und 4 mit der geringsten diagnostischen Trennschärfe (MH-Risiko eher unwahrscheinlich bis eher wahrscheinlich) sind insgesamt 161 (74,9 %) Personen zuzuordnen. Eine genaue Diskriminierung wäre jedoch besonders in diesem Bereich erforderlich. Dies deckt sich in etwa mit den Ergebnissen der 1998 von von Richthofen veröffentlichten Studie. Auch hier erhielt ein Großteil der Patienten die Punkte 10 – 19, was durch die MH-positiven Familienangehörigen begründet wurde (von Richthofen et al. 1998). Somit eignet sich die CGS nicht zur präoperativen Einschätzung von Patienten mit MH-Verdacht.

Im Rahmen unserer Untersuchungen wurden die den Patienten entnommenen Muskelfaszikel nicht nur einem IVKT unterzogen, sondern bei Verdacht auf das Vorhandensein einer myopathischen Veränderung auch eine histologische Untersuchung vorgenommen. Myopathien sind laut Literatur überzufällig häufig mit der Disposition zur MH assoziiert (Wappler 2001). Hier fällt zunächst auf, dass bei 53,2 % der Fälle keine histologische Untersuchung vorgenommen wurde. Wie beschrieben fehlte hier der eindeutige klinische Verdacht auf eine myopathische Veränderung. Dieses Urteil basiert auf der subjektiven Betrachtung des Untersuchers, somit sind falsch negative Ergebnisse nicht auszuschließen. Bei 46 Patienten (21,1 %) wurden keine myopathischen Veränderungen festgestellt, bei 53 Patienten (24,3 %) zeigten sich histologische Veränderungen der Muskelzelle. Nur in zwei Fällen zeigten sich Myopathien, bei 51 Patienten handelte es sich um geringgradige Veränderungen wie Hypertrophien oder Atrophien. Auch hier ist in erster Linie die subjektive Betrachtung des Untersuchers, die zur Diagnosestellung führt, zu diskutieren. Es existieren fließende histologische Übergänge, eine genaue Einteilung ist in einigen Fällen schwer vorzunehmen. Das unterstützt die These der diagnostischen Unzulänglichkeit der Methode (Mauritz et al. 1988). Hier zeigten 63 % der lichtmikroskopisch untersuchten Muskelproben keinerlei pathologische Veränderungen, 33 % wiesen unspezifische und nur 5 % der untersuchten Proben wiesen spezifische Veränderungen im Sinne einer Myopathie auf.

Für die sich signifikant unterscheidenden Relaxationsparameter überprüften wir weiterhin, ob Parameter wie Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, BMI und der prä- und postoperativ bestimmte CK-Wert in einem direkten Zusammenhang zur Diagnose MHN, MHS und MHEH stehen. Hierzu haben wir unsere Ergebnisse nochmals auf potentielle prognostische Faktoren zum Erreichen der Ereignisse (maximale Spannung und maximale Relaxation) untersucht. Hierbei wird deutlich, dass das Alter, das Geschlecht und der BMI nicht mitbestimmend für die Zeit bis zum Erreichen des Ereignisses sind. Auch der Wert der präoperativ bestimmten Kreatinkinase ist hierfür nicht relevant. Signifikante Werte sind auch hier nur im direkten Vergleich zwischen den Gruppen MHN und MHS zu finden. Es wurde nochmals überprüft, ob sich bei den oben genannten Parametern Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen zeigen. Signifikante Unterschiede im direkten Vergleich zwischen den Diagnosegruppen zeigten sich bei den Parametern wie Größe, Gewicht, sowie dem prä- und postoperativ bestimmten CK-Wert. Bei dem

Auftreten einer Myopathie, dem Geschlecht, dem Lebensalter und dem Punktwert der CGS sind die Unterschiede nicht signifikant. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits 1988 von Mauritz et al. publiziert. Auch hier zeigten sich zwischen den diagnostischen Gruppen signifikante Unterschiede der mittleren CK-Serumwerte. Eine Korrelation mit den Ergebnissen des In-vitro-Kontrakturtests war jedoch auch hier nicht nachweisbar. Trotz der errechneten Signifikanz der Ergebnisse ließen die Befundüberschneidungen keine scharfe Trennung zwischen den diagnostischen Gruppen zu (Mauritz et al. 1988). Somit ist auch mit den Ergebnissen unserer Untersuchungen der CK-Bestimmung kein größerer Wert zuzuschreiben, als die Dringlichkeit der Durchführung eines IVKT abzuschätzen. Damit ist die diagnostische Gruppe der einzige prognostische Faktor für die Zeit zum Erreichen des bestimmten Ereignisses.

Konsequenzen aus den vorangegangenen Betrachtungen werden in der folgenden Zusammenfassung als Ergebnis der Untersuchungen in dieser Studie benannt.

5. Zusammenfassung

Einige in den letzten Jahren durchgeführten Studien prüfen die Möglichkeit, ob sich die Parameter des isometrischen Kontraktionszyklus von MHN zu Präparaten von MHS, MHEH und MHEC im IVKT unterscheiden und sich somit zusätzlich zu den bereits bestehenden Testkriterien der MH-Diagnostik weitere differenzierende Parameter finden lassen.

In der vorliegenden Studie wurde bei 88 weiblichen und 127 männlichen Patienten eine Muskelbiopsie und darauffolgend in-vitro-Kontrakturtests gemäß dem Protokoll der EMHG durchgeführt. Bei allen Patienten wurden sowohl die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Spannung als auch die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation gemessen und verglichen. Die Muskelamplitude während der Kontraktions- und Relaxationsphasen unter Zufuhr von Halothan und Koffein wurden ebenfalls bestimmt. Des Weiteren wurde untersucht, ob Parameter wie Alter, Geschlecht, BMI, der Punktwert der Clinical Grading Scale, und der Wert der vor dem Test abgenommenen CK in einem direkten Zusammenhang zur Diagnose MHN, MHS und MHEC stehen.

Hierbei wird deutlich, dass sowohl unter der Zufuhr von Halothan als auch bei Koffein das Alter, das Geschlecht, die präoperativ abgenommene Kreatinkinase und der BMI nicht relevant für die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Relaxation und Kontraktion sind. Signifikante Werte sind hier nur im direkten Vergleich zwischen den Gruppen MHN und MHS zu finden und damit ist die diagnostische Gruppe der einzige prognostische Faktor für die Zeit zum Erreichen des bestimmten Ereignisses.

Des weiteren wird deutlich, dass sich keine relavanten Unterschiede zwischen den einzelnen durch Halothan und Koffein beeinflussten Spannungsparametern darstellen lassen. Bei der Gegenüberstellung der Zeiten bis zum Erreichen der maximalen Spannung und der maximalen Relaxation bei verschiedenen Konzentrationen der Triggersubstanzen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Auffällig ist jedoch, dass innerhalb der diagnostischen Gruppe mit steigender Konzentration der jeweils zugeführten Triggersubstanz ansteigende Werte für die Zeiten bis zum Erreichen der maximalen Spannung und Relaxation zu verzeichnen sind. Allerdings traten für beide Substanzen und jeder dieser Konzentrationen Überlappungen zwischen MHN und MHS auf, so dass die Zeit bis zum Erreichen der

maximalen Relaxation diagnostisch nicht zu verwerten ist. Aufgrund dieser Erkenntnisse besteht somit zunächst keine Möglichkeit, die Spezifität des IVKT noch weiter zu verbessern.

Ausblick

Die MH gehört zu den lebensbedrohlichsten Komplikationen in der Anästhesie. Um die Zahl der MH-Krisen weiter zu senken, ist die exakte Kenntnis des Pathomechanismus und aller Triggersubstanzen, sowie eine sorgfältige präoperative Evaluierung unverzichtbar. Es muß weiter Gegenstand der Forschung sein, eine verbesserte Standarddiagnostik zu ermöglichen, um das Risiko der Patienten weiter zu senken. Wünschenswert wäre hierzu die Entwicklung eines aussagekräftigen, nicht-invasiven und preiswerten Screening-Tests.

6. Literatur

1. **Anetseder** M, Hager M, Müller CR, Roewer N: Diagnosis of the susceptibility to malignant hyperthermia by use of a metabolic test. Lancet 2002; 359: 1579-80
2. **Berman** MC, Harrison GG, Dutoit P, Bull JE, Keuch JE: Halothane induced hyperpyrexia in landrace pigs. South African Medical Journal 1969; 43: 545-6
3. **Breunig** von F, Wappler F, Hagel C, Richthofen von V, Fiege M, Weißhorn R, Stavrou D, Schulte am Esch J: Histomorphological examination of sceletal muscle preparations does not differentiate between malignant hyperthermia susceptible and normal patients. Anesthesiology 2004; 100 (4): 789-94
4. **Britt** BA, Kalow W: Malignant Hyperthermia: A statistical review. Canadian Anaesthetics Society Journal 1970; 17: 293-315
5. **Britt** BA, Scott EA: Failure of the platelet-halothane nucleotide depletion test as a diagnostic or screening test for malignant hyperthermia. Anesthesia Analgesia 1986; 65: 171-5
6. **Britt** BA: Combined anaesthetic- and stress-induced malignant hyperthermia in two offspring of malignant hyperthermia susceptible parents. Anaesthesia Analgesia 1988; 67: 393-9
7. **Britt** BA: Hereditary and epidemiological aspects of malignant hyperthermia. In: MA Nalda Felipe, S Gottmann, HJ Khambatta (Hrsg.): Malignant Hyperthermia. Current Concepts. Normed, Bad Homburg- Madrid- Englewood 1989: 19-39
8. **Brownell** AKW: Malignant Hyperthermia. Relationship to other diseases. British Journal of Anaesthesia 1988; 60: 303-8
9. **Coronado** R, Morrisette J, Sukhareva M, Vaughan DM: Structure and funktion of ryanodine receptors. American Journal of Physiology 1994; 266: C 1485-504
10. **Denborough** MA: Malignant Hyperthermia. Lancet 1998; 352: 1131-6
11. **Denborough** MA, Lovell RRH: Anaesthetic deaths in a family. Letter. Lancet 1960; 2: 45

12. **Denborough** MA, Collins SP, Hopkinson KC: Rabdomyolysis and malignant hyperpyrexia. British Medical Journal 1984; 288: 1878

13. **Ellis** FR, Harriman DG, Keaney NP, Kyei-Mensah K, Tyrrell JH: Halothane-induced muscle contracture as a cause of hyperpyrexia. British Journal of Anaesthesia 1971; 43: 721-2

14. **Ellis** FR, The European Malignant Hyperthermia Group: A protocol of the investigation of malignant hyperpyrexia (MH) susceptibility. British Journal of Anaesthesia 1984; 56: 1267-9

15. **Ellis** KO, Bryant SH: Excitation-contraction uncoupling in sceletal muscle by dantrolene sodium. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation 1972; 274: 107-9

16. **Etchrivi** TS, Adnet PJ, Tavernier B, Diallo A, Haudecoeur G, Krivosic-Horber RM : Effects of halothane on mechanical response of sceletal muscle from malignant hyperthermia susceptible patients. Archives of Physiology and Biochemistry 1998; 106: 318-24

17. **Fill** M, Coronado R, Mickelson JR, Nilven J, Ma J, Jacobson BA, Louis CF: Abnormal ryanodine receptorchannels in malignant hyperthermia. Biophysical Journal 1990; 50: 471-5

18. **Fill** M, Stefani E, Nelson TE: Abnormal human sarcoplasmic reticulum Ca++ release channels in malignant hyperthermia skeletal muscle. Biophysical Journal 1991; 52: 1085-90

19. **Fletcher** JE, Rosenberg H, Lizzo FH: Effects of droperidol, haloperidol and ketamine on halothane, succinylcholine and caffeine contractures: implications for malignant hyperthermia. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 1989; 33: 187-92

20. **Gerbershagen** MU, Fiege M, Krause T, Agarwal K, Wappler F: Dantrolen-pharmakologische und therapeutische Aspekte. Anästhesist 2003; 52: 238-45

21. **Gerbershagen** MU, Wappler F, Fiege M, Weißhorn R, Alberts PA, Breunig von F, Schulte am Esch J: In vitro effects of 4-chloro-3-ethylphenol in sceletal muscle preparations from malignant hyperthermia susceptible and normal swine. European Journal of Anaesthesiology 2002; 19: 135-40

22. **Gibson** CL: Heat-stroke as a postoperative complication. Journal of the American Medical Association 1900; 35: 1685

23. **Gronert** GA, Mott J, Lee J: Aetiology of Malignant Hyperthermia. British Journal of Anaesthesia 1988; 60: 253-67

24. **Gullotta** F, Spieß-Kiefer C: Muskelbioptische Untersuchungen bei Maligner Hyperthermie. Anästhesie Intensivtherapie Notfallmedizin 1983; 18: 21-7

25. **Gurrera** RJ: Is neuroleptic malignant syndrome a neurogenic form of malignant hyperthermia? Clinical Neuropharmacology 2002; 25: 183-93

26. **Harrison** GG: Pale, soft exsudative pork, porcine stress syndrome and malignant hyperpyrexia – an identity. Journal of South African Veterinary Medical Association 1972; 43: 57-63

27. **Harrison** GG: Control of malignant hyperpyrexia syndrome in MHS swine by dantrolene sodium. British Journal of Anaesthesia 1975; 47: 62-5

28. **Harrison** GG: Dantrolene – dynamics and kinetics. British Journal of Anaesthesia 1988; 60: 279-86

29. **Hartung** E, Anetseder M, Olthoff D, Deutrich C, Lehmann-Horn F, Baur C, Mortier W, Tzanova I, Doetsch S, Quasthoff S, Hofmann M, Schwefler B, Jantzen JP, Wappler F, Scholz J: Die regionale Verbreitung der Veranlagung zur Malignen Hyperthermie in Deutschland: Stand 1997. Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 1998; 33: 238-43

30. **Hartung** E, Preis I, Engelhardt W, Krauspe R: Maligne-Hyperthermie-Diagnostik. Thrombozytentest versus In-vitro-Kontrakturtest. Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 1991; 26: 471-4

31. **Heffron** JJA: Malignant Hyperthermia : Biochemical aspects of an acute episode. British Journal of Anaesthesia 1988; 60: 274-8

32. **Iaizzo** PA, Johnson BA, Nagao K, Gallagher WJ: 4-chloro-m-chresol triggers malignant hyperthermia in susceptible swine at doses greatly exceeding those found in drug preparations. Anesthesiology 1999; 90: 1723-32

33. **Isaacs** H, Badenhorst M: False-negative results with muscle caffeine halothane contracture testing for malignant hyperthermia. Anesthesiology 1993; 79: 5-9

34. **Isaacs** H, Barlow MB: The genetic background to malignant hyperpyrexia revealed by serum creatinephosphokinase-estimations in asymptomatic relatives. British Journal of Anaesthesia 1970; 42: 1077-84

35. **Larach** MG: Standardisation of the caffeine halothane muscle contracture test. Anaethesia Analgesia 1989; 69: 511-5

36. **Larach** MG, Localio AR, Allen GC, Denborough MA, Ellis FR, Gronert GA, Kaplan RF, Muldoon SM, Nelson TE, Ørding H, Rosenberg H, Waud BE, Wedel DJ: A Clinical Grading Scale to predict malignant hyperthermia susceptibility. Anesthesiology 1994; 80: 771-9

37. **Lehmann-Horn** F, Deufel T: Molekulare Genetik in der Medizin: Maligne Hyperthermie. Deutsches Ärzteblatt 1993; 90: 2475-8

38. **MacLennan** DH, Duff C, Zorzato F, Fujii J, Phillips M, Korneluk R, Frodis W, Britt BA, Worton RG: Ryanodine receptor gene is a candidate for predisposition to malignant hyperthermia. Nature 1990; 343: 559-61

39. **MacLennan** DH, Phillips MS: Malignant Hyperthermia. Science 1992; 256: 789-94

40. **Mauritz** W, Sporn P, Steinbereithner K: Maligne Hyperthermie in Österreich, I. Epidemiologie und Klinik. Anästhesist 1986; 35: 639-50

41. **Mauritz** W, Hackl W, Winkler M: Malignant Hyperthermia: State of the art. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 1997; Suppl. 1: 310-2

42. **McCarthy** TV, Healy JMS, Lehane M, Heffron JJA, Deufel T, Lehmann-Horn F, Farall M, Johnson K: Localization of the malignant hyperthermia susceptibility locus to human chromosome 19q11.2-13.2. Nature 1990; 343: 562-3

43. **McCarthy**, Quane KA, Lynch PJ: Ryanodine receptor mutations in malignant hyperthermia and central core disease. Human Mutation 2000; 15: 410-7

44. **McPherson** E, Taylor CA : The genetics of malignant hyperthermia: evidence of heterogenity. American Journal of Medical Genetics 1982; 11: 273-85

45. **Melzer** W, Herrmann-Frank A, Luttgau HC:The role of Ca^{2+} ions in exitation-contraction coupling of skeletal muscle fibres. Biochimical et Biophysica Acta 1995; 1241: 59-116

46. **Mickelson** JR, Gallant EM, Litterer LA, Johnson KM, Rempel WE, Louis CF: Abnormal sarcoplasmatic reticulum ryanodine receptor in malignant hyperthermia. Journal of Biology and Chemistry 1988; 263: 9310-5

47. **Mortier** W, Breucking E: Diagnostik der Disposition zur malignen Hyperthermie. Anästhesist 1993; 42: 675-83

48. **Moschkowitz** A von: Heat-stroke as a postoperative complication. Journal of the American Medical Association 1900; 35: 1685

49. **Moschkowitz** A von: Postoperative heatstroke. Surgery, Gynecology, Obstetrics 1916; 23: 443-51

50. **Nelson** TE: Abnormality in calcium release from skeletal sarcoplasmic reticulum of pigs susceptible to malignant hyperthermia. Journal of Clinical Investigation 1983; 72: 862-70

51. **Olthoff** D, Deutrich C, Meinecke CD: Diagnostik der Disposition zur Malignen Hyperthermie – eine aktualisierte Übersicht auf der Basis von 1001 Untersuchungen. Anästhesiologie und Reanimation 1997; 22: 32-40

52. **Olthoff** D: Fulminant Malignant Hyperthermia crisis. In: Malignant Hyperthermia (Hrsg.: Schulte am Esch J, Scholz J, Wappler F) 2000; 1. Auflage, pp: 32-6

53. **Ombrédanne** L, Armingeat J: Le syndrom paleur et hyperthémie chez les nourissons opéres. Presse medical 1929 ; 37: 1345

54. **Ørding** H: Incidence of Malignant Hyperthermia in Denmark. Anaesthesia Analgesia 1985; 64: 700-4

55. **Ørding** H, Hald A, Sjøntoft E: Malignant Hyperthermia triggered by heating in anaesthetized pigs. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 1985; 29: 698-701

56. **Ørding** H, Brancadoro V, Cozzolino S, Ellis FR, Glauber V, Gonano EF, Halsall PJ, Hartung E, Heffron JJA, Heytens L, Kozak-Ribbens G, Kress H, Krivisic-Horber R, Lehmann-Horn F, Mortier W, Nivoche Y, Ranklev-Twetman E, Sigurdsson S, Snoeck M, Stieglitz P, Tegazzin V, Urwyler A, Wappler F: In vitro contracture test for diagnosis of malignant hyperthermia following the protocoll of the European MH Group: Results of testing patients surviving

fulminant MH and unrelated low-risk subjects. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 1997; 41: 955-66

57. **Pessah** IN, Lynch C, Gronert GA: Complex pharmacology of the malignant hyperthermia. Anesthesiology 1996; 84: 1275-9

58. **Püschel** K, Koops E, Schulz-Baldes JG: Postoperative Maligne Hyperthermie bei einem 7 Tage alten Säugling? Anästhesist 1989; 38: 81-4

59. **Ranklev** E, Fletscher R: Investigation of Malignant Hyperthermia in Sweden. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 1986; 30: 693-6

60. **Reed** S, Strobel GE: An in-vitro model of malignanthyperthermia: differential effects of inhalation anaesthetics on caffeine-induced muscle contractures. Anesthesiology 1978;48:254-9

61. **Richthofen** von V, Wappler F, Hagel C, Fiege M, Köchling A, Scholz J, Schulte am Esch J: Histology of skeletal muscle from malignant hyperthermia susceptible patients – new aspects. Abstract. Annual Meeting of the European Malignant Hyperthermia Group 1998, Naples

62. **Richthofen** von V, Wappler F, Scholz J, Fiege M, Schulte am Esch J: Evaluierung von Maligne-Hyperthermie-Episoden mit der Clinical Grading Scale. Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 1998; 33: 244-9

63. **Roewer** N: Maligne Hyperthermie heute. Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 1991; 26: 431-49

64. **Roewer** N, Hartung E: Maligne Hyperthermie - Fortschritte in der Diagnostik. Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 1996; 31: 331-3

65. **Rosenberg** H: Clinical presentation of Malignant Hyperthermia. British Journal of Anaesthesia 1988; 60: 268-73

66. **Rosenberg** H, Fletcher JE: An update on the malignant hyperthermia syndrome. Annals of the Academy of Medicine, Singapore 1994; 23: 84-97

67. **Rübsam** B, Seufert K, Preis I, Engelhardt W, Grimm T, Müller CR, Kress W, Hartung E: Maligne Hyperthermie Familien ohne genetische Kopplung mit dem Ryanodinrezeptor. Anästhesist 1992; 41:722-3

68. **Rüegg** JC: Muskel. In: Physiologie des Menschen (Hrsg.: Schmidt RF, Thews G) 1987; 23. Auflage; 66-86

69. **Solomons** CC, Masson NC: A platalet – halothane bioassay for malignant hyperthermia. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 1984; 28: 185-190

70. **Tilgen** N, Zorzato F, Halliger-Keller B, Muntoni F, Sewry C, Palmucci LM, Schneider C, Hauser E, Lehmann-Horn F, Müller CR, Treves S: Identification of four novel mutations in the c-terminal membrane spanning domain of the ryanodine receptor 1: association with central core disease and alteration of calciumhomeostasis. Human Molecular Genetics 2001; 10: 2879-87

71. **Tiso** N, Stephan DA, Nava A, Bagattin A, Devaney JM, Stanchi F, Larderet G, Brahmbhatt B, Brown K, Bauce B, Muriag M, Basso C, Thiene G, Danieli GA, Rampazzo A: Identification of mutations in the cadiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2. Human Molecular Genetics 2001; 10: 189-94

72. **Urwyler** A, Hartung E: Die Maligne Hyperthermie. Anästhesist 1994; 43: 557-69

73. **Wappler** F, Roewer N, Köchling A, Scholz J, Steinfath M, Schulte am Esch J: In vitro diagnosis of malignant of malignant hyperthermia susceptibility with ryanodine-induced contractures in human skeletal muscles. Anesthesia Analgesia 1996; 82: 1230-6

74. **Wappler** F, Scholz J, Richthofen von V, Fiege M, Köchling A, Matschke J, Schulte am Esch J: Inzidenz der Disposition zur Malignen Hyperthermie bei Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen. Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 1998; 33: 373-80

75. **Wappler** F, Scholz J, Fiege M, Kolodzie K, Weißhorn R, Schulte am Esch J: 4-chloro-m-chresol is a trigger of malignant hyperthermia in susceptible swine. Anesthesiology 1999; 90: 1733-40

76. **Wappler** F: Malignant hyperthermia. European Journal of Anaesthesiology 2001; 18, 632-52

77. **Wappler** F, Schulte am Esch J, Olthoff D, Anetseder M, Roewer N, Schulte-Sasse U: Leitlinie zur Therapie der malignen Hyperthermie. Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 2002; 43: 50-4

78. **Wedel** DJ, Nelson TE: Malignant Hyperthermia - diagnostic dilemma: false-negative contracture responses with halothane and coffeine alone. Anaesthesia Analgesia 1994; 78: 787-92

79. **Wingard** DW: Malignant Hyperthermia: a human stress syndrome. Lancet 1974 (2); 1451-2

80. **Wingard** DW: Malignant Hyperthermia – Acute stress syndrome of man? In: Malignant Hyperthermia, Current Concepts (Hrsg.: Henschel EO) 1977; 79-95

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Frank Wappler für die Bereitstellung des Themas der vorliegenden Dissertations-Schrift.

Ein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. Mark Ulrich Gerbershagen. Sein Engagement hat zum Ausgang meiner Arbeit in großem Maße beigetragen.

Schließlich möchte ich an dieser Stelle meiner Familie von ganzem Herzen danken. Sie ermöglichten mir das Studium der Medizin und unterstützten mich jederzeit mit all ihrer Kraft und Liebe.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Jana Hartung
geboren am 22.01.1979 in Hagenow, ledig
Vater Joachim Hartung, geboren am 23.01.1950, Lehrer
Mutter Doris Hartung, geboren am 22.09.1953, Lehrerin
Bruder Marc Hartung, geboren am 08.03.1982

Schulausbildung

1985 - 1989	Fritz-Reuter-Grundschule, Zarrentin
1989 - 1998	Lauenburgische Gelehrtenschule zu Ratzeburg
	Abitur am 15.06.1998

Hochschulstudium

an der Universität Hamburg

14.03.2001	Physikum
21.03.2002	Erstes Staatsexamen
23.03.2004	Zweites Staatsexamen
26.04.2004 - 27.03.2005	Praktisches Jahr: AK Nord und St. Georg, Hamburg
13.04.2005	Drittes Staatsexamen
26.04.2005	Approbation

Wissenschaftliche Tätigkeiten

01.10.2000 - 31.01.2001	wissenschaftliche Assistentin in der Abteilung für makroskopische Anatomie der Universität Hamburg
01.10.2001 - 31.01.2002	wissenschaftliche Assistentin in der Abteilung für makroskopische Anatomie der Universität Hamburg

Ärztliche Tätigkeit

Weiterbildung zur Fachärztin für Kardiologie

01.01.2006 - 31.12.2006	Klinik für Kardiologie, Herz- und Gefäßzentrum, Bad Bevensen
seit 01.01.2007	Klinik für Kardiologie, Asklepios Klinik Nord, Hamburg

Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe, Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Jana Hartung