Einfluss von pulmonalem Blutfluss und Herzzeitvolumen auf Blut- und Atemgaskonzentrationen von Propofol

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr.med.)
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

Vorgelegt von

Kathi Wolter, geboren am 13. September 1976 in Güstrow

Tag der Einreichung: 23.03.2015
Tag der Verteidigung: 11.11.2016

urn:nbn:de:gbv:28-diss2016-0131-4

Gutachter:

Prof. Dr. med. Dipl. Chem. Jochen Schubert

Prof. Dr. med. Olaf Grisk

Prof. Dr. med. Werner Siegmund

Abbildungsverzeichnis **3**

Tabellenverzeichnis **4**

Abkürzungen und Formelzeichen **5**

1 Einleitung **7**

1.1 Propofol 7

1.1.1 Pharmakologie 8

1.1.2 Dosierung 9

1.1.3 Anwendung und Nebenwirkungen 10

1.2 Atemgasanalytik 11

1.3 Problemstellung 13

1.4 Zielsetzung der Arbeit 16

2 Materialien und Methoden **17**

2.1 Propofol 17

2.2 Versuchstiere 17

2.3 Anästhesie und Beatmung 18

2.4 Allgemeine Vorbereitungen, Instrumentierung und hämodynamisches Monitoring 19

2.5 Ablauf des Experiments, Probenentnahme und Messung der Propofol konzentrationen 21

2.5.1 Messung der Propofolkonzentrationen 22

2.5.2 Abnahme der Atemgasproben 23

2.5.3 Abnahme der Blutproben 24

2.6 Analytische Methoden 24

2.6.1 Präkonzentration / SPME 25

2.6.2 GC-MS - Messungen 26

2.6.3 PTR-MS 27

2.7 Statistische Berechnungen 27

3 Ergebnisse **28**

3.1 Propofolkonzentrationen im zeitlichen Verlauf 28

3.2 Lineare Regressions- und Korrelationsanalysen 29

3.2.1 Atemgaskonzentrationen: Messung mit PTR-MS versus SPME-GC-MS 29

3.2.2 Propofolkonzentrationen im Atemgas und im Blut während Änderung von pulmonalem Blutfluss und HZV 30
3.2.3 Korrelationsanalyse: Propofol im Atemgas / Blut 34
3.3 Bland-Altman-Diagramm 35

4 Diskussion 36

5 Zusammenfassung und Thesen 43

5.1 Zusammenfassung 43
5.2 Thesen 45

Literaturverzeichnis 47

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel von Propofol 7
Abbildung 2: Versuchstier in Rückenlage 19
Abbildung 3: zeitlicher Ablauf des Experimentes 21
Abbildung 4: Kapnogramm: Darstellung des Kohlendioxidpartialdrucks im Verlauf einer Atemphase. Die Entnahme der Atemgasprobe erfolgt in der alveolären Phase (Phase III) [15] 23
Abbildung 5: Links: Beatmungssystem mit Probenschleife zum Anschluss der PTR-MS, CO_2-Messküvetten und Luer-Lock-Anschlüssen zur manuellen Probenentnahme / Rechts: Gasdichte Spritze und Probengläschen für die laborbasierte Analyse mittels GC-MS..24
Abbildung 6: Chromatogramm der Ausatemluft. Einsatz: Massenspektrum von Propofol [15]. 26
Abbildung 7: Verlauf der normierten Atemgaspropofolkonzentrationen aller Versuchstiere (n=7) (PTR-MS).....28
Abbildung 8: Zusammenhang zwischen den mittels PTR-MS und GC-MS bestimmten exhalierten Propofofolkonzentrationen.....29
Abbildung 9: Atemgas- und Blutkonzentrationen von Propofol im Verlauf bei Änderung des pulmonalen Blutfluss 32
Abbildung 10: Zusammenhang zwischen arteriellen und exhalierten Propofolkonzentrationen unter Änderung von pulmonalem Blutfluss und HZV.....33
Abbildung 11: Bland-Altmann-Diagramm für den Methodenvergleich von PTR-MS und GC-MS 35

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ausgewählte physikochemische Eigenschaften von Propofol.....8
Tabelle 2: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse von arteriellen und gemischt-venösen Blutkonzentrationen und den Propofolkonzentrationen in der Ausatemluft während den verschiedenen Phasen des Versuchs 30
Tabelle 3: Korrelationen zwischen Propofol-Blut- und Atemgaskonzentrationen (Pearsonkoeffizienten) 34

Abkürzungen und Formelzeichen

Abkürzungen	Bedeutung
CI	Cardiac Index
EVLW	Extravaskuläres Lungenwasser
FPIA	Fluoreszenz-Polarisations Immunoassay
GABA-Rezeptor	Rezeptor für Neurotransmitter γ-Aminobuttersäure
GC	Gas-Chromatographie
GC-MS	Gaschromatographie - Massenspektrometrie
HF	Herzfrequenz
HI	Herzindex (HI); $l*min^{-1}*m^{-2}$ KOF
HP	Helicobacter pylori
HPLC	High-Performance-Liquid-Chromatography
HZV	Herzzeitvolumen (HZV = Schlagvolumen x HF) l/min
IMS	Ion Mobility Spectroscopy
ITBV	Intrathorakales Blutvolumen
LD_{50}	Mittlere letale Dosis einer Substanz für eine bestimmte Spezies
LC-MS	Flüssigchromatographie / Massenspektrometrie
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionisation - Time-of-Flight MS
MS	Massenspektrometrie
PAK	Pulmonaliskatheter
PDMS	Polydimethylsiloxan
PEEP	Positiver endexspiratorischer Druck
PiCCO	Pulse Contour Cardiac Output
PTR-MS	Proton-Transfer-Reaction - Mass Spectrometry
SIFT-MS	Selected Ion-Flow Tube - Mass Spectrometry
SPME	Solid Phase Micro-Extraction
StS 1	Steady State 1
StS 2	Steady State 2
TCI	Target controlled infusion
TDM	Therapeutisches Drug-Monitoring

TIVA	Total intravenöse Anästhesie
VOC	Volatile organic compound
ZVK	Zentraler Venenkatheter

Formelzeichen	Bedeutung
°C	Grad Celsius
$C_{12}H_{18}O$	Summenformel für Propofol
$Ca(OH)_2$	Calciumhydroxid
CO	Kohlenstoffmonoxid
CO_2	Kohlenstoffdioxid
$g*mol^{-1}$	Einheit für molare Masse
kg	Kilogramm
mbar	Millibar, Druck
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mol	Mol, Stoffmenge
NO	Stickstoffmonoxid
Pa	Pascal,1 Pa = $1kg*m^{-1}\cdot s^{-2}$ = $1N*m^{-2}$
ppbV	Parts per billion (Volumen)
ppmV	Parts per million (Volumen)
pptV	Parts per trillion (Volumen)
Psi	Einheit für Druck, 1 psi entspricht 6894,76 Pa
u	atomare Masseneinheit: 1 u = 1,660538921(73) * 10^{-27} kg

1 Einleitung

Propofol (Handelsnamen: Disoprivan®, Propofol-Lipuro®, etc.) [1] / [2] / [3] ist ein häufig verwendetes Injektionsnarkotikum, welches 1989 zur Allgemeinanästhesie in die Klinik eingeführt wurde. 1996 erfolgte erstmalig die Zulassung in Deutschland und Europa [4]. Als besonders positive Eigenschaften gelten der rasche Wirkeintritt, das relativ angenehme Einschlafen und Aufwachen sowie die Tatsache, dass postoperative Nausea und Emesis seltener als bei Inhalationsnarkotika auftreten [4] / [5] / [6].

Propofol wird als kurzwirksames intravenöses Hypnotikum eingesetzt und hat keine analgetische Wirkung. Die Substanz wird aktuell in vielen Kliniken standardmäßig zur intravenösen Narkoseeinleitung verwendet. Außerdem wird Propofol zur Sedierung bei diagnostischen Untersuchungen wie z. B. Gastroskopien oder Koloskopien angewendet. In Verbindung mit einem Opiatanalgetikum wird Propofol zur Aufrechterhaltung der Narkose bei total intravenösen Anästhesien (TIVA) eingesetzt.

1.1 Propofol

Chemisch handelt es sich um 2,6-Diisopropylphenol bzw. 2,6-Bis(1-methylethyl)phenol. Die Summenformel für Propofol lautet $C_{12}H_{18}O$ [1]. Die Strukturformel von Propofol ist in Abbildung 1 dargestellt.

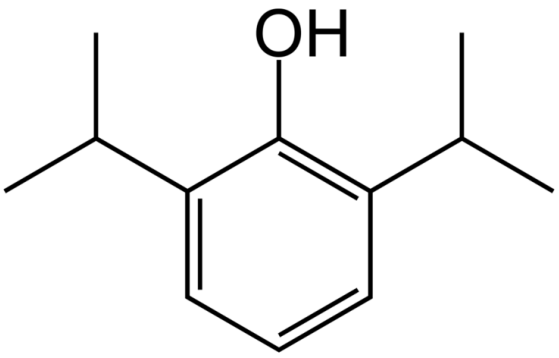

Abbildung 1: Strukturformel von Propofol

1973 wurde erstmalig die anästhetische Eigenschaft von 2,6-Diisopropylphenol in England anhand von Untersuchungen mit substituierten Phenolen beschrieben. Propofol ist nahezu unlöslich in Wasser, aber gut löslich in Öl und Glyzerin. In klinischen Studien wurde anfangs Cremophor EL als Zusatz verwendet, aber wegen schwerer allergischer Reaktionen durch eine lipid-basierte Emulsion ersetzt [7] / [8] / [9]. Das heute häufig verwendete Präparat Propofol-Lipuro® 1 % / 2 % (B. Braun, Melsungen AG) enthält Propofol in einer Öl-in-Wasser-Emulsion. Weitere Bestandteile der Emulsion sind Sojaöl, mittelkettige Triglyceride, Glycerol, Eilecithin und Natriumoleat [3] / [10]. Bei Raumtemperatur liegt Propofol als ölige, klare Flüssigkeit vor. Die physikochemischen Eigenschaften der Substanz sind in Tabelle 1 dargestellt.

Summenformel:	$C_{12}H_{18}O$
Molare Masse:	178,27 $g*mol^{-1}$
Dichte:	0,96 $g*cm^{-3}$
Schmelzpunkt:	18 °C
Siedepunkt:	256 °C
Dampfdruck:	0,4 Pa (25 °C)
pKs-Wert:	11,1 (20 °C)
Löslichkeit:	Wasser: 124 $mg*l^{-1}$ (25 °C)
Verteilungskoeffizient:	~ 6760 : 1 (Oktanol / Wasser)

Tabelle 1: Ausgewählte physikochemische Eigenschaften von Propofol

1.1.1 Pharmakologie

Propofol wirkt hypnotisch, aber kaum analgetisch. Die hypnotische Wirkung geht mit einer Suppression der EEG-Aktivität und einer Abnahme des zerebralen Sauerstoffverbrauchs einher [9] / [12]. Aufgrund seiner hohen Lipophilie verteilt es sich zügig aus dem Blut in zentrale Kompartimente und induziert rasch eine hypnotische Wirkung [4]. Als Wirkmechanismus wurde nachgewiesen, dass Propofol agonistische Aktivität an GABA-Rezeptoren zeigt. Es wirkt vornehmlich an der Alpha-Untereinheit des GABA-Rezeptors und hemmt die Freisetzung der exzitatorischen Aminosäure Glutamat [1] / [4] / [11] / [13].

Die Wirkung von Propofol kann durch kontinuierliche Infusion oder durch wiederholte Bolusapplikation aufrechterhalten werden. Die Veränderungen der Blutkonzentration nach Bolusinjektion und kontinuierlicher Infusion von Propofol können anhand eines Dreikompartiment-Modells beschrieben werden. Aufgrund der kurzen Verteilungs-HWZ von 2 - 4 min (α-Phase) fällt der Blutspiegel von Propofol nach Bolusgabe mit Umverteilung in gut durchblutete Kompartimente initial rasch ab. Die hypnotische Wirkung von Propofol tritt innerhalb von 30 – 40 s nach Applikation ein und hält bei einmaliger Bolusgabe 4 - 6 min an. Die Eliminationshalbwertzeit der ß-Phase liegt im Bereich von 30 - 60 min. Anschließend wird eine γ-Eliminationsphase beschrieben, in der die Blutkonzentrationen wegen einer langsamen Rückverteilung von Propofol aus schwach durchbluteten Geweben („tiefe Kompartimente“ z.B. Fettgewebe) nur langsam abfallen (t1/2 180 - 320 min. bzw. bis zu 475 min). In dieser Phase werden keine anästhetisch relevanten Blutkonzentrationen von Propofol erreicht [12] / [14] / [15] / [16].

Propofol wird nach intravenöser Applikation zu 98 % an Plasmaproteine und Erythrozyten gebunden. Die freie Fraktion von Propofol im Blut ist mit 1,2 - 1,7 % beschrieben. Es wird postuliert, dass lediglich diese freie, ungebundene Fraktion des Medikaments biologische Membranen passieren und somit an den Wirkort gelangen kann [17].

Propofol wird in der Leber metabolisiert (insbesondere durch die Zytochrom P450-Isoform 2B6) und seine glukuronidierten und sulfatisierten Metaboliten werden renal eliminiert [18]. Nur ca. 0,3 % der applizierten Dosis finden sich unverändert im Urin wieder. Die Nieren tragen einen wesentlichen Anteil zur extrahepatischen Metabolisierung und damit zur Clearance von Propofol bei. Die inaktiven Metaboliten werden zu 88 % renal eliminiert [4] / [19] / [20].

1.1.2 Dosierung

Die Propofoldosis zur Einleitung einer Narkose beim gesunden Erwachsenen beträgt ca. 2 $mg*kg^{-1}$ und sollte individuell nach Wirkung titriert werden. Bei alten Patienten ist eine Dosisreduktion auf 1 - 1,5 $mg*kg^{-1}$ notwendig. Säuglinge und Kleinkinder haben einen höheren Dosierungsbedarf von ca. 2,5 - 4 $mg*kg^{-1}$, da sie ein größeres Verteilungsvolumen und eine höhere Clearance besitzen. Bei Kindern unter einem Monat darf Propofol nicht

verwendet werden. Propofol passiert die Plazenta.

Zur Aufrechterhaltung der Narkose ist bei Erwachsenen je nach Operation und analgetischer Medikation eine kontinuierliche Propofolapplikation von 4 - 8 $mg*kg^{-1}*h^{-1}$ erforderlich. Zur Sedierung im Rahmen der Intensivbehandlung bei Patienten > 16 Jahre soll die Dosierung von 4 $mg*kg^{-1}*h^{-1}$ über einen längeren Zeitraum von 7 Tagen nicht überschritten werden. Propofol ist zur Sedierung im Rahmen der Intensivbehandlung bei Kindern nicht zugelassen [4] / [15].

1.1.3 Anwendung und Nebenwirkungen

Propofol wird wegen seiner guten Verträglichkeit häufig in Anästhesie und Intensivmedizin als kurzwirksames intravenöses Anästhetikum verwendet. Aufgrund seiner guten Steuerbarkeit bei kurzer Halbwertszeit sowie der Abschwächung der pharyngalen und laryngealen Reflexe ist es als Bestandteil einer intravenösen Anästhesie gut geeignet [21] / [22]. Außerdem wird es bei kurzen chirurgischen und diagnostischen Untersuchungen und Eingriffen wie z.B. Gastroskopien oder Koloskopien eingesetzt. Zudem kann es sicher bei Patienten mit einer Disposition zur malignen Hyperthermie angewandt werden.

Respiratorische Insuffizienz bis hin zum Atemstillstand zählen neben Bradykardie und Blutdruckabfall zu den häufigen negativen Wirkungen (>1:100, <1:10), die unter der Anwendung von Propofol auftreten können [12] / [23] / [24] / [25]. Diese Effekte sind abhängig von der Dosis, der Geschwindigkeit der Injektion, Alter des Patienten und der Begleitmedikation. Für hämodynamische Effekte spielt die Inhibition des Barorezeptorenreflexes durch Propofol eine Rolle. Der direkte Einfluss auf Sinus- und AV-Knoten ist gering [26].

Gelegentlich treten Husten oder Singultus auf. Myoklonien bei Narkoseeinleitung sind wesentlich seltener als bei Anwendung von Etomidate [12]. Nausea und Emesis treten auch bei der Anästhesie mit Propofol auf, werden aber weitaus seltener beobachtet als bei der Anwendung von volatilen Anästhetika [4]. Jedoch können beim Abklingen der Wirkung von Propofol lebhafte Träume, unter Umständen sexuelle Phantasien, auftreten, die gelegentlich Anlass zu juristischen Verfahren geben [27].

Drei Effekte sind bei der Verwendung von Propofol im klinischen Alltag von besonderer Bedeutung. Zum einen führen hohe Dosen bzw. Überdosierung von

Propofol zu Blutdruckabfall und Bradykardie. Sowohl inadäquat tiefe Narkose als auch Hypotonie können Faktoren einer Patientengefährdung darstellen und sowohl Morbidität als auch Mortalität beeinflussen [26] / [28].

Auf der anderen Seite aber kann zu niedrige Dosierung von Propofol zur intraoperativen Wachheit („awareness“) führen [29] / [30] / [31]. Obwohl primär nicht lebensbedrohlich, kann diese Komplikation erhebliche Auswirkungen für den Patienten haben. Posttraumatische Stress-Syndrome und schwere psychosomatische Folgeschäden sind beschrieben [32] - [37]. Intraoperative Awareness führt häufig zu rechtlichen Auseinandersetzungen zwischen Patient und Arzt [38] / [39] / [40].

Selten kann es unter Anwendung von Propofol zu einer schwerwiegenden metabolischen Entgleisung im Sinne eines Propofolinfusionssyndroms kommen [4]. Dabei treten Herz-Kreislauf-Störungen, Lactatacidose und Rhabdomyolyse auf. Die Letalität beträgt bis zu 85 % [41] / [42]. Langandauernde und hochdosierte Anwendung von Propofol kann in Verbindung mit Katecholaminen und Glukokortikoiden als mögliche zusätzliche Triggersubstanzen dieses Krankheitsbild auslösen. Propofol führt in diesem Fall wahrscheinlich zu einer Hemmung der Fettsäureoxidation und Störung der oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien durch Entkopplung der Atmungskette [43] / [44].

Das Problem der Über- oder Unterdosierung von Propofol und damit verbundener hämodynamischer Instabilität bzw. inadäquater Sedierung während einer Narkose ist noch nicht gelöst. Im Gegensatz zu den volatilen Anästhetika ist eine Echt-Zeit-Überwachung von Propofol während der Narkose bisher nicht möglich. Konventionelle Propofolkonzentrations-Bestimmungen mittels Blutanalyse sind zeit- und kostenintensiv und ermöglichen kein kontinuierliches Propofol-Monitoring über die Blut- bzw. Plasmakonzentrationen unmittelbar während der Anästhesie.

1.2 Atemgasanalytik

Die Analyse des Atemgases ist eine nicht invasive Methode und kann ohne zusätzliche Belastung für den Patienten durchgeführt werden. Die Probennahmen von Atemgas lassen sich im Gegensatz zu Blutentnahmen im Verlauf beliebig oft wiederholen und stellen keine Gefährdung für den Patienten dar.

Neben anorganischen Gasen als Hauptkomponenten, wie z.B. Stickstoff, Sauerstoff, Kohlendioxid und Wasserdampf wurden mehr als 3000 weitere Substanzen identifiziert, die in niedrigen Konzentrationen (ppbV - pptV) im Atemgas vorliegen. Unter diesen finden sich nichtflüchtige Bestandteile wie langkettige Kohlenwasserstoffe, Peroxide, Leukotriene, Prostaglandine und Isoprostane [45] - [51] / [52] und flüchtige VOCs (volatile organic compounds).

Dass bestimmte Gerüche der Ausatemluft Krankheiten wie Diabetes mellitus [53] / [54] / [55], Leberversagen [56] und Urämie [57] reflektieren, ist seit langem bekannt.

Endogen produzierte flüchtige Substanzen, wie Ethan, Pentan, Aceton, Isopren, aliphatische Aldehyde und Ketone reflektieren physiologische oder pathologische Bedingungen [45] / [58] / [59]. Alkane wie Ethan, Propan und Pentan und einige Aldehyde entstehen bei der oxidativen Spaltung von Fettsäuren [60] / [61] / [62]. Erhöhte Konzentrationen dieser Substanzen ließen sich bei Herzinfarkt [63]. bzw. Reperfusion nach Ischämie nachweisen [64] / [65]. Aceton als Ketonkörper entsteht bei katabolen Stoffwechselzuständen oder bei Insulinmangel. Isopren(-2-Methylbutadien-1,3) entsteht als Nebenprodukt der Cholesterin-Biosynthese. Änderungen der Isoprenkonzentration in der Atemluft wurden bei Erkrankungen der Lunge (ARDS, Pneumonie) beschrieben [66] / [67].

Medikamente, die zuvor intravenös oder parenteral verabreicht wurden, wie z.B. Propofol oder Fentanyl, lassen sich ebenfalls in der Ausatemluft nachweisen [68] - [73]. Theoretisch ergibt sich daraus die Möglichkeit eines Drug Monitorings mittels Atemgasanalytik für solche Medikamente, welche die alveolo-kapilläre Membran passieren und im Atemgas zu finden sind [15].

Medikamente und endogen erzeugte VOCs kommen nur in sehr geringen Konzentrationen im Atemgas vor und deren Bestimmung im Atemgas erfordert höchst empfindliche und selektive Messverfahren.

Bereits 1969 bis 1971 gelang es Jansson und dem amerikanischen Nobelpreisträger Pauling mit einem Gaschromatographen mehr als 200 unterschiedliche organische Bestandteile der Ausatemluft im ppbV (parts per billion per volume) Bereich nachzuweisen [45] / [47]. Heute werden diese Substanzen hauptsächlich mit Gaschromatographie und Massenspektrometrie nachgewiesen. Mit den Fortschritten der chemischen Analysetechniken ist es

heute möglich, eine Vielzahl von flüchtigen Substanzen in noch niedrigeren Konzentrationen mit hoher Genauigkeit und Zuverlässigkeit zu bestimmen. 2003 konnten Harrison et al. [73] erstmals Propofol in der Ausatemluft sedierter Patienten mittels direkter Massenspektrometrie nachweisen. Nachfolgende Studien bestätigten, dass sich Propofol trotz eines relativ hohen Siedepunktes in der Atemluft nachweisen lässt und dass Korrelationen zu Propofol-Blutkonzentrationen in verschiedenen Kompartimenten bestehen [12] - [16]. Ursächlich für die Möglichkeit eines Nachweises der Substanz im Atemgas sind die physikochemische Eigenschaften wie Dampfdruck, geringe Hydrophilie bzw. die ausgeprägte Lipophilie mit guter Membrangängigkeit [11].

In den letzten Jahren wurden bereits Sensoren entwickelt, die Substanzen ohne massenspektrometrische Identifizierung bestimmen können [46]. Ein Beispiel ist die Messung von exhaliertem Stickstoffmonoxid (NO) bei Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale mittels NO-Sensor [74]. Moderne NO-Sensoren messen im Bereich von pptV. Die Weiterentwicklung der Sensortechnologie durch die Industrie könnte z.B. auch eine mögliche Perspektive für die Bestimmung von Propofol im Atemgas unter klinischen Bedingungen bieten [15].

1.3 Problemstellung

Propofol wird häufig als Hypnotikum im Rahmen der intravenösen Anästhesie sowie zur Sedierung in der Intensivtherapie genutzt. Für die Steuerung der Narkosetiefe wäre es ideal, die Konzentrationen von Narkotika bzw. Hypnotika und Analgetika am Zielorgan Gehirn zu kennen. Da diese Konzentrationen schwer bis gar nicht zugänglich sind, werden üblicherweise Blut- bzw. Plasmakonzentrationen als Surrogat Parameter verwendet.

Eine Überwachung der Narkosetiefe ist wichtig, um einen adäquaten Bereich der Narkosetiefe zu erreichen und Über- bzw. Unterdosierungen zu vermeiden. Appliziert man während einer Narkose oder Sedierung zu viel Propofol, werden besonders ältere Patienten hämodynamisch instabil, das heißt der Blutdruck kann abfallen und somit die Perfusion lebenswichtiger Organe unter kritische Grenzwerte absinken. Im anderen Fall, bei zu geringer Dosierung mit unzureichender Stressabschirmung und Schmerzausschaltung, besteht das Risiko der intraoperativen Wachheit (Awareness) des Patienten mit einer

Gefährdung des Patienten z.B. durch unwillkürliche Bewegungen und es können erhebliche und langandauernde psychische Traumen, Angstzustände, Schlaflosigkeit, Albträume, posttraumatische Belastungsstörung und Suizidgedanken auftreten [34]. Intraoperative Awareness gehört zu den häufigen Gründen für rechtliche Auseinandersetzungen zwischen Arzt und Patient [27]. Die Inzidenz von Awareness wird mit 0,2 - 0,4 % angegeben [75].

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl von Verfahren zur Messung der Narkosetiefe getestet. So gibt es seit 1994 den Bispectral-Index (BIS). Dabei wird anhand einer algorithmischen Analyse eines Elektroenzephalogramms (EEG) des Patienten die Sedierungstiefe bestimmt. Klinische Studien zeigten jedoch, dass das BIS-Monitoring nicht in der Lage ist, Awareness sicher zu vermeiden und auch für die Routineüberwachung der Sedierungstiefe bei Intensivpatienten nicht geeignet ist [15]. Des Weiteren wurde die Aussagekraft akustisch evozierter Potenziale (AEP) untersucht wie z.B. der Alaris-AEP-Index [76] / [77]. Hierbei ist zu beachten, dass es sich nicht um physiologische Parameter sondern um berechnete Werte handelt.

Im klinischen Alltag erfolgt die Dosierung meist mittels gewichtsabhängiger Schätzung oder deutlich seltener TCI (target controlled infusion)-gesteuert basierend auf pharmakokinetischen Modellrechnungen. Die Steuerung der Narkosetiefe erfolgt nach wie vor meist anhand klinischer Zeichen wie Herzfrequenz, Blutdruck, Schwitzen, Tränenfluss oder Pupillenreaktion und hängt damit von der jeweiligen Erfahrung des Anästhesisten ab. Diese klinischen Parameter sind nur indirekte Messgrößen der Narkosetiefe und daher oftmals nicht geeignet, die Tiefe der Hypnose abzuschätzen.

Die herkömmliche Ermittlung von Propofolkonzentrationen in Blut oder Plasma erfordert eine hochentwickelte, aufwändige und zeitintensive Technik. Eine Steuerung der Narkose mittels Propofol-Plasmakonzentrationsbestimmung ist invasiv, zeitaufwendig, teuer und Ergebnisse stehen nicht unmittelbar zur Verfügung [15]. Man benötigt Blutentnahmen und muss mittels immunologischer (FPIA) oder chromatographischer Methoden (HPLC, GC) die Arzneimittelkonzentrationen im Labor bestimmen lassen [78]. In Pilotstudien konnte nachgewiesen werden, dass intravenös verabreichtes Propofol im Atemgas des Patienten mittels PTR-MS detektierbar ist und Korrelationen zwischen der Propofolkonzentration im Blut und im Atemgas existieren [73] /

[79]. Basierend auf diesen Untersuchungen wurde postuliert, dass das Monitoring von Propofol im Atemgas für eine Überwachung der Narkose oder eine Narkosesteuerung einsetzbar sein könnte.

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Propofol-Monitoring im Atemgas könnte als zusätzliches Verfahren zur Narkosesteuerung angewendet werden. Durch die Bestimmung von Propofol im Atemgas wäre die Tiefe einer Narkose nicht-invasiv einschätzbar [73] / [80] / [81], wenn im Blut vorliegende Propofolkonzentrationen über Atemgaskonzentrationen abgebildet werden könnten. Dazu ist eine enge Korrelation der Propofolkonzentrationen im Atemgas- und im Blut, auch während typischer klinischer Interventionen, zu fordern.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob Propofol-Atemgaskonzentrationen die Blutkonzentrationen abbilden und wie Interventionen in Form einer Verminderung des pulmonalen Blutflusses oder einer Erhöhung des Herzzeitvolumens diese Korrelation beeinflusst. Daher bestand ein wichtiges Ziel dieser Arbeit darin, zu untersuchen, ob und wie stark der Zusammenhang zwischen Atemgas- und Blutkonzentrationen des intravenös applizierten Narkotikums Propofol durch die Veränderung hämodynamischer Parameter wie Herzzeitvolumens (HZV) und Lungendurchblutung beeinflusst wird. Um schnelle Änderungen zu erfassen, war es notwendig, Konzentrationen von Propofol im Atemgas mittels direkter Massenspektrometrie (PTR-MS) kontinuierlich und in Echtzeit zu bestimmen. Als Referenz für die PTR-MS diente die Propofolbestimmung mittels laborbasierter Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS). Die Propofolkonzentrationen im Blut wurden ebenfalls mittels GC-MS bestimmt.

Im Einzelnen sollten folgende Fragestellungen im Tiermodell des akut instrumentierten Hausschweins untersucht werden:

1. Lassen sich Propofolkonzentrationen im Atemgas mit ausreichender Genauigkeit kontinuierlich mittels PTR-MS bestimmen?
2. Stimmen diskontinuierlich mittels SPME-GC/MS gemessene Atemgaskonzentrationen mit den Ergebnissen der kontinuierlichen PTR-MS Messungen überein?
3. Wie beeinflussen hämodynamische Veränderungen die Korrelationen von Propofolkonzentrationen im Atemgas und im Blut?
    a. Welche Folgen hat eine Reduktion des pulmonalen Blutflusses durch Drosselung (Banding) der A. pulmonalis?
    b. Welchen Einfluss hat die Erhöhung des Herzzeitvolumens (HZV) durch Applikation von Dobutamin?

2 Materialien und Methoden

Der Effekt von Veränderungen des pulmonalen Blutflusses durch Abbinden (Banding) des Truncus pulmonalis sowie der Einfluss des Einsatzes von Sympathomimetika (Dobutamin) auf die Atemgaskonzentration und die Korrelation zwischen Propofol Blut- und Atemgaskonzentrationen wurde an sieben beatmeten akut instrumentierten Schweinen untersucht.

Die Atemgasmessungen wurden mit Hilfe von zwei unabhängigen analytischen Methoden durchgeführt. Es erfolgte eine kontinuierliche Messung der Propofolkonzentration im Atemgas mittels Protonen-Transfer-Reaktions-Massenspektrometrie (PTR-MS). Mittels laborbasierter Festphasen-mikroextraktion (SPME) in Kombination mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) wurden zusätzlich zu definierten Zeitpunkten, d.h. diskontinuierlich Propofolkonzentrationen im Atemgas bestimmt.

Darüber hinaus wurden simultan zu den diskontinuierlichen Atemgas-probennahmen für die Propofolbestimmung mittels SPME-GC-MS Blutproben entnommen und deren Propofolgehalt ebenfalls mittels SPME-GC-MS gemessen.

2.1 Propofol

In dieser Studie wurde das Präparat Propofol-Lipuro® 1% und 2% der Firma B. Braun, Melsungen AG verwendet, welches Propofol in einer Öl-in-Wasser-Emulsion enthält. Weitere Bestandteile der Emulsion sind entsprechend der Fachinformation Sojaöl, mittelkettige Triglyceride, Glycerol, Eilecithin und Natriumoleat [3].

2.2 Versuchstiere

Die Tierversuche wurden durch die Ethik-Kommission für Tierforschung in Mecklenburg-Vorpommern in Übereinstimmung mit dem deutschen Tier-schutzgesetz genehmigt. Für die Studie wurden sieben deutsche Landschweine verwendet, wobei fünf Schweine männlichen Geschlechts und zwei weiblichen Geschlechts waren. Das Körpergewicht der Schweine lag zwischen 30 und 33

kg. Die Versuchstiere mussten über Nacht fasten, konnten aber nach Belieben Wasser zu sich nehmen.

2.3 Anästhesie und Beatmung

Die Versuchstiere erhielten eine Prämedikation mit intramuskulär appliziertem Azaperone 4 mg*kg^{-1} (Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und Midazolam 0,2 mg*kg^{-1} (Dormicum; Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland).

Nach Anbringen des Standard-Monitorings (SpO_2, EKG) und Präoxygenierung mit 100 % Sauerstoff erfolgte die Anlage eines intravenösen Zuganges in der Ohrvene des Versuchstieres (Braunüle®18G, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Über diesen Zugang wurde die Narkose mit Fentanyl 6 - 8 µg*kg^{-1} (Fentanyl-Janssen; Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland), Thiopental 250 mg (7 - 8 mg*kg^{-1}) (AltanaPharma, Konstanz, Deutschland) und 2 – 4 mg Midazolam (Dormicum®, Hoffmann-La Roche AG) eingeleitet. Die orale Intubation erfolgte mit einem Endotrachealtubus (ID 7,5 mm-Mallinckrodt, Hazelwood, MO, USA) nach Applikation von Pancuronium 0,3 mg*kg^{-1} (DeltaSelect, Dreieich, Deutschland).

Die Narkose wurde anschließend mittels kontinuierlicher Infusion von Midazolam (0,25 - 0,3 mg*kg^{-1}*h^{-1}) und Pancuronium (0,15 mg*kg^{-1}*h^{-1}) und intermittierender Bolusapplikation von 2 - 5 µg*kg^{-1} Fentanyl bis zum Ende der Instrumentierung aufrechterhalten.

Die volumenkontrollierte Beatmung wurde durch einen Servo 900-Ventilator (Siemens, Erlangen, Deutschland) sichergestellt. Beatmungsfrequenz und Atemminutenvolumen wurden von Beginn des Experimentes an so eingestellt, dass der arterielle Kohlendioxid-Partialdruck ($PaCO_2$) 36 - 42 mmHg (4,8 - 5,6 kPa) betrug. Die inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO_2) wurde auf 0,4 reduziert und ein positiver end-exspiratorischer Druck (PEEP) von 5 cm H_2O wurde eingestellt, um einen arteriellen Sauerstoff-Partialdruck (PaO_2) zwischen 90 und 112 mmHg (12 - 15 kPa) aufrechtzuerhalten. Die Ventilation wurde während des gesamten Experimentes konstant gehalten. Der endtidale Kohlendioxid-Partialdruck ($P_{et}CO_2$) wurde mittels Hauptstrom-Kapnometrie gemessen. Die Totraumventilation wurde nach folgender Formel bestimmt: $Vd/Vt = (PaCO_2–PetCO_2) / PaCO_2$ [16] / [82].

Zu festgelegten Messzeitpunkten erfolgten arterielle und gemischt-venöse Blutgasanalysen sowie die Bestimmung von Hämoglobin, Hämatokrit, Glukose und die Messung der Elektrolyte über ein im Nebenraum befindliches Laborgerät (Bayer Diagnostics 348, Bayer Vital, Fernwald, Deutschland).

2.4 Allgemeine Vorbereitungen, Instrumentierung und hämodynamisches Monitoring

Nach Einleitung der Narkose wurden die Versuchstiere in Rückenlage gebracht und auf einer Heizdecke gelagert (Abbildung 2), damit die Körpertemperatur bei 37 °C konstant gehalten werden konnte. Ein dreilumiger zentraler Venenkatheter (ZVK) sowie ein Swan-Ganz-Thermodilutions Katheter (PAK) wurden über die rechte Vena jugularis interna eingeführt. Der ZVK wurde 11 - 13 cm vorgeschoben, um eine sichere Position vorhofnah in der Vena cava superior zu gewährleisten.

Der PAK wurde in üblicher Weise in der Pulmonalarterie positioniert. In die rechte Femoralarterie wurde ein PiCCO-Katheter (PVPK2015L20-46N 5F, Pulsion Medical Systems, München, Deutschland) zur kontinuierlichen Überwachung des arteriellen Blutdrucks und zur Bestimmung des Herzzeitvolumens (HZV) eingeführt. Die Körpertemperatur wurde kontinuierlich über den PiCCO-Katheter überwacht und auf 37 °C ± 0,5°C gehalten.

Abbildung 2: Versuchstier in Rückenlage

Zur Aufrechterhaltung einer Normovolämie erhielten alle Versuchstiere während des Experiments eine intravenöse Elektrolytlösung mit 6 – 10 $ml*kg^{-1}*h^{-1}$ (Jonosteril®; Fresenius, Bad Homburg, Deutschland). Die zusätzliche Flüssigkeits- bzw. Volumentherapie richtete sich nach den mittels PiCCO-Katheter ermittelten Parametern. In die Harnblase wurde ein Urinkatheter (Curity 14 CH; TycoHealthcare, Neustadt, Germany) eingeführt.

Der Thorax wurde durch Sternotomie eröffnet, das Perikard eingeschnitten und dessen freie Ränder angenäht, um das Herz in Position zu halten. Der Truncus pulmonalis und thorakale Aorta wurden präpariert, und die Pulmonalarterie wurde anschließend mittels eines Gefäßbändchens angeschlungen, um eine kontrollierte Flussreduktion (um ca. 30 - 50 %) erzeugen zu können (pulmonales Banding). Der pulmonalarterielle Blutfluss wurde durch einen Ultraschall-Flussmesskopf (Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) gemessen, welcher nach Bestimmung der passenden Größe um die Pulmonalarterie angebracht wurde. Um den Blutfluss korrekt bestimmen zu können, sollte das Gefäß 75 - 100% des Schallfensters ausfüllen. Die Signalqualität konnte durch Aufbringen von Ultraschallgel verbessert werden.

Alle Messwerte der intravaskulären Katheter und des Flussmesskopfes wurden mittels PO-NE-MAH® (Digital Acquisition Analysis und Archive Systems, Simsbury, USA) aufgezeichnet [83]. Analysiert wurden Herzfrequenz (HF), arterieller Blutdruck (AP), zentral-venöser Druck (ZVD), der pulmonal-arterielle Druck (PAP), der pulmonal-kapilläre Verschlussdruck (pulmonary capillary wedge pressure, PCWP), das Herzzeitvolumen (Thermodilutionsmethode über PAK und PiCCO), das kardiale Schlagvolumen (SV) und der pulmonal-arterielle Blutfluss (PBF). Zusätzlich wurden das intrathorakale Blutvolumen (ITBV) und das extravaskuläre Lungenwasser (EVLW) mittels Thermodilutionsmethode per PiCCO-System bestimmt. Dazu wurden pro Messzeit 3 Mal je 20 ml eiskalte Kochsalzlösung zentralvenös injiziert und aus dem Integral der Temperaturänderung in der Femoralarterie das HZV sowie über Algorithmen ITBV und EVLW ermittelt [84]. Entsprechend wurde der Mittelwert aus den 3 Einzelmessungen pro Mittelzeit notiert.

2.5 Ablauf des Experiments, Probenentnahme und Messung der Propofol konzentrationen

Nach Einleitung der Narkose und Anlage von ZVK, PAK und PiCCO-Katheter wurde das PTR-MS System an das Beatmungssystem angeschlossen. Die Infusion von Midazolam wurde beendet und ein Bolus von 2 $mg*kg^{-1}$ Propofol verabreicht, gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion von Propofol mit 6 – 8 $mg*kg^{-1}*h^{-1}$. Die alveolare Atemgaskonzentration von Propofol wurde kontinuierlich online mittels PTR-MS gemessen. Abbildung 3 stellt den zeitlichen Ablauf des Versuchs dar. Hämodynamische Interventionen wie Start und Ende des Pulmonalis-Bandings sowie Beginn und Ende der Dobutamin-Applikation sind als graue Balken gekennzeichnet.

Blut- und Atemgasproben für die laborbasierte Analytik (SPME-GC-MS) wurden vor und während kontinuierlicher intravenöser Infusion von Propofol entnommen. Zu mehreren festgesetzten Zeitpunkten wurden Atemgas- und Blutproben simultan abgenommen und die Propofolkonzentrationen durch SPME-GC-MS bestimmt. Diese diskontinuierlichen Messungen mittels SPME-GC-MS zur Analyse der Atemgas- und Blutkonzentrationen sind in Abbildung 3 als durchgezogene vertikale Linien dargestellt. Die während dieser 11 Zeitpunkte mittels PTR-MS gemessenen Propofolkonzentrationen, die auch zur statistischen Regressionsanalyse genutzt wurden, sind als schwarze Punkte auf der Skala markiert. Hämodynamische und respiratorische Parameter, pulmonal-arterieller Blutfluss, Temperatur und das Ergebnis der arteriellen und gemischt-venösen Blutgasanalysen wurden zur selben Zeit aufgezeichnet.

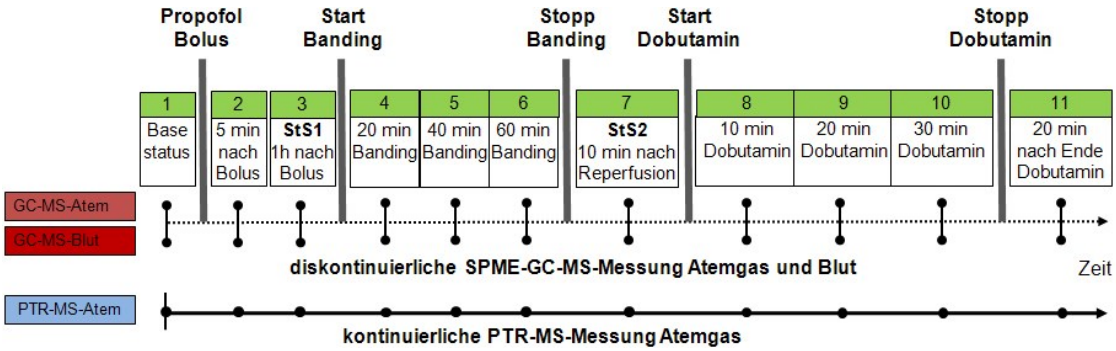

Abbildung 3: zeitlicher Ablauf des Experimentes

Am Basis-Status (1) wurden die diskontinuierliche Messung der Atem- und Blutproben (arteriell und gemischt-venös) mittels SPME-GC-MS sowie die

kontinuierliche Atemgasanalyse mittels PTR-MS begonnen. Anschließend erfolgte die intravenöse Applikation des Propofolbolus – dargestellt als grauer Balken.

Nach einer Stunde kontinuierlicher Infusion von Propofol (mit Erreichen von „steady state 1“ (StS 1)) wurde der pulmonale Blutfluss (PBF) durch Banding des Pulmonalis-Hauptstamms reduziert. Gestützt durch kontinuierliche Ultraschallmessung wurde der pulmonale Blutfluss durch schrittweise durchgeführte Einengung bzw. partiellen Verschluss des Truncus pulmonalis bis zum Erreichen einer Ziel-Reduktion von 30 – 50 % gedrosselt. Das Gefäßband wurde nach 60 min entfernt und die nächsten 10 Minuten nach Freigabe der pulmonalen Durchblutung erfolgte keine weitere Intervention. Die Messungen wurden 20, 40 und 60 min nach Beginn des Abbindens der Pulmonalarterie und 10 min nach der Reperfusion durchgeführt („steady state 2“ (StS 2)).

Im zweiten Teil des Experiments wurde der Einfluss einer Dobutamingabe mit folgendem Anstieg des HZV (um ca. 40 %) auf die Konzentration von Propofol im Atemgas untersucht. Eine kontinuierliche intravenöse Dobutamin-infusion (6 $\mu g*kg^{-1}*min^{-1}$) wurde über eine Zeitraum von 30 min verabreicht. Die (SPME-GC-MS) Messungen erfolgten 10, 20 und 30 min nach Start der Dobutamininfusion und abschließend 20 min nach Beendigung der Infusion des Katecholamins [16].

2.5.1 Messung der Propofolkonzentrationen

Die chemische Analyse der Atemluft erfolgte durch zwei unabhängige Methoden: durch kontinuierliche Echtzeitmessung mittels PTR-MS und durch diskontinuierliche Analyse mittels SPME-GC-MS.

1. Zur kontinuierlichen PTR-MS online - Messung von Propofolkon-zentrationen in der Alveolarluft wurde das automatische CO_2-getriggerte Probennahmegerät mit dem PTR-MS (IONICON, Innsbruck, Österreich) verbunden [85]. Die Alveolarluft wurde über eine auf 90°C beheizte MXT-Hydroguard-Kapillare (2 m * 0,53 mm, innerer Durchmesser 1,0 µm Filmdicke, BGB-Analytik, Schlossboeckelheim, Deutschland) in das PTR-MS überführt.

2. Zusätzlich zur kontinuierlichen PTR-MS Messmethode wurden zu definierten Zeitpunkten Propofol-Atemgaskonzentrationen durch laborbasierte SPME-GC-MS bestimmt [86]. Ein Überblick über die Probenentnahmezeitpunkte kann Abbildung 3 entnommen werden.

2.5.2 Abnahme der Atemgasproben

Für die SPME-GC-MS Messungen wurden die Alveolar-Atemgasproben CO_2-kontrolliert während der oberen Plateauphase des Kapnogramms unter visueller Kontrolle entnommen (Abbildung 4). Um ein nahezu Echtzeit - CO2 – Monitoring zu gewährleisten, wurde ein Hauptstrom-Kapnometer mit schneller Ansprechzeit (Capnogard, Novametrix, USA) verwendet.

Über ein speziell gefertigtes Edelstahl-T-Stück wurden 15 ml Atemgas während der Alveolarphase mittels einer gasdichten Glasspritze entnommen und umgehend in ein evakuiertes 20 ml Glasröhrchen mit Teflon-Silikonseptum überführt (Abbildung 5).

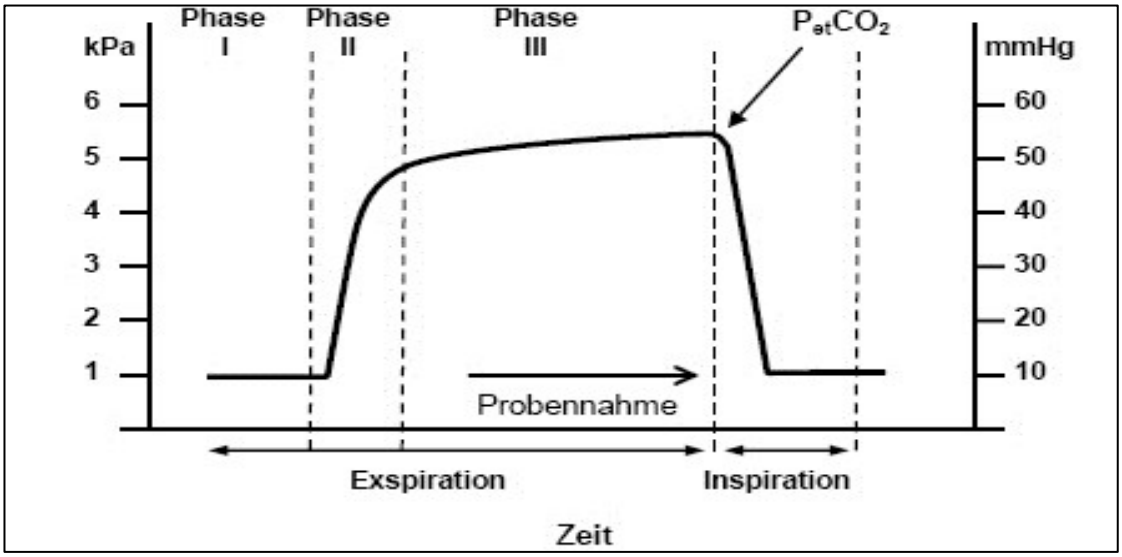

Abbildung 4: Kapnogramm: Darstellung des Kohlendioxidpartialdrucks im Verlauf einer Atemphase. Die Entnahme der Atemgasprobe erfolgt in der alveolären Phase (Phase III)

Parallel dazu wurde Inspirationsluft nahe dem Beatmungsgerät entnommen. Die Untersuchung der Inspirationsluft war notwendig, um den Einfluss von Substanzen aus dem Inspirationsgas und möglicherweise erhöhte Propofol-konzentrationen im Rückatemsystem nachweisen zu können. Alle Atemgas-proben und Proben der Inspirationsluft wurden innerhalb von vier Stunden im Labor analysiert.

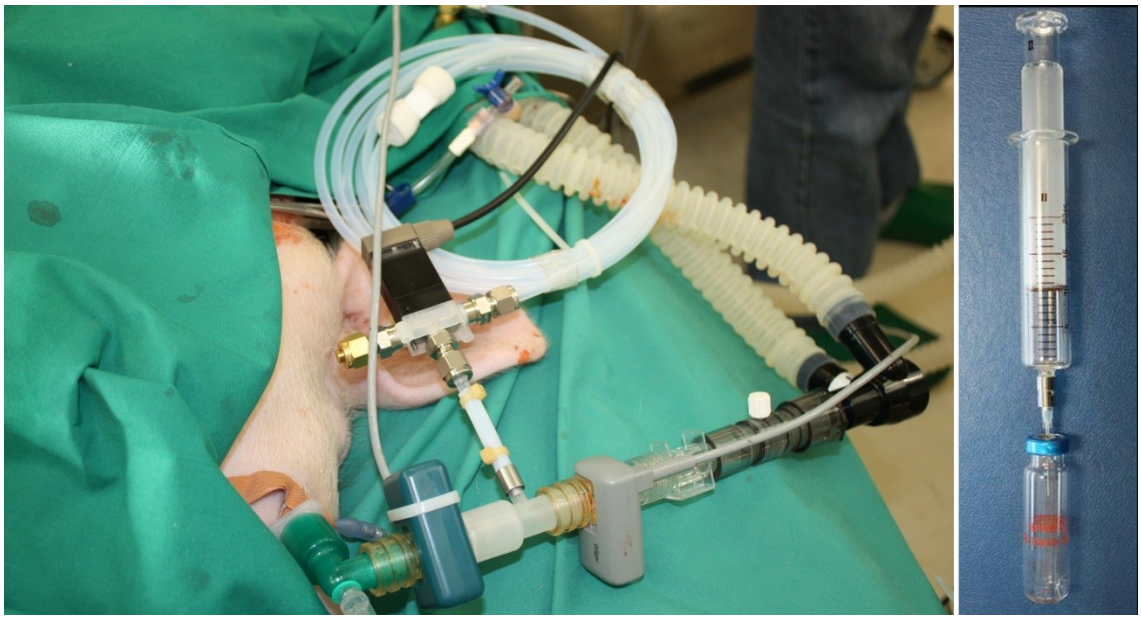

Abbildung 5: Links: Beatmungssystem mit Probenschleife zum Anschluss der PTR-MS, CO_2-Messküvetten und Luer-Lock-Anschlüssen zur manuellen Probenentnahme / Rechts: Gasdichte Spritze und Probengläschen für die laborbasierte Analyse mittels GC-MS

2.5.3 Abnahme der Blutproben

Die Abnahme der arteriellen und gemischt-venösen Blutproben erfolgte simultan zum Zeitpunkt der diskontinuierlichen Atemgasproben-Entnahmen. Dabei wurden zu jedem Messzeitpunkt 2,7 ml arterielles Blut des Versuchstieres aus dem arteriellen Katheter und 2,7 ml gemischt-venöses Blut des Versuchstieres aus dem PAK in heparinisierte Monovetten entnommen. Anschließend wurden diese Blutproben in ein zuvor evakuiertes, gasdichtes 20 ml Probengefäß mit 7 ml Natriumchlorid Lösung (3%), Phosphat-Puffer (pH 7,0) transferiert [58]. Als interner Standard wurde Thymol zugegeben. Die Proben wurden innerhalb von sechs Stunden im Labor mittels SPME-GC-MS analysiert.

2.6 Analytische Methoden

Zur laborbasierten Bestimmung der Propofolkonzentrationen im Atemgas wurden in dieser Studie Solid-Phase Micro Extraction (SPME) und Gas-chromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) verwendet.

Die SPME Fasern und die Referenzsubstanzen Propofol und Thymol wurden bei SUPELCO (Bellefonte, USA) erworben, das Medikament Propofol-Lipuro 1 % wird von der Firma BRAUN (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) hergestellt, und das Arzneimittel wurde über die Apotheke bezogen.

Die zu analysierende Substanz Propofol wurde in der Beschichtung der SPME-Faser angereichert, mittels programmierter Erwärmung (Thermodesorption) im Injektor des Gaschromatographen vom Trägermaterial in den Trägergasstrom (Helium) desorbiert, gaschromatographisch aufgetrennt und anschließend mittels Massenspektrometrie detektiert. Die quantitative Auswertung der Messungen erfolgte über den Flächenquotienten (Fläche Analyt / Fläche IS) im Vergleich mit der Kalibriergeraden [15].

2.6.1 Präkonzentration / SPME

Die Präkonzentration von Propofol aus den Atemgasproben und Blutproben erfolgte mit Hilfe der Festphasenmikroextraktion, Solid-Phase Micro Extraction (SPME).

Die Festphasenmikroextraktion (SPME) ist eine Technik zur Anreicherung flüchtiger organischer Verbindungen mittels einer beschichteten Fused-Silica-Faser (Quarzglasfaser) basierend auf einer Anreicherung des Analyten aus gasförmigen oder flüssigen Proben an der Faser. Nach Einführen der Faser in das Probengefäß stellt sich ein Gleichgewicht zwischen dem Analyten in der Gasphase der Probe und der Fest- / Flüssigphase der Extraktionsfaser ein. Der Analyt wird so innerhalb weniger Minuten an der Faser angereichert. Die Faser wird in eine Nadel zurückgezogen, aus dem Probengefäß entfernt und anschließend zur thermischen Desorption des Analyten von der SPME-Faser in den heißen GC-Injektor überführt [87] / [88].

Für die Präkonzentration von Propofol in Atemgasproben und Blutproben (Headspace) wurde eine mit Carboxen / Polydimethylsiloxan / Divinylbenzen (CAR/PDMS/DVB) beschichtete SPME-Faser (SUPELCO, Bellefonte, USA) verwendet. Nach Präkonditionierung des Probengläschens für 10 min bei 40 °C wurde die Faser durch das Septum des Headspace-Probenglases durchgestochen, in die Gasphase eingeführt und nach einer Adsorptionszeit von 5 min (40 °C) wieder zurückgezogen und aus dem Probengefäß entfernt. Anschließend wurde die SPME-Faser in den Injektionsport des GC überführt, dort erneut ausgefahren und die Analyten 60 s bei einer Injektortemperatur von 260 °C in den Inertgasstrom (Helium) des Gaschromatographen desorbiert. Vor der nächsten Analyse wurde die Faser im Inlay (Einlass) des Gaschromatographen für 30 min bei 260 °C rekonditioniert.

Zur automatisierten Präkonzentration und Überführung der SPME-Faser zum Gaschromatographen wurde ein CONCEPT Autosampler (PAS Technologies, Magdala, Deutschland) verwendet [15] / [89] / [90].

2.6.2 GC-MS - Messungen

Die Substanzgemische wurden mittels Gaschromatographie (GC) aufgetrennt und Propofol anschließend massenspektrometrisch detektiert.

Die GC/MS-Analyse erfolgte mit einem Agilent 7980 Gaschromatographen in Verbindung mit einem 5975 Massenspektrometer. Als inertes Trägergas diente Helium (mit einem Fluss von 1,0 $ml*min^{-1}$), die stationäre Phase bestand aus einer DB 5 Kapillarsäule (30 m * 0,25 mm interner Durchmesser, 1,0 µm Filmdicke (SIGMA – ALDRICH, Steinheim, Deutschland).

Das GC-Programm startete bei 120 °C, die Temperatur wurde für 2 min gehalten und wurde dann mit einer Rate von 6 $°C*min^{-1}$ auf 200 °C erhöht, und für 2 min gehalten. Dann wurde die Temperatur mit einer Rate von 15 $°C*min^{-1}$ auf 300 °C erhöht und ebenfalls für 2 min gehalten. Die Analyse wurden bei einem konstanten Säulendruck von 15 psi (entspricht 1,034 bar) durchgeführt [91] / [92].

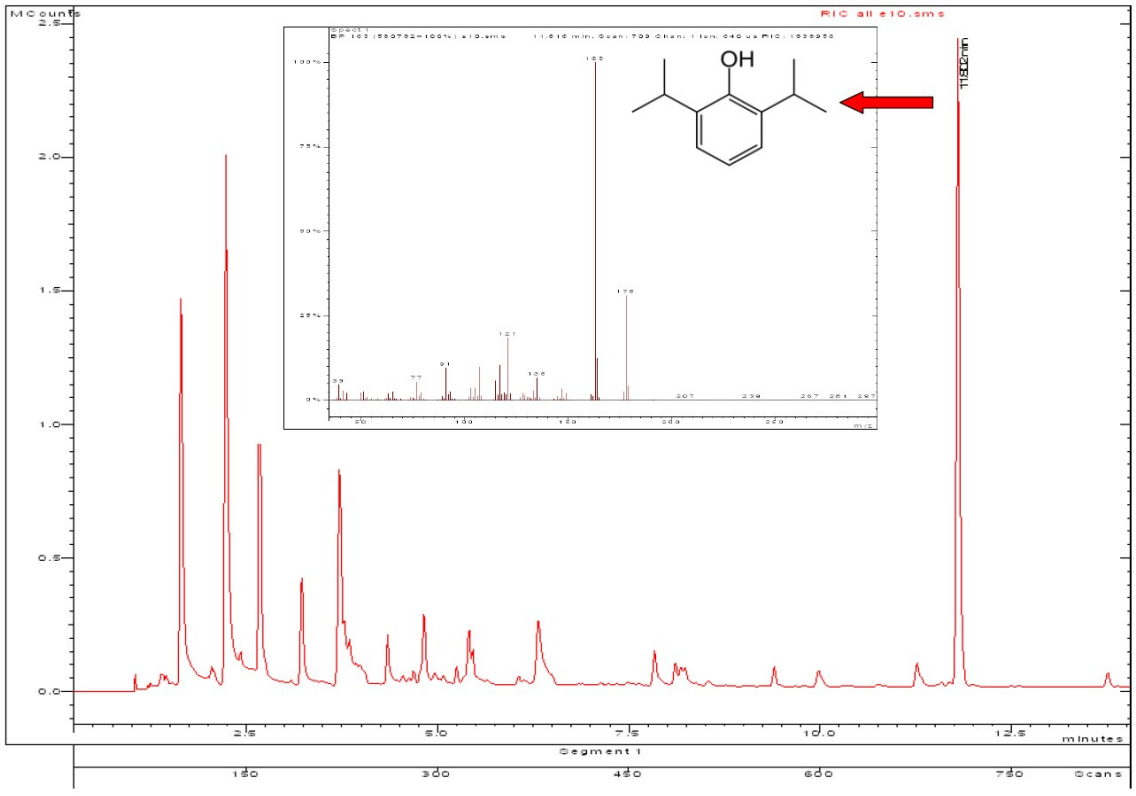

Abbildung 6: Chromatogramm der Ausatemluft. Einsatz: Massenspektrum von Propofol.

Im Massenspektrometer wurden die Substanzen im EI (Electron Impact) Modus (70 eV) ionisiert und mit einer Scan-Rate von 3 Scans*s^{-1} bei einem Massenbereich von 35 – 250 u massenspektrometrisch detektiert [15]. Die Identifizierung von Propofol erfolgte über das Massenspektrum (Abbildung 6), die Quantifizierung über das Fragment m/z 163 [15].

2.6.3 PTR-MS

Zur kontinuierlichen PTR-MS Online - Messung von Propofolkonzentrationen in der Alveolarluft wurde zusätzlich ein Gerät zur CO_2-getriggerten Atemgas - Probennahme genutzt, welches mit der ersten Generation einer „high sensitivity PTR-MS“ (IONICON, Innsbruck, Österreich) verbunden wurde [85] / [93] / [94]. Die Transferleitung (MXT-Hydroguard Säule, 2 m x 0,53 mm innerer Durchmesser x 1.0 µm Filmdicke; BGB-Analytik, Schlossboeckelheim, Deutschland) und die Verbindung mit dem PTR-MS wurden beheizt. Der Druck in der Driftröhre der PTR-MS betrug 2,055 mbar, die Spannung der Driftröhre wurde auf 400 V gesetzt, die Temperatur der Driftröhre wurde bei 90 °C gehalten. Die Quantifizierung der ausgeatmeten Propofolkonzentrationen wurde durch tägliche externe Kalibrierung durchgeführt [95] / [96].

2.7 Statistische Berechnungen

Für die statistische Auswertung wurde eine lineare Regressionsanalyse für die Propofolkonzentrationen im Atemgas und im Blut ausgeführt [97]. Zur Überprüfung der Normalverteilung der Daten wurde der Smirnow-Kolmogorow Test eingesetzt. Für den Vergleich von GC-MS und PTR-MS zur Ermittlung von Propofol-Atemgaskonzentrationen wurde die Bland-Altman Statistik genutzt [98] / [99]. Statistische Berechnungen erfolgten mit SigmaStat 3.5/ SigmaPlot 10.0.

3 Ergebnisse

3.1 Propofolkonzentrationen im zeitlichen Verlauf

Abbildung 7 zeigt die Ergebnisse der kontinuierlichen Messung der exhalierten Propofolkonzentrationen aller Versuchstiere mittels PTR-MS während der gesamten Versuchszeit. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte dargestellt. Zur Reduktion der inter-individuellen Variabilität wurden die Ergebnisse auf die zum Zeitpunkt StS 2 ermittelten Werte normiert. Hämodynamische Interventionen wie Start des Pulmonalis-Bandings sowie Beginn der Dobutaminapplikation sind als graue Pfeile gekennzeichnet. Null auf der Zeitskala entspricht dem Steady State 2 (StS 2) 10 min nach Ende des partiellen Abbindens („Banding“) der Pulmonalarterie. Die Flussreduktion in der Pulmonalarterie wurde vor Steady State 2 durchgeführt und vor diesem beendet. Dobutamin wurde nach Steady State 2 appliziert. Während der Reduktion des Blutflusses im Hauptstamm der A. pulmonalis war ein Anstieg der mittels PTR-MS gemessenen exhalierten Propofolkonzentrationen zu verzeichnen. Im Gegensatz dazu war nach Dobutaminapplikation ein Abfall der exhalierten Propofolkonzentrationen erkennbar.

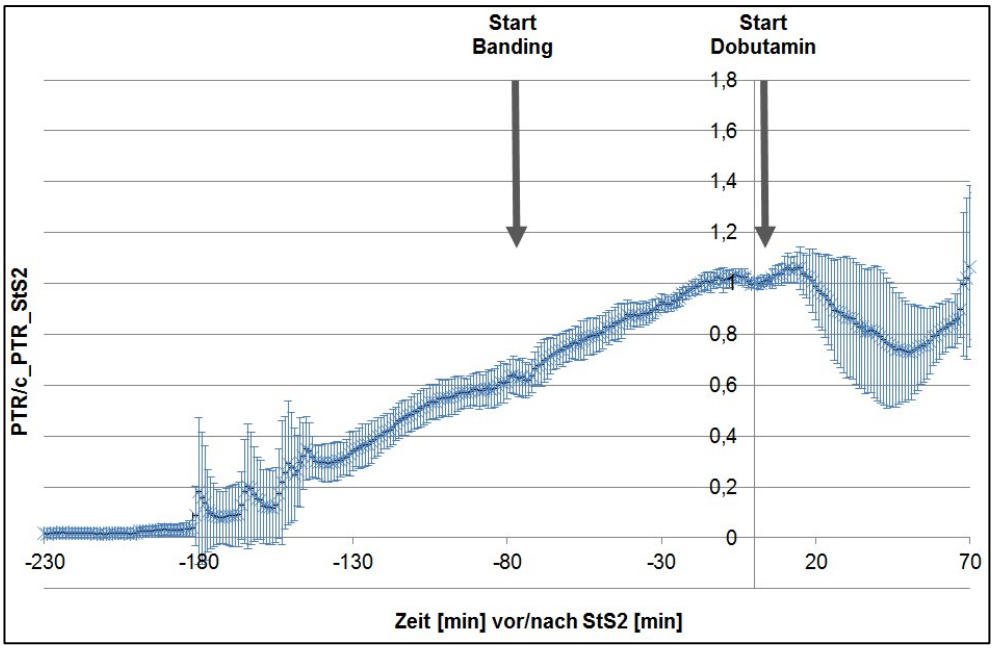

Abbildung 7: Verlauf der normierten Atemgaspropofolkonzentrationen aller Versuchstiere (n=7) (PTR-MS)

3.2 Lineare Regressions- und Korrelationsanalysen

3.2.1 Atemgaskonzentrationen: Messung mit PTR-MS versus SPME-GC-MS

Die Regressionsanalyse der exhalierten Propofolkonzentrationen wurde mit den Ergebnissen von zwei unabhängigen analytischen Methoden, der kontinuierlichen Messung mittels PTR-MS und der diskontinuierlichen Messung mittels SPME-GC-MS, durchgeführt und zeigt eine sehr gute Übereinstimmung (Regressionskoeffizient R^2 = 0,959) zwischen der diskontinuierlichen Messung mittels GC-MS und der kontinuierlichen Messung mittels PTR-MS.

Abbildung 8 zeigt den Zusammenhang zwischen den exhalierten Propofol-konzentrationen, die mittels PTR-MS (c_ex_PTR [ppb]) bestimmt wurden, und den exhalierten Propofolkonzentrationen, die mittels GC-MS (c_ex_GC [ppb]) gemessen wurden.

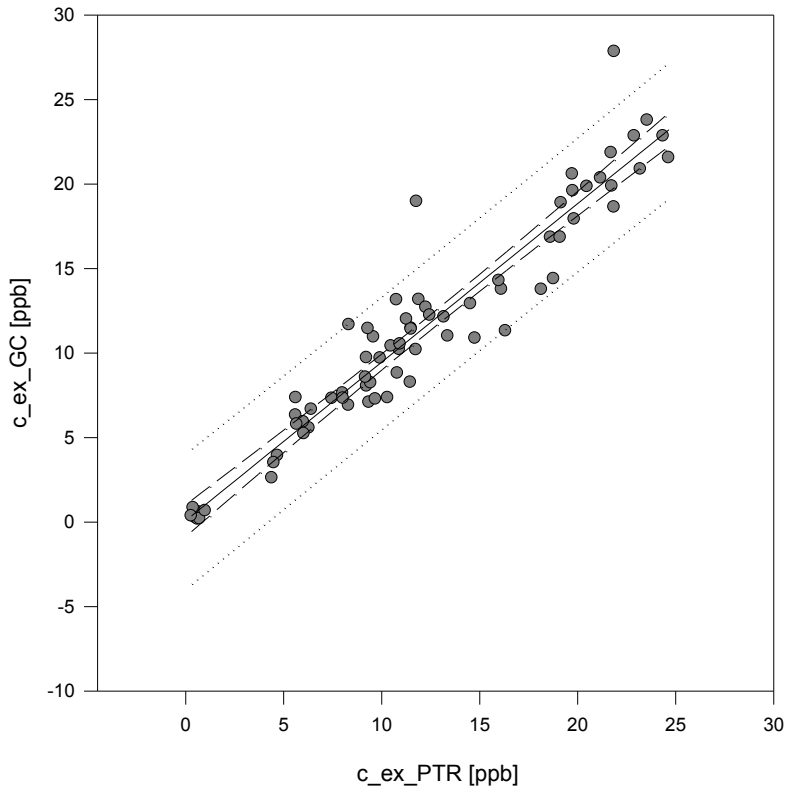

Abbildung 8: Zusammenhang zwischen den mittels PTR-MS und GC-MS bestimmten exhalierten Propofofolkonzentrationen

3.2.2 Propofolkonzentrationen im Atemgas und im Blut während Änderung von pulmonalem Blutfluss und HZV

Die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse für die Bestimmung des Zusammenhangs zwischen arteriellen bzw. gemischt-venösen Propofolkonzentrationen und den Propofolkonzentrationen in der Ausatemluft sind in Tabelle 2 gezeigt. Die Berechnung schließt alle sieben Versuchsschweine ein. Dargestellt sind die Berechnungen für alle 11 Messpunkte des Experimentes zusammen, gesondert für die Messpunkte während der Flussreduktion in der A. pulmonalis mit Abfall des HZV und für die Messpunkte während der Dobutamingabe mit Anstieg des HZV.

Regression	Konstante **a**	Koeffizient **b**	R^2	p-Wert
Alle Werte (Messpunkte 1-11)				
c_art = a + b* c_ex_GC	-0,068	0,192	0,621	0,004
c_art = a + b* c_ex_PTR	-0,119	0,195	0,597	0,005
c_ven = a + b* c_ex_GC	-0,118	0,191	0,685	0,002
c_ven = a + b* c_ex_PTR	-0,186	0,195	0,669	0,002
Ausgangszustand & Banding (Messpunkte 1,3-7; HZV ↓)				
c_art = a + b* c_ex_GC	0,188	0,213	0,906	0,003
c_art = a + b* c_ex_PTR	0,167	0,220	0,925	0,002
c_ven = a + b* c_ex_GC	0,082	0,211	0,935	0,002
c_ven = a + b* c_ex_PTR	0,065	0,217	0,952	<0,001
Ausgangszustand & Dobutamin (Messpunkte 1,7-11; HZV ↑)				
c_art = a + b* c_ex_GC	-0,058	0,154	0,783	0,019
c_art = a + b* c_ex_PTR	-0,188	0,161	0,795	0,017
c_ven = a + b* c_ex_GC	-0,012	0,151	0,815	0,014
c_ven = a + b* c_ex_PTR	-0,152	0,159	0,838	0,010

c_art: arterielle Propofolkonzentrationen (mittels SPME-GC-MS bestimmt)

c_ven: gemischt-venöse Propofolkonzentrationen (mittels SPME-GC-MS bestimmt)

c_ex_GC: exhalierte Propofolkonzentrationen (mittels SPME-GC-MS bestimmt)

c_ex_PTR: exhalierte Propofolkonzentrationen (mittels PTR-MS bestimmt)

HZV↑/↓: Herzzeitvolumen erhöht / erniedrigt

Tabelle 2: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse von arteriellen und gemischt-venösen Blutkonzentrationen und den Propofolkonzentrationen in der Ausatemluft während den verschiedenen Phasen des Versuchs

Führt man die lineare Regressionsanalyse für alle sieben Versuchstiere und alle elf Versuchszeitpunkte durch, lagen die Regressionskoeffizienten (R^2) für den Zusammenhang zwischen Propofolkonzentrationen im Blut (arteriell und gemischt-venös) und Propofolkonzentrationen im Atemgas zwischen 0,621 und 0,685 für die GC-MS-Messung bzw. zwischen 0,597 und 0,669 für die PTR-MS-Messung. Die Konzentrationen im arteriellen und gemischt-venösem Blut waren ähnlich $R^2 = 0{,}989$, $p < 0{,}001$.

Wenn die Berechnungen für die Messpunkte 1 (Ausgangszustand) und 3 – 7, also während Steady State 1 (StS 1) und während des partiellen Abbindens des Pulmonalarterien-Hauptstamms ausgeführt wurden, ergab die lineare Regressionsanalyse für das Verhältnis zwischen Propofol- Blut - und Atemgaskonzentrationen bei GC-MS-Messung Regressionskoeffizienten (R2) von 0,906 bzw. 0,935. Für die PTR-MS-Messung ergab die Berechnung der Regressionskoeffizienten (R2) Werte zwischen 0,925 und 0,952.

Die lineare Regressionsanalyse für das Verhältnis zwischen Propofol-konzentrationen im Atemgas und im Blut wurde ebenfalls für die Messpunkte 1 (Ausgangszustand) und 8 – 11 (Dobutamininfusion) des Versuchs ausgeführt. Die Regressionskoeffizienten (R2) lagen hierbei bei Werten zwischen 0,783 und 0,815 für GC-MS, und 0,795 sowie 0,838 für PTR-MS-Messungen.

Abbildung 9 zeigt Atemgaskonzentrationen von Propofol (c_ex_GC und c_ex_PTR, [ppb]), arterielle (c_art, [$\mu g*ml^{-1}$]) und gemischt-venöse (c_ven, [$\mu g*ml^{-1}$]) Blutkonzentrationen von Propofol im Verhältnis zum pulmonalen Blutfluss (PBF, [$l*min^{-1}$]). Atemgas- und Blutkonzentrationen werden als Mittelwert für alle 11 Messzeitpunkte aller 7 Versuchstiere gezeigt. Die hämodynamischen Interventionen wie Flussreduktion (Banding) in der A. pulmonalis und Dobutaminapplikation sind als graue Pfeile gekennzeichnet.

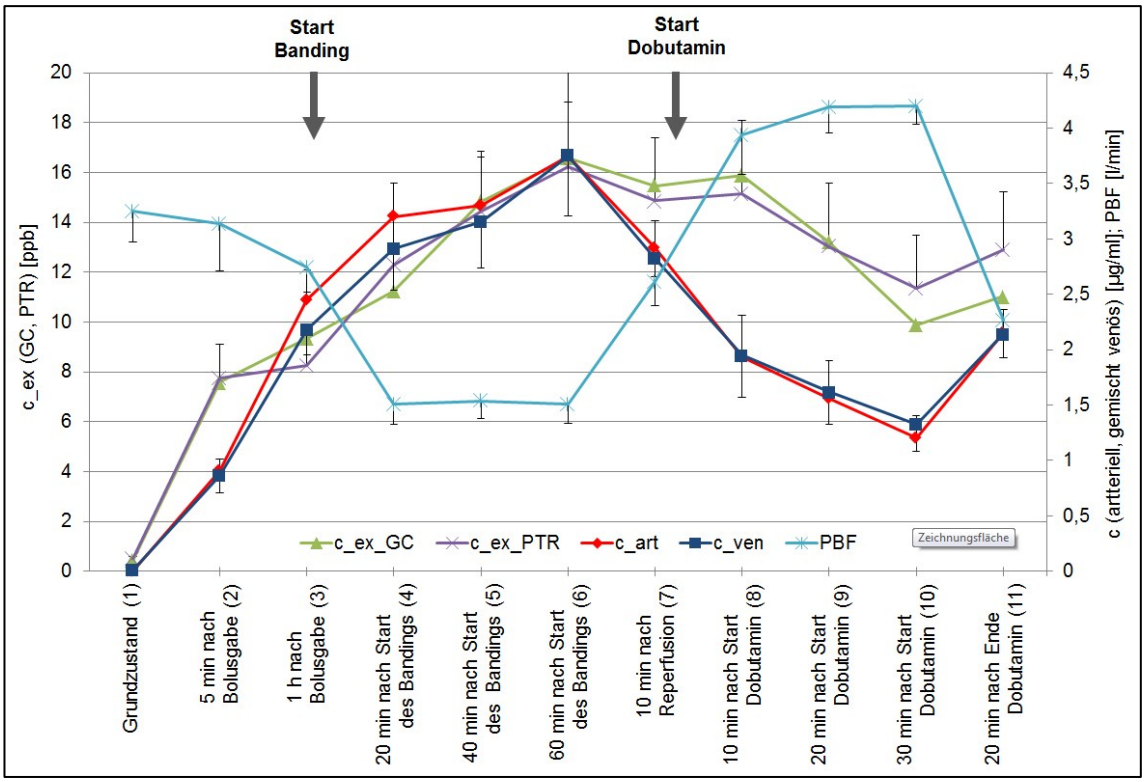

Abbildung 9: Atemgas- und Blutkonzentrationen von Propofol im Verlauf bei Änderung des pulmonalen Blutflusses

Wie in Abbildung 9 zu erkennen ist, fiel während des partiellen Abbindens des Truncus pulmonalis der pulmonale Blutfluss in den laut Studienprotokoll gewünschten Bereich ab, während die Propofolkonzentrationen im Atemgas gemessen mittels PTR-MS und gemessen mittels GC-MS jeweils deutlich anstiegen. Die Propofolkonzentrationen im arteriellen und im gemischt-venösen Blut stiegen ebenfalls weiter an.

Während Dobutamingabe in der folgenden Studienphase stiegen HZV und pulmonaler Blutfluss signifikant an, wobei nun ein Abfall der Propofolkonzentrationen im Blut und im Atemgas zu verzeichnen war. Dabei war der Abfall der Propofolkonzentrationen im Atemgas weniger stark ausgeprägt, als der Abfall der Propofolkonzentrationen im Blut.

Abbildung 10 zeigt das Verhältnis der arteriellen Propofol-Blutkonzentrationen (c_art, [µg*ml^{-1}]) und der Propofol-Atemgaskonzentrationen (c_ex_GC, [ppb]) während des Abbindens der Pulmonalarterie und während der Dobutaminapplikation.

Die roten Punkte repräsentieren die Konzentrationen, die im Ausgangszustand, während Steady-State und während des Abbindens (Banding) des Truncus pulmonalis gemessen wurden. Die blauen Kreuze

repräsentieren die Konzentrationen, die im Ausgangszustand und während der Dobutaminapplikation gemessen wurden. Die beiden Messpunkte mit rotem Punkt über blauem Kreuz zeigen die Propofolkonzentrationen im Ausgangszustand und nach dem Ende der Dobutamingabe an.

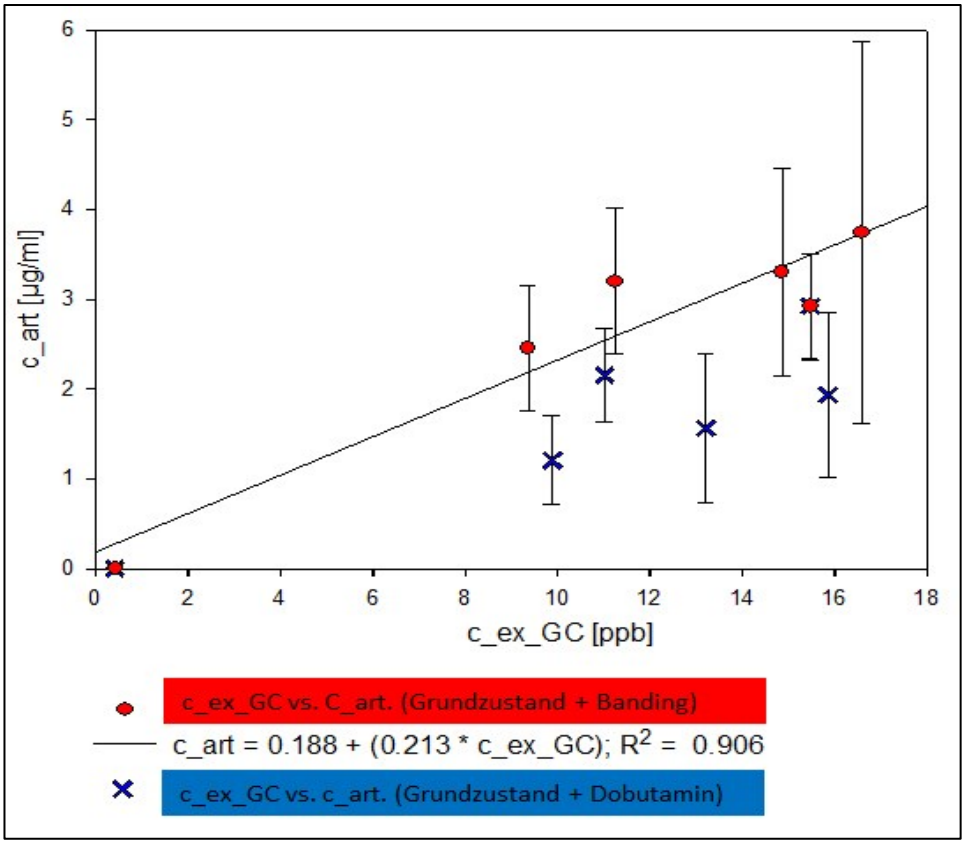

Abbildung 10: Zusammenhang zwischen arteriellen und exhalierten Propofolkonzentrationen unter Änderung von pulmonalem Blutfluss und HZV

Die Ergebnisse zeigen, dass die Zuverlässigkeit der indirekten Bestimmung von Propofolkonzentrationen im Blut über Atemgaskonzentrationen abhängig ist von Änderungen des HZV. Bei Steigerung des HZV durch Dobutamingabe, verhielten sich die Propofolkonzentrationen im Atemgas und im Blut divergent. Die Erhöhung des Herzzeitvolumen führte zu einer Verschlechterung der Beziehung zwischen Atemgas- und Blutkonzentrationen von Propofol (R^2 = 0,783 bzw. 0,815). Dagegen führte die Reduktion von pulmonalem Blutfluss und HZV durch das Abbinden (Banding) des Truncus pulmonalis zu keiner signifikanten Beeinflussung dieses Verhältnisses (R^2 = 0,906 bzw. 0,935).

3.2.3 Korrelationsanalyse: Propofol im Atemgas / Blut

Tabelle 3 zeigt den Zusammenhang von Propofolkonzentrationen im Atemgas und im Blut als Pearsonkoeffizient (R) für Blut- / Atemgas-konzentrationen, und auch die Ergebnisse der Korrelationsanalyse für arterielle versus gemischt-venöse Blutkonzentrationen sowie und Atemgas-konzentrationen, die mittels GC-MS versus PTR-MS für alle sieben Versuchstiere bestimmt wurden.

Korrelation	Korrelationskoeffizient R	p-Wert
c_art vs. c_ex_GC	0,788	0,004
c_art vs. c_ex_PTR	0,733	0,005
c_ven vs. c_ex_GC	0,828	0,002
c_ven vs. c_ex_PTR	0,818	0,002
c_ex_GC vs. c_ex_PTR	0,979	<0,001
c_art vs. c_ven	0,995	<0,001

c_art: arterielle Propofolkonzentrationen (mittels SPME-GC-MS bestimmt)

c_ven: gemischt-venöse Propofolkonzentrationen (mittels SPME-GC-MS bestimmt)

c_ex_GC: exhalierte Propofolkonzentrationen (mittels SPME-GC-MS bestimmt)

c_ex_PTR: exhalierte Propofolkonzentrationen (mittels PTR-MS bestimmt)

Tabelle 3: Korrelationen zwischen Propofol-Blut- und Atemgaskonzentrationen (Pearsonkoeffizienten)

Der Pearsonkoeffizient ($R = \sqrt{R^2}$) für den Zusammenhang von Propofol-konzentrationen im Atemgas gemessen mittels GC-MS und Propofolkonzentrationen im Atemgas gemessen mittels PTR-MS ergab einen Wert von 0,979.

Der Pearsonkoeffizient (R) für den Zusammenhang von Propofol-konzentrationen im arteriellen bzw. gemischt-venösen Blut und im Atemgas, gemessen mittels GC-MS, ergab Werte zwischen 0,788 für arterielles und 0,828 für gemischt-venöses Blut. Ein Pearsonkoeffizient (R) mit Werten zwischen 0,733 und 0,818 wurde für den Zusammenhang von Blut- / Atemgaskonzentrationen von Propofol, gemessen mittels PTR-MS, ermittelt.

Der Pearsonkoeffizient (R) für den Zusammenhang zwischen arteriellen und venösen Propofol-Blutkonzentrationen ergab einen Wert von 0,995.

3.3 Bland-Altman-Diagramm

Die Regressionsanalyse (siehe vorheriges Kapitel 3.2) zeigte eine exzellente Übereinstimmung (R^2=0,959) zwischen der diskontinuierlichen Messung mittels GC-MS und der kontinuierlichen Messung mit PTR-MS (Abbildung 8). Diese Übereinstimmung der beiden angewandten unabhängigen Messmethoden, der Messung mittels PTR-MS und der Messung mittels GC-MS wurde durch den Bland-Altman Test (Abbildung 11) bestätigt.

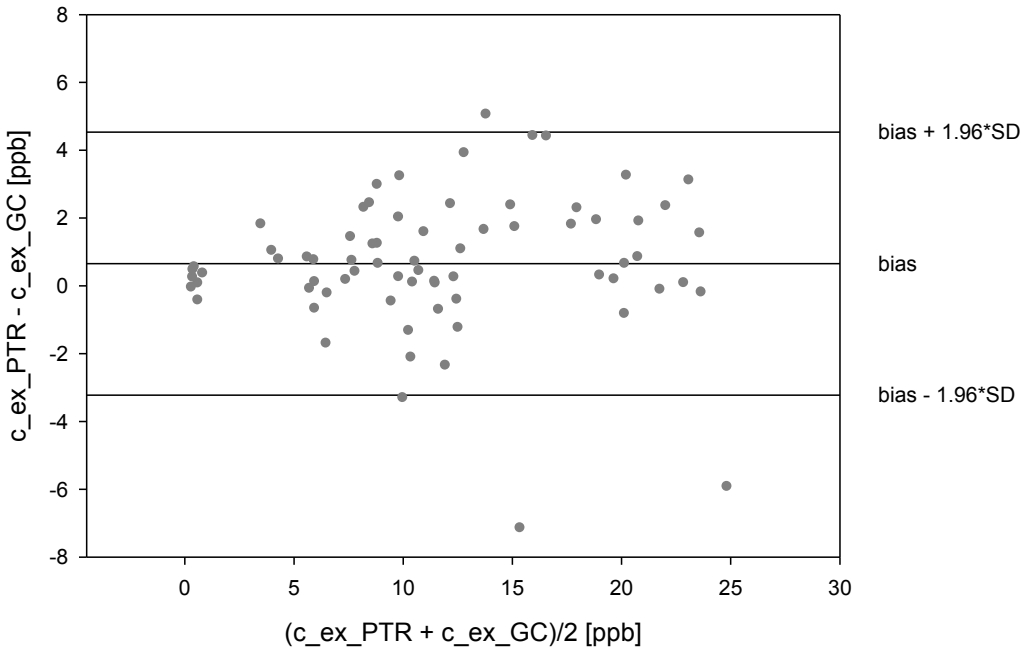

Abbildung 11: Bland-Altmann-Diagramm für den Methodenvergleich von PTR-MS und GC-MS

Abbildung 11 zeigt das Bland-Altman Diagramm für den Methodenvergleich zwischen der kontinuierlichen Messung der exhalierten Propofolkonzentrationen mittels PTR-MS (c_ex_PTR) und der diskontinuierlichen Messung der exhalierten Propofolkonzentrationen mittels GC-MS (c_ex_GC) für alle 7 Versuchstiere und mit Messwerten aller 11 Messzeitpunkte. Die Werte (c_ex_PTR + c_ex_GC) / 2 und Differenzen (c_ex_PTR – c_ex_GC) wurden für 22 Messungen pro Versuchstier bestimmt, das heißt 11 Werte wurden mittels PTR-MS und 11 Werte mittels GC-MS gemessen. Im Diagramm werden drei Linien dargestellt: der Mittelwert der Differenz, der Mittelwert der Differenz plus 1,96 * Standardabweichung und der Mittelwert der Differenz minus 1,96 * Standardabweichung [98] - [101].

4 Diskussion

Die konventionelle Analyse von Propofolkonzentrationen im Blut ist eine invasive und zeitintensive Methode und kann daher nicht zur Überwachung oder Steuerung der Propofolapplikation während einer Anästhesie genutzt werden. Bereits 1999 wiesen Kuipers et al. auf die theoretische Möglichkeit der Abatmung von Propofol über die Lungen hin [104]. 2003 konnten Harrison et al. [73] erstmals Propofol im Atemgas mittels PTR-MS nachweisen. Für die Abschätzung von Propofol-Blut-Konzentrationen mittels Atemgasanalyse müsste eine enge Korrelation zwischen Atemgas- und Blutkonzentration existieren. Die in bisher durchgeführten Studien beschriebenen Korrelationen zwischen Propofol-Blut- und Atemgaskonzentration, sind jedoch auf Grund geringer Reproduzierbarkeit und großer Streuungen nur eingeschränkt aussagekräftig [92]. [95] / [102] / [103] Das Ziel der vorliegenden Studie war daher, die Korrelationen zwischen Propofol-Blut- und Atemgaskonzentrationen im kontrollierten Setting eines Tiermodells unter definiert veränderten hämodynamischen Bedingungen zu untersuchen.

Um sowohl ein kontinuierliches Monitoring der Propofol-Konzentrationen im Atemgas als auch eine synchrone Bestimmung von Blut-Atemgaskonzentrationen zu definierten Zeitpunkten zu erreichen sowie um die Vergleichbarkeit der Methoden zu testen wurden zwei verschiedene analytische Methoden eingesetzt: eine laborbasierte Bestimmung der Blut und Atemgaskonzentrationen mittels SPME-GC-MS und eine kontinuierliche Messung der Atemkonzentrationen mittels PTR-MS direkt am Versuchstier.

Die SPME-GC-MS Technik ermöglicht eine eindeutige Substanz-Identifikation und Quantifizierung. Auf Grund der niedrigen Propofol-konzentrationen im Atemgas ist für die GC-MS-Analyse eine zuverlässige und reproduzierbare Präkonzentrierung erforderlich, die im vorliegenden Fall mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) realisiert wurde [93] / [94]. Das Verfahren der SPME wurde 1989 von Pawliszyn entwickelt [105] - [113] und beruht auf einer verteilungsbasierten Anreicherung der Analyten in einer

Mikroextraktionssonde. Die Auswahl des SPME-Fasertyps erfolgt entsprechend den physikochemischen Eigenschaften (Molekulargewicht, Polarität) des Analyten und den zu erwartenden Verteilungskoeffizienten (Gas / Fasermaterial). Im Gegensatz zu anderen Methoden der Propofolbestimmung, die eine aufwändige Probenvorbereitung (Zentrifugation, Abtrennung des Plasmas, Extraktion) erfordern, können hier Vollblutproben verwendet werden. Die Nachweisgrenzen und linearen Bereiche der Methode decken den Bereich der üblichen therapeutischen Propofol Blut- und Atemgaskonzentrationen ab [89] [92]. Da die Propofolbestimmung in Vollblut und im Atemgas mit derselben analytischen Methode durchgeführt wurde, konnten systematische Fehler durch Anwendung unterschiedlicher Analysetechniken vermieden werden [15].

Die kontinuierliche Messung von Propofol in der Ausatemluft erfolgte mittels PTR-MS mit einer Zeitauflösung von 500 ms. Die Verwendung von PTR-MS bzw. IMR-MS zur Bestimmung von Propofol im Atemgas wurde bereits beschrieben [73] / [95] / [102]. Bei dieser Methode erfolgt mittels Protonierung eine „weiche“ Ioniseriung der Analyten. Dadurch wird eine Fragmentierung der Moleküle vermieden bzw. reduziert und der Nachweis des Propofols erfolgt über die protonierte Molmasse (M+1) bzw. über das protonierte Hauptfragment. Da im Gegensatz zur GC-MS keine Vortrennung der volatilen Verbindungen durchgeführt wird, besteht die Gefahr der Überlagerung von Kontaminationen gleicher molarer Massen. Dies ist besonders in der klinischen Umgebung von Bedeutung, wo zahlreiche Kontaminationen von Umgebungsluft oder Schlauchsystemen (z.B. Luftverunreinigung durch Desinfektionsmittel, Anästhetika etc.) auftreten und zu Verwechslungen führen können [93] / [114]. Um solche Überlagerungen auszuschließen, wurden in unserer Studie die mittels PTR-MS gemessen Konzentrationen mit den punktuell gemessenen GC-MS Werten verglichen. Die Übereinstimmung der Messwerte der zwei Methoden in unserer Studie belegt die Validität der PTR-MS Messungen.

Die quantitative Analyse mittels PTR-MS beruht auf empirischen Algorithmen oder Einzelpunktkalibrierungen, welche für die Umrechnung von counts per seconds in Substanzkonzentrationen verwendet werden. Voraussetzung für eine quantitative Analyse mittels PTR-MS ist eine genau definierte und reproduzierbare chemische Ionisierung, welche aber durch die Anwesenheit von hohen Konzentrationen anderer Substanzen wie z.B. volatiler

Anästhetika beeinflusst werden kann [86] / [93] / [114] / [115]. Durch die exzellente Übereinstimmung zwischen der diskontinuierlichen, laborbasierten Messung mittels SPME-GC-MS und der kontinuierlichen Messung mittels PTR-MS konnten Effizienz und Zuverlässigkeit beider verwendeter Techniken bewiesen werden. Im Gegensatz zur diskontinuierlichen GC-MS können mittels PTR-MS rasche Veränderungen der exhalierten Medikamentenkonzentrationen und der zeitliche Verlauf aufgezeichnet werden.

Medikamente und deren Metabolite repräsentieren Substanzen, die sich nach oraler Einnahme oder intravenöser Applikation über den Blutstrom in die unterschiedlichen Kompartimente des menschlichen Körpers verteilen und in die Lunge transportiert werden [12]. Wenn volatile Substanzen mit dem Blutstrom in die Lungenkapillaren gelangen, durchdringen sie die alveolo-kapilläre Membran und es werden durch die Blut-Gasverteilungskoeffizienten festgelegte, alveolare Substanzkonzentrationen aufgebaut [58] / [86] / [115] / [116]. Daher korrelieren nur die in der Alveolarluft gemessenen Substanzkonzentration gut mit den Konzentrationen im Blut [82] / [86] / [114] / [115]. Deswegen erfolgte für alle Atemgas-Messungen eine CO_2-kontrollierte Atemgas-Probennahme. Die Echtzeitmessungen von Propofolkonzentrationen im Atemgas wurden unter Verwendung der von Schubert et al. beschriebenen CO_2–kontrollierten Probennahmetechnik durchgeführt [52]. Diese bedient sich einer automatisierten CO_2-kontrollierten Probenentnahmevorrichtung [114] / [115], um das PTR-MS Gerät kontinuierlich mit Alveolarluft zu versorgen [85].

Weiterhin bedeutend war die Frage, in welchem Blutkompartiment die für den Vergleich mit den Atemgaskonzentrationen heranzuziehenden Propofolkonzentrationen bestimmt werden sollten. Bereits Stanski erwähnte, dass venöse Blutentnahmen nicht geeignet seien, da sie v. a. die Aufnahme der Medikamente in Haut und Muskel reflektieren. Nur die arteriellen Konzentrationen spiegeln die Verhältnisse in den Zielorganen, hier insbesondere im Gehirn wieder [117] / [118].

Wenn Propofolkonzentrationen im Atemgas genutzt werden sollen, um Propofolkonzentrationen im Blut während Anästhesie oder Sedierung zu bestimmen, so muss ein definierter Zusammenhang zwischen Propofol-Atemgas- und Blutkonzentrationen zuverlässig, reproduzierbar nachweisbar sein. Um therapeutische Entscheidungen wie Änderung der Infusionsrate von

Propofol aus Atemgaskonzentrationen ableiten zu können, müssen die indirekt aus Atemgaskonzentrationen ermittelten Blutkonzentrationen reproduzierbar genau die aktuelle freie Blutkonzentration wiederspiegeln. Seit längerem ist bekannt, dass diese Bedingung nach Propofolinfusion erst in einem Steady-State und nach Equilibration zwischen Gewebe- und Blutkonzentrationen erfüllt werden kann. Hiraoka et al. postulierten, dass ein Pseudo-Steady State erst nach 20 min konstanter Infusion von Propofol erreicht sei [119]. Gepts et al. beschreiben, dass sogar erst nach 40 – 60 min Dauerinfusion von Propofol nur noch geringe Konzentrationsveränderungen zu verzeichnen seien [14]. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden in unserer Studie Propofolkonzentrationen erst nach einer Stunde kontinuierlicher Infusion für die Korrelations-/ Regressionsanalysen berücksichtigt. Auch in unserer Studie ergab sich eine gute Korrelation zwischen Propofolatemgas- und Blutkonzentrationen im Steady State.

Auf Grund dieses im Steady State nachgewiesenen Zusammenhangs zwischen Propofol-Atemgas- und Blutkonzentrationen schlussfolgerten bereits andere Autoren, dass eine Bestimmung von Propofolblutkonzentrationen mittels Atemgasanalyse möglich sein sollte [89] / [92]. Bereits 2008 wiesen jedoch Miekisch et al auf einen differenzierten Zusammenhang zwischen Propofol-Blut- und Atemgaskonzentrationen bei verschiedenen Patientengruppen hin [92]. TIVA-Patienten ohne Thoraxeingriff als Vergleichsgruppe hatten bei gleichen Konzentrationen im Blut deutlich geringere Konzentrationen von Propofol im Atemgas als Patienten mit lungenchirurgischen Eingriffen.

Um die Auswirkung der Reduktion des pulmonalen Blutflusses und daraus resultierender Beeinflussung des Verhältnisses von Ventilation und Perfusion auf die Abatmung von Propofol zu untersuchen, wurde in unserer Studie der pulmonale Blutfluss durch Banding des Truncus pulmonalis reduziert. Bisherige Tierstudien beschrieben das Banding der Pulmonalarterie als Model für pulmonale Hypertonie mit resultierender Rechtsherzbelastung [120] / [121] / [122]. In dieser Studie ermöglichte es die Ultraschall-kontrollierte Reduzierung des Blutflusses in der Pulmonalarterie unter konstanter mechanischer Beatmung, die u.a. auch durch Totraumventilation bedingten Änderungen der Abatmung von Propofol zu untersuchen. Das Abbinden des Pulmonalarterinhauptstamms bis zur Reduktion des Blutflusses auf 30 – 50 %

des ursprünglichen Wertes führte reproduzierbar bei allen Versuchstieren zu einer Verminderung des HZV mit begleitender Hypotension und Tachykardie. Obwohl sich die Totraumventilation durch Konstanthalten des Atemminutenvolumens vergrößerte, blieb der Zusammenhang zwischen Propofol-Blut- und Atemgaskonzentrationen im Wesentlichen unverändert. Die Propofolkonzentrationen im Blut und im Atemgas stiegen in gleicher Weise an, während das HZV abnahm. Eine mögliche Erklärung hierfür besteht darin, dass unter Abfall von HZV und PBF keine relevante zusätzliche Umverteilung von Propofol in die Lungen erfolgte. Außerdem steht der fehlende Effekt der Totraumventilation auf die Menge des exhalierten Propofols im Einklang mit der multiplen Gas-Eliminationstheorie (MIGET) [123]. Auf Grund der zwischen Ethan und Cyclopropan liegenden Löslichkeit des Propofols ist gemäß MIGET-Theorie kein relevanter Effekt der Totraumventilation auf das Verhältnis von Propofolkonzentrationen im Atemgas / Blut zu erwarten.

Völlig andere Ergebnisse ergaben sich bei Steigerung des HZV während der Dobutamingabe. Unter diesen Bedingungen verhielten sich arterielle, gemischt-venöse Blutkonzentrationen und exspiratorische Propofolkonzentrationen divergent. In der Literatur gibt es zahlreiche Informationen über die Veränderung von Propofol-Blutkonzentrationen unter Veränderung des HZV. Takizawa schlussfolgerte aus Ergebnissen einer Patientenstudie, dass ein resultierender Abfall der Propofolkonzentration im Blut klinisch bedeutsam sein könnte [81]. Ein umgekehrt proportionaler Zusammenhang zwischen HZV und Propofol-Blutkonzentrationen wurde von Kurita et al. beobachtet [124]. Diese und andere Autoren führten diesen Effekt auf HZV-abhängige Verteilung des Medikaments zwischen verschiedenen Kompartimenten zurück [125]. Myburgh et al. erklärten die signifikante Erniedrigung der arteriellen Propofol-konzentrationen, induziert durch den Anstieg des HZV nach Katecholamininfusion im Schafmodel mit einem First Pass Effekt und dem Anstieg der Clearance von Propofol [126]. Kuipers et al. beschrieben eine pulmonale Umverteilung und einen First Pass Effekt im Tierexperiment [104].

Bislang wurde der Einfluss einer HZV-Erhöhung auf die Propofol-konzentration im Atemgas und auf die Korrelation Blut / Atemgas noch nicht untersucht. Erstaunlicherweise war unter steigendem HZV der Abfall der Propofolkonzentration im Atemgas weniger ausgeprägt als die Abnahme der

Propofolkonzentration im Blut. Dies kann möglicherweise durch zwei Effekte erklärt werden. Da die Lunge zu dem gefäßreichen Kompartiment gehört, in welches Propofol bei Steigerung des HZV umverteilt wird, könnten die Auswirkungen der unter HZV-Erhöhung sinkenden arteriellen Konzentrationen auf die Exhalation des Medikamentes teilweise durch einen umverteilungsbedingten Anstieg der Propofolkonzentration in der Lunge kompensiert werden. Da die Totraumventilation unter Steigerung des HZV beträchtlich abfiel, könnte die Exhalation von Propofol zusätzlich durch das verbesserte Verhältnis von Ventilation zu Perfusion erleichtert worden sein. Diese Hypothese steht jedoch im Gegensatz zur inert Gas-Eliminationstheorie (MIGET) [123]. Da die Wasserlöslichkeit von Propofol (0,124 $mg*ml^{-1}$) zwischen der Löslichkeit von Ethan (0,057 $mg*ml^{-1}$) und der Löslichkeit von Cyclopropan (0,502 $mg*ml^{-1}$) liegt, sollte die Abatmung von Propofol nicht signifikant durch die Totraumventilation beeinflusst sein.

Die Ergebnisse unserer Studie belegen, dass sich unter bestimmten Bedingungen die Korrelation von Propofol-Blut- und Atemgaskonzentrationen verändert und nicht mehr für alle Patienten gleich ist. Bevor man ein Propofol-Atemgas-Monitoring in die anästhesiologische Routine einführen kann, müssen Auswirkungen physiologischer Parameter, wie das Ventilations- / Perfusionsverhältnis oder HZV, auf den Zusammenhang zwischen Propofol-Blut- und Atemgas-Konzentrationen im Detail verstanden sein. Eine Erhöhung des HZV tritt durch intraoperativen Stress, durch die Freisetzung von endogenen Katecholaminen oder die Applikation von Katecholaminen zur hämodynamischen Stabilisierung während einer Anästhesie häufig auf. Es gilt daher zu erkennen, bei welchen Patienten die Atemgaskonzentrationen von Propofol nicht mehr mit dessen Blutkonzentration übereinstimmen. Da sich Daten aus Tierversuchen aufgrund anatomischer und physiologischer Unterschiede zwischen den Spezies nicht uneingeschränkt auf den Menschen übertragen lassen, müssen die Auswirkungen des HZV auf die Abatmungskinetik von Propofol in weiteren klinischen Studien untersucht werden. Außerdem sind Details der Pharmakologie von Propofol wie Metabolisierung und Umverteilung in die Lunge zu berücksichtigen. Dawidowicz beobachtete nach Lungenpassage von Propofol einen Abfall der Propofolkonzentration sowie Anstieg der Konzentration des Metaboliten 2,6-

diisopropyl-1,4-quinol in arteriellem Blut im Vergleich zum zentralvenösen Blut [127]. Er postulierte daraus, dass menschliche Lungen am Metabolismus von Propofol beteiligt wären. Andere Autoren fanden keinen Hinweis für eine pulmonale Metabolisierung [119] / [128] / [129].

Abschließend kann festgestellt werden, dass es derzeit aufgrund der diskutierten methodischen und technischen Probleme kein Verfahren zur Bestimmung von Propofol-Blutkonzentrationen über das Atemgas gibt, welches für eine klinische Routine-Anwendung geeignet wäre. Die Entwicklungen auf dem Gebiet der Sensortechnologie in den letzten Jahren lassen jedoch hoffen, dass ein Propofolatemgas-Monitoring mittels sensitiver und leicht handhabbarer Sensorsysteme in der Zukunft realisierbar sein könnte. So könnte ein elektrochemischer Sensor oder ein photoakustischer Sensor zur Detektion von Propofol im Atemgas eine bettseitige / patientennahe Messung der Propofolkonzentrationen in der Atemluft am Patientenbett ermöglichen [129].

5 Zusammenfassung und Thesen

5.1 Zusammenfassung

Propofolkonzentrationen in menschlichem Blut und Atemgas konnten quantitativ und reproduzierbar mittels SPME-GC-MS und PTR-MS gemessen werden. Aufgrund der vorhandenen Korrelation zwischen Propofolkonzentrationen in Atemgas und arteriellem Blut erscheint die nichtinvasive Bestimmung von Propofol – Blutkonzentrationen durch Atemgasanalyse zur Narkosesteuerung unter Steady-state Bedingungen prinzipiell möglich. Probleme ergeben sich, wenn Veränderungen der Hämodynamik eintreten. Die experimentellen Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Steigerung des Herzminutenvolumens einen relevanten Einfluss auf das Verhältnis von Propofol-Blut-und Atemgaskonzentration hat.

Für die praktische Anwendung einer nicht-invasiven Propofolkonzentrationsbestimmung über Atemgasanalyse ergeben sich hieraus wichtige Einschränkungen. Durch intraoperativen Stress, der Freisetzung von endogenen Katecholaminen oder die Verabreichung von diesen Medikamenten zur Stabilisierung der Hämodynamik kommt es während Narkose oder Sedierung häufig zu Anstiegen des HZVs. In diesem Fall ist eine zuverlässige Bestimmung von Propofolkonzentrationen im Blut über die ausgeatmeten Konzentration nicht mehr möglich. Aus fälschlicherweise zu hohen oder zu niedrigen Konzentrationen kann eine inadäquate Narkosetiefe resultieren. Eine Beurteilung der Narkosetiefe anhand von Propofolatemgaskonzentrationen ist nur möglich, wenn eine zuverlässige Korrelation zwischen Propofolatemgas- und Propofolblutkonzentrationen besteht. Somit ist die klinische Anwendbarkeit noch deutlich eingeschränkt.

Ein weiteres Problem besteht in den bisher notwendigen aufwändigen Analyseverfahren, die bisher auch noch nicht standardisiert wurden. Jedoch haben Laurila et al. [130] einen photoakustischen Sensor zur Detektion von Propofol in Gasproben entwickelt, der eine einfachere Messung der Propofolkonzentrationen in der Atemluft am Patientenbett ermöglichen könnte.

Vor klinischer Anwendung eines nicht-invasiven Propofol-Atemgas-

Monitorings müssen allerdings noch die Auswirkungen physiologischer Parameter, wie das Verhältnis von Ventilation und Perfusion in der Lunge bei Lungenerkrankungen oder die Metabolisierungrate / -orte des Medikamentes, genau untersucht werden. Voraussetzung für den Einsatz eines solchen Messverfahrens ist ein zuverlässiger Zusammenhang zwischen Propofolkonzentrationen im Blut und im Atemgas.

5.2 Thesen

1. Die konventionelle Analyse von Propofolkonzentrationen im Blut ist eine invasive und zeitintensive Methode und kann daher nicht zur Überwachung der Propofolapplikation während einer Anästhesie genutzt werden.
2. Die physikochemischen Eigenschaften von Propofol wie eine ausgeprägte Lipophilie mit guter Membrangängigkeit erlauben eine rasche Überwindung der alveolo-kapillären Membran und damit die Bestimmung in der Ausatemluft.
3. Wenn die Bestimmung von Propofolkonzentrationen im Atemgas genutzt werden soll, um Propofolkonzentrationen im Blut während Anästhesie oder Sedierung abzuleiten, muss die Korrelation zwischen Propofol-Atemgas- und Blutkonzentrationen zuverlässig, konstant und reproduzierbar sein.
4. In dieser tierexperimentellen Studie ließen sich die Konzentrationen von Propofol im Blut und Atemgas quantitativ und reproduzierbar bestimmen. Die exzellente Übereinstimmung der Ergebnisse aus diskontinuierlichen Messungen von Propofol-Atemgaskonzentrationen mittels GC-MS und kontinuierlichen Messungen mittels PTR-MS belegen die Genauigkeit und Zuverlässigkeit beider verwendeten Analysetechniken.
5. In Übereinstimmung mit anderen Arbeiten konnten wir einen guten Zusammenhang zwischen Propofol-Atemgas- und Blutkonzentrationen im Steady State nachweisen. Weiterhin wurde eine enge Korrelation zwischen Propofolkonzentrationen im Atemgas- und Propofol-konzentrationen im arteriellen Blut bestätigt.
6. Regressionskoeffizienten zwischen Atemgas- und Blutkonzentrationen spielen für die potentielle klinische Anwendbarkeit eine entscheidende Rolle.
7. Die Reduktion des pulmonalen Blutflusses und die konsekutive Erhöhung der Totraumventilation hatten keinen Einfluss auf die Korrelation zwischen Propofolkonzentrationen im Atemgas und im Blut.
8. Die Erhöhung des Herzzeitvolumens (HZV) durch Applikation von Dobutamin beeinflusste die Korrelation zwischen Propofolkonzentration im Atemgas und im Blut deutlich.

9. Für eine klinische Anwendung des beschriebenen Verfahrens haben diese Studienergebnisse entscheidende Bedeutung, da es während Narkose oder Sedierung regelmäßig zu Veränderungen des HZV kommt.
10. Ein Monitoring der Blutkonzentrationen über die Messung der Propofolkonzentrationen im Atemgas ist nur dann möglich, wenn Limitationen der Methode bekannt sind und berücksichtigt werden.

Literaturverzeichnis

[1] DrugBank, Database; Departments of Computing Science & Biological Sciences; University of Alberta; http://www.drugbank.ca; 2010

[2] Europäische Arzneibuch-Kommission (Hrsg.): Europäische Pharmakologie; 5. Ausgabe; 2006; 5.0-5.8

[3] Fachinformation Propofol-Lipuro; B. Braun Melsungen AG.; Juli 2010

[4] Wappler, F.: Das Propofol-Infusionssyndrom: Klinik, Pathophysiologie und Therapie einer seltenen Komplikation; Deutsches Ärzteblatt 103; 2006; A 705-10

[5] Hofer, C. K. et al.: Patient well-being after general anaesthesia: a prospective, randomized, controlled multi-centre trial comparing intravenous and inhalation anaesthesia; British Journal of Anaesthesia; 2003; 631-637

[6] Apfel, C. C. et al.: A Factorial Trial of Six Interventions for the Prevention of Postoperative Nausea and Vomiting; The New England Journal of Medicine; 2004; 350:2441-2451

[7] James, R.; Glen, J. B.: Synthesis, biological evaluation, and preliminary structure-activity considerations of a series of alkylphenols as intravenous anesthetic agents; Journal of Medicinal Chemistry; 1980; 23:1350-1357

[8] Thompson, K. A.; Goodale, D. B.: The recent development of propofol (DIPRIVAN); Intensive Care Medicine 2000; 26 Suppl. 4:400-404

[9] Sebel, P. S.; Lowdon, J. D.: Propofol: a new intravenous anesthetic; Anesthesiology; 1989; 71:260-277

[10] Baker, M. T.; Naguib, M.: Propofol: the challenges of formulation; Anesthesiology; 2005; 103:860-876

[11] Dutta, S. et al.: Steady state propofol brain: plasma and brain: blood partition coefficients and the effect-site-equilibration paradox; The British Journal of Anaesthesia; 1998; 81:422-424

[12] Langley, M. S.; Heel, R. C.: Propofol. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and use as an intravenous anaesthetic; Drugs; 1988; 35:334-372

[13] Rudolph, U.; Antkowiak, B.: Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics; Nature reviews Neuroscience; 2004; 5:709-720

[14] Gepts, E. et al.: Disposition of propofol administered as constant rate intravenous infusions in humans; Anesthesia and Analgesia; 1987; 66:1256-1263

[15] Kamysek, S.: Untersuchung zur Evaluation der Korrelation zwischen Propofol – Blut- u. Atemgaskonz. zur Etablierung einer nichtinvasiven Propofolkonzentrationsbestimmung; Dissertation an der Universität Rostock; 2011; 16:1-9; 6:20-25

[16] Kamysek, S. et al.: Drug detection in breath: effects of pulmonary blood flow and cardiac output on propofol exhalation; Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2011; 401

[17] Mazoit, J. X.; Samii, K.: Binding of propofol to blood components: implications for pharmacokinetics and for pharmacodynamics; British Journal of Clinical Pharmacology; 1999; 47:35-42

[18] Oda, Y. et al.: Involvement of human liver cytochrome P4502B6 in the metabolism of propofol; British Journal of Clinical Pharmacology; 2001; 51:281-285

[19] Burgis, E.: Intensivkurs Allgemeine und spezielle Pharmakologie; Urban und Fischer Verlag; 2002;266:12-20

[20] Le Guellec, C et al.: Glucuronidation of propofol in microsomal fractions from various tissues and species including humans: effect of different drugs ; Anesthesia and Analgesia; 1995; 81:855-861

[21] Hughes, M. A.; Glass, P. S.; Jacobs, J. R.: Context-sensitive half-time in multicompartment pharmacokinetic models for intravenous anesthetic drugs; Anesthesiology; 1992; 76:334-341

[22] Shafer, S. L.: Advances in propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics; Journal of Clinical Anesthesia; 1993; 5:14-21

[23] Jack, E. S. et al.: Cardiovascular changes after achieving constant effect site concentration of propofol; Anaesthesia; 2008; 63:116-120

[24] Brussel, T. et al.: Hemodynamic and cardiodynamic effects of propofol and etomidate: negative inotropic properties of propofol; Anesthesia and Analgesia; 1989; 69:35-40

[25] Tramèr, M. R.; Moore, R. A.; McQuay, H. J.: Propofol and bradycardia: causation, frequency and severity; British Journal of Anaesthesia; 1997; 78:642-651

[26] Tonner, P. H.; Hein, L.: Pharmakotherapie in der Anästhesie und Intensivmedizin; Springer Verlag; 2011; 84:68-88

[27] Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft: Sexuelle Phantasien bei kurzen Eingriffen unter Narkose; Deutsches Ärzteblatt; 1998; 95(12):531

[28] Monk, T. et al.: Anesthetic management and one-year mortality after noncardiac surgery; Anesthesia and Analgesia; 2005; 100:4-10

[29] Avidan, M. S.; Mashour, G. A.: The incidence of intra-operative awareness in the UK: under the rate or under the radar?; British Journal of Anaesthesia; 2013; 110:494-497

[30] Avidan, M. S. et al.: Anesthesia awareness and the bispectral index; The New England Journal of Medicine; 2008; 358:1097-1108

[31] Mashour, G. A.; Orser, B. A.; Avidan, M. S.: Intraoperative awareness: from neurobiology to clinical practice; Anesthesiology; 2011; 114:1218-1233

[32] Sebel, P. S. et al.: The Incidence of Awareness During Anesthesia: A Multicenter United States Study; Anesthesia & Analgesia; 2004; 99:833-839

[33] Lennmarken, C. et al.: Victims of awareness; Acta Anaesthesiologica Scandinavica; 2002; 46:229-231

[34] Ghoneim, M. M.: Awareness during Anesthesia; Anesthesiology 92; 2000; 92:597-602

[35] Aceto, P. et al.: Update on post-traumatic stress syndrome after anesthesia; European review for Medical and Pharmacological Sciences; 2013; 17:1730-1737

[36] Sandin, R.: Outcome after awareness with explicit recall; Acta Anaesthesiologica Belgica; 2006; 57:429-432

[37] Schwender, D. et al.: Conscious awareness during general anaesthesia: patients' perceptions, emotions, cognition and reactions; British Journal of Anaesthesia; 1998; 80:133-139

[38] Schwender, D. et al.: Awareness during general anesthesia. Definition, incidence, clinical relevance, causes, avoidance and medicolegal aspects; Der Anaesthesist; 1995; 111:313-314

[39] Domino, K. B. et al.: Awareness during anesthesia: a closed claims analysis; Anesthesiology 1999; 90:1053-1061

[40] Kent, C. D.; Domino, K. B.: Awareness: practice, standards, and the law; Best practice & research. Clinical Anaesthesiology; 2007; 21:369-383

[41] Vasile, B. et al.: The pathophysiology of propofol infusion syndrome: a simple name for a complex syndrome; Intensive Care Medicine; 2003; 29:1417-1425

[42] Ahlen, K. et al.: The “propofol infusion syndrome”: the facts, their interpretation and implications for patient care; European Journal of Anaesthesiology; 2006; 23:990-998

[43] Fudickar, A. et al.: Suggested beginning of propofol infusion syndrome in an adult patient without lactacidosis: a case report; European Journal of Anaesthesiology; 2008; 25:777-778

[44] Stelow, E. B. et al.: Propofol-associated rhabdomyolysis with cardiac involvement in adults: chemical and anatomic findings; Clinical Chemistry; 2000; 46:577-581

[45] Miekisch, W.; Schubert, J. K.; Noeldge-Schomburg, G.: Diagnostic potential of breath analysis – focus on volatile organic compounds; Clinica Chimica Acta; 2004; 347:25-39

[46] Schubert, J. K.; Geiger, K.: Bedeutung und Perspektiven der Atemgasanalytik; Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin und Schmerztherapie; 1999; 34:391-395

[47] Pauling, L. et al.: Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America; 1971; 68:2374-2376

[48] van den Velde, S. et al.: Differences between alveolar air and mouth air; Analytical Chemistry; 2007; 79:3425-3429

[49] Buszewski, B. et al.: Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases; Biomedical Chromatography; 2007; 21:553-566

[50] Phillips, M. et al.: Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans; Journal of Chromatography B, Biomedical Sciences and Applications; 1999; 729:75-88

[51] Turner, C.; Spanel, P.; Smith, D.: A longitudinal study of ammonia, acetone and propanol in the exhaled breath of 30 subjects using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS; Physiological Measurement; 2006; 27:321-337

[52] Schubert, J. K. et al.: Breath analysis in critically ill patients: potential and limitations; Expert Review of Molecular Diagnostics; 2004; 4(5):619-629

[53] Kaufmann, P. et al.: Ketoacidotic diabetic metabolic dysregulation: pathophysiology, clinical aspects, diagnosis and therapy; Wiener klinische Wochenschrift; 1994; 106:119-127

[54] Lebovitz, H. E.: Diabetic ketoacidosis; Lancet; 1995; 345:767-772

[55] Henderson, M. J.; Karger B. A.; Wren Shall, G. A.: Acetone in the breath; a study of acetone exhalation in diabetic and nondiabetic human subjects; Diabetes; 1952; 1:188-193

[56] Chen, S.; Zieve, L.; Mahadevan, V.: Mercaptans and dimethyl sulfide in the breath of patients with cirrhosis of the liver, Effect of feeding methionine; The Journal of Laboratory and Clinical Medicine; 1970; 75:628-635

[57] Simenhoff, M.L. et al.: Biochemical profile or uremic breath; The New England Journal of Medicine; 1977; 297:132-135

[58] Miekisch W. et al.: Analysis of volatile disease markers in blood; Clinical Chemistry; 2001; 47:1053-1060

[59] Miekisch W.; Schubert, J.K.: From highly sophisticated analytical techniques to life-saving diagnostics: Technical developments in breath analysis; Trends in Analytical Chemistry; 2006; 25:665-673

[60] Dumelin, E. E.; Tappel, A. L.: Hydrocarbon gases produced during in vitro peroxidation of polyunsaturated fatty acids and decomposition of preformed hydroperoxides; Lipids; 1977; 12:894-900

[61] Kneepkens, C. M.; Lepage, G.; Roy, C. C.: The potential of hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation; Free Radical Biology & Medicine; 1994; 17:127-160

[62] Mendis, S.; Sobotka, P. A.; Euler, D. E.: Expired hydrocarbons in patients with acute myocardial infarction; Free Radical Research; 1995; 23:117-122

[63] Weitz, Z. W. et al.: High breath pentane concentrations during acute myocardial infarction; Lancet; 1991; 337:933-935

[64] Kazui, M. et al.: Breath ethane: a specific indicator of free-radical-mediated lipid peroxidation following reperfusion of the ischemic liver; Free Radical Biology & Medicine; 1992; 13:509-515

[65] Van Gossum, A.; Decuyper, J.: Breath alkanes as an index of lipid peroxidation; The European Respiratory Journal; 1989; 2:787-791

[66] Scholpp, J. et al.: Breath markers and soluble lipid peroxidation markers in critically ill patients; Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; 2002; 40:587-594

[67] Schubert, J. K.; Miekisch, W.; Noldge-Schomburg, G. F.: Volatile organic compounds as prognostic markers in ARDS; Disease Markers in Exhaled Breath (NATO Advanced Study Institute on Disease Markers in Exhaled Breath); 2002; 346:338-343

[68] Grossherr, M. et al.: Time course of ethanol and propofol exhalation after bolus injection using ion molecule reaction-mass spectrometry; Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2011; 401:2063-2067

[69] Wang, H. et al.: Intravenous fentanyl is exhaled and the concentration fluctuates with time; The journal of International Medical Research; 2009; 37:1158-1166

[70] Smith, D.; Pysanenko, A.; Spanel, P.: Kinetics of ethanol decay in mouth- and nose-exhaled breath measured on-line by selected ion flow tube mass spectrometry following varying doses of alcohol; Rapid Communications in Mass Spectrometry; 2010; 24:1066-1074

[71] Hahn, R. G.; Larsson, H.; Ribbe, T.: Continuous monitoring of irrigating fluid absorption during transurethral surgery; Anaesthesia; 1995; 50:327-331

[72] Taucher, J. et al.: Methanol in human breath; Alcoholism, Clinical and Experimental Research; 1995; 19:1147-1150

[73] Harrison, G. R. et al.: Real-time breath monitoring of propofol and its volatile metabolites during surgery using a novel mass spectrometric technique: a feasibility study; British Journal of Anaesthesia; 2003; 91:797-799

[74] Silkoff, P. E. et al.: The Aerocrine exhaled nitric oxide monitoring system NIOX is cleared by the US Food and Drug Administration for monitoring therapy in asthma; The Journal of Allergy and Clinical Immunology; 2004; 114:1241-1256

[75] Liu, W. H. et al.: Incidence of awareness with recall during general anaesthesia; Anaesthesia; 1991; 46:435-437

[76] Schneider, G.; Sebel, P. S.: Monitoring depth of anaesthesia; European Journal of Anaesthesiology Supplement; 1997; 15:21-28

[77] Schmidt, G. N.; Müller, J.; Bischoff, P.: Messung der Narkosetiefe; Der Anaesthesist; 2008; 57:9-36

[78] Lüllmann, H.; Mohr, K.; Hein, L.: Pharmakologie und Toxikologie; Thieme Verlag; 2006; 37:44-8

[79] Rodriguez-Roisin, R.; Wagner, P. D.: Clinical relevance of ventilation-perfusion inequality determined by inert gas elimination; The European Respiratory Journal; 1990; 3:469-482

[80] Hübschmann, H. J.: Handbook of GC/MS; Wiley-VCH Verlag; 2008

[81] Takizawa, D. et al.: A dopamine infusion decreases propofol concentration during epidural blockade under general anesthesia; Canadian Journal of Anaesthesia; 2005; 52:463-466

[82] Hardman, J. G.; Aitkenhead, A. R.: Estimating alveolar dead space from the arterial to end-tidal CO_2 gradient: a modeling analysis; Anesthesia and Analgesia; 2003; 97:1846-1851

[83] Roesner, J. P. et al.: A double blind, single centre, sub-chronic reperfusion trial evaluating FX06 following haemorrhagic shock in pigs; Resuscitation; 2009; 80:264-271

[84] Drobin, D.; Hahn, R. G.: Volume kinetics of Ringer's solution in hypovolemic volunteers; Anesthesiology; 1999; 55:987-994

[85] Miekisch, W. et al.: Construction and Evaluation of a Versatile CO_2 Controlled Breath Collection Device; Sensors Journal; 2010; 10:211-215

[86] Birken, T. et al.: A novel visually CO_2 controlled alveolar breath sampling technique; Technology and Health Care; 2006; 14:499-506

[87] Hachenberg, H.; Beringer, K.: Die Headspace-Gaschromatographie als Analysen- und Meßmethode; Springer Verlag; 1996

[88] Hess, M.; Meier, H.; Zeeh, B.: Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie; Thieme Verlag; 2011

[89] Grossherr, M. et al.: Discontinuous monitoring of propofol concentrations in expired alveolar gas and in arterial and venous plasma during artificial ventilation; Anesthesiology; 2006; 104:786-790

[90] Günzler, H. et al.: Handbook of Analytical Techniques; Wiley-VCH Verlag; 2001

[91] Rücker, G. et al.: Instrumentelle pharmazeutische Analytik: Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen, elektrochemischen und thermischen Analyseverfahren; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart; 2008

[92] Miekisch, W. et al.: Assessment of propofol concentrations in human breath and blood by means of HS-SPME-GC-MS; Clinica Chimica Acta; 2008; 1-2:32-37

[93] Amann, A. et al.: Methodological issues of sample collection and analysis of exhaled breath; European Respiratory Society Monograph; 2010; 49:96-114

[94] Miekisch, W. et al.: Impact of sampling procedures on the results of breath analysis; Journal of Breath Research; 2008; 2:7

[95] Hornuss, C. et al.: Real-time monitoring of propofol in expired air in humans undergoing total intravenous anesthesia; Anesthesiology; 2007; 106:665-674

[96] von Basum, G.: Infrarot-Cavity-Leak-Out-Spektrometrie: Höchstempfindliche Echtzeit Spurengasanalytik; Dissertation an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; 2004

[97] Fahrmeir, L; Kneib, T.; Lang, S.: Regression: Modelle, Methoden und Anwendungen; Springer Verlag; 2007

[98] Bland, J. M.; Altman, D. G.: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement; Lancet; 1986; 1

[99] Bland, J. M.; Altman, D. G.: Measuring agreement in method comparison studies; Statistical Methods in Medical Research; 1999; 8

[100] Hartung, J.: Statistik; Oldenbourg Verlag; 1999

[101] Janssen, J.; Laatz, W.: Statistische Datenanalyse mit SPSS für Windows; Springer Verlag; 2007

[102] Takita, A.; Masui, K.; Kazama, T.: On-line monitoring of end-tidal propofol concentration in anesthetized patients; Anesthesiology; 2007; 106:659-664

[103] Perl, T. et al.: Determination of serum propofol concentrations by breath analysis using ion mobility spectrometry; British Journal of Anaesthesia; 2009; 103:822-827

[104] Kuipers, J. A. et al.: First-pass lung uptake and pulmonary clearance of propofol: assessment with a recirculatory indocyanine green pharmacokinetic model; Anesthesiology; 1999; 91:1780-1787

[105] Arthur, C. L.; Pawliszyn, J.: Solid Phase Microextraction with thermal Desorption using fused silica optical fibers; Analytical Chemistry; 1990; 5:122-139

[106] Grote, C.; Pawliszyn, J.: Solid-phase microextraction for the analysis of human breath; Analytical Chemistry; 1997; 69:587-596

[107] Yonamine, M. et al.: Solid-phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry and headspace-gas chromatography of tetrahydrocannabinol, amphetamine, methamphetamine, cocaine and ethanol in saliva samples; Journal of chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences; 2003; 789:73-78

[108] Frison, G. et al.: Determination of midazolam in human plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry; Rapid Communications in Mass Spectrometry; 2001; 15:2497-2501

[109] Sha, Y. F.; Shen, S.; Duan, G. L.: Rapid determination of tramadol in human plasma by headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography-mass spectrometry; Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis; 2005; 37:143-147

[110] Camarasu, C. C.; Mezei-Szüts, M.; Varga, G. B.: Residual solvents determination in pharmaceutical products by GC-HS and GC-MS-SPME; Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis; 1998; 18:623-638

[111] Cho, D. H.; Kong, S. H.; Oh, S. G.: Analysis of trihalomethanes in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography; Water Research; 2003; 37:402-408

[112] Potter, D. W.; Pawliszyn, J.: Detection of substituted benzenes in water at the pg/ml level using solid-phase microextraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry; Journal of Chromatography ; 1992; 625:247-255

[113] Musteata, F. M.; Pawliszyn, J.: Bioanalytical applications of solid-phase microextraction; TrAC Trends in Analytical Chemistry; 2007; 26:36-46

[114] Schubert, J. K. et al.: Impact of inspired substance concentrations on the results of breath analysis in mechanically ventilated patients; Biomarkers; 2005; 10:138-152

[115] Schubert, J. K. et al.: CO_2-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients; Journal of Applied Physiology; 2001; 90:486-492

[116] Cope, K. A. et al.: Effects of ventilation on the collection of exhaled breath in humans; Journal of Applied Physiology; 2004; 96:1371-1379

[117] Stanski, D. R.: Monitoring depth of anesthesia; In Miller, R. D.: Anesthesia; Churchill Livingstone; 1990; 1087-1113

[118] Wang, Y. P. et al.: Arteriovenous concentration differences of propofol during and after a stepdown infusion; Anesthesia and Analgesia; 1994; 79:1148-1150

[119] Hiraoka, H. et al.: Kidneys contribute to the extrahepatic clearance of propofol in humans, but not lungs and brain; British Journal of Clinical Pharmacology; 2005; 60:176-182

[120] Bauer, E. P. et al.: Upregulated and downregulated transcription of myocardial genes after pulmonary artery banding in pigs; The Annals of thoracic surgery; 1998; 66:527-531

[121] Mühlfeld, C. et al.: Ultrastructure of right ventricular myocardium subjected to acute pressure load; The Thoracic and Cardiovascular Surgeon; 2004; 52:328-333

[122] Cusimano, R. J. et al.: A simple model of right ventricular hypertrophy; Journal of Investigative Surgery; 1988; 1:45-53

[123] Wagner, P. D.: The multiple inert gas elimination technique (MIGET); Intensive Care Medicine; 2008; 34:994-1001

[124] Kurita, T. et al.: Influence of cardiac output on plasma propofol concentrations during constant infusion in swine; Anesthesiology; 2002; 96:1498-1503

[125] Upton, R. N.: Relationships between steady state blood concentrations and cardiac output during intravenous infusions; Biopharmaceutics & Drug Disposition; 2000; 21:68-76

[126] Myburgh, J. A. et al.: Epinephrine, norepinephrine and dopamine infusions decrease propofol concentrations during continuous propofol infusion in an ovine model; Intensive Care Medicine; 2001; 27:276-282

[127] Dawidowicz, A. L. et al.: The role of human lungs in the biotransformation of propofol; Anesthesiology; 2000; 93:992-997

[128] Boer, F.: Drug handling by the lungs; British Journal of Anaesthesia; 2003; 9:50-60

[129] He, Y. L. et al.: Pulmonary disposition of propofol in surgical patients; Anesthesiology; 2000; 93:986-991

[130] Laurila, T. et al.: Optical detection of anesthetic agent propofol in gas phase; Analytical Chemistry; 2011; 83:3963-3967