

Aus der Universitätsklinik
für Anästhesiologie und Transfusionsmedizin Tübingen
Abteilung für Anästhesiologie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. K. Unertl

**Relationsanalyse von
Isofluran-Enantiomeren
in der Expirationsluft von Patienten
während der postoperativen Phase**

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Gabriele Christine Aigner

aus
Heidelberg

2003

Dekan: Professor Dr. C.D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. K. Unertl

2. Berichterstatter: Professor Dr. D. Luft

*Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit
gewidmet*

*In liebevollem
Andenken an meinen
Vater*

Vorgelegt von Gabriele Christine Aigner (2003)

Relationsanalyse von Isofluran-Enantiomeren in der Expirationsluft von Patienten während der postoperativen Phase

Das Inhalationsanästhetikum Isofluran wird derzeit in der Klinik als Razemat, einem zu gleichen Teilen aus rechts- und linksdrehenden Molekülen bestehenden Gemisch, appliziert. In vorausgegangenen *in-vitro*- und *in-vivo*-Untersuchungen wurde eine längere Wirkdauer und größere anästhetische Potenz des rechtsdrehenden S(+)-Isofluran gegenüber dem linksdrehenden R(-)-Isofluran festgestellt. Über das Verhalten der Isofluranenantiomere im menschlichen Organismus unter klinischen Bedingungen liegen bislang nur wenige Daten vor. Die vorliegende Studie analysiert das Verhältnis der Isofluran-Enantiomere in Atem und Blut von Patienten während der postoperativen Phase.

Material und Methoden: Die Studie wurde nach der Genehmigung durch die Ethikkommission und schriftlicher Einverständniserklärung der Patienten durchgeführt. Insgesamt nahmen 46 Patienten (27 Frauen, 14 Männer), bei denen eine Allgemeinanästhesie mit Isofluran durchgeführt wurde, an der Untersuchung teil. Während der Narkose wurden die Patienten mit einem O₂/Luft- bzw. einem O₂/N₂O-Gemisch, sowie mit Isofluran (0,9 ± 0,2 Vol%, MW ± SD) beatmet. Die Entnahme der Proben erfolgte nach Narkoseende und im Anschluss daran in 24-stündigem Abstand über ein postoperatives Zeitintervall von bis zu 19 Tagen. Die qualitative Bestimmung der Enantiomerenkonzentration in der Expirationsluft erfolgte mittels Thermodesorption, in den Blutproben durch Headspace, jeweils gekoppelt mit GC/MS im Single-Ion-Modus.

Ergebnisse: In der frühen postoperativen Phase konnte eine Verschiebung des razemischen Ausgangsverhältnisses (Kontrollwert 50,04 ± 0,03 % (MW±SEM)) zugunsten des S(+)-Isofluran beobachtet werden. Das Maximum betrug 50,49 ± 0,06 % (MW±SEM) am 4. postoperativen Tag (p<0,0001). 5 Tage nach der Operation war eine deutliche Verminderung der Konzentration zu verzeichnen (49,59 ± 0,16 %). Ab dem 7. postoperativen Tag (49,77 ± 0,1 %) folgte ein kontinuierlicher Abfall der Konzentration des S(+)-Enantiomers bis zum 19. Tag nach der Operation (48,08 ± 0,19 %; p<0,0005). Der höchste individuelle Messwert lag bei 51,61 %, der niedrigste bei 46,36 %. In parallel zur Atemluft entnommenen Blutproben wiesen die Isofluranenantiomere einen analogen Verlauf auf. Die Enantiomerenverteilung war von intraoperativer N₂O-Applikation, dem Geschlecht sowie der Konstitution des Patienten unabhängig.

Diskussion: Die Verschiebung des Enantiomerenverhältnisses ist wahrscheinlich auf die stereospezifische Pharmakokinetik und komplexen Interaktion der Isofluranenantiomere mit den verschiedenen Geweben zurückzuführen. Der Differenzbetrag der Mittelwerte am 4. und 19. postoperativen Tag von 2,41 Prozentpunkten ist durch die Metabolisierungsrate des Isofluran (0,17 %) alleine nicht zu erklären. Eine direkte Verlaufsbestimmung der Enantiomere in den einzelnen Geweben könnte über die enantiomerenselektiven Wirkmechanismen der Isofluranenantiomere unter klinischen Bedingungen Auskunft geben.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	01
1.1. Historischer Rückblick.....	01
1.2. Isofluran.....	02
1.3. Isofluran-Enantiomere	05
1.4. Studienziel.....	08
2. Material und Methoden.....	09
2.1. Patienten	09
2.1.1. Narkoseablauf.....	10
2.1.2. Probenentnahme.....	11
2.2. Material.....	12
2.3. Methoden	13
2.3.1. Grundlagen	13
2.3.1.1. Gaschromatographie.....	13
2.3.1.2. Massenspektrometrie	14
2.3.1.3. Thermodesorption	16
2.3.1.4. Headspace-Analyse	16
2.3.1.5. Kryofokussierung	16
2.3.2. Durchführung	17
2.3.2.1. Probenanalyse.....	17
2.4. Statistische Auswertung	19
3. Ergebnisse	20
3.1. Patientendaten	20
3.2. Konzentrationsverlauf der Isofluran-Enantiomere...	22
3.3. Intraoperative Lachgasapplikation.....	27
3.4. Geschlechtsunterschiede	29
3.5. Konstitutionstypen	30
3.6. Zusammenfassung der Ergebnisse	31

4. Diskussion	32
4.1. Isofluran.....	32
4.2. Interaktion der Isofluranenantiomere	34
4.2.1. Lipide	34
4.2.2. Proteine	35
4.2.3. ZNS	38
4.3.4. Auswirkung von Begleitfaktoren auf die Enantiomerenverteilung.....	41
4.2.4.1. Lachgas	41
4.2.4.2. Geschlecht	42
4.2.4.3. Konstitutionstyp	42
4.3. Biotransformation.....	42
4.4. Schlussfolgerung – Ausblick	44
5. Zusammenfassung	45
6. Anhang	48
7. Literaturverzeichnis	63

1. Einleitung

1.1. Historischer Rückblick

Patienten in schmerzfreiem Zustand unter Ausschaltung des Bewusstseins operieren zu können, war ein enormer Fortschritt in der Geschichte der Medizin. Dadurch wurde die Möglichkeit geschaffen, das Risiko für den Patienten zu reduzieren und viele gegenwärtige Operationen durchzuführen.

Die Ursprünge der Anästhesiologie reichen bis zur Zeit der alten Scythier und Araber zurück. Im 12. Jahrhundert beschrieb Nikolaus von Salerno in seinem Buch einen Schafschwamm, der u.a. mit Opium präpariert war. Die Synthese von Ether wurde erstmals im Jahre 1540 schriftlich festgehalten. Lachgas wurde 1772 von Joseph Priestly entdeckt. Diese Methoden waren zum Teil sehr unsicher, nicht selten starb der Patient aufgrund mangelnder Kenntnisse über die Wirkung und Regulierung der Dosis der verabreichten Anästhetika. Viele Beobachtungen wurden aufgrund fehlender Resonanz erst Jahrzehnte später in die Praxis umgesetzt (9).

So kam es, dass erst am 16. Oktober 1846 durch die erste öffentliche erfolgreiche Demonstration einer Ether-Narkose der Durchbruch zur modernen Anästhesie gelang. Nach Äther fanden auch Chloroform, Lachgas, Äthylen und Cyclopropan in der Allgemeinanästhesie ihre Anwendung.

Durch eine neue Fluorierungstechnik konnte in den 50er Jahre mit Halothan ein sichereres, nichtexplosives Inhalationsanästhetikum hergestellt werden. Es folgten Enfluran, Isofluran, Desfluran und Sevofluran. Diese modernen volatilen Anästhetika haben die älteren Narkosemittel, mit Ausnahme von N_2O , vollständig abgelöst (9).

Geschichte des Isofluran

Isofluran wurde erstmals im Jahre 1965 synthetisiert (40). Gegenüber anderen Inhalationsanästhetika wie Halothan oder Enfluran ergaben sich vor allem in Bezug auf die Metabolisierung einige Vorzüge. Die für 1975 geplante Freigabe wurde allerdings durch Studien von Corbett, die Isofluran eine mögliche Kanzerogenität zuschrieben, verzögert (5). Später wurde mit potentiellen Teratogenen und Mutagenen kontaminiertes Tierfutter als Ursache für die erhöhte Inzidenz von Neoplasien bei den Versuchstieren vermutet. In den folgenden Jahren konnten karzinogene Effekte des Isofluran durch weitere Untersuchungen nicht bestätigt werden (3,11,48), sodass diesbezügliche Bedenken ausgeräumt wurden. Die Zulassung für die Klinische Anwendung erfolgte 1981 in den USA und 1984 in Deutschland (26).

1.2. Isofluran

Physikalische und chemische Eigenschaften

Isofluran (Forene®; 1-Chlor-2,2,2-trifluorethyldifluormethylether, $\text{CHF}_2\text{-OCHClCF}_3$) ist ein Isomer zum Enfluran (Éthane®; 2-Chlor-1,1,2-trifluorethyldifluormethylether, $\text{CHF}_2\text{-OCF}_2\text{-CHFCl}$) (13,32). Das Inhalationsanästhetikum Isofluran liegt als farblose, klare Flüssigkeit ohne chemische Stabilisatoren vor. Es ist von etherischem Geruch, nicht entflammbar und bildet in Verbindung mit Luft kein explosives Gemisch. Isofluran reagiert mit Gummi, greift Metalle jedoch nicht an. Des weiteren ist es licht- und basenstabil (26).

In der Klinik findet Isofluran als Razemat Anwendung. Über einen Verdampfer gelangt es in gasförmigen Zustand in den Inspirationsschenkel des Narkosekreisteils.

Pharmakokinetik - Anästhesie - Wirkung

Von allen gebräuchlichen volatilen Anästhetika weist Isofluran neben Sevofluran und Desfluran einen niedrigen Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten auf und besitzt somit eine geringe Blutlöslichkeit. Dies hat ein schnelles An- und Abfluten zur Folge, bereits nach 4-8 min wird ein Quotient von alveolärer zu inspiratorischer Konzentration von 0,5 erreicht. Zu Beginn der Narkose sind höhere inspiratorische Isoflurankonzentrationen erforderlich (2-4 % [O₂], 1,5-3,5 % [N₂O]) als zur Narkoseaufrechterhaltung. Dadurch werden der Wirkspiegel und die gewünschte Narkosetiefe schneller erreicht. Nach Beendigung der Isofluranzufuhr wird Isofluran relativ rasch respiratorisch eliminiert, sodass die Patienten durchschnittlich nach 10 min aufwachen. Dabei ist die Eliminationsgeschwindigkeit von Ventilation, Herzzeitvolumen und Narkosedauer abhängig.

Isofluran wirkt negativ inotrop und direkt vasodilatierend. Der dadurch verursachte Blutdruckabfall kann durch anästhesiologische (z.B. Intubation) oder chirurgische Stimuli wieder teilweise aufgehoben werden. Zudem wird eine koronardilatierende Wirkung berichtet. Durch Isofluran wird eine dosisabhängige Atemdepression hervorgerufen. Diese bezieht sich vor allem auf das Atemzugvolumen, die Atemfrequenz bleibt im wesentlichen gleich. Isofluran selbst relaxiert die Skelettmuskulatur geringfügig und verstärkt die Wirkung intravenös verabreichter Muskelrelaxantien (26).

Eigenschaften von Isofluran:

Molekulargewicht	184,5
Siedepunkt	48,5 °C
Dampfdruck (bei 20 °C)	238 mmHg
Reinheit	>99,9 %
Verteilungskoeffizienten bei 37 °C	
- Blut/Gas	1,4
- Gehirn/Gas	3,6
- Muskel/Gas	5,6
- Fett/Gas	94,5
MAC-Werte (Erwachsene mittleren Alters)	
- in 100 % Sauerstoff	1,15
- in 70 % Lachgas	0,5

Tab. Nr. 1: Eigenschaften von Isofluran

Biotransformation - Metabolismus

Mit 0,17 % hat Isofluran eine sehr geringe Metabolisierungsrate und die höchste Stabilität der derzeitig verfügbaren Inhalationsanästhetika (10,32). Holaday et al. wiesen 95 % des verabreichten Isofluran unverändert in der Expirationsluft nach (24). Hauptmetabolit ist Trifluoressigsäure sowie anorganisches Fluorid. Durch die geringe Metabolitenkonzentration ist weder von Hepato- noch Nephrotoxizität auszugehen (26). Dieser Vorteil gegenüber älteren Anästhetika wie dem Halothan wurde in einer Studie von Yamasaki et al. erneut belegt (52).

<u>Vorteile</u>	<u>Nachteile</u>
<ul style="list-style-type: none"> • sehr geringe Metabolisierungsrate • fehlende Nephro- und Hepatotoxizität • geringe Blut- und Geweblöslichkeit, dadurch rasches An- und Abfluten • gute muskelrelaxierende Wirkung • keine Sensibilisierung des Myokards gegenüber Katecholaminen • keine arrhythmogene Wirkung 	<ul style="list-style-type: none"> • dosisabhängige Atemdepression • negative Inotropie • koronardilatierende Wirkung → Gefahr einer Myokardischämie durch „coronary steal-Phänomen“ • etherartiger, leicht stechender Geruch → Atemanhalten, Husten

Tab. Nr. 2: Pharmakologische Wirkungen des Isofluran

1.3. Isofluran-Enantiomere

Isofluran ist ein halogener Ether mit einem chiralen Zentrum. Von einem chiralen Molekül spricht man, wenn ein Atom, meist ein Kohlenstoff- oder ein quartäres Stickstoffatom, vier verschiedene Substituenten trägt. Zwei Moleküle mit zueinander spiegelbildlicher Konfiguration (Spiegelbildisomerie) nennt man Enantiomere. Ein zu gleichen Teilen aus beiden Spiegelbildisomeren bestehendes Stoffgemisch wird als Razemat bezeichnet (30).

Enantiomere stimmen in allen chemischen und den meisten physikalischen Eigenschaften überein, unterscheiden sich jedoch in der optischen Drehung. Lösungen dieser Stoffe drehen die Ebene polarisierten

Lichtes in entgegengesetzter Richtung. Der Drehsinn der Enantiomere wird mit „+“ (rechtsdrehend) und „-“ (linksdrehend) angegeben.

Eine andere Nomenklatur bezeichnet das Zentralatom der Enantiomere nach der Anordnung der Substituenten im Tetraedermodell mit „S“ (von lat. sinister = links) beziehungsweise mit „R“ (rectus = rechts). Dabei gibt die absteigende Rangordnung der Ordnungszahlen der betreffenden Atome die Richtung an. Die Konfiguration der Substituenten steht nicht zwangsläufig in Zusammenhang mit dem Drehungssinn. Dieser muss experimentell ermittelt werden (30).

In der vorliegenden Untersuchung wird deshalb vorwiegend auf die unten aufgeführte Nomenklatur zurückgegriffen. Bezeichnungen aus Literaturzitate werden unverändert übernommen.

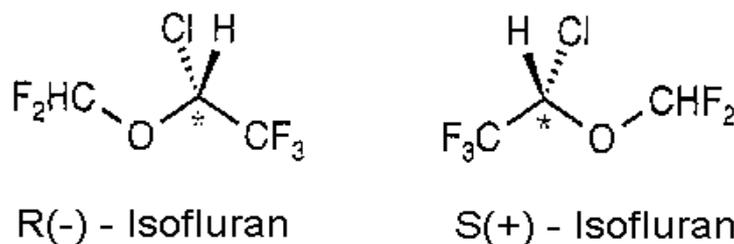


Abb. Nr. 1: Chemische Strukturformeln der Isofluranenantiomere.

Das chirale Zentrum ist durch einen Stern gekennzeichnet.

Viele der in der Anästhesie gebräuchlichen Pharmaka liegen als chirale Verbindung vor und werden klinisch als Razemate appliziert. Bei einem Teil dieser Medikamente wurden Unterschiede in Pharmakodynamik und Wirkung der einzelnen Enantiomere nachgewiesen (2,4,44). Dies führte dazu, dass in einigen Fällen ausschließlich das Isomer mit der größeren pharmakologischen Wirksamkeit (Eutomer) oder den geringeren Nebenwirkungen eingesetzt wird.

Seit einigen Jahren ist auch die stereospezifische Pharmakologie der Isofluranenantiomere Gegenstand der Isomerenforschung.

In mehreren Studien wurden die Isofluranenantiomere auf stereoselektive Effekte am GABA_A-Rezeptor, einem inhibitorischen Rezeptor-Kanal-Komplex, überprüft.

Das (+)-Enantiomer besaß im Vergleich zum (-)-Enantiomer eine größere Potenz zur Verstärkung des Chloridflusses am GABA_A-Rezeptor (41), desgleichen löste es ein beinahe doppelt so hohes Membran-Potential an isolierten zerebellaren Purkinjoneuronen von Ratten aus als das R(-)-Isofluran (21). Ähnliche Beobachtungen wurden bei der Untersuchung GABA_A-Rezeptor-vermittelter postsynaptischer inhibitorischer Potentiale (IPSP) an Hippocampusneuronen gemacht (27). Dies könnte auch begründen, weshalb Lysko et al. bei Ratten unterschiedliche MAC-Werte für die beiden Isofluranenantiomere feststellten (34). Entsprechend wurde die größere anästhetische Potenz des S(+)-Enantiomers bei Mäusen (23) und Ratten (8) beschrieben.

Zusammenfassend lassen sich hieraus stereospezifische Effekte der Isofluranenantiomere sowie stereoselektives Bindungsverhalten an bestimmten Proteinen ableiten.

Keine enantiomerenspezifischen Wirkungsdifferenzen wurden an von Mäusen gewonnenen zerebralen und kardialen Kalziumkanälen (36) und an isolierten perfundierten Meerschweinchenherzen (17) festgestellt.

Das volatile Anästhetikum Enfluran unterliegt einem stereoselektiven Metabolismus durch humanes Cytochrom P450 2E1. Dies unterstützt die Hypothese unterschiedlich stereochemischer Metabolisierung (15). Möglicherweise könnte Isofluran als Isomer zum Enfluran (13) ähnlichen Mechanismen unterworfen sein.

In einer vorausgehenden Studie von Schmidt et al. wurde die postoperative Anreicherung des (+)-Isofluran im Blut von Patienten beobachtet (42).

1.4. Studienziel

Der genaue Wirkmechanismus der verschiedenen Inhalationsanästhetika ist derzeit noch nicht vollständig geklärt. Inhalt eines großen Teiles vorausgegangener Untersuchungen ist die Erforschung stereoselektiver und stereospezifischer Wirkungen der beiden Isofluranenantiomere. Aufgrund der Ergebnisse dieser Studien ergibt sich die Frage, wie sich die Isofluranenantiomere unter klinischen Bedingungen im menschlichen Organismus verhalten. Über die stereospezifischen Interaktionen im Menschen liegen bislang nur wenige Daten vor.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, Isofluranenantiomere in der Expirationluft und simultan im Blut von Patienten während der postoperativen Phase zu untersuchen. Vorversuche ergaben, dass die Enantiomere während eines Zeitraumes von mehr als 10 Tagen nach der Operation gaschromatographisch in der Atemluft nachgewiesen werden können. Dies ermöglicht die Beobachtung und Beurteilung des Verlaufs der Enantiomerenverhältnisses über eine relativ lange Zeitspanne.

Eine sich ergebende Abweichung oder Verschiebung des ursprünglich razemischen Enantiomerenverhältnisses könnte auf stereospezifische Interaktionen im menschlichen Organismus hinweisen und somit einen Beitrag zum Verständnis der Wirkmechanismen der Isofluranenantiomere liefern.

2. Material und Methoden

2.1. Patienten

Die Studie wurde nach Genehmigung durch die Ethikkommission durchgeführt. Am Vortag der Operation erfolgte die Aufklärung der Patienten mit deren schriftlichen Einverständniserklärung. Die Ausschlusskriterien für die Aufnahme in die Studie waren:

- Alter < 18 Jahre
- Ambulante Behandlung
- Postoperativer stationärer Aufenthalt < 3 Tage
- Nachbeatmung
- Narkose mit Isofluran innerhalb der letzten 8 Wochen

Insgesamt wurden 46 Patienten (29 Frauen, 17 Männer) der ASA-Gruppen I-III (siehe Tab. Nr. 4 im Anhang) der Allgemeinchirurgischen und Orthopädischen Klinik, bei denen eine Allgemeinanästhesie mit Isofluran durchgeführt wurde, in die Untersuchung aufgenommen.

Das Durchschnittsalter lag bei 57 ± 15 Jahren (MW \pm SD). Das durchschnittliche Gewicht der Patienten betrug 77 ± 17 kg, die durchschnittliche Größe 170 ± 8 cm. Jeder Patient wurde anhand seines Body-Mass-Index (BMI) Normal- (BMI<25; n=20), Übergewichtigen ($25 \leq \text{BMI} \leq 30$; n=18) oder Adipösen (BMI>30; n=8) zugeordnet.

Die genaue Beschreibung der Patientendaten ist in Tab. Nr. 3 dargestellt.

	Patientinnen	Patienten
Anzahl	29	17
Alter (Jahre)	59 (22-80)	53 (23-74)
Gewicht (kg)	71 (50-105)	86 (68-120)
Größe (cm)	165 (154-173)	178 (167-186)
Operationen		
	Allgemeinchirurgie	Orthopädie
Anzahl	25	21

Tab. Nr. 3: Demographische Daten des Patientenkollektivs

(Mittelwert und Spannweite)

2.1.1. Narkoseablauf

Die Prämedikation fand am Vorabend mit Noctamid (1 mg) bzw. am OP-Tag mit Dormicum (3,75-7,5 mg) statt. Die Medikamente zur Narkoseeinleitung wurden je nach klinischem Zustand und Art des operativen Eingriffes ausgewählt:

Injektionsanästhetika: 350-600 mg Thiopental (Trapanal®)
150-190 mg Propofol (Disoprivan®)

Analgetika: 10-40 µg Sufentanil (Sufenta®)

Muskelrelaxantien: 5-50 mg Rocuronium (Esmeron®)
100 mg Succinylcholin (Lysthenon®)

Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte durch Isofluran (0,5-1,7 Vol%) in Kombination mit Sauerstoff (30-50%) und wahlweise mit Lachgas (50-70%) im halbgeschlossenen System (CICERO®, Servo 900C, Physioflex). Die Zufuhr der volatilen Anästhetika wurde bis kurz vor

Ende der Operation aufrechterhalten und dann von reinem Sauerstoff abgelöst. Die Extubation fand bei ausreichender Spontanatmung nach den allgemein üblichen Kriterien statt.

2.1.2. Probenentnahme

Die Proben wurden unmittelbar nach Narkoseende sowie im Anschluss daran in 24 stündlichem Abstand entnommen.

Zur Entnahme der Atemproben diente ein 1 l Atembeutel (Tedlar bag, Supelco, USA). Ein definierter Volumenanteil des Tedlar bag -Inhaltes wurde über dessen Ventil mittels eines Gasprobennehmers auf ein zwischengeschaltetes Tenax-Adsorptionsröhrchen gebracht.

Die Atemproben der ersten postoperativen Tage würden aufgrund zu hoher Isoflurankonzentrationen zur Überlastung der Kapillarsäule führen. Gleichzeitig muss gegen Ende der Beobachtungsphase eine zur zuverlässigen Detektion noch ausreichende Isofluranmenge auf die Säule transferiert werden. Dieser große Konzentrationsunterschied zwischen den jeweiligen Messtagen erforderte die Anpassung des entnommenen Volumens an die durch Vorversuche zu erwartende Isoflurankonzentration. Damit konnte die auf die Säule transferierte Isofluranmenge in einem gewissen Rahmen konstant gehalten und die Messgenauigkeit zusätzlich optimiert werden.

Von Proben des OP- Tages wurden durchschnittlich 63 ml, des 1. postoperativen Tages 184 ml, des 2. -10. Tages 387 ml und ab dem 11. Tag im Schnitt 984 ml Expirationsluft über das TDS-Röhrchen geleitet.

Die Blutentnahme erfolgte (2-3 ml) venös mit einem K-EDTA-Röhrchen. Davon wurde jeweils 1 ml pro 2 ml GC vial (n=2) gefüllt, mit je 200µl gesättigter HCl- Lösung versetzt, gasdicht verschlossen und bis zur Messung bei -18°C aufbewahrt.

2.2. Material

Analytische Geräte

- Gaschromatograph HP 5890 (Hewlett Packard, Böblingen)
- Thermodesorptionssystem TDS 2 (Gerstel GmbH, Mühlheim/ Ruhr)
- Thermodesorptions-Autosampler TDS A (Gerstel, Mühlheim/ Ruhr)
- Kaltaufgabesystem KAS 3 (Gerstel, Mühlheim/ Ruhr)
- Multi-Purpose-Sampler MPS mit beheizbarer Vorwärmstation und beheizbarer 1ml- Headspace-Injektionsspritze (Gerstel, Mühlheim/ Ruhr)
- Massenspezifischer Detektor HP 5971 A (Hewlett Packard, Waldbronn)
- 50l- Dewar für Flüssigstickstoff (Messer Griesheim, Reutlingen)
- MASTer- Software zur Programmierung und Steuerung des TDS 2- TDS A- KAS Gesamtsystems (Gerstel, Mühlheim/ Ruhr)
- Software für die Steuerung der GC-MS-Messung und Datenanalyse (MS Chem Station, Hewlett Packard, Waldbronn)

Substanzen

- Kapillarsäule: Oktakis (3-O-butanoyl-2,6-di-O-pentyl)- γ -cyclodextrin (Lipodex E) 30 % in PS-255 (Gelest, ABCR GmbH & Co., Karlsruhe), 30 m x 0,25 mm x 0,28 μ m (AK Prof. Schurig, Universität Tübingen)
- Thermodesorptionsröhrchen (6 mm Ad, 4 mm Id, Länge 178 mm), gefüllt mit Tenax (Gerstel, Mühlheim/ Ruhr)
- Tedlar bag (Supelco, USA)
- Helium (Reinheit 99,996 %) als Trägergas
- Flüssiger Stickstoff zur Kryofokussierung

2.3. Methoden

2.3.1. Grundlagen

2.3.1.1. Gaschromatographie

Das Prinzip der Gaschromatographie (GC) beruht darauf, die Proben in gasförmigem Zustand in das System zu geben. Durch die Flüchtigkeit von Isofluran lässt sich diese Methode sowohl auf die Atem- als auch die Blutproben anwenden. Während die Substanzen durch die Säule geleitet werden, verteilen sich die einzelnen Komponenten längs der Säule zwischen mobiler (gasförmiger) und stationärer Phase entsprechend einer Gleichgewichtskonstanten (16). Die auf diese Art getrennten Stoffe werden am Ende der Säule durch verschiedene Detektionsysteme, wie Flammenionisationsdetektor (FID) oder Massenspezifischen Detektor (MSD) nachgewiesen und im Chromatogramm graphisch als Peaks dargestellt.

Zur Bestimmung des Verhältnisses der Isofluranenantiomere wurden die Peaks des Gesamtionenchromatogramm integriert und jeweils einzeln in Beziehung zur Gesamtfläche gesetzt, die sich aus der Addition der beiden Integrationsflächen ergibt.

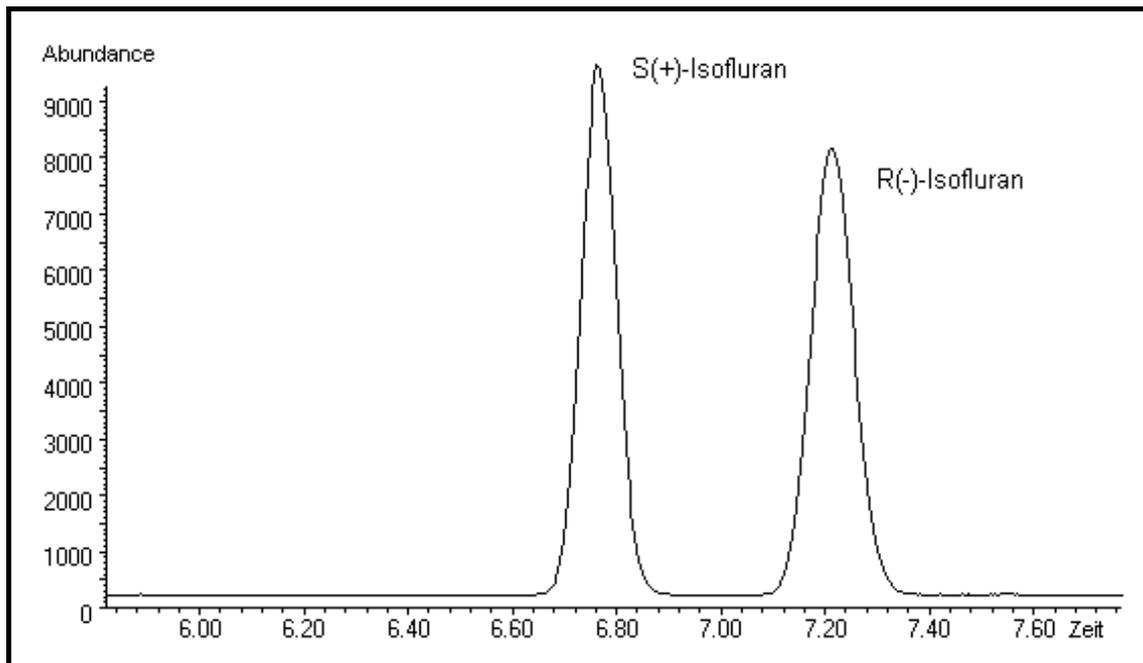


Abb. Nr. 2: Gesamtionenchromatogramm einer Atemprobe mit den charakteristischen Peaks der getrennten Isofluranenantiomere.

2.3.1.2. Massenspektrometrie

Das Massenspektrometer stellt eine Möglichkeit der gaschromatographischen Detektion dar. Die aus der Säule eluierten Komponenten werden in der Ionenquelle des Massenspektrometers (MS) in für das jeweilige Molekül charakteristische Bruchstücke zerlegt. Die Gesamtzahl der analysierten Molekülfragmente wird als Totalionenstrom (TIC) gemessen. Das Signal liefert durch Aufteilung in die entsprechenden Anteile der einzelnen Massen ein Massenspektrum. Um gezielt nach einer Substanz zu suchen, bedient man sich der SIM- (Selected Ion Monitoring) Technik. Im SIM- Modus werden ausgewählte spezifische Molekülmassen sowie das Intensitätsverhältnis der Signale registriert. Zusammen mit der gaschromatischen Retentionszeit dient dies der Substanzidentifizierung und Quantifizierung (18).

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Enantiomerentrennung isotherm bei 33 °C mit Helium als Trägergas (60 kPa) durchgeführt.

Zur Analyse der Isofluran-Enantiomere im Atem dienten die charakteristischen Fragment-Ionen der Massen $m/z = 51$, $m/z = 149$ sowie $m/z = 117$, im Blut die der Massen $m/z = 51$ und $m/z = 149$.

Die qualitative Bestimmung der Isofluran-Enantiomere in Atem und Blut erfolgte in beiden Medien anhand des Fragment-Ions $m/z = 149$.

Eine Methode zur Quantifizierung der durch TDS-GC/MS getrennten Isofluranenantiomere in der Expirationsluft ist derzeit nicht verfügbar. Somit war in der vorliegenden Studie die Angabe der *absoluten* Konzentrationen nicht möglich.

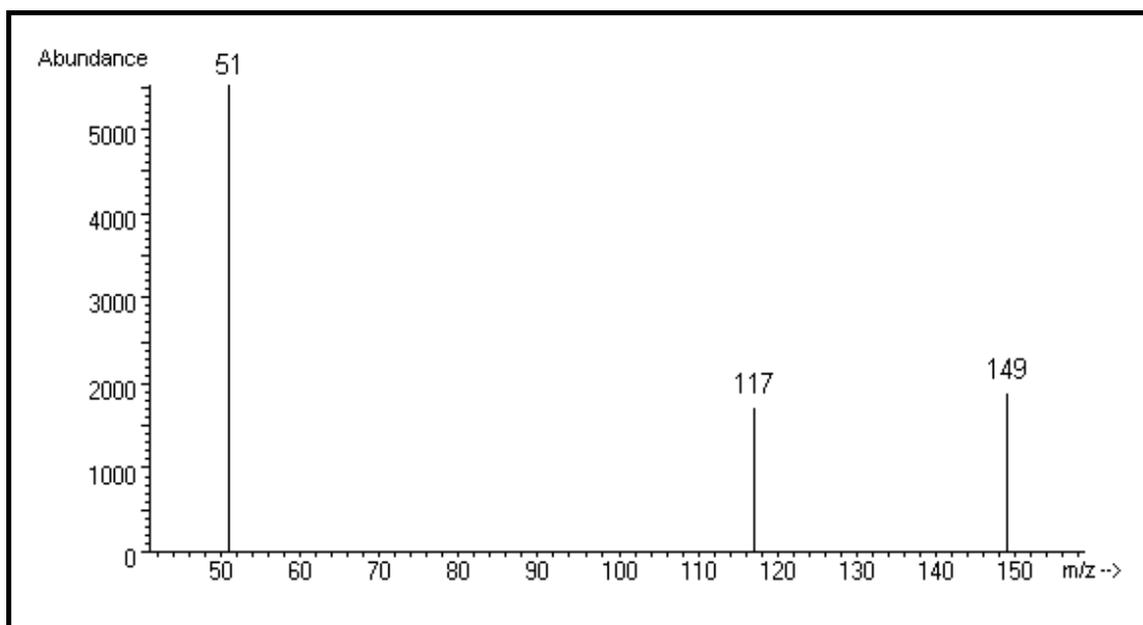


Abb. Nr. 3: Detektierte Fragment-Ionen aus dem Massenspektrum von Isofluran.

(MG= 184,5); $m/z = 51$: (CHF_2^+); $m/z = 117$: ($\text{M}^+ - \text{CF}_3$) = $m/z = 115$ bzw. ($\text{M}^+ - \text{OCHF}_2$) = $m/z = 119$; $m/z = 149$: ($\text{M}^+ - \text{Cl}$)

2.3.1.3. Thermodesorption

Das Thermodesorptionssystem (TDS) eignet sich in Verbindung mit dem Kaltaufgabesystem zur Analyse leichtflüchtiger Substanzen aus gas- und dampfförmigen Proben durch Anlagerung an ein Adsorbens, sowie flüchtiger Komponenten aus Feststoffen mittels direkter thermischer Desorption. Die Stoffe werden durch Erhitzung in das Kaltaufgabesystem überführt. Die Adsorption des Isofluran aus der Expirationsluft erfolgte mittels eines zuvor mit Tenax gefüllten TDS-Röhrchens (46).

2.3.1.4. Headspace-Analyse

Die Headspace-Methode in Verbindung mit der Gaschromatographie wird vor allem zur Analyse leichtflüchtiger Stoffe in flüssigen oder festen Proben eingesetzt. Hierbei wird die Gasprobe aus dem Dampfraum des Headspace (HS)-Vials entnommen. Dadurch ist die gaschromatische Trennung selbst geringer Substanzkonzentrationen möglich.

2.3.1.5. Kryofokussierung

Zur Erhöhung der Nachweisempfindlichkeit wurde die Kryofokussierung im Kaltaufgabesystem (KAS) angewandt. Durch Abkühlung der Probe aus dem Headspace-Vial bzw. der desorbierten Komponenten aus dem TDS-Röhrchen auf -150 °C erfolgte deren Konzentrierung mit anschließender Überführung auf die Kapillarsäule.

2.3.2. Durchführung

2.3.2.1. Probenanalyse

Die Messmethoden für die Atem- und Blutproben wurden von Wahl et al. sowie Schurig et al. etabliert (42,43,46). Die Analyse der Proben erfolgte tageweise, um die Systemparameter für den jeweiligen Messtag konstant zu halten. Jeder Durchlauf (ca. 30-50 Proben) wurde mit den Proben mit der niedrigsten Isofluran-Konzentration gestartet, um Verschleppungen zu vermeiden. Im Anschluss daran erfolgte das Ausheizen der Säule.

Zur Festlegung des Razematkontrollwertes und zur Bestimmung der Messgenauigkeit wurden für die Thermodesorptionsmessungen (Atemproben) in 10 Durchgängen jeweils 10 µl razemischen Isoflurandampfes mit 1 l N₂ verdünnt, davon durchschnittlich 387 ml auf ein Tenaxröhrchen gebracht und mittels TDS-GC/MS qualitativ bestimmt. Die qualitative Untersuchung des Razematausgangsverhältnisses der Headspace-Messungen (Blutproben) erfolgte durch HS-GC/MS-Analyse von 1ml 1:40 mit Aqua dest. verdünnten Isofluran.

Der Kontrollwert des Isofluranrazemats konnte in der Atemluft mit einem Variationskoeffizient (VK) von 0,2 bis 0,4 % und im Blut mit einem VK von 0,3 bis 0,7 % (47) in der Serie bestimmt werden.

Zur Thermodesorption wurde das Adsorptionsröhrchen bei 15°C in das TDS eingeführt, nach Wiederaufbau des Heliumdruckes und Spülen für 0,1 Minuten mit 60°C/min auf 180°C 10 Minuten lang erhitzt und das Gas über die 240°C heiße Transfer-Kapillare in das Kaltaufgabesystem (-150°C) überführt. Nach Beendigung der Desorption und Erhitzen des KAS mit einer Rate von 12°C/min auf 350°C (10 min) folgte die Überführung auf die Kapillarsäule. Ab dem 2. postoperativen Tag wurde hierfür die splitlose Überführung gewählt, für den OP- und ersten post-

operativen Tag der Split-Modus, um Spitzenkonzentrationen mit Überlastung der Säule zu vermeiden.

Die Messung der Blutproben erfolgte unter Benutzung eines Multipurpose- Samplers mittels der statischen Headspace-Analytik in Verbindung mit dem Kaltaufgabesystem KAS 3: Vorheizen des Probenials für 10 min bei 70°C, Injektion von Helium, Entnahme von 1000 µl Dampfphase mittels einer gasdichten, auf 70°C vorgewärmten Spritze, Einbringung in das Kaltaufgabesystem und splitlose Überführung (30 sec) auf die Säule (12°C/sec auf 200°C, 10 min)(42).

Die Enantiomerentrennung fand isotherm bei 33 °C mit Helium als Trägergas (60 kPa) und einer chiralen Kapillarsäule (Lipodex E, siehe Kap. 2.2.) statt. Gemessen wurden für Isofluran charakteristische Fragment-Ionen der Massen m/z 51 und 149 in den Blut-, m/z 51, 149 und 117 in den Atemproben.

Die Datenerfassung und -auswertung, sowie die Integration der Peakflächen erfolgte über das Datensystem MS Chem Station.

2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Evaluierung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Biometrie der Universität Tübingen unter Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Dietz.

Inhalt der Auswertung war die Überprüfung auf signifikante Unterschiede der Messwerte zum Ausgangsverhältnis.

Zur Überprüfung wurden die jeweiligen Mittelwerte der Konzentration des S(+)-Isofluran an festgelegten postoperativen Messtagen mit der Ausgangskonzentration im applizierten racemischen Gemisch verglichen. Als Prüfvariable diente die mittlere Differenz aus Kontrollwert und den Messwerten des jeweiligen Tages, welche bezüglich des Nullwerts beurteilt wurde. Bei Normalverteilung der Stichprobe (Shapiro-Wilk-Test: $p > 0,1$) wurde der Student-t-Test für verbundene Stichproben angewandt, bei Nicht-Normalverteilung der Signed Rank Test (siehe Tab. Nr. 10 im Anhang).

Die Ergebnisse beider Testverfahren wurden für $p < 0,05$ als signifikant, für $p < 0,01$ als hochsignifikant betrachtet.

Die Analyse des enantiomerenspezifischen *Verlaufes* sowie die Überprüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den gebildeten Subgruppen erfolgten mittels grafisch deskriptiver Darstellung.

In den Diagrammen werden zur besseren Übersicht - auch bei Nicht-Normalverteilung am jeweiligen Messtag - ausschließlich Mittelwerte aufgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Patientendaten

Die genauen Daten des Patientenkollektivs und der einzelnen Patienten werden in Kapitel 2.1. sowie im Anhang beschrieben.

Die Operationen dauerten im Durchschnitt 173 ± 61 min (MW \pm SD). Das mittlere Atemminutenvolumen betrug $6,3 \pm 1,4$ l, die während der Operation verabreichte mittlere Isoflurankonzentration $0,89 \pm 0,23$ l. Die Art des chirurgischen Eingriffes erstreckte sich auf die Bereiche Allgemeinchirurgie (n=25) und Orthopädie (n=21). Eine detaillierte Übersicht über das Patientenkollektiv ist in Tab. Nr. 4 im Anhang aufgeführt.

Narkoseeinleitung und -führung

Die Narkose wurde individuell je nach Vorerkrankung und Zustand des einzelnen Patienten mit verschiedenen Medikamenten eingeleitet. Nach Präoxygenierung, Injektion eines Analgetikums (Sufentanil) und Hypnotikums (Thiopental oder Propofol) erfolgten Relaxierung und Intubation des Patienten. Während der Narkose wurden die Patienten im halbgeschlossenen Kreissystem mit einem O₂/Luft- bzw. einem O₂/N₂O-Gemisch, sowie zur Aufrechterhaltung der Narkose mit Isofluran beatmet.

In die Studie wurden ausschließlich Patienten aufgenommen, bei denen eine ausreichende postoperative Vigilanz zu erwarten war. Somit waren Patienten, die nachbeatmet werden mussten, ausgeschlossen. Die erste Entnahme der Atemprobe eines Patienten fand, gleichzeitig mit der ersten Blutprobe, unmittelbar nach dessen Erwachen aus der Narkose

im Aufwachraum statt. Hierfür war die aktive Mitarbeit des Patienten gefordert. Die Probenentnahme wurde in 24-stündlichen Intervallen bis zum 9. postoperativen Tag bzw. bis zur Entlassung fortgeführt. 3 Patienten wurden bis zum 2. post-OP-Tag beobachtet, 23 Patienten bis zum 9. Tag nach der Operation. Bei einer kleinen Gruppe von 4 Patienten wurden bis zum 19. postoperativen Tag Atemproben entnommen. 2 Patienten nahmen bis zum 22. post-OP-Tag, einer davon sogar bis zum 24. post-OP-Tag, an der Studie teil.

Die Entnahme der Blutproben erfolgte bis maximal zum 9. postoperativen Tag. 5 Patienten stimmten der Blutentnahme nicht zu. Am 4. Tag nach der Operation lagen von 22 Patienten Messergebnisse vor. An den folgenden Tagen nahm die Anzahl der Messergebnisse stark ab, was dadurch begründet war, dass die Isoflurankonzentration in den Blutproben unter die Nachweisgrenze sank oder die Patienten der täglichen Blutentnahme nicht mehr zustimmten. Angestrebt wurde eine Mindestdauer von 5 Messtagen.

Die detaillierten Patientendaten sind in Tab. Nr. 4 im Anhang beschrieben.

3.2. Konzentrationsverlauf der Isofluran-Enantiomere

Die Patienten wurden im Durchschnitt 10 ± 5 Tage (MW \pm SD) beobachtet. In den Mittelwertdiagrammen aller Patienten sind von den Konzentrationen des S(+)-Isofluran in der Atemluft 20 Messtage (Abb. Nr. 5) und in den Blutproben 10 Messtage (Abb. Nr. 6) aufgeführt. Ab dem 20. Messtag (19. post-OP-Tag) war aufgrund der niedrigen Isoflurankonzentration in der Atemluft nur ein bedingt zuverlässiges Messergebnis zu erzielen.

Während einer Narkose mit Isofluran erhalten Patienten ein racemisches Gemisch, in dem die rechts- und linksdrehenden Isofluranmoleküle in einem Verhältnis von 50%: 50% vorliegen.

In der vorliegenden Studie ergaben sich bei den Razematkontrollwerten von volatilem Isofluran (Atem) sowie von mit Wasser versetztem Isofluran (Blut) keine wesentlichen Abweichungen vom 50 %: 50 %- Verhältnis. Dies konnte bereits in mit Isofluran versetzten Blutproben beobachtet werden (42).

Aus der Analyse der **Atemproben** ergab sich bei allen Patienten eine passagere postoperative Anreicherung des S(+)-Enantiomers, die bei fast allen Patienten bereits kurz nach der Operation nachzuweisen war. Das Maximum des Anstiegs der Mittelwertkonzentration wurde am 4. post-OP-Tag beobachtet (50,49 %; $p < 0,0001$). Am 5. Tag nach der Operation war eine deutliche Verminderung der Konzentration des S(+)-Isofluran auf 49,59 % ($p < 0,0032$) mit Umkehrung des Enantiomerenverhältnisses zugunsten des R(-)-Enantiomers zu verzeichnen. Trotz geringer Zunahme des S(+)-Enantiomers (49,77 %) zum 7. postoperativen Tag hin wurde die 50 %- Grenze nicht mehr erreicht. Ab diesem Zeitpunkt nahm der Anteil des S(+)-Isofluran bis zum Ende des Beobachtungszeitraums kontinuierlich ab (48,08 %; $p < 0,0005$) (Abb. Nr. 4).

Die Konzentration des R(-)-Isofluran verhält sich komplementär zum S(+)-Enantiomer, sodass die Gesamtkonzentration stets 100 % ergeben muss. Der Konzentrationsverlauf ist dementsprechend gegenläufig. Der höchste Einzelwert des S(+)-Isofluran in der Atemluft wurde mit 51,61 % am 3. post-OP-Tag gemessen, der niedrigste Wert des S(+)-Isofluran mit 46,37 % am 5. Tag.

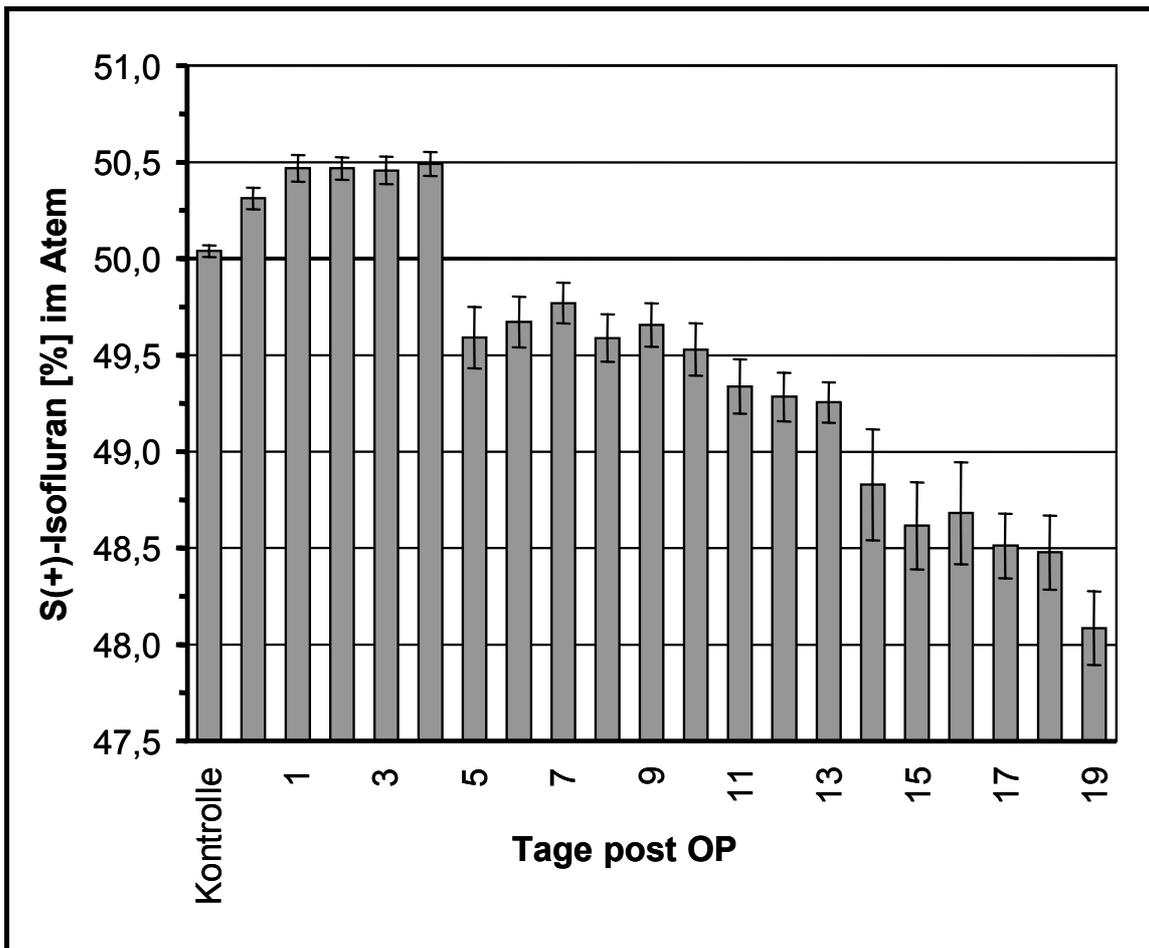


Abb. Nr. 4: Mittelwertdiagramm des S(+)-Enantiomers im Atem.

Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardfehler (SEM). Das Ausgangsverhältnis des applizierten Razemats ist als Kontrollwert angegeben.

Die individuellen Konzentrationsverläufe der einzelnen Patienten weisen im Atem tendenziell ähnliches Verhalten auf. Allgemein lässt sich die passagere Anreicherung des S(+)-Isofluran, die erste ausgeprägte Konzentrationsminderung am 5. Tag nach der Operation sowie die generelle Abwärtstendenz ab dem 7. postoperativen Tag erkennen. Abb. Nr. 5 zeigt die individuellen Konzentrationsverläufe in der Expirationsluft als Liniendiagramm.

In Tab. Nr. 5 und 6 im Anhang sind die Enantiomerenverhältnisse des Isofluran in Atem und Blut der einzelnen Patienten aufgeführt.

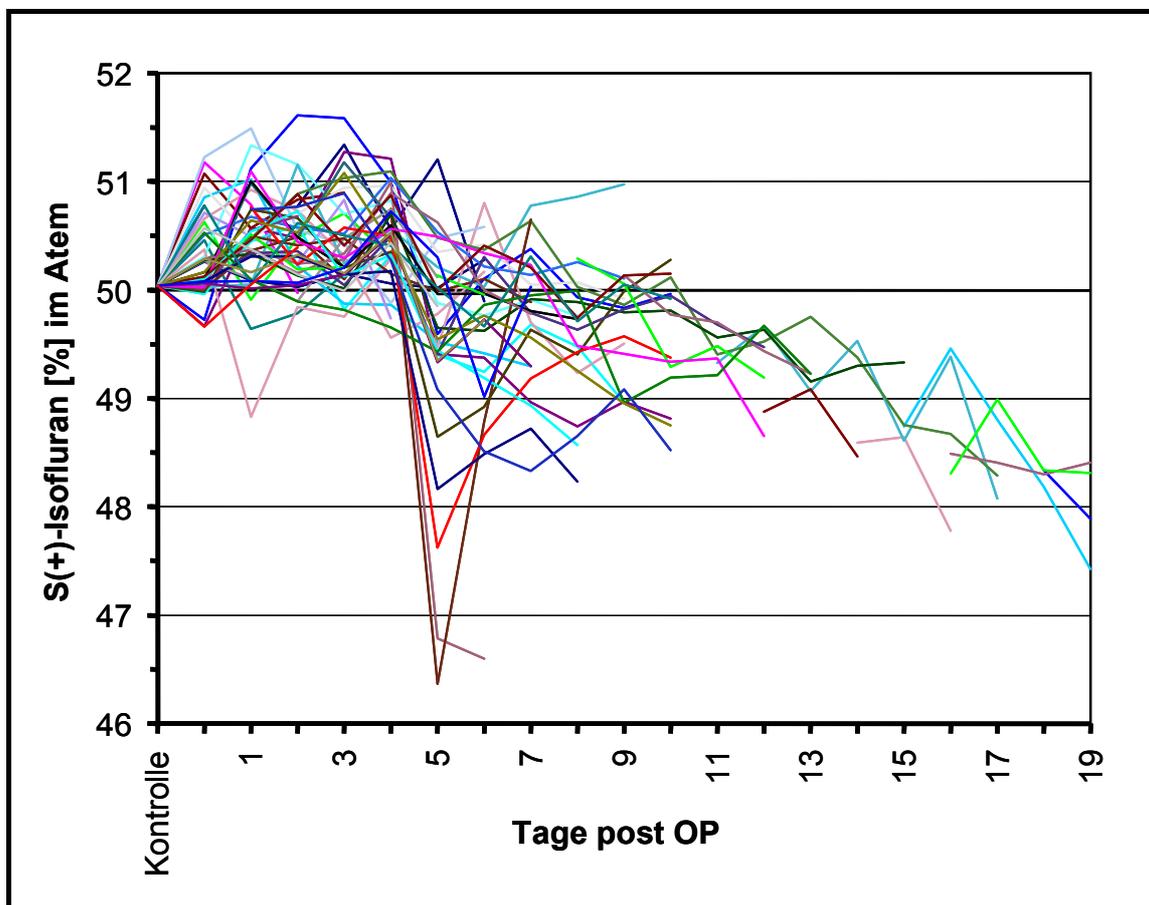


Abb. Nr. 5: Relativwerte der individuellen Konzentrationen des S(+)-Isofluran in der Expirationsluft der Patienten an den jeweiligen Messtagen.

Ausgangskonzentration ist das applizierte Razemat.

Bei den **Blutproben** waren kongruente Beobachtungen zu machen (Abb. Nr. 6). Hier betrug der Maximalwert der durchschnittlichen S(+)-Isoflurankonzentration 51,45 % (3. postoperativer Tag). Der Mittelwert des 4. post-OP-Tag lag im Vergleich zum Vortag unwesentlich niedriger (51,32 %; $p < 0,0001$ in Bezug auf Kontrollwert). Ein Minimum wurde an Tag 6 verzeichnet (50,64 %), wobei die Werte an Tag 8 und 9 nicht bewertet werden konnten, da jeweils nur ein Messwert vorlag.

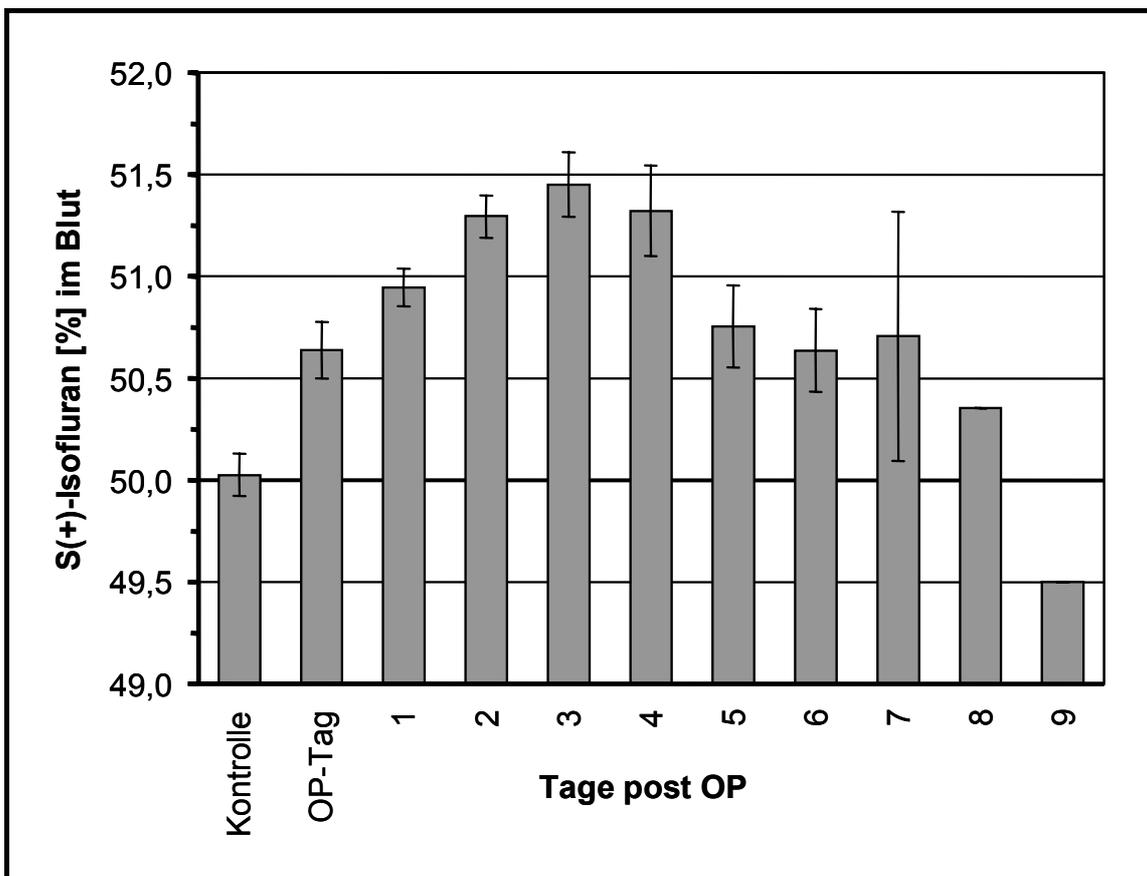


Abb. Nr. 6: Mittelwertdiagramm des S(+)-Enantiomers im Blut.

Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardfehler. Das Ausgangsverhältnis des applizierten Razemats ist als Kontrollwert angegeben.

Im Blut weisen die individuellen Konzentrationsverläufe des S(+)-Isofluran keinen einheitlichen Verlauf auf. Diese unterschreiten allerdings die 50 %- Grenze im Vergleich zu den Atemproben nur in wenigen Fällen, sodass hauptsächlich das S(+)- Enantiomer überwiegt. Tendenziell sind vergleichbare Verläufe mit dem Maximum am 3. postoperativen Tag zu erkennen (Abb. Nr. 7).

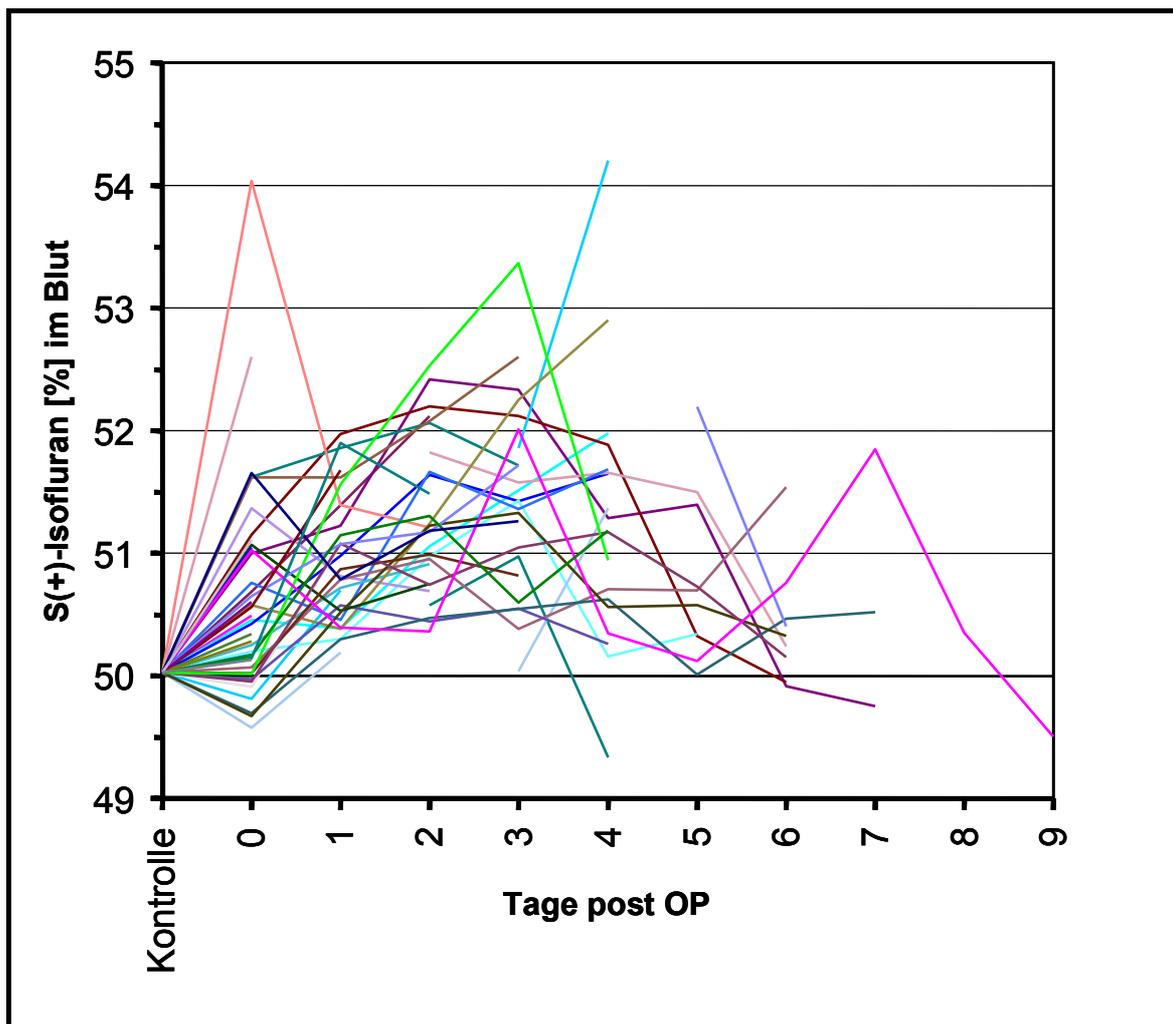


Abb. Nr. 7: Relativwerte der individuellen Konzentrationen des S(+)-Isofluran im Blut der Patienten an den jeweiligen Messtagen.

Ausgangskonzentration ist das applizierte Razemat.

3.3. Intraoperative Lachgasapplikation

Aufgrund des „second-gas-Effekt“ beschleunigt Lachgas den alveolären Konzentrationsanstieg eines simultan verabreichten volatilen Anästhetikums (32). Um festzustellen, ob die intraoperative Applikation von Lachgas Auswirkungen auf die Verteilung der Isofluranenantiomere hat, wurde das Patientenkollektiv in zwei Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 (n=36) beinhaltet Patienten, deren Narkose mit N₂O geführt wurde, Gruppe 2 (n=8) Patienten, die während der operativen Phase kein Lachgas erhielten. Der S(+)-Anteil der beiden Gruppen wurden in einem Mittelwertdiagramm dargestellt (Abb. Nr. 8). Aus diesem Diagramm wird ersichtlich, dass sich die Konzentrationsverläufe nur wenig unterscheiden. Dabei ist keine einheitliche Tendenz erkennbar. Die bestehenden Konzentrationsdifferenzen zwischen den beiden Gruppen sind nicht signifikant (Tab. Nr. 7 im Anhang).

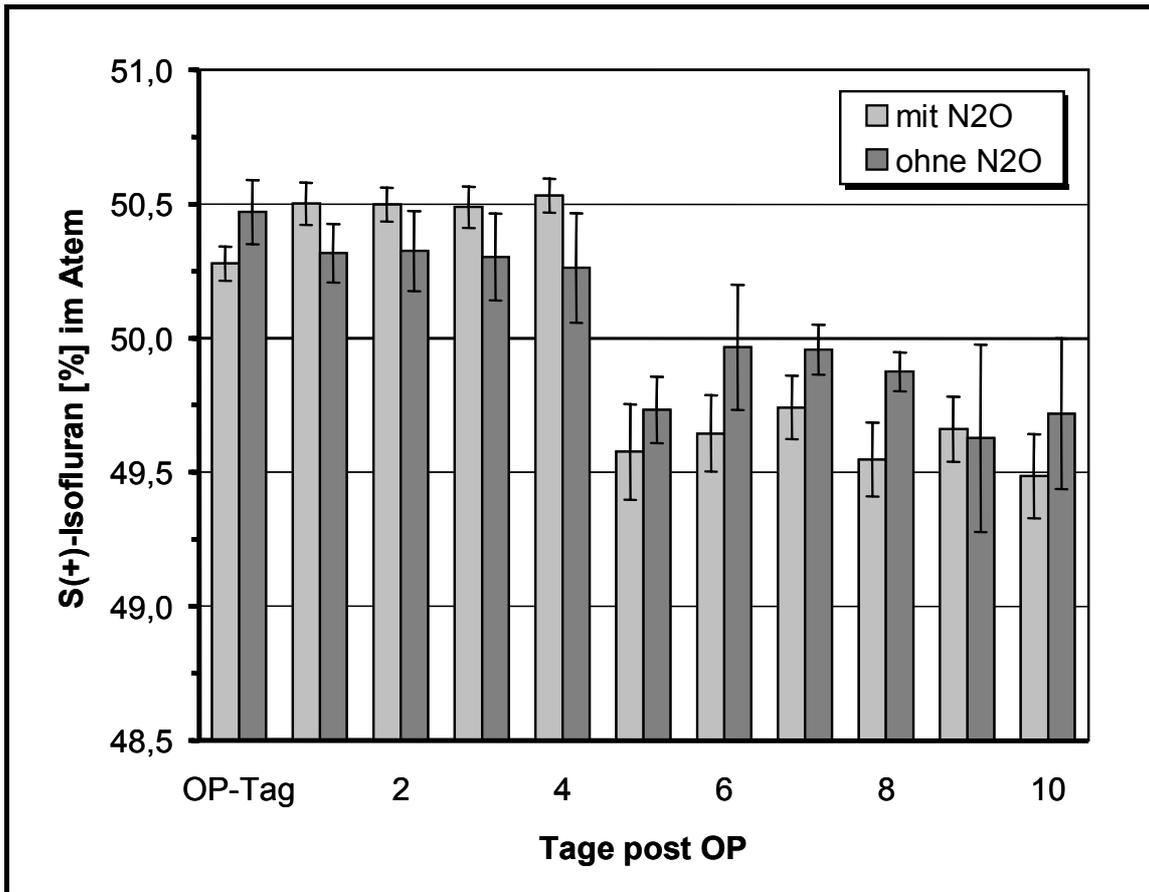


Abb. Nr. 8: Narkose mit/ ohne Lachgas.

Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler.

3.4. Geschlechtsunterschiede

Aufgrund der geschlechtsspezifischen Muskel-Fettgewebs-Relation wurde in der vorliegenden Studie analysiert, ob in der Enantiomerverteilung im Laufe der postoperativen Phase zwischen den weiblichen und männlichen Patienten Differenzen nachzuweisen waren.

Das Mittelwertdiagramm (Abb. Nr. 9) weist beinahe identische Verläufe beider Gruppen auf, signifikante Konzentrationsunterschiede sind nicht zu verzeichnen (Tab. Nr. 8 im Anhang).

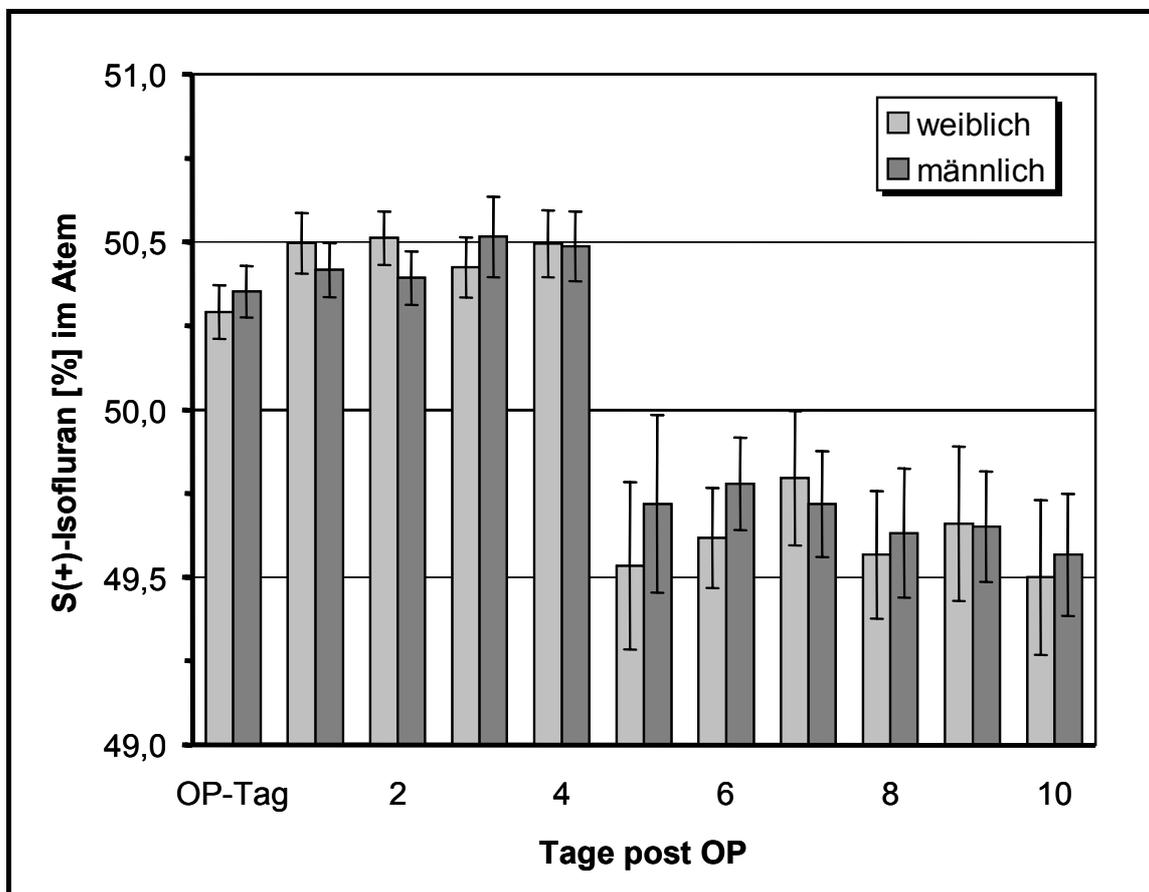


Abb. Nr. 9: Geschlechtsunterschiede.

Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler.

3.5. Konstitutionstypen

Da die Fettgewebsverteilung und -menge nicht nur vom Geschlecht, sondern auch dem Konstitutionstyp des Patienten abhängt, wurde das Patientenkollektiv anhand des Body-Mass-Index in drei Untergruppen eingeteilt. Die Mittelwerte der Isoflurankonzentrationen innerhalb der Gruppe der Normalgewichtigen ($BMI \leq 25$, $n=20$), der Übergewichtigen ($25 < BMI \leq 30$, $n=18$) und der Adipösen ($BMI > 30$, $n=8$) lassen keinen Zusammenhang zwischen Konstitutionstyp und Enantiomerenverteilung in der Exspirationsluft erkennen (Abb. Nr. 10, Tab. Nr. 9 im Anhang)

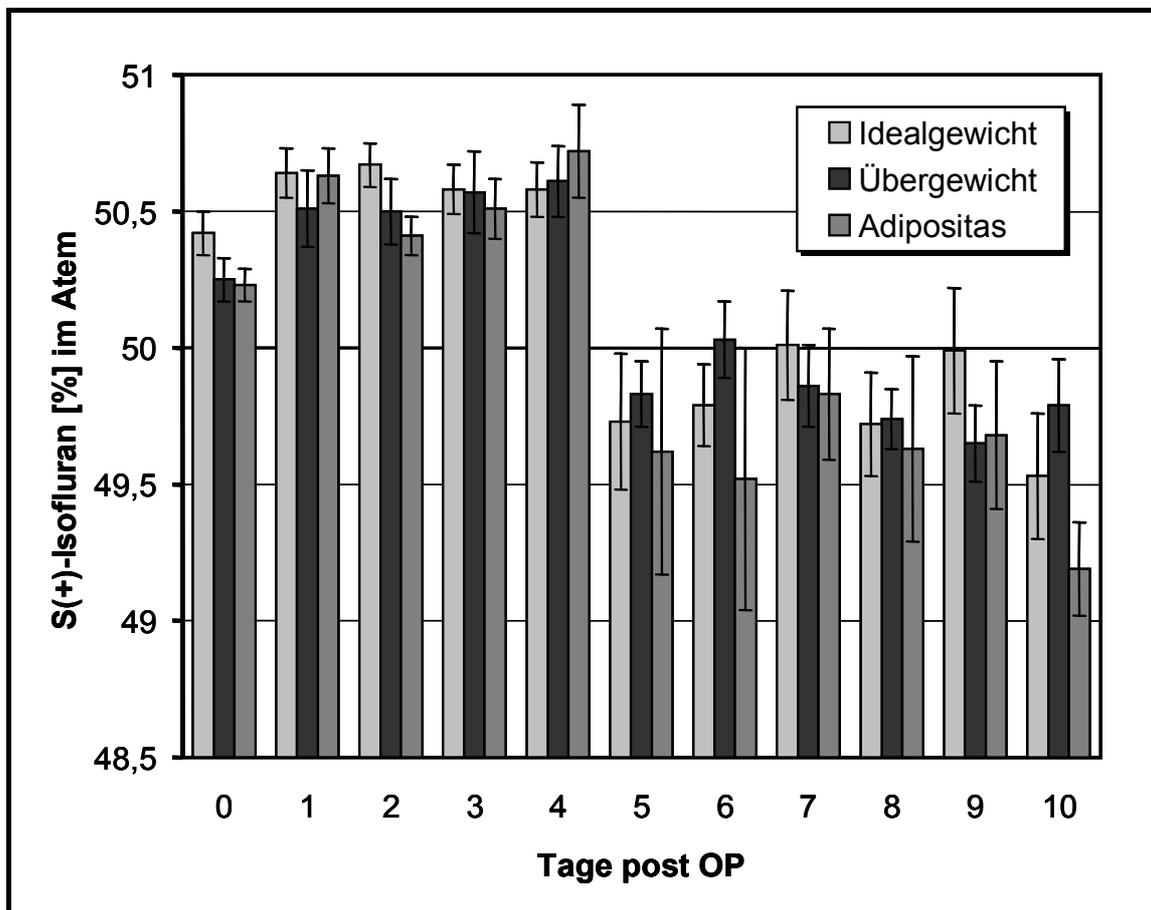


Abb. Nr. 10 : Konstitutionstypen.

Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler.

3.6. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Das Ausgangsverhältnis der Isofluranenantiomere in der **Expirationsluft** verlagerte sich bereits am Ende der Narkose zugunsten des S(+)- Isofluran.
2. Im Konzentrationsverlauf des S(+)-Enantiomers im Atem ist ein signifikantes Maximum mit 50,49 % am 4. postoperativen Tag zu verzeichnen ($p < 0,0001$). Dies entspricht einem Enantiomerenanstieg um 0,45 Prozentpunkte im Vergleich zum Kontrollwert.
3. Das Enantiomerenverhältnis kehrt sich am 5. postoperativen Tag zugunsten des rechtsdrehenden Isomers um ($p < 0,0032$).
4. Am 7. Tag nach der Operation wurde ein zweiter weniger stark ausgeprägter Anstieg des S(+)-Isofluran von 49,59 % (5. Tag) auf 49,77 % gemessen. Die Konzentration des S(+)-Enantiomers fällt nach dem 7. postoperativen Tag kontinuierlich bis auf 48,08 % am 19. Tag ab ($p < 0,0005$); (Tab. Nr. 5, Abb. Nr. 4).
5. Die individuellen Konzentrationsverläufe der einzelnen Patienten weisen vergleichbare Tendenzen auf (Abb. Nr. 5).
6. Das Enantiomerenverhältnis wird von der intraoperativen Applikation von N_2O , dem Geschlecht des Patienten und dessen Konstitutionstyp nicht beeinflusst.
7. In den **Blutproben** findet sich im Vergleich zum Atem ein größerer Anteil des S(+)-Isofluran an der Gesamti Isofluranmenge. Das Enantiomerenverhältnis war zum Zeitpunkt der ersten Messung ebenfalls signifikant zugunsten des S(+)-Enantiomers verschoben ($p < 0,0001$), mit dem ersten Maximum am 3. postoperativen Tag (51,45 %). Das S(+)-Enantiomer überwiegt während des gesamten Beobachtungszeitraums (Tab. Nr. 6, Abb. Nr. 6).

4. Diskussion

4.1. Isofluran

Pharmaka können chemisch als chirale Verbindung vorliegen. In der Anästhesiologie macht der Anteil der angewandten chiralen Wirkstoffe annähernd 60 % aus (4). Bei vielen Anästhetika erwies sich das (+)-Enantiomer als das wirkungsstärkere und im klinischen Gebrauch vorteilhaftere gegenüber dem (-)-Enantiomer (2,4,44). Die Inhalationsnarkotika Halothan, Enfluran, Isofluran oder Desfluran sind als racemische Gemische im klinischen Gebrauch.

Seit der Zulassung als Medikament im Jahre 1984 in Deutschland fand Isofluran als Razemat bis heute eine weite Verbreitung in der klinischen Anwendung. Isofluran wurde bereits in mehreren Studien auf Enantio-merenselektivität in Pharmakokinetik und -dynamik überprüft. Einige Untersuchungen ergaben, dass sich die Enantiomere in ihrer Proteinbindung (37,41) und Wirkung (21,27,38) unterscheiden.

Die beiden Enantiomere sind mittlerweile durch Auftrennung des Razemats in kleinen Mengen herstellbar (25) und konnten somit auf ihre spezifischen Wirkungen hin untersucht werden. Nachdem in einer Pilotstudie von Juza et al. die postoperative Anreicherung des (+)-Isofluran in Patientenblut festgestellt wurde (29), folgte die Überprüfung dieser enantio-merenselektiven Anreicherung an einer größeren Anzahl Patienten. Häberle et al. und Schmidt et al. beobachteten 41 Patienten bis zum 8. Tag nach der Operation. Die Anreicherung des (+)-Isofluran betrug während der postoperativen Phase durchschnittlich $52,1 \pm 0,1$ % (MW \pm SEM) (20,42).

In der vorliegenden Studie wurde nun das postoperative Verhalten der Isofluranenantiomere in der Atemluft und gleichzeitig im Blut von Patienten untersucht.

Diskussion der Methodik

Die Probenentnahmen fanden am OP-Tag unmittelbar nach Erwachen des Patienten aus der Narkose sowie im Anschluss daran täglich statt. Zum Vergleich wurden parallel dazu Blutproben entnommen. Bei den Atemproben wurden maximal bis zum 24., von den Blutproben bis zum 9. postoperativen Tag Messungen durchgeführt.

Der Anteil der Isofluranenantiomere wurde in der Expirationsluft mittels Thermodesorption-GC/MS, in den Blutproben durch Headspace-GC/MS erfasst. Um eine eindeutige Identifizierung der Isofluranmoleküle zu gewährleisten, wurde für beide Verfahren der Single-Ion-Modus benutzt.

Die Verbindung von Thermodesorption mit Gaschromatographie/ Massenspektrometrie stellt eine zuverlässige Methode zur Qualifizierung und Quantifizierung volatiler Anästhetika dar. In der vorliegenden Studie betrug der Variationskoeffizient der Messungen zur qualitativen Bestimmung des Razematausgangswertes mittels Thermodesorption-GC/MS 0,2-0,4 % (Atemproben), mittels Headspace-GC/MS 0,3-0,7 % (Blutproben). Somit konnte hier von einer hohen Messgenauigkeit ausgegangen werden.

Bei sehr niedrigen Isoflurankonzentrationen, wie sie in der Expirationsluft nach dem 20. Messtag nachzuweisen waren, wurde die Integration der Peakflächen im Chromatogramm zunehmend schwierig. Dies machte eine exakte Angabe des Enantiomerenverhältnisses bei zu geringen Isoflurankonzentrationen, die geringfügig oberhalb der Nachweisgrenze lagen, nur bedingt möglich. Aufgrund dieser Beobachtung werden Messergebnisse, die ab dem 20. Tag erhoben wurden, nicht in der Studie aufgeführt. Bis zum 20. Messtag waren die Enantiomere in ausreichender Konzentration vorhanden.

4.2. Interaktion der Isofluran-Enantiomere

Um eine Erklärung für das enantiomerenspezifische Verhalten der Isofluranisomere zu finden, müssen die möglichen Wechselwirkungen, die diese mit Lipiden, Proteinen und den verschiedenen Gewebearten aufweisen, in Betracht gezogen werden.

Die in Fett, Muskulatur und Gehirn unterschiedliche Elimination des *razemischen* Isofluran wurde bereits 1986 in einer *in vitro*-Untersuchung an Kaninchen belegt, in welcher die gaschromatographisch gemessene Konzentration über mehrere Stunden nach Isofluranapplikation dargestellt wird (45).

4.2.1. Lipide

Durch seine Lipophilie weist Isofluran eine große Löslichkeit im Fettgewebe auf. Da das Fettgewebe schlecht durchblutet ist (4 % des HZV, 8 ml/min/100 g in Ruhe (31)), findet die Anreicherung bzw. der Anstieg des Partialdruckes darin nur langsam statt. Die Aufsättigung ist erst nach einigen Stunden abgeschlossen (32). Das Isofluran wird sehr lange im Fettgewebe gespeichert und von dort nur allmählich ans Blut abgegeben. Es ist davon auszugehen, dass das Isofluran aufgrund dieser Depotfunktion des Fettgewebes während des postoperativen Zeitraumes von über 20 Tagen in der Expirationsluft, in früheren Studien im Blut über 9 Tage (20,42) nachzuweisen war und somit die postoperative Analytik der Isofluranenantiomere ermöglichte.

In welcher Form die Isofluranenantiomere im Gewebe gespeichert werden, ist nicht ohne weiteres erklärbar. Die Fettlöslichkeit und die Effekte der Enantiomere an Lipidmembranen sind laut Franks und Lieb nicht enantiomerenselektiv (14). Dies schließt die Möglichkeit nicht aus, dass das bereit im Blut „stereoselektierte“ Isofluran ins Fettgewebe dif-

fundiert und in dem im Blut vorliegenden Verhältnis darin gespeichert wird. Im Gegensatz dazu könnte das Isofluran-Razemat unverändert das Fettgewebe erreichen und erst nach bzw. durch stereoselektive Rückdiffusion den stereospezifischen Veränderungen unterliegen.

4.2.2. Proteine

Die stereoselektive Wirkung chiraler Pharmaka an Proteine ist schon länger erforscht und bekannt. So stellten Franks und Lieb 1991 fest, dass die Isofluranenantiomere stereospezifische Wechselwirkungen mit Protein-Bindungsstellen aufweisen (14). Für die Interaktion des Isofluran mit Proteinen spricht auch eine Studie von Namba et al., in der die Beeinflussung geklonter unterschiedlicher Kalzium- aktivierter Kaliumkanäle durch volatile Anästhetika beschrieben wird (39). In einer weiteren Studie wurden volatile Anästhetika mit Hilfe von Rinderserumalbumin, welches sich besonders zur Untersuchung der Proteinbindung eignet, auf Bindungsverhalten und Dissoziationsrate untersucht. Dabei wurden unterschiedliche Assoziations- und Dissoziationsraten der Isofluranenantiomere nachgewiesen (51), was ebenfalls ein Hinweis auf Stereospezifität der Enantiomere darstellen würde. Dies könnte auch die von Schmidt et al. beobachtete postoperative Anreicherung von (+)-Isofluran im Blut erklären. Hierbei ergaben sich Konzentrationsmaxima von 52,1% am 2. und 7. post-OP-Tag. Während der gesamten Beobachtungsdauer bis zum 8. postoperativen Tag lag die Konzentration des (+)-Isofluran dabei stets deutlich über 50 % (42).

Die Studienergebnisse von Schmidt et al. konnten durch die aktuelle Untersuchung bezüglich des 3. postoperativen Tages bestätigt werden. Im Vergleich zu der Studie von Schmidt war in der hier vorgestellten Studie die Patientenzahl am 7.Tag nach der Operation zu gering (n=3), um eine repräsentative Aussage über den S(+)-Anteil machen zu können.

In der Muskulatur und im Organgewebe ist die Anreicherung des Anästhetikums stark von der Gewebelöslichkeit und der Durchblutung abhängig. Im fettfreien Gewebe entspricht dessen Konzentration annähernd der Konzentration im Blut. Je stärker das entsprechende Organ durchblutet wird, desto schneller stellt sich dort ein Konzentrationsgleichgewicht ein. Das bedeutet umgekehrt, dass die Elimination des Anästhetikums bei geringer Durchblutung umso länger dauert (32). Muskelgewebe wird bei einer Perfusionsrate von 19 % des Herzzeitvolumens (HZV) mit 2-4 ml/min pro 100g in Ruhe durchblutet (31). Von einer vollständigen Aufsättigung mit dem volatilen Anästhetikum kann frühestens nach ca. 90 min ausgegangen werden (32). In der vorliegenden Untersuchung lag die Operationsdauer zwischen 90 und 450 Minuten, sodass anzunehmen ist, dass sich bei allen Patienten ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen Blut und Muskulatur einstellen konnte.

Von der anästhetisch wirksamen Konzentration wird der größte Teil innerhalb der ersten Minuten nach Beenden der Gaszufuhr abgeatmet. Der bis zu diesem Zeitpunkt ins Muskelgewebe diffundierte und gespeicherte Anteil wird jedoch, bedingt durch die Proteinbindung im Gewebe, über einen Zeitraum von mehreren Tagen durch Diffusion ins Blut und Übergang in die Alveolen eliminiert (32). Zu überlegen ist, inwieweit das stereospezifische Verhältnis der Isofluran-Enantiomere in der Atemluft Rückschlüsse auf die Verteilung der Enantiomere in der Muskulatur zulässt. Diffundierten beide Isofluranenantiomere gleichermaßen ins Blut und gelangten somit in die Expirationsluft, wäre von einem analogen Verhältnis in der Muskulatur auszugehen. Gelangt andererseits eines der beiden Enantiomere bevorzugt ins Blut, müssten diese in der Muskulatur in entgegengesetzter Relation vorliegen.

Angesichts der oben aufgeführten Untersuchungen liegt die Vermutung nahe, dass der enantiomerenspezifische Konzentrationsverlauf in der vorliegenden Studie im Zusammenhang mit dem unterschiedlichen

Bindungsverhalten zu sehen ist. Zu beachten ist hierbei, dass es nicht nur zu einer postoperativen Anreicherung des (+)-Isofluran kam, sondern dass sich diese im Laufe der postoperativen Phase in den Atemproben zugunsten des (-)-Isofluran umkehrte. Wenn man also davon ausgeht, dass die primäre Anreicherung des (+)-Enantiomers auf eine stärkere Bindung zurückzuführen ist, stellt sich die Frage nach dem Grund für die Umkehrung dieses Verhältnisses ab dem 5. postoperativen Tag. Diese Beobachtung kann nicht gänzlich auf das oben beschriebene Bindungsverhalten zurückgeführt werden. Wenn das (+)-Isofluran stärker an Proteine oder Albumine gebunden bliebe, wäre zu erwarten, dass die anfängliche Verschiebung des Gleichgewichts zum (+)-Enantiomer über die Dauer der Beobachtung hinweg beibehalten würde. Somit könnte diese Protein- bzw. Plasmaalbuminbindung eine Erklärung für die Anreicherung des (+)-Isofluran lediglich während der ersten postoperativen Tage darstellen.

Bis zum 4. postoperativen Tag stieg die S(+)-Enantiomerenkonzentration im Blut steiler an als in der Exspirationsluft. Der Rückgang der S(+)-Enantiomerenkonzentration im Blut erfolgte im Vergleich zum Atem langsamer, sodass sich die Enantiomerenrelation in der Exspirationsluft am 5. Tag nach der Operation zugunsten des R(-)-Isofluran umkehrte, während das S(+)-Enantiomer im Blut bis zum 8. post-OP-Tag über der 50 %-Marke blieb.

Die Enantiomeren-Konzentrationsgradienten zwischen Exspirationsluft und Blut könnten weitere Hinweise auf die Speicherungs-, Bindungs- und Eliminationsmechanismen geben. Eine Ursache für den Enantiomeren-Überschuß wäre die periphere Umverteilung der Isofluranenantiomere innerhalb des Körperkreislaufes durch stereospezifische Pharmakokinetik an Rezeptoren und Proteinen. Dadurch könnten die Enantiomere im peripheren Blut noch vor der Passage der Lungenstrombahn nachweisbar sein. Möglicherweise hätte dies dann auch eine zeitversetzte alveoläre Elimination zur Folge. Somit könnte die Konzentration

im pulmonalen Kreislauf trotz identischer Löslichkeits- und Diffusionskoeffizienten der beiden Enantiomere differieren.

4.2.3. ZNS

Durch das Bestreben der volatilen Anästhetika, in allen Körperkompartimenten einen Konzentrationsausgleich zu erzielen, reichern sie sich nicht nur am eigentlichen Zielort, dem ZNS, an. Die Konzentrationsänderung ist unmittelbar von der Gewebedurchblutung und Umverteilung in andere Geweberäume abhängig. Folglich flutet das Narkosemittel im Gehirn, das mit 14 % einen großen Anteil am Herzminutenvolumen aufweist und mit 50-60 ml/min/100 g Gewebe durchblutet wird (31), rasch an bzw. ab. Die Geschwindigkeit des Abflutens ist von der Dauer der Narkose abhängig. Mit zunehmender Narkosedauer gleichen sich die unterschiedlichen Konzentrationen in den Körperkompartimenten immer mehr an, sodass nach Beendigung der Zufuhr die Rückverteilung aus dem Gehirn in das umliegende Gewebe wesentlich langsamer erfolgt (32).

Die Pharmakokinetik des razemischen Isofluran direkt im Gehirn mittels ^{19}F -NMR-Technik wurde bereits von zahlreichen Arbeitsgruppen untersucht (35,45,49) und von Litt et al. detailliert beschrieben (33). Mills et al. konnten im Gehirn von Kaninchen *in vivo* den Konzentrationsabfall des Isofluran durch eine exponentielle Funktion darstellen (35). Deren Eliminationshalbwertszeit wurde mit $T_{1/2} = 36$ Minuten angegeben, im Vergleich zu $T_{1/2} = 26$ Minuten in einer anderen Studie (49).

Viele Hinweise sprechen dafür, dass die Isofluranenantiomere selektiv an Proteinen agieren. Quinlan et al. berichten über den stereoselektiven Effekt des Isofluran am GABA_A -Rezeptor auf den Chloridfluss. Die

Enantiomere verstärkten den Chloridfluss in einem Verhältnis von 1,6:1 ((+):(-)) (41). Dieses Verhältnis stimmt mit dem von Lysko et al. überein, die bei Ratten unterschiedliche MAC-Werte für die beiden Isofluranenantiomere feststellten. Das Verhältnis der MAC-Werte betrug 1,06 ($\pm 0,07$) %: 1,62 ($\pm 0,02$) % ((+):(-)). Aus dieser Relation kann man auf eine um 53% höhere Potenz des (+)-Enantiomers schließen, da hier eine geringere Konzentration für den gleichen Effekt benötigt wurde (34). Dies spricht für direkte Interaktion des Isofluran mit Kanalproteinen und nicht mit Lipidmembranen.

Eine Studie von Hall et al. beschreibt bei einer EC50 äquivalenten Isoflurankonzentration, wie sie bei der Allgemeinanästhesie üblich ist, stereospezifische Wirkungen der Isofluranenantiomere am GABA_A-Rezeptor. Das S(+)-Enantiomer löste ein beinahe doppelt so hohes Membran-Potential an isolierten zerebellaren Purkinjoneuronen von Ratten aus wie das R(-)-Enantiomer (21).

Jones und Harrison machten ähnliche Beobachtungen bei der Untersuchung GABA_A-Rezeptor vermittelter postsynaptischer inhibitorischer Potentiale (IPSP) an Hippocampusneuronen von Ratten. Das IPSP wurde durch das S(+)-Isofluran ungefähr um das zweifache verlängert, was für eine strukturell stereospezifische Interaktion zwischen GABA_A-Rezeptor/Kanalprotein-Komplex und dem Isofluranmolekül sprechen würde. Sie hielten es für unwahrscheinlich, dass diese Effekte auf eine nicht-spezifische Beeinflussung der Lipid-Membran zurückzuführen sind, sondern vielmehr auf stereospezifische Wechselwirkungen mit Proteinbindungsstellen (27).

Aufgrund der starken zerebralen Gewebsdurchblutung ist im Gegensatz zu den weniger perfundierten Organen zu vermuten, dass das Isofluran durch den vorhandenen Konzentrationsgradienten trotz seiner Lipophilie nicht sehr lange im Gehirn gespeichert wird. Interessant ist hierbei die Frage, über welchen Zeitraum die vom Gehirn stammenden Isofluranenantiomere – isoliert betrachtet – im Atem nachzuweisen sind. Durch die geringere zerebrale Masse und gleichzeitig stärker ausge-

prägten Lipophilie ist eine Einordnung im Vergleich zur Muskulatur nur schwer abzuschätzen. Andererseits wird die Dauer mit Sicherheit unter der des Fettgewebes liegen. An dieser Stelle spielt zusätzlich die Art der Proteinbindung und Speicherung eine wichtige Rolle als Einflussgröße auf die Nachweisdauer.

Während der postoperativen Phase wird der Konzentrationsabfall pro Zeiteinheit immer geringer. Folge dessen kann man davon ausgehen, dass für den Konzentrationsausgleich zwischen allen Körperkompartimenten immer mehr Zeit benötigt wird. Eine enantiomerenspezifische Speicherung oder Umverteilung des Isofluran ausschließlich in einem oder aber mehreren Körperkompartimenten ist zu eruieren. Auch eine kompartiment-selektive Speicherung in Abhängigkeit vom Löslichkeitskoeffizienten wäre möglich.

Die Frage, welche der genannten Gewebearten aufgrund der organbezogenen stereospezifischen Interaktion ausschlaggebend für den beobachteten Konzentrationsverlauf sein könnten, kann nicht vollständig beantwortet werden. Die in der Atemluft gemessenen Isofluranenantiomere spiegeln die Endstrecke bzw. das Resultat komplexer Wechselwirkungen wider. Aufgrund des oben gesagten kann man jedoch davon ausgehen, dass mehrere Körperkompartimente am Konzentrationsverlauf beteiligt sind und sich dessen Diagramm aus der Überlagerung der einzelnen gewebespezifischen Verlaufskurven zusammensetzt. Angesichts der langen Verweildauer der Restisofluranmenge im Organismus sind weitere Interaktionsvorgänge nicht auszuschließen.

4.2.4. Auswirkung von Begleitfaktoren auf die Enantiomerenverteilung

4.2.4.1. Lachgas

Eine weitere Einflussgröße auf die Enantiomerenverteilung des Isofluran könnte die simultane Applikation von Lachgas (N_2O) darstellen. So beschreibt beispielsweise eine Studie von Hapfelmeier et al. die Erhöhung des Effekts von Isofluran auf die GABAerge Übertragung in Anwesenheit von N_2O (22). Folglich könnten auch bezüglich der stereoselektiven Wirkung und Verteilung der Isofluranenantiomere Interferenzen auftreten.

Die gleichzeitige Verwendung von N_2O setzt durch die Wirkungsverstärkung anderer Anästhetika den MAC-Wert der volatilen Anästhetika erheblich herab. Aufgrund dessen wäre eine Beeinflussung der Pharmakokinetik des Isofluran nicht auszuschließen. Bisher wurde keine Metabolisierung des N_2O nachgewiesen. Die Eliminierung erfolgt fast ausschließlich über die Lungen (12).

In der vorliegenden Untersuchung wurden Enantiomerenkonzentration und -verlauf der Patienten, die während der Operation Lachgas erhielten und bei denen eine Interaktion mit den Isofluran-Enantiomeren möglicherweise zu erwarten wäre, mit dem Restkollektiv verglichen. Zwischen den entsprechenden Gruppen waren nur geringfügige Konzentrationsunterschiede zu verzeichnen, die statistisch keine Signifikanz aufwiesen (Abb. Nr. 8).

Aufgrund dieser Ergebnisse ist zu vermuten, dass die simultane Gabe von Isofluran und Lachgas keine Auswirkungen auf die postoperative Enantiomerenverteilung des Isofluran hat.

4.2.4.2. Geschlecht

Die geschlechtsspezifisch unterschiedliche Muskel- Fettgewebe-Relation könnte eine mögliche Einflussgröße auf die Enantiomerenverteilung darstellen. Daher wurde der Enantiomerenverlauf der weiblichen Patientinnen (n=27) mit dem der männlichen Patienten (n=14) verglichen. Die Auswertung der Enantiomerenverteilung beider Gruppen ließ keine signifikanten Konzentrationsdifferenzen erkennen (Abb. Nr. 9).

4.2.4.3. Konstitutionstyp

Zu bedenken ist, dass die Verteilung von Fett und Muskulatur nicht nur vom Geschlecht, sondern auch von der körperlichen Konstitution des einzelnen abhängt. Deswegen wurde jeder Patient seinem Body-Mass-Index entsprechend eingeteilt und die einzelnen Gruppen untereinander verglichen. Auch hier waren keine statistisch signifikanten Unterschiede zu verzeichnen (Abb. Nr. 10). Diese Beobachtung deckt sich mit dem Studienergebnis vorliegender Untersuchungen, die kein stereospezifisches Verhalten der Isofluran-Enantiomere in Bezug auf ihre Lipidlöslichkeit (7,13) beziehungsweise Anreicherung im Fettgewebe (20,42) belegen.

Somit kann davon ausgegangen werden, dass weder das Geschlecht noch die individuelle Muskel-Fettgewebs-Relation Auswirkungen auf Enantiomerenverteilung oder bevorzugte -speicherung haben.

4.3. Biotransformation

Isofluran ist ein chemisch stabiles Gas, das nur zu 0,17 % verstoffwechselt wird. Dadurch zeichnet es sich durch geringe Hepato- und

Nephrotoxizität aus. Die Ausscheidung der Metaboliten organische Trifluoressigsäure und anorganisches Fluor erfolgt über die Nieren, der restliche Anteil wird unverändert über die Lungen abgeatmet (12).

Garton et al. stellten fest, dass das volatile Anästhetikum Enfluran einem stereoselektiven Metabolismus durch humanes Cytochrom P450 2E1 unterliegt. Dabei wies das (R)-Enantiomer eine beinahe doppelt so große Metabolisierungsrate auf wie das (S)-Enfluran, was die Hypothese unterschiedlich stereochemischer Metabolisierung unterstützte (15).

Isofluran könnte als Isomer zum Enfluran möglicherweise ähnlichen Mechanismen unterworfen sein.

Falls die Verschiebung des razemischen Gleichgewichts ausschließlich auf eine stereoselektive Metabolisierung der Isofluranenantiomere zurückzuführen ist, wäre der Konzentrationsunterschied im Mittelwertdiagramm von 2,41 Prozentpunkten zwischen dem ersten Maximum am 4. post-OP-Tag und dem relativen Minimum am 19. postoperativen Tag erstaunlich (Tab. Nr. 5, Abb. Nr. 5). Betrachtet man die individuellen Konzentrationsverläufe der einzelnen Patienten innerhalb der ersten 20 Messtage, betrug die geringste Konzentrationsdifferenz zwischen Maximal- und Minimalkonzentration eines einzelnen Patienten 0,69, die größte 4,84 Prozentpunkte. Selbst wenn nur eines der beiden Enantiomere im postoperativen Verlauf verstoffwechselt würde, wären diese Differenzbeträge bei einer Metabolisierungsrate von 0,17 % nicht erreichbar. Somit ist die Metabolisierung des Isofluran als alleinige Ursache für die Enantiomerenanreicherung kritisch zu bewerten.

4.4. Schlussfolgerung - Ausblick

Die vorliegende Studie ermöglichte es, die als Razemat applizierten Isofluranenantiomere über einen Zeitraum von mehr als 19 Tagen nach der Operation in der Expirationsluft von Patienten nachzuweisen und deren Verlauf zu untersuchen. Die Änderung des Enantiomerenverhältnisses im Laufe der postoperativen Phase ist ein Beitrag zur Erforschung der stereospezifischen Interaktionen und Wirkungen im menschlichen Organismus.

Über die exakten Interaktionen der ursprünglich razemisch applizierten Isofluranenantiomere im Körper lassen sich nur Vermutungen anstellen. Der Organismus stellt hier gewissermaßen eine „Black box“ dar, von der lediglich In- und Output bekannt sind und deren interne Mechanismen derzeit unbekannt sind.

Um die der Expirationsluft vorgeschalteten Interaktionswege näher beschreiben zu können, wäre eine direkte Verlaufsbestimmung der Enantiomere in den einzelnen Geweben von Nutzen. Dies könnte über die enantiomerenselektiven Wirkmechanismen der in der Anästhesie gebräuchlichen Pharmaka Aufschluss geben. Die ausschließliche Applikation des S(+)-Isofluran wäre in Bezug auf Wirkdauer, Dosisreduktion und Nebenwirkungsspektrum möglicherweise dem Razemat vorzuziehen. Gegenwärtig wird die alleinige Verabreichung des Eutomers unter anderem aufgrund hoher Herstellungskosten und mangelnder Erfahrung mit der inhalativen Applikation der einzelnen Enantiomere nicht erprobt.

5. Zusammenfassung

Das Inhalationsanästhetikum Isofluran hat seit seiner Zulassung 1984 in Deutschland weite Verbreitung gefunden. Es gehört heute zu den am häufigsten benutzten volatilen Anästhetika. Im klinischen Gebrauch wird Isofluran als Razemat, einem zu gleichen Teilen aus rechts- und linksdrehenden Molekülen bestehenden Gemisch, appliziert.

In vorausgegangenen Untersuchungen wurden sowohl das Razemat als auch die beiden Enantiomere *in vitro* und *in vivo* auf ihre pharmakokinetischen und -dynamischen Eigenschaften überprüft. Dabei zeigte das S(+)-Isofluran eine längere Wirkdauer und größere anästhetische Potenz als das R(-)-Enantiomer. Ferner konnte in einer weiteren Untersuchung die postoperative Anreicherung des S(+)-Isofluran im Blut von Patienten beobachtet werden.

Die vorliegende Studie dient der Analyse der in der Expirationsluft und im Blut von Patienten nachgewiesenen Isofluranenantiomere während der postoperativen Phase.

Von 46 Patienten (29 weiblich, 17 männlich) wurde unmittelbar nach einer Isoflurannarkose sowie in 24-stündigem Abstand über einen Zeitraum von 10 ± 5 Tagen (MW \pm SD) Atemproben entnommen. Die Bestimmung der Enantiomerenkonzentration in der Expirationsluft erfolgte mittels Thermodesorption gekoppelt mit Gaschromatographie/Massenspektrometrie.

Zum Zeitpunkt der ersten Messung unmittelbar nach der Operation war die Konzentration des S(+)-Isofluran vom Ausgangswert von 50 % signifikant auf 50,31 % angestiegen (MW; $p < 0,0001$). Der Anteil des S(+)-Enantiomers nahm bis zum ersten Maximum am 4. postoperativen Tag (50,49 %) kontinuierlich zu. 5 Tage nach der Operation war

eine deutliche Verminderung der Konzentration zu verzeichnen (49,59 %). Dies führte gleichzeitig zu einer Umkehrung des Enantiomerenverhältnisses zugunsten des R(-)-Isofluran. Es folgte eine leichte Zunahme des S(+)-Enantiomers bis auf 49,77 % am 7. postoperativen Tag. Im weiteren Verlauf fiel die Konzentration des S(+)-Enantiomers kontinuierlich bis zum 19. Tag nach der Operation ab (48,08 %; $p < 0,0005$).

Bei Betrachtung der individuellen Konzentrationsverläufe sind bei den meisten Patienten die anfängliche Anreicherung des S(+)-Isofluran, die ausgeprägte Konzentrationsminderung am 5. postoperativen Tag sowie die generelle Abwärtstendenz ab dem 7. Tag nach der Operation zu erkennen.

In parallel zur Atemluft entnommenen Blutproben wiesen die Isofluranenantiomere einen analogen Verlauf bei höheren relativen S(+)-Isoflurankonzentrationen auf.

Die intraoperative Applikation von Lachgas, das Geschlecht des Patienten sowie dessen Konstitution beeinflussten die Enantiomerenverteilung nicht.

Das Verhältnis der in der Atemluft nachgewiesenen Isofluranenantiomere repräsentiert den Endzustand der im Organismus ablaufenden bzw. abgelaufenen pharmakologischen Wechselwirkungen. Die beobachtete stereospezifische Anreicherung der Enantiomere während der postoperativen Phase spricht für enantiomerenselektive Interaktionen. Dabei sind Aufnahme, Bindungsverhalten, Umverteilung, Speicherung und Elimination als Einflussgröße auf die Enantiomerenrelation jeweils unterschiedlich stark zu gewichten.

Die Bestimmung der Enantiomere direkt in den einzelnen Geweben könnte eine gezielte Differenzierung von Proteinbindungsverhalten, Wechselwirkung mit Lipiden sowie enantiomerenselektivem Metabolismus ermöglichen.

Eine Umstellung auf die ausschließliche Applikation des (+)-Isofluran in der Klinik wäre in Bezug auf Wirkdauer, Dosisreduktion und Nebenwirkungsspektrum möglicherweise von Vorteil.

6. Anhang

Nr.	Name	Geschlecht	Alter [Jahre]	Gewicht [kg]	Größe [cm]	BMI ¹		Art der Operation
1	K.T.	m	68	68	168	24,09	IG ²	Hybrid-HTP rechts
2	R.M.	w	22	66	170	22,84	IG	Funktionelle Strumaresektion
3	A.H.	w	66	50	154	21,08	IG	Funktionelle Strumaresektion
4	G.H.	w	67	72	162	27,43	ÜG ³	Hybrid-HTP links
5	E.E.	w	73	71	165	26,08	ÜG	Retropatellarersatz, Inlaywechsel KTP
6	A.C.	m	57	92	180	28,4	ÜG	Funktionelle Strumaresektion
7	M.B.	m	66	97	180	29,94	ÜG	Funktionelle Strumaresektion
8	B.C.	w	64	68	162	25,91	IG	KTP links
9	H.H.	w	75	70	160	27,34	ÜG	Pfannenwechsel Hüfte links
10	U.B.	w	52	63	165	23,14	IG	HTP links
11	M.R.	w	36	52	170	17,99	IG	Dünndarmresektion
12	M.D.	w	69	72	160	28,13	ÜG	KTP links
13	H.K.	w	53	65	172	21,97	IG	Splenektomie
14	M.W.	w	63	65	164	24,17	IG	Funktionelle Strumaresektion
15	M.E.	m	45	82	179	25,59	IG	Laparoskopische Fundoplicatio
16	A.H.	w	69	60	161	23,15	IG	HTP rechts
17	B.F.	m	74	98	169	34,31	AP ⁴	KTP links
18	H.R.	w	67	56	171	19,15	IG	Sigmaresektion
19	O.M.	m	37	94	183	28,07	ÜG	Retropatellarersatz links
20	I.G.	w	59	50	164	18,59	IG	HTP links
21	F.G.	w	63	95	162	36,2	AP	Laparoskopische Rektopexie
22	M.G.	w	75	69	167	24,74	IG	Laparoskopische Rektopexie

Tab. Nr. 4: Patientenkollektiv

Nr.	Name	Geschlecht	Alter [Jahre]	Gewicht [kg]	Größe [cm]	BMI ¹		Art der Operation
23	A.F.	w	72	92	158	36,85	AP	Siamaresektion
24	O.P.	m	57	92	175	30,04	ÜG	Funktionelle Strumaresektion
25	F.L.	m	54	84	180	25,93	IG	Laparoskopische Proktocolekt.
26	U.T.	w	63	65	170	22,49	IG	HTP links
27	M.H.	w	71	105	167	37,65	AP	HTP links
28	J.S.	m	50	78	186	22,55	IG	Laparoskopische Fundoplicatio
29	H.A.	m	65	75	167	26,89	ÜG	Rektumresektion
30	E.G.	w	80	69	162	26,29	ÜG	KTP rechts
31	S.A.	m	23	90	178	28,41	ÜG	HTP rechts
32	J.W.	m	55	70	177	22,34	IG	Pankreasschwanzresektion
33	B.G.	w	28	98	168	34,72	AP	OP nach Salter
34	M.W.	w	39	90	167	32,27	AP	HTP links
35	J.S.	m	36	72	177	22,98	IG	Nukleotomie L4/5
36	E.N.	w	57	74	168	26,22	ÜG	Sigmaresektion
37	A.K.	m	34	87	185	25,42	IG	Proktektomie/ Ileostomaanlage
38	I.S.	w	57	105	165	38,57	AP	HTP links
39	G.H.	m	61	120	180	37,04	AP	HTP links
40	A.H.	m	62	85	182	25,66	IG	Rektumresektion
41	E.W.	w	69	53	161	20,45	IG	HTP links
42	M.M.	w	54	57	166	20,69	IG	Hemicolektomie
43	R.G.	m	52	81	183	24,19	IG	Adrenalektomie
44	P.S.	w	41	50	164	18,59	IG	HTP links
45	H.H.	w	42	68	170	23,53	IG	Gastrinomexzision
46	C.C.	w	62	88	173	29,4	ÜG	Rectocele

Tab. Nr. 4: Patientenkollektiv (Fortsetzung)

Nr.	ASA ⁵ -Status	Einleitungsmedikamente ⁶	Anästhesiedauer [min]	Mittl. AMV ⁷	N ₂ O ⁸	ISO [Vol%] ⁹	Messdauer [Tage]	Messung ¹⁰	
								Atem	Blut
1	II	1(400), 3(40), 4(15)	190	5,8	x	0,7	9	9	3
2	I	1(350), 3(20), 4(30)	140	6,1	x	1,2	2	2	2
3	II	1(400), 3(10), 4(30)	190	4,6	x	0,8	4	4	4
4	II	1(400), 3(15), 4(40)	150	5,3	x	0,6	10	10	7
5	III	1(350), 3(10), 4(30)	135	5	x	0,7	10	10	6
6	I	1(600), 3(25), 4(50)	180	8	o	1	3	3	3
7	II	1(600), 3(15), 4(50)	220	8,5	o	0,9	4	4	4
8	II	1(400), 3(20), 4(30)	150	6,2	x	0,8	20	20	6
9	II	1(400), 3(15), 4(40)	140	5,9	x	0,9	19	19	5
10	II	1(500), 3(20), 4(50)	180	4,9	x	0,9	8	8	2
11	II	1(400), 3(15), 4(30)	210	5,9	x	0,8	6	6	4
12	III	1(450), 3(15), 4(30)	160	6,1	x	1	16	16	4
13	II	1(500), 3(25), 4(50)	140	5,3	x	0,9	6	6	6
14	II	2(200), 3(25), 4(50)	150	4,9	x	0,7	6	6	2
15	I	1(400), 3(25), 4(50)	150	8,4	o	1,1	4	4	4
16	II	1(500), 3(20), 4(50)	150	4,7	x	0,8	9	9	4
17	III	1(500), 3(15), 4(50)	150	7,8	x	1	9	9	4
18	II	2(150), 3(15), 4(5), 5(100)	150	4,7	x	0,7	20	20	3
19	I	1(500), 3(25), 4(50)	100	10,4	x	0,9	19	19	4
20	II	1(400), 3(10), 4(30)	110	4,5	x	0,8	15	15	3
21	II	1(400), 3(30), 4(50)	100	5,4	x	0,8	6	6	6
22	II	2(190), 3(20), 4(35)	90	4,5	x	0,9	7	7	4
23	III	1(400), 3(25), 4(50)	160	4,9	x	1,1	5	5	*

Tab. Nr. 4: Patientenkollektiv

Nr.	ASA ⁵ - Status	Einleitungs- medikamente ⁶	Anästhesie- dauer [min]	Mittl. AMV ⁷	N ₂ O ⁸	ISO [Vol%] ⁹	Mess- dauer [Tage]	Messung ¹⁰	
								Atem	Blut
24	II	1(450), 3(25), 4(50)	160	6,9	x	0,7	4	4	*
25	II	1(500), 3(25), 4(50)	450	7,6	o	1,2	15	15	7
26	II	1(500), 3(15), 4(40)	120	4,2	x	0,8	10	10	4
27	III	1(500), 3(15), 4(50)	220	7,2	x	1,1	7	7	6
28	I	1(500), 3(15), 4(5), 5(100)	160	9,5	o	0,9	2	2	3
29	II	1(450), 3(15), 4(50)	160	5,7	x	1,2	12	12	6
30	II	1(500), 3(10), 4(50)	160	3,6	x	0,5	8	8	*
31	III	1(500), 3(25), 4(50)	270	6,8	x	1,1	21	21	3
32	II	1(500), 3(15), 4(50)	230	7,7	x	1,1	10	10	*
33	I	1(500), 3(15), 4(50)	220	5,8	x	1	24	24	*
34	II	1(400), 3(15), 4(50)	210	7,3	x	1,1	12	12	4
35	I	1(500), 3(15), 4(40)	170	6,5	x	0,7	8	8	0
36	II	1(400), 3(15), 4(40)	150	6,5	o	0,9	14	14	6
37	III	1(500), 3(20), 4(50)	270	6,3	o	1,7	13	13	9
38	II	1(800), 3(15), 4(50)	130	6,1	x	1,1	8	8	6
39	II	1(500), 3(15), 4(50)	150	8,1	x	0,5	10	10	6
40	II	1(500), 3(15), 4(50)	250	6,5	x	1,1	7	7	6
41	II	1(380), 3(15), 4(50)	120	7,3	x	0,5	10	10	3
42	III	1(400), 3(10), 4(30)	200	6,1	o	1	7	7	2
43	II	1(500), 3(15), 4(50)	240	6,6	x	0,8	6	6	2
44	I	1(500), 3(25), 4(50)	180	5,6	x	0,5	10	10	2
45	II	1(380), 3(15), 4(50)	120	6,2	x	0,7	7	7	5
46	II	1(500), 3(15), 4(30)	110	6,1	x	0,7	2	2	0

Tab. Nr. 4: Patientenkollektiv (Fortsetzung)

Legende zu Tabelle Nr. 4: Patientenkollektiv

Fußnote:	Bedeutung/ Anmerkung:
¹ BMI	Body-Mass-Index = Körpergewicht [kg] / (Körpergröße [m]) ²
² IG	Idealgewicht (BMI≤25)
³ ÜG	Übergewicht (25<BMI≤30)
⁴ AP	Adipositas (BMI>30)
⁵ ASA	Einstufung des Anästhesierisikos nach dem Schema der American Society of Anesthesiologists
⁶ Einleitungs- medikamente	Angabe der Medikamente zur Narkoseeinleitung nach folgendem Schlüssel: 1 = Thiopental (mg) 2 = Propofol (mg) 3 = Sufentanil (µg) 4 = Rocuronium (mg) 5 = Succinylcholin (mg)
⁷ mittleres AMV	Mittleres Atemminutenvolumen, berechnet nach der Formel ($\sum(\text{Zeitintervall [min]} \times \text{im jeweiligen Zeitintervall angegebene AMV [l/min]})$) / Narkosedauer [min]
⁸ N2O	Simultane Gabe von Lachgas gekennzeichnet durch „x“
⁹ ISO (Vol%)	Durchschnittliche Isoflurankonzentration in Vol%, berechnet nach der Formel ($\sum(\text{Zeitintervall [min]} \times \text{im jeweiligen Zeitintervall angegebene ISO [Vol%]})$) / Narkosedauer [min]
¹⁰ Messung	Angabe der Anzahl der postoperativen Messtage, OP-Tag nicht mitgerechnet. Patienten, bei denen keine Blutproben entnommen wurden, sind mit „*“ markiert.

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Tag																		
OP	50,78	51,18	50,63	49,96	49,67	51,07	50,46	49,72	50,85	50,30	50,26	50,37	51,23	50,66	50,71	50,94	50,51	50,03
1.		50,79	49,91	50,45	50,58	50,57	49,64	51,12	51,02	51,34	50,09	48,83	51,49	50,93	50,50	50,49	50,67	50,05
2.	50,77	49,97	50,48	50,60	50,48	50,83	49,78	51,61	50,22	51,16	50,03	49,84	50,55	50,73	50,25	50,71	50,58	51,16
3.	51,34		50,70	49,82	51,27	50,90	50,15	51,59	49,87	50,70	50,15	49,76	50,43	50,32	50,83	50,95	50,52	50,24
4.	50,56		50,30	50,32	51,21		50,18	50,99	49,86	50,82	50,06	50,29	49,88	49,56	49,74	50,96	51,03	50,56
5.	51,21			49,40	49,41			49,59	49,52	49,88	50,02	49,48	50,48	49,78		50,35	50,53	50,21
6.	49,90			49,25	49,38			50,10	49,42	49,76	50,28	50,81	50,58	50,17		50,42	50,21	50,03
7.				49,68	48,97			50,38	49,29	49,91		49,70				50,05	50,14	50,78
8.				49,48	48,74			49,93		49,76		49,23				50,07	50,26	50,86
9.				48,96	48,97			49,83	49,30			49,50				49,92	50,11	50,97
10.					48,81			49,96										
11.																		49,33
12.																		49,66
13.																		49,07
14.												48,59						49,53
15.									48,74			48,64						48,61
16.									49,46			47,78						49,39
17.									48,80									48,08
18.								48,34	48,18									
19.								47,89	47,43									

Tab. Nr. 5: Konzentration des S(+)-Isofluran [%] in der Expirationsluft

Nr.	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Tag																		
OP	50,28	50,37	50,00	50,01	50,27	50,03	50,27	49,99	50,17	50,02	50,07	50,10	50,29		50,11	50,02	50,10	50,12
1.	50,48	50,56	50,37	50,36	50,10	50,99	50,34	50,74	50,50	50,55	50,34	51,00	50,37	50,77	50,51	51,10	50,54	50,46
2.	50,89	51,30	50,24	50,49	49,89	50,48	50,13	50,66	50,41	50,68	50,36	50,49	50,16	50,23	50,19	50,45	50,72	50,88
3.	51,04	51,24	50,28	50,10	50,48	51,18	50,01	50,21	50,48		50,04	50,21	50,34	50,58	50,21	50,29	50,13	50,41
4.	51,09	51,00	51,00	50,75	50,74	50,67	50,70	50,35	50,15		50,49	50,60	50,89	50,49		50,56	50,33	50,87
5.	50,48	49,86	46,79	46,37	50,12		49,65	48,64	49,99		49,41	49,96	50,62	47,62	50,13	50,49	49,44	50,00
6.	50,37	49,87	46,60	48,79			49,62	48,92	50,10		50,31	49,97	50,00	48,66	49,96	50,34	49,19	50,41
7.	50,64	49,60		50,65			49,92	49,63	49,89		49,79	49,80	49,78	49,18		50,23	48,93	50,21
8.	50,03	49,76					49,89	49,41			49,64	49,73		49,42	50,29	49,48	48,57	49,74
9.	49,86	49,05					49,79	49,99			49,82		50,14	49,57	50,05	49,41		50,13
10.	50,12	49,22					49,81	50,28			49,95		49,78	49,37	49,29	49,34		50,15
11.	49,41	48,29					49,56				49,68		49,70		49,48	49,37		
12.	49,53	48,71					49,63				49,47		49,44		49,19	48,65		48,88
13.	49,76						49,16						49,23					49,09
14.	49,38	47,71					49,30											48,47
15.	48,75	47,62					49,33											
16.	48,67												48,49		48,30			
17.	48,29												48,41		48,99			
18.							49,23						48,30		48,33			
19.	48,40												48,41		48,31			

Tab. Nr. 5: Konzentration des S(+)-Isofluran [%] in der Expirationsluft

Nr.	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	MW	MED	SD	SEM	MIN	MAX	n
Tag																	
OP	50,53	50,08	50,17	50,06	50,78	50,57	50,29		50,08	49,66	50,31	50,27	0,38	0,06	49,66	51,23	44
1.	50,10	50,31	50,64	50,02	50,06	50,38	50,17	50,74	50,08	50,05	50,47	50,49	0,46	0,07	48,83	51,49	45
2.	49,90	50,31	50,53	50,05	50,62	50,14	50,33	50,77	50,07	50,39	50,47	50,48	0,39	0,06	49,78	51,61	46
3.	49,81	50,14	51,08	50,14	50,50	49,99	50,15	50,90	50,21		50,46	50,32	0,46	0,07	49,76	51,59	44
4.	49,66	50,17	50,43	50,51	50,41	50,43	50,53	50,27	50,73		50,49	50,51	0,40	0,06	49,56	51,21	42
5.	49,43	48,16	49,55	49,33	50,02	49,85	49,35	49,09	50,30		49,59	49,82	0,98	0,16	46,37	51,21	39
6.	49,86	48,48	49,77	49,73	49,67		49,72	48,51	49,01		49,67	49,87	0,79	0,13	46,60	50,81	37
7.	49,95	48,72	49,56	49,30	50,31	49,76		48,33	50,03		49,77	49,80	0,57	0,10	48,33	50,78	31
8.	49,99	48,23	49,25		49,71			48,65			49,59	49,72	0,60	0,12	48,23	50,86	25
9.	48,96		48,95		50,05			49,08			49,66	49,81	0,53	0,11	48,95	50,97	23
10.	49,19		48,75		49,92			48,52			49,53	49,57	0,54	0,14	48,52	50,28	17
11.	49,21										49,34	49,41	0,42	0,14	48,29	49,70	10
12.	49,67										49,28	49,46	0,40	0,13	48,65	49,67	11
13.	49,23										49,26	49,19	0,25	0,10	49,07	49,76	7
14.											48,83	48,94	0,70	0,29	47,71	49,53	7
15.											48,62	48,69	0,55	0,23	47,62	49,33	7
16.											48,68	48,58	0,65	0,26	47,78	49,46	7
17.											48,51	48,41	0,37	0,17	48,08	48,99	6
18.											48,48	48,33	0,43	0,19	48,18	49,23	6
19.											48,08	48,31	0,43	0,19	47,43	48,41	6

Tab. Nr. 5: Konzentration des S(+)-Isofluran [%] in der Expirationsluft

Tag	OP	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Nr.										
1	50,49		51,32							
2	50,69	51,39	52,12							
3	50,45	50,39	51,06	51,51	51,98					
4	51,00	51,23	52,42	52,33	51,29	51,40	49,92	49,76		
5	51,15	51,97	52,20	52,12	51,89	50,32	49,95			
6	51,63	51,86	52,07	51,72						
7	50,42	50,98	51,64	51,43	51,65					
8	49,81	50,70		51,86	54,20		51,07			
9	50,20	50,30	50,97	51,43	50,16	50,34				
10	54,04	51,39	51,21							
11	50,17		50,58	50,97	49,33					
12	49,58	50,19		50,04	51,37					
13	52,60		51,82	51,58	51,65	51,50	50,24			
14	51,37	50,81	50,69							
15	49,91	51,07								
16	50,76	50,46	51,66	51,36	51,69					
17	50,25	50,72	50,91		51,09					
18	50,34		50,73							
19	50,57	50,38	51,24	52,25	52,90					
20	51,62	51,62	52,08	52,60						
21	50,07	50,79	50,95	50,38	50,71	50,70	51,54			
22	49,97	50,57	50,45	50,55	50,26					
23										
24										
25	49,70	50,30	50,47	50,55	50,62	50,01	50,47	50,52		
26	51,07	50,53	50,75		52,77					
27	49,67	50,52	51,23	51,33	50,56	50,58	50,32			
28	50,02	50,87	50,99	50,82						
29	49,95	51,08	50,74	51,05	51,17	50,73	50,15			
30										

Tab. Nr. 6: Konzentration des S(+)-Isofluran [%] im Blut

Tag	OP	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Nr.										
31										
32										
33										
34	50,02	51,56	52,53	53,37	50,94					
35	51,05									
36	50,65	51,07	51,17	51,72		52,19	50,40			
37	51,03	50,39	50,36	52,01	50,35	50,12	50,76	51,85	50,35	49,50
38		50,69			51,33		49,90			
39	50,56	51,68					51,21			
40	50,16	51,14	51,30	50,60	51,18		52,35			
41	51,66	50,78	51,18	51,26						
42	50,28		52,07							
43	50,60		51,16							
44	50,14	51,90	51,49							
45	51,11		51,19			50,41				
46	50,13									
MW	50,64	50,95	51,30	51,45	51,32	50,75	50,64	50,71	50,35	49,50
MED	50,45	50,81	51,19	51,43	51,24	50,58	50,40	50,52	50,35	49,50
SD	0,86	0,52	0,60	0,78	1,05	0,67	0,73	1,06		
SEM	0,14	0,09	0,10	0,16	0,22	0,20	0,20	0,61		
MIN	49,58	50,19	50,36	50,04	49,33	50,01	49,90	49,76	50,35	49,50
MAX	54,04	51,97	52,53	53,37	54,20	52,19	52,35	51,85	50,35	49,50
n	39	31	33	24	22	11	13	3	1	1

Tab. Nr. 6: Konzentration des S(+)-Isofluran [%] im Blut

Tag	Mit N2O					Ohne N2O				
	MW	MED	SD	SEM	n	MW	MED	SD	SEM	n
0	50,29	50,17	0,42	0,08	36	50,35	50,50	0,31	0,08	8
1	50,50	50,50	0,52	0,10	37	50,42	50,42	0,32	0,08	8
2	50,51	50,48	0,42	0,08	38	50,39	50,20	0,33	0,08	8
3	50,42	50,33	0,45	0,09	36	50,51	50,15	0,48	0,12	7
4	50,49	50,53	0,41	0,08	35	50,49	50,31	0,41	0,10	6
5	49,53	49,82	1,02	0,20	34	49,72	49,75	0,92	0,26	4
6	49,62	49,87	0,91	0,19	33	49,78	49,86	0,48	0,14	3
7	49,80	49,78	0,61	0,14	26	49,72	49,93	0,50	0,16	4
8	49,57	49,64	0,64	0,16	21	49,63	49,89	0,54	0,19	3
9	49,66	49,82	0,58	0,15	19	49,65	49,79	0,47	0,16	3
10	49,50	49,37	0,61	0,20	13	49,57	49,81	0,48	0,18	3
11	49,12	49,41	0,55	0,28	7	49,51	49,39	0,21	0,09	2
12	49,02	49,44	0,42	0,19	7	49,55	49,63	0,10	0,04	3
13	49,08	49,23	0,01	0,01	3	49,34	49,16	0,28	0,14	3
14	48,57	48,98	0,75	0,37	4	49,34	48,88	0,05	0,04	2
15	48,40	48,64	0,52	0,26	5	49,04	49,33	0,41	0,29	1
16	48,73	48,58	0,82	0,41	6	48,58		0,13	0,09	0
17	48,62	48,41	0,48	0,28	5	48,35		0,08	0,06	0
18	48,28	48,32	0,09	0,05	4	48,77	49,23	0,66	0,47	1
19	47,87	48,31	0,44	0,25	5	48,40		0,01	0,01	0

Tab. Nr. 7: Unterteilung des Patientenkollektivs nach N2O-Applikation.
Angabe der S(+)-Enantiomerenkonzentration [%] in der Expirationsluft.

Tag	Weiblich					Männlich				
	MW	MED	SD	SEM	n	MW	MED	SD	SEM	n
0	50,29	50,14	0,42	0,08	28	50,35	50,28	0,31	0,08	16
1	50,50	50,49	0,52	0,10	29	50,42	50,49	0,32	0,08	16
2	50,51	50,48	0,42	0,08	29	50,39	50,36	0,33	0,08	17
3	50,42	50,29	0,45	0,09	27	50,51	50,43	0,48	0,12	16
4	50,49	50,50	0,41	0,08	26	50,49	50,51	0,41	0,10	15
5	49,53	49,87	1,02	0,20	26	49,72	49,49	0,92	0,26	12
6	49,62	49,91	0,91	0,19	24	49,78	49,81	0,48	0,14	12
7	49,80	49,85	0,61	0,14	20	49,72	49,78	0,50	0,16	10
8	49,57	49,72	0,64	0,16	16	49,63	49,76	0,54	0,19	8
9	49,66	49,67	0,58	0,15	14	49,65	49,81	0,47	0,16	8
10	49,50	49,34	0,61	0,20	9	49,57	49,78	0,48	0,18	7
11	49,12	49,35	0,55	0,28	4	49,51	49,56	0,21	0,09	5
12	49,02	48,88	0,42	0,19	5	49,55	49,53	0,10	0,04	5
13	49,08	49,08	0,01	0,01	2	49,34	49,23	0,28	0,14	4
14	48,57	48,53	0,75	0,37	4	49,34	49,34	0,05	0,04	2
15	48,40	48,62	0,52	0,26	4	49,04	49,04	0,41	0,29	2
16	48,73	48,84	0,82	0,41	4	48,58	48,58	0,13	0,09	2
17	48,62	48,80	0,48	0,28	3	48,35	48,35	0,08	0,06	2
18	48,28	48,33	0,09	0,05	3	48,77	48,77	0,66	0,47	2
19	47,87	47,89	0,44	0,25	3	48,40	48,40	0,01	0,01	2

Tab. Nr. 8: Unterteilung des Patientenkollektivs nach Geschlecht.
Angabe der S(+)-Enantiomerenkonzentration [%] in der Expirationsluft.

Tag	Idealgewicht					Übergewicht					Adipositas				
	MW	MED	SD	SEM	n	MW	MED	SD	SEM	n	MW	MED	SD	SEM	n
0	50,29	50,30	0,42	0,08	19	50,35	50,20	0,31	0,08	18	50,28	50,14	0,39	0,06	8
1	50,50	50,54	0,52	0,10	20	50,42	50,46	0,32	0,08	18	50,50	50,51	0,48	0,08	8
2	50,51	50,62	0,42	0,08	21	50,39	50,38	0,33	0,08	18	50,50	50,36	0,39	0,06	8
3	50,42	50,32	0,45	0,09	19	50,51	50,21	0,48	0,12	17	50,49	50,39	0,46	0,08	8
4	50,49	50,49	0,41	0,08	19	50,49	50,55	0,41	0,10	16	50,53	50,56	0,38	0,06	7
5	49,53	49,87	1,02	0,20	18	49,72	49,52	0,92	0,26	13	49,58	50,05	1,04	0,18	8
6	49,62	49,76	0,91	0,19	17	49,78	49,97	0,48	0,14	13	49,64	49,96	0,82	0,14	7
7	49,80	49,91	0,61	0,14	13	49,72	49,79	0,50	0,16	13	49,74	49,89	0,60	0,12	5
8	49,57	49,60	0,64	0,16	10	49,63	49,74	0,54	0,19	10	49,55	49,48	0,63	0,14	5
9	49,66	49,75	0,58	0,15	8	49,65	49,79	0,47	0,16	11	49,66	49,73	0,53	0,12	4
10	49,50	49,36	0,61	0,20	6	49,57	49,88	0,48	0,18	8	49,49	49,29	0,56	0,16	3
11	49,12	49,33	0,55	0,28	3	49,51	49,56	0,21	0,09	5	49,32	49,43	0,48	0,18	2
12	49,02	48,71	0,42	0,19	3	49,55	49,50	0,10	0,04	6	49,24	48,92	0,40	0,15	2
13	49,08	49,07	0,01	0,01	1	49,34	49,23	0,28	0,14	5	49,35		0,36	0,21	0
14	48,57	48,62	0,75	0,37	2	49,34	48,94	0,05	0,04	4	48,80		0,84	0,42	0
15	48,40	48,12	0,52	0,26	2	49,04	48,75	0,41	0,29	4	48,47		0,48	0,21	0
16	48,73	49,39	0,82	0,41	1	48,58	48,58	0,13	0,09	4	48,68	48,30	0,65	0,26	1
17	48,62	48,08	0,48	0,28	1	48,35	48,41	0,08	0,06	3	48,51	48,99	0,37	0,17	1
18	48,28		0,09	0,05	0	48,77	48,32	0,66	0,47	4	48,29	48,33	0,07	0,04	1
19	47,87		0,44	0,25	0	48,40	48,14	0,01	0,01	4	48,08	48,31	0,43	0,19	1

Tab. Nr. 9: Unterteilung des Patientenkollektivs nach dem Body-Mass-Index.
 Angabe der S(+)-Enantiomerenkonzentration [%] in der Expirationsluft.

Legende zu den Tabellen Nr. 5-9

Abkürzung:	Bedeutung/ Anmerkung:
MW	Arithmetisch gebildeter Mittelwert aus allen Messwerten
MED	Median
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler = (Standardabweichung / Wurzel [Anzahl der Messwerte])
MIN	Minimalwert
MAX	Maximalwert
n	Anzahl der Messwerte

	Normal- verteilung ¹	Statistische Testverfahren ²	p-Wert ³	Signifikanz
ATEM ⁴				
Tag 0	nein	Signed Rank Test	$p < 0,0001$	hochsignifikant
Tag 4	ja	Student-t-Test	$p < 0,0001$	hochsignifikant
Tag 5	nein	Signed Rank Test	0,0032	hochsignifikant
Tag 9	nein	Signed Rank Test	0,0010	hochsignifikant
Tag 14	ja	Student-t-Test	0,0082	hochsignifikant
Tag 19	ja	Student-t-Test	0,0005	hochsignifikant
BLUT ⁵				
Tag 0	nein	Signed Rank Test	$p < 0,0001$	hochsignifikant
Tag 4	ja	Student-t-Test	$p < 0,0001$	hochsignifikant

Tab. Nr. 10: Statistische Auswertung

Die Auswertung erfolgte über das Datenverarbeitungsprogramm SAS (Statistical Analysis System).

Legende zu Tab. Nr. 10:

Fußnote:

Anmerkung:

¹ Normalverteilung: Überprüfung der Normalverteilung der Messwerte anhand des Shapiro-Wilk-Test ($p > 0,1$).

² Statistische Testverfahren: Prüfvariable: Mittlere Differenz aus Kontrollwert und Messwerten der jeweiligen Messtage.
Nullhypothese: die mittleren Differenzen sind gleich Null.

³ p-Wert: Ermittlung signifikanter Unterschiede der mittleren Differenzen zum Nullwert. Die Angabe des p-Wertes bezieht sich auf das jeweils angewandte Testverfahren.

⁴ Atem: Die Messtage für die statistische Auswertung wurden jeweils in 5-Tagesschritten (Tag 0, 4, 9, 14, 19), sowie nach Auffälligkeiten im graphischen Verlauf festgelegt.

⁵ Blut: Prüfung auf Signifikanz an den Tagen 0 und 4 (Tag 9: $n=1$).

7. Literaturverzeichnis

1. Aboul-Enein, H.Y.; Bojarski, J.; Szymura-Oleksiak, J. (2000)
The impact of chirality of the fluorinated volatile inhalation
anesthetics on their clinical applications.
Biomed Chromatogr 14, 213-218
2. Adams, H.A.; Thiel, A.; Jung, A.; Fengler, G.; Hempelmann, G. (1992)
Untersuchung mit S-(+)-Ketamin an Probanden
Anaesthesist 41, 588-596
3. Baden, J.M.; Kelley, M.; Wharton, R.S.; Hitt, B.A.; Simmon, V.F.;
Mazze, R.I. (1977)
Mutagenicity of halogenated ether anesthetics.
Anesthesiology 46, 346-350
4. Calvey, T.N. (1995)
Isomerism and anaesthetic drugs
Acta Anaesthesiol Scand 39, 83-90
5. Corbett, T.H. (1976)
Cancer and congenital anomalies associated with anesthetics.
Ann NY Acad Sci 271, 58-66
6. Darling, J.R.; Sharpe, P.C.; Stiby, E.K.; McAteer, J.A.; Archbold,
G.P.; Milligan, K.R. (2000)
Serum mitochondrial aspartate transaminase activity after isoflurane
or halothane anaesthesia.
Br J Anaesth 85, 195-198
7. Dickinson, R., Franks, N.P., Lieb, W.R. (1994)
Can the stereoselective effects of the anesthetic isoflurane be
accounted for by lipid solubility?
Biophys J 66, 2019-2023
8. Dickinson, R.; White, I., Lieb, W.R.; Franks, N.P. (2000)
Stereoselective loss of righting reflex in rats by isoflurane.
Anesthesiology 93, 837-843
9. Doenicke, A.; Kettler, D.; List, W.F.; Tarnow, J.; Thomson, D.; Radke,
J. (1992)
Lehrbuch der Anästhesiologie und Intensivmedizin 1;
Anästhesiologie
6. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London,
Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest

10. Eger, E.I. II. (1984)
The pharmacology of Isoflurane.
Br J Anaesth 56, 71S-99S
11. Eger, E.I. II; White, A.E.; Brown, C.L., Biava, C.G., Corbett, T.H.;
Stevens, W.C. (1978)
A test of the carcinogenicity of enflurane, isoflurane, halothane,
methoxyflurane, and nitrous oxide in mice.
Anesth Analg 57, 678-694
12. Estler, C.-J. (2000)
Pharmakologie und Toxikologie: Lehrbuch für Studierende der
Medizin, Pharmazie und Naturwissenschaften
5. Auflage, Schlattauer, Stuttgart, New York
13. Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W., Starke, K. (1996)
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
7. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg,
Berlin, Oxford
14. Franks, N.P.; Lieb, W.R. (1991)
Stereospecific effects of inhalational general anesthetic optical
isomers on nerve ion channels.
Science 254, 427-430
15. Garton, K.J.; Yuen, P.; Meinwald, J.; Thummel, K.E.; Kharasch,
E.D. (1995)
Stereoselective metabolism of enflurane by human liver cytochrome
P450 2E1.
Drug Metab Dispos 23, 1426-1430
16. Gerhards, P., Bons, U., Sawazki, J., Szigan, J., Wertmann, A.
(1997)
GC/MS in der klinischen Chemie
VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, New York
17. Graf, B.M.; Boban, M.; Stowe, D.F.; Kampine, J.P.; Bosnjak, Z.
(1994)
Lack of stereospecific effects of isoflurane and desflurane isomers in
isolated guinea pig hearts.
Anesthesiology 81, 129-136
18. Hachenberg, H.; Beringer, K. (1996)
Die Headspace-Gaschromatographie als Analysen- und
Meßmethode.
Vieweg, Braunschweig, Wiesbaden

19. Haeberle, H.A.; Wahl, H.G.; Aigner, G.C., Unertl, K.; Dieterich, H.J. (2002) (Publikation in Vorbereitung)
S(+)-Enantiomer in breath samples after anesthesia with isoflurane racemate.
20. Haeberle, H.A.; Wahl, H.G.; Jakubetz, H., Krause, H., Schmidt, R.; Schurig, V.; Dieterich, H.J. (2002) (Publikation in Vorbereitung)
Accumulation of S(+) enantiomer in humans after general anaesthesia with isoflurane racemate.
21. Hall, A.C.; Lieb, W.R.; Franks, N.P. (1994)
Stereoselective and non-stereoselective actions of isoflurane on the GABA_A receptor
Br J Pharmacol 112, 906-910
22. Hapfelmeier, G.; Haseneder, R.; Kochs, E.; Beyerle, M.; Zielgansberger, W. (2001)
Coadministered nitrous oxide enhances the effect of isoflurane on GABAergic transmission by an increase in open-channel block.
J Pharmacol Exp Ther 298, 201-208
23. Harris, B.; Moody, E.; Skolnick, P. (1992)
Isoflurane anesthesia is stereoselective.
Eur J Pharmacol 217, 215-216
24. Holaday, D.A.; Fiserova V.; Latta I.P.; Zumbiel M.A. (1975)
Resistance of isoflurane to biotransformation in man.
Anesthesiology 43, 325-332
25. Huang, C.G.; Rozov, L.A.; Halpern, D.F.; Vernice, G.G. (1993)
Preparation of isoflurane enantiomers.
J Org Chem 58, 7382-7387
26. Janzen, J.-P. (1990)
Forene®: Inhalationsanästhetikum; Isofluran-Kompodium
3. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsabteilung Abbott GmbH,
Wiesbaden
27. Jones, M.V.; Harrison, N.L. (1993)
Effects of volatile anesthetics on the kinetics of inhibitory postsynaptic currents in cultured rat hippocampal neurons.
Journal of Neurophysiology 70, 1339-1346

28. Juza, M.; Braun, E.; Schurig, V. (1997)
Preparative enantiomer separation of the inhalation anesthetics enflurane, isoflurane and desflurane by gas chromatography on a derivatized gamma-cyclodextrin stationary phase.
J Chromatogr A 769, 119-127
29. Juza, M.; Jakubetz, H.; Hettesheimer, H.; Schurig, V. (1999)
Quantitative determination of isoflurane enantiomers in blood samples during and after surgery via headspace gas chromatography-mass spectrometry.
J Chromatogr B Biomed Sci Appl 735, 93-102
30. Karlson, P.; Doenecke, D.; Koolman, J. (1994)
Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
14. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
31. Klinke, R.; Silbernagl, S. (1996)
Lehrbuch der Physiologie.
2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
32. Larsen, R. (2002)
Anästhesie
7. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München, Jena
33. Litt, L.; Lockhart S.; Cohen, Y.; Yasuda N.; Kim, F.; Freire, B.; Laster, M.; Peterson, N.; Taheri S.; Chang, L.H. (1991)
In vivo ¹⁹F nuclear magnetic resonance brain studies of halothane, isoflurane and desflurane. Rapid elimination and no abundant saturable binding.
Ann NY Acad Sci 625, 707-724
34. Lysko, G.S.; Robinson, J.L.; Casto, R.; Ferrone, R.A. (1994)
The stereospecific effects of isoflurane isomers in vivo.
Eur J Pharmacol 217, 215-216
35. Mills, P.A.; Sessler, D.I.; Mosely, M.; Chew, W.; Pereira, B.; James, T.L.; Litt, L. (1987)
An in vivo ¹⁹F nuclear magnetic resonance study of isoflurane elimination from the rabbit brain.
Anesthesiology 67,169-173
36. Moody, E.J. ; Harris, B.; Hoehner, P.; Skolnik, P. (1994)
Inhibition of [³H] isradipine Binding to L-type calcium channels by the optical isomers of isoflurane; Lack of stereospecificity.
Anesthesiology 81, 124-128

37. Moody, E.J.; Harris, B.D.; Skolnick, P. (1993)
Stereospecific actions of the inhalation anesthetic isoflurane at the
GABA_A receptor complex
Brain Research 615, 101-106
38. Morgan, P.G.; Usiak, M.F.; Sedensky, M.M. (1996)
Genetic differences affecting the potency of stereoisomers of
isoflurane
Anesthesiology 85, 385-392
39. Namba, T.; Ishii, T.M.; Ikeda, M.; Hisano, T.; Itoh, T.; Hirota, K.;
Adelman, J. P.; Fukuda, K. (2000)
Inhibition of the human intermediate conductance Ca (2+)-
activated K(+) channel, hK1, by volatile anesthetics.
Eur J Pharmacol 395, 95-101
40. Prys-Roberts, C. (1981)
Isoflurane.
Br J Anaesth 53, 1243-1245
41. Quinlan, J.J.; Firestone, S.; Firestone, L.L. (1995)
Isoflurane's enhancement of chloride flux through rat brain γ -
aminobutyric acid type A receptors is stereoselective
Anesthesiology 83, 611-615
42. Schmidt, R.; Wahl, H.G.; Häberle, H.; Dieterich, H.-J.; Schurig, V.
(1999)
Headspace gas chromatography-mass spectrometry analysis of
isoflurane enantiomers in blood samples after anesthesia with
the racemic mixture.
Chirality 11, 206-211
43. Schurig, V.; Grosenik, H.; Juza, M. (1995)
Enantiomer separation of chiral inhalation anesthetics (enflurane,
isoflurane, and desflurane) by gas chromatography on a γ -
cyclodextrin derivative.
Recl Trav Chim Pays-Bas 114, 211-219
44. Schüttler, J. (1992)
S-(+)-Ketamin
Anaesthesist 41, 585-587
45. Strum, D.P.; Johnson, B.H.; Eger, E.I. II. (1986)
Elimination of anesthetics from rabbit brain.
Science 234, 1586-1589

46. Wahl, H.G.; Chrzanowski, A.; Ottawa, N.; Haering, H.U. (2000)
Breath analysis in liver diseases: GC-MS analysis with a combined
thermodesorption-cooled injection system.
J gastroenterol and hepatol
47. Wahl, H.G.; Günkinger, T.; Aigner, G.C.; Schmidt, R.; Häberle, H.;
Schurig, V.; Liebich, H.M.; Luft, D.; Dieterich, H.J. (24th
International symposium on capillary chromatography, June
2000)
GC-MS analysis of isoflurane enantiomers in human breath,
plasma and urine.
48. Waskell, L. (1978)
A study of the mutagenicity of anesthetics and their metabolites.
Mutat Res 57, 141-153
49. Wyrwicz, A.M.; Conboy C.B.; Ryback, K.R.; Nichols, B.G.; Eisele, P.
(1987)
In vivo ¹⁹F-NMR study of isoflurane elimination from brain.
Biochim Biophys Acta 927, 86-91
50. Xu, Y.; Tang, P., Firestone L.; Zhang, T.T. (1996)
¹⁹F nuclear magnetic resonance investigation of stereoselective
binding of isoflurane to bovine serum albumin.
Biophys J 70, 532-538
51. Xu, Y.; Tang, P.; Firestone, L. ; Zhang, T.T. (1995)
Stereoselectivity: A case of chiral discrimination in anesthetic-
protein interaction.
Anesthesiology 83, A741
52. Yamasaki, A. ; Takahashi, T. ; Suzuki, T. ; Fujiwara, T. ; Hirakawa,
M. ; Ohmori, E. ; Akagi, R. (2001)
Differential effects of isoflurane and halothane on the induction of
heat shock proteins.
Biochem Pharmacol 62, 375-382

Danksagung

Ganz herzlich danken möchte ich

Herrn Dr. Dr. Wahl, Herrn Dr. Dieterich und Frau Dr. Häberle für die Überlassung des Themas sowie deren Unterstützung und Betreuung bei der praktischen Durchführung der Arbeit,

dem medizinischen Personal der Anästhesie, der Chirurgie und der Orthopädie für seine Hilfsbereitschaft bei der Probengewinnung,

den Mitarbeitern des Zentrallabor für die Vermittlung wertvoller Ratschläge und Hilfestellung in vielen praktischen Belangen,

denjenigen, die mir mit Rat und Tat während der Durchführung der Dissertation zur Seite standen.

Mein ausdrücklicher Dank gilt meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglichten und mich bei diesem Vorhaben stets unterstützten.

Lebenslauf

Name	Gabriele Christine Aigner
Geboren	15.11.1977 in Heidelberg
Konfession	Evangelisch
Eltern	Vater: Manfred Aigner, Dipl. Ingenieur Mutter: Dorothea Aigner, Sekretärin
Schulische Ausbildung	09/84 - 06/88 Grund- und Hauptschule Nußdorf 09/88 - 06/97 Friedrich-Abel-Gymnasium Vaihingen/ Enz
Universitäre Ausbildung	10/97 - 09/02 Studium der Medizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen 10/02 - 11/03 Praktisches Jahr im Klinikum Ludwigsburg, Lehrkrankenhaus der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Abschlüsse	06/97 Abitur 06/98 Rettungssanitäterin 09/99 Ärztliche Vorprüfung 09/00 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 09/02 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 11/03 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung