

Auswirkung von körperlicher Belastung auf die Konzentration von 3-Nitrotyrosin im Atemkondensat

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
einer Doktorin der Zahnmedizin genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Nicola Gerritz, geb. Breuckmann
aus Köln

Berichter: Herr Universitätsprofessor
Dr. med. Thomas Kraus

Herr Privatdozent
Dr. med. Stefan Krüger

Tag der mündlichen Prüfung: 17. November 2009

***Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der
Hochschulbibliothek online verfügbar.***

I. INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I.	Inhaltsverzeichnis	
II.	Abkürzungsverzeichnis	
1.	<u>Einleitung</u>	01
2.	<u>Derzeitiger wissenschaftlicher Kenntnisstand</u>	03
3.	<u>Fragestellung</u>	04
4.	<u>Grundlagen</u>	05
4.1.	Atemkondensat	05
	4.1.1. Definition Atemkondensat	06
	4.1.2. Die Dampfphase	07
	4.1.3. Die Aerosolphase	08
4.2.	Oxidativer Stress	09
	4.2.1. Die Atmungskette	09
	4.2.2. Superoxidanionradikale	10
	4.2.3. Definition: Oxidativer Stress	13
4.3.	Die Bildung von 3-Nitrotyrosin	13
4.4.	Definition des Begriffes Atopie	17
4.5.	Spirometrie	17
4.6.	Bodyplethysmographie	17
4.7.	Spiroergometrie	18
	4.7.1. Indikationen	18
	4.7.2. Kontraindikationen	19
	4.7.3. Abbruchkriterien	19
	4.7.4. Atemparameter	20
	4.7.4.1. Atemzeitvolumen (AZV)	20
	4.7.4.2. Respiratorischer Quotient (RQ)	20
	4.7.4.3. Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle (VO_2/AT)	21
	4.7.5. Herz- und Kreislaufparameter	21
	4.7.5.1. Herzfrequenz (HF)	21
	4.7.5.2. Herzfrequenzreserve (HRR)	21
	4.7.5.3. Herzzeitvolumen (HZV)	22
	4.7.5.4. Elektrokardiogramm (EKG)	22
4.8.	Blutgasanalyse	22
5.	<u>Materialien und Methoden</u>	23
5.1.	Das Probandenkollektiv	23
5.2.	Atemkondensatgewinnung	25
5.3.	Spirometrie und Bodyplethysmographie	28
	5.3.1. Eichung vor Durchführung einer Bodyplethysmographie bzw. einer Spirometrie	28
	5.3.2. Durchführung der Bodyplethysmographie	28

5.3.3. Durchführung der Spirometrie	30
5.4. Spiroergometrie	31
5.4.1. Aufbau des Fahrradergometers „Ergoline“ und des „Oxycon Delta“ Gerätes der Firma Viasys Healthcare	31
5.4.2. Durchführung der Fahrradergometrie	31
5.5. Blutgasanalyse	33
5.5.1. Blutentnahme für die BGA	33
5.6. Probenaufbereitung und die Nitrotyrosinmessung	34
5.6.1. Geräte und Chemikalien	34
5.6.1.1. Geräte	34
5.6.1.2. Chemikalien	34
5.6.1.3. Lösungen	35
5.6.2. Probenaufbereitung	37
5.6.3. Instrumentelle Arbeitsbedingungen	37
5.6.4. Präzision	38
5.6.4.1. Präzision in der Serie	38
5.6.5. Wiederfindung	38
5.6.6. Nachweisgrenze	39
5.7. Auswertung der gemessenen Nitrotyrosinwerte und der gesammelten Probandendaten	39
5.7.1. Datenverarbeitung	39
5.7.2. Deskriptive Statistik	40
6. <u>Ergebnisse</u>	42
6.1. Das Probandenkollektiv	
6.1.2. Ausschluss eines Probanden bei der Auswertung der Ergebnisse	44
6.2. Ergebnisse der gemessenen 3-Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat	45
6.2.1. Mittelwerte der gemessenen 3-Nitrotyrosinkonzentrationen (pg/ml) im Atemkondensat	45
6.2.2. Medianwerte der gemessenen 3-Nitrotyrosinkonzentrationen (pg/ml) im Atemkondensat	53
6.2.3. Betrachtung der einzelnen Hypothesen	62
6.3. Ergebnisse der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration unter Berücksichtigung der individuell von den Probanden erreichten Wattzahl (Erreichen der anaeroben Schwelle)	64
6.3.1. Mittelwerte der Ergebnisse der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen unter Berücksichtigung der individuell von den Probanden erreichten Wattzahl (Erreichen der anaeroben Schwelle)	64
6.3.2. Medianwerte der Ergebnisse der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen unter Berücksichtigung der individuell von den Probanden erreichten Wattzahl (Erreichen der anaeroben Schwelle)	74

7. <u>Diskussion</u>	83
8. <u>Zusammenfassung</u>	94
9. <u>Anhang</u>	96
9.1. Anamnesebogen	96
9.2. Beispiel eines Ergebnisauszuges der Bodyplethysmographie und der Spirometrie	98
9.3. Beispiel eines Ergebnisauszuges der Spiroergometrie	99
9.4. Beispiel Datenzusammenfassung bei der Atemkondensatspende	105
9.5. Beispiel eines Ergebnisauszuges der BGA	106
10. <u>Literaturverzeichnis</u>	107
11. <u>Danksagung</u>	113
12. <u>Erklärung zur Datenaufbereitung</u>	114
13. <u>Lebenslauf</u>	115

II. Abkürzungsverzeichnis

AaDO₂	Alveokapilläre Sauerstoffdifferenz
AF	Atemfrequenz
AK	Atemkondensat
AMV	Atemminutenvolumen
ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
AT	Anaerobic Threshold (anaerobe Schwelle)
ATP	Adenosin-Tri-Phosphat
ATS	American Thoracic Society
avO₂/dWR	Aerobe Kapazität
AZV	Atemzugvolumen
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BE	Base Exzess (Basenüberschuss)
BF	Atemfrequenz
BGA	Blutgasanalyse
BR	Atemreserve
C	Compliance
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CPX	Cardiopulmonary exercise testing
CuZnSOD	Kupfer-Zink-Dismutase
DNA	Desoxyribonucleid acid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
dVO₂/dWR	Aerobe Kapazität
ECSOD	Extrazelluläre Superoxid-Dismutase
EIA	Enzymimmunoassay
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzym linked immuno sorbent assay
EqCO₂	Atemäquivalente CO ₂
EqO₂	Atemäquivalente O ₂
ERS	European Respiratory Society
ERV	Expiratorisches Reservevolumen
FECO₂	Kohlenstoffdioxidkonzentration beim Ausatmen
FEO₂	Sauerstoffkonzentration beim Ausatmen
FEV₁	Forcierte 1-Sekundenkapazität
FVC	Forcierte Vitalkapazität
GLM	General linear models procedure
GPx	Glutathionperoxidase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
H₂O₂	Wasserstoffperoxid
HF	Herzfrequenz

HPLC	High performance liquid chromatography; Hochleistungsflüssigchromatographie
HR	Heart rate
HRR	Herzfrequenzreserve
HZV	Herzzeitvolumen
IC	Inspiratorische Kapazität
IQR	Interquartilsabstand
IRV	Inspiratorisches Reservevolumen
ITGV	Intrathorakales Gasvolumen
IVC	Inspiratorische Vitalkapazität
LC-ESI-MS/MS	Liquid chromatography electrospray ionisation tandem mass spectrometry
LC-MS/MS	Liquid chromatography mass spectrometry
MEF	Maximale expiratorische Atemstromstärke
MEF 25%	Maximale expiratorischer Fluss bei 25% der VC
MEF 50%	Maximale expiratorischer Fluss bei 50% der VC
MEF 75%	Maximale expiratorischer Fluss bei 75% der VC
MeOH	Methylalkohol
MET	Metabolisches Äquivalent
MnSOD	Mangan-Superoxid-Dismutase
Mol	Stoffmenge
NADPH	Nicotinamidadeninukleotidphosphat
NH₄Ac	Ammoniumacetat
nM	Molarität, Stoffmengenkonzentration im Nanobereich
NO	Stickstoffmonoxid
ONOO	Peroxynitrit
P	Druck
p_aCO₂	Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
p_aO₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
pCO₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
P_{dia}	Diastolischer Druck
PEF	Peak Flow, expiratorischer Spitzenfluss
PIF	Inspiratorischer Spitzenfluss
P_{mitt}	Mittelwert aus P _{sys} und P _{dia}
PMN	Polymorphkernige Granulozyten
pO₂	Sauerstoffpartialdruck
P_{sys}	Systolischer Druck
R	Resistance
RER	Respiratorischer Quotient
ROS	Reactive oxygen species (Reaktive Sauerstoffspezies)
RQ	Respiratorischer Quotient
RR	Blutdruck
RSD	Relative Standardabweichung

RV	Residualvolumen
SBC	Standardbicarbonat
SD	Standardabweichung
SOD	Superoxid Dismutase
SOP	Standard operating procedure
SPE	Solid phase extraction; Festphasenextraktion
SR	Spezifische Resistance
SRM	Single reaction monitoring
TLC	Totale Lungenkapazität
V	Volumen
VC	Vitalkapazität
VCO₂	Kohlenstoffdioxidabgabe
VD/VT	Totraumventilation
VE	Ventilation
VE/VCO₂	Atemäquivalent CO ₂
VE/VO₂	Atemäquivalent O ₂
VO₂	Sauerstoffaufnahme
VO₂ AT	Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle
VO₂/HF	Sauerstoffpuls
VO₂max	Maximale Sauerstoffaufnahme
VOC	Volatile organic compounds
VT	Atemzugvolumen
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Die Lunge ist ein sehr komplexes Organ. So wird in der Pneumologie in zahlreichen Untersuchungsmethoden versucht, genaue Informationen über die Lunge und ihre Funktion zu erhalten. Das Ziel dieser Untersuchungsmethoden soll sein, Lungen- und Atemwegserkrankungen möglichst früh zu erkennen, um diesen vorbeugen zu können. In der Arbeitsmedizin stehen bei der Diagnostik von Lungenerkrankungen solche Methoden im Vordergrund, die vor allem nicht-invasiv, nebenwirkungsfrei und reproduzierbar sind.

Zur Erfassung der Lungenfunktion dienen Verfahren wie die Spirometrie, die Bodyplethysmographie oder die Spiroergometrie. Um Informationen der Geschehnisse im Lungengewebe und aus der extrazellulären bronchoalveolären Auskleidungsflüssigkeit („epithelial lining fluid“) zu erhalten, stehen invasive Methoden wie die bronchoalveoläre Lavage (BAL), semi-invasive Methoden wie die induzierte Sputumanalyse oder nicht-invasive Methoden wie die Messung von flüchtigen Substanzen in der Expirationsluft und die Atemkondensatsammelmethode zur Verfügung.

In der arbeitsmedizinischen Frühdiagnostik ist die Spiroergometrie, die sowohl kardiale als auch pulmonale Werte unter körperlicher Belastung liefert, eine Routineuntersuchung in der Beurteilung von Störungen des kardiopulmonalen Systems. Die Spiroergometrie kann mit dem Fahrradergometer durchgeführt werden.

Eine gleichzeitige Blutentnahme von peripherem Blut und die Bestimmung von Atemgasen erhöht die Aussagekraft der Spiroergometrie zusätzlich, da so neben den gemessenen Blutgaswerten der Säure-Basen-Haushalt der jeweiligen Testperson analysiert werden kann.

Bei körperlicher Belastung, wie mit der Fahrradergometrie durchgeführt, steigt der Sauerstoffverbrauch bei gesunden Probanden bis zum 20fachen im Vergleich zum Ruhezustand. Es entstehen freie Sauerstoffradikale, die physiologisch von Antioxidantien wie z.B. Ascorbat neutralisiert werden. Ist dieses Gleichgewicht aber durch verschiedene Ursachen, wie eine erhöhte Produktion von reaktiven Sauerstoffverbindungen oder eine beeinträchtigte

Funktionsfähigkeit der Antioxidantien gestört, so entsteht definitionsgemäß oxidativer Stress. Als Marker für oxidativen Stress dient u.a. 3-Nitrotyrosin (*Halliwell B. 1997*).

Daher ist zu erwarten, dass auch bei körperlicher Belastung während der Durchführung der Fahrradergometrie oxidativer Stress beim Probanden entsteht.

Besonderes Augenmerk soll hier auf den entstandenen oxidativen Stress in den unteren Atemwegen liegen.

Zur Diagnostik von oxidativen Stress in den Atemwegen bedient man sich bisher der induzierten Sputumanalyse oder der Messung von flüchtigen Substanzen in der Expirationsluft. Als Marker für oxidativen Stress wurden hierbei Stickstoffmonoxid (NO) und Wasserstoffperoxid (H₂O₂) untersucht.

Seit einigen Jahren gibt es eine neue Untersuchungsmethode, die sich mit der Diagnostik und Analyse von Vorgängen in den unteren Atemwegen beschäftigt und mit der es möglich ist, oxidativen Stress in den unteren Atemwegen zu erkennen, die Atemkondensatsammelmethode. Das Atemkondensat wird durch Kondensation der exhalieren Luft gewonnen und enthält deren schwerflüchtigen Bestandteile. Diese schwerflüchtigen Bestandteile spiegeln die Zusammensetzung der extrazellulären bronchoalveolären Auskleidungsflüssigkeit wider. Die meisten der nachgewiesenen Bestandteile im Atemkondensat korrelieren mit oxidativem Stress oder entzündlichen Vorgängen in den unteren Atemwegen (*Becher et al. 1997*). Ein anerkannter Marker für oxidativen Stress ist das 3-Nitrotyrosin (*Ischiropoulos et al. 1995*), das im Atemkondensat nachgewiesen werden kann (*Ballint et al. 2001, Hanazawa et al. 2000, Wu et al. 2000*). Schwedhelm und Mitarbeiter stellten eine positive Korrelation von 3-Nitrotyrosin und oxidativem Stress fest (*2001*).

Santangelo et al. zeigten, dass körperliche Belastung durch die Spiroergometrie oxidativen Stress auslöst, der anhand des Anstiegs des Markers 3-Nitrotyrosin im peripheren Blut gemessen werden kann (*2003*). Unklar ist jedoch, ob diese positive Korrelation von 3-Nitrotyrosin und körperlicher Belastung auch im Atemkondensat messbar ist.

2. Derzeitiger wissenschaftlicher Kenntnisstand

Die Atemkondensatsammelmethode ermöglicht, wie eingangs beschrieben, ein Monitoring von Vorgängen in den unteren Atemwegen, die mit Entzündungen und oxidativem Stress korrelieren (Gessner 2006).

Santangelo und Mitarbeiter (2003) fanden eine positive Beziehung zwischen körperlicher Belastung durch die Fahrradergometrie und der Entstehung von oxidativen Stress, erkennbar am Marker 3-Nitrotyrosin im Blut.

In der Studie von Santangelo et al. wurden erwachsene Patienten mit Hypertonie und erwachsene gesunde Patienten auf die Nitrotyrosinkonzentration im Plasma ihres peripher-venösen Blutes untersucht. Die Analyse der Blutproben auf 3-Nitrotyrosin erfolgte mit ELISA („*enzym-linked immuno sorbent assay*“). Bei den Patienten mit Hypertonie stieg die 3-Nitrotyrosinkonzentration nach Belastung um ca. 40% an, und bei den gesunden Teilnehmern dieser Studie war ein Anstieg von ungefähr 25% zu beobachten.

In einer Studie von Corradi et al. (2003) wurden bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern erhöhte Werte in der Nitratkonzentration im Atemkondensat gefunden. Da das Nitrotyrosin ein Reaktionsprodukt unter der Beteiligung von NO-Verbindungen darstellt (siehe später), ist zu untersuchen, ob die bei Corradi untersuchte Konzentrationserhöhung von Nitrat im Atemkondensat auch bei Nitrotyrosin im Atemkondensat zu beobachten wäre. Zu erwarten wäre dann eine erhöhte Nitrotyrosinkonzentration bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern.

Bei Patienten mit atopischem Asthma stellten Kharitonov und Barnes (2002) eine erhöhte NO-Konzentration in der Ausatemluft fest. Da das atopische Asthma zum atopischen Formenkreis gehört, lässt dies vermuten, dass es auch bei anderen Manifestationen von Atopie wie der allergischen Rhinitis, allergischen Dermatitis und Konjunktivitis zu einer erhöhten NO-Konzentration kommen würde. Da das Nitrotyrosin wie später beschrieben ein Produkt von Folgereaktionen des NO sein kann, lässt sich ein Zusammenhang zwischen NO- und Nitrotyrosinkonzentration vermuten.

3. Fragestellung

Mit den Ergebnissen von Santangelo et al. und den Grundlagen der Forschungen von Gessner et al., Corradi et al. und Kharitonov et al. ergibt sich im Rahmen dieser Studie die Fragestellung, ob Atopiker und Raucher unter körperlicher Belastung einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt sind, der sich anhand der Steigerung der 3-Nitrotyrosinkonzentration zeigen würde und ob dieses in der Analyse des Atemkondensates sichtbar wäre.

Es sollte zunächst die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat vor der körperlichen Belastung durch die Fahrradergometrie untersucht werden. Als nächstes sollte die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat nach der körperlichen Belastung untersucht werden. Um oxidativen Stress durch die körperliche Belastung zu erreichen, sollten die Probanden bis zur anaeroben Schwelle belastet werden. Zuletzt sollte die Konzentration von Nitrotyrosin nach einer ausreichenden Erholungsphase, nach der kein oxidativer Stress mehr vorliegen sollte, untersucht werden. Jede Nitrotyrosinmessung im Atemkondensat sollte auf die Aspekte Rauchen, Nichtrauchen und vorliegende Atopie oder nichtvorliegende Atopie untersucht werden.

Es wurden folgende Hypothesen zu Beginn der Untersuchung erstellt, die es zu untersuchen galt:

- Die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat unmittelbar nach der Spiroergometrie ist höher als sie vorher gewesen ist.
- Die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat 90 min. nach der Spiroergometrie ist höher als vorher und als unmittelbar nach der Belastung
- Die genannten Effekte sind bei Rauchern stärker als bei Nichtrauchern
- Die genannten Effekte sind bei Atopikern stärker als bei Nichtatopikern
- Die genannten Effekte sind bei rauchenden Atopikern stärker als bei nichtrauchenden Atopikern und bei rauchenden Nichtatopikern

4. Grundlagen

4.1. Atemkondensat

Um genaue Informationen über die Zellzusammensetzung in den unteren Atemwegen zu erhalten, werden in der Lungenfunktionsanalyse bis dato hauptsächlich invasive Methoden wie die Bronchoalveoläre Lavage (BAL) angewandt. Die BAL ermöglicht die Gewinnung von löslichen zellulären Komponenten aus dem Alveolarsystem (*Haslam 1999, Sackner 1975*).

Auch die induzierte Sputumanalyse zählt zu den essentiellen Untersuchungsmethoden in der pneumologischen Diagnostik und ermöglicht die Untersuchung von Zellen und löslichen Markern aus den Atemwegen. Da vor der Sputumgabe die Inhalation isotoner bzw. hypertoner Kochsalzlösung erforderlich ist, handelt es sich um eine semi-invasive Untersuchungstechnik (*Pin 1992, Fahy 1993, Holz 2000, Paggiaro 2002*).

Mit der Atemkondensatsammelmethode steht eine nicht-invasive Technik zur Gewinnung und Analyse der exhalieren Luft zur Verfügung. Die Atemkondensatsammlung kann mit Hilfe des ECo-ScreenTM-Sammelgerätes der Firma Jaeger/Toennis durch die Kondensation der exhalieren Luft erfolgen. Dabei ist das zu gewinnende Atemkondensatvolumen laut Gessner et al (2001) nicht von Lungenfunktionsparametern, der Körpergröße oder dem Körpergewicht abhängig, sondern allein vom geatmeten Volumen. Im Atemkondensat vorhandene Komponenten spiegeln sich Vorgänge in der bronchoalveolären extrazellulären Auskleidungsflüssigkeit der unteren Atemwege wider (*Becher et al. 1997*). Die Vorteile dieser Untersuchungsmethode sind, dass sie jederzeit wiederholbar und damit reproduzierbar ist, keinen Einfluss auf die Testperson hat und durch die einfache Durchführung auch bei bettlägerigen Patienten durchführbar ist. So ist mit Hilfe des Adapters VentAdapterTM der Firma Jaeger/Toennis die Probenentnahme auch am beatmeten Patienten möglich. Heutzutage wird die Atemkondensatsammelmethode in der Regel noch nicht als Routineuntersuchung zur Beurteilung von Vorgängen in den unteren Atemwegen herangezogen.

4.1.1. Definition Atemkondensat:

Das Atemkondensat besteht aus den nicht gasförmigen Bestandteilen der exhalieren Luft, die durch Herunterkühlung kondensieren und in einem Sammelrohr gesammelt werden. Die Bestandteile im Atemkondensat spiegeln die Zusammensetzung der bronchoalveolären extrazellulären Auskleidungsflüssigkeit in den unteren Atemwegen wider.

Bekannt ist, dass es an den Organen des Respirationstraktes zu einem dynamischen Prozess des Austausches zwischen der Luft und dem Gewebe kommt. Dieser dynamische Austauschprozess erreicht jedoch kein thermodynamisches Gleichgewicht. Der Austausch der verschiedenen Stoffe ist abhängig von:

- der Größe der Austauschfläche,
- der Permeabilität dieser Austauschfläche für die einzelnen Moleküle und
- der Diffusionsgeschwindigkeit der Moleküle, die wiederum von der Temperatur und den Konzentrationsgradienten abhängig ist.

Da die Gesamtheit der Alveolen mit 50-80 m² die größte Fläche im Respirationstrakt ausmacht, ist in diesem Bereich der Austausch mit der Luft und damit mit der Umwelt am größten (*Becher et al. 1997, Rothe 2001*).

Es existieren verschiedene Theorien über den Ursprung der Substanzen, die im Atemkondensat gemessen werden können:

Zum einen können im Atemkondensat Substanzen mit einer sehr geringen Plasmahalbwertszeit oder einer großen Molekülgröße vorkommen, die direkt auf der Oberfläche der Respirationsorgane gebildet werden (*Rothe 2001*).

Des Weiteren kann es in einem Teil des Atemtraktes zu einer erhöhten Produktion von Substanzen kommen, die dann im Atemkondensat enthalten sind. So ist z.B. bewiesen, dass es während der Atmung im nasalen Teil zu einer vermehrten Stickstoffmonoxidproduktion kommt. Um ausschließen zu können, dass dieses Stickstoffmonoxid im Atemkondensat verfälschte Ergebnisse bringt, ist es wichtig, die Nasenatmung mit einer Nasenklemme auszuschalten (*Becher 1997*).

Das Vorhandensein von anderen Bestandteilen der oberen Atemwege kann ausgeschlossen werden, da die Energie der laminären Strömung im oberen Teil des Atemtraktes zu gering ist, als dass Aerosole entstehen könnten. Des Weiteren ist die Gewebeoberfläche der oberen Atemwege im Vergleich zu der

großen Fläche, die die Alveolen ausmachen, vernachlässigbar gering (*Rothe 2001*).

Eine Verunreinigung und Verfälschung des Atemkondensates durch Speichelbestandteile kann durch den speziellen Aufbau des ECo-Screen™-Sammelgerätes ausgeschlossen werden (*Gessner et al. 2004*).

Im Atemkondensat können auch Substanzen enthalten sein, die an anderen Stellen des Körpers gebildet wurden und dann über den Blutkreislauf in das Lungengewebe gelangen, wo sie schließlich das Exhalat erreichen. Beispiele für solche Substanzen sind Ethanol und Aceton. Stoffe, die über diesen Weg ins Atemkondensat gelangen, sind kleinmolekular und verfügen über eine längere Plasmahalbwertszeit (*Rothe 2001*).

Der Hauptbestandteil des Exhalates ist Wasserdampf. Der Anteil von Wasserdampf am Gesamtvolumen des Exhalates beträgt 99% (*Effros et al. 2002*).

Das wasserdampfgesättigte Atemexhalat verlässt den Körper mit einer Temperatur von ca. 37°C. Nach Rothe ist bei der Gewinnung von Atemkondensat eine Abkühlung auf -10° C optimal, da mit möglichst viel Wasserdampf mit den in ihm enthaltenen Markern kondensiert (*2001*). Deshalb wird im Atemkondensatsammelgerät ECoScreen™ eine Abkühlung auf -10° C angestrebt. Zusätzlich ermöglicht der lamellenartige Aufbau des Kondensators eine große Niederschlagsfläche.

Das so gewonnene Atemkondensat liegt durch die abgegebene Kondensationswärme in einem flüssigen Aggregatzustand vor.

Substanzen, die im Atemkondensat gemessen werden können, können zum einen in der Dampfphase, die, wie bereits erwähnt, den größten Teil des Exhalates ausmacht, oder in der Aerosolphase vorkommen (*Kietzmann 1993, McCafferty 2004*).

4.1.2. Die Dampfphase:

Die Dampfphase ist die Phase, die die wasserunlöslichen Substanzen enthält, wie das 3-Nitrotyrosin. Die Dampfphase entsteht folgendermaßen:

Auf der Alveolenoberfläche entsteht ein binäres System aus der wässrigen Hülle eines Biomoleküls und der wässrigen Alveolenoberfläche („alveolar lining

fluid“). Die einzelnen Dampfdrücke des Wassers des Biomoleküls und der wässrigen Oberfläche addieren sich und das Molekül wird in die Gasphase „geschleppt“, mit der es dann ausgeatmet wird.

Liegt ein Biomolekül in erhöhter Konzentration vor, so kommt es auch in erhöhter Konzentration in der Dampfphase des Atemkondensates vor.

4.1.3. Die Aerosolphase:

In der Aerosolphase finden sich nur wasserlösliche Moleküle. Allerdings ist der Anteil dieser Phase am Atemexhalat sehr gering. Bei Ruheatmung sind in einem Liter Luft nach einer Studie von *Papineni et al. (1997)* nur 10 Teilchen Aerosol enthalten. Die Konzentration kann gesteigert werden, indem vor der zu analysierenden Atemkondensatentnahme tief ausgeatmet wird. Dies kann wie folgt erklärt werden:

Bei der Expiration kollabieren die Alveolen und es entstehen Atelektasen. Diese Atelektasen stellen einen luftleeren Zustand der Alveolen dar, wobei die Alveolenwände dicht aneinander liegen. In der Inhalationsphase werden die Alveolenwände wieder auseinander gerissen und die Aerosolpartikel treten aus dem alveolaren Flüssigkeitsfilm in das Exhalat über (*Brand 2001*).

Zu den Substanzen der Aerosolphase gehören diejenigen, die schon bei Körpertemperatur in einen gasförmigen Zustand übergehen, wie etwa Wasserstoffperoxid, die so genannten „*volatile organic compounds*“ (flüchtige organische Verbindungen) und nichtflüchtige Substanzen. Die nichtflüchtigen Substanzen sind entweder nur zersetzt verdampfbar oder besitzen bei 37° C einen sehr niedrigen Dampfdruck. Hierzu gehören Proteine und anorganische Salze, die aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit als kleine gelöste Partikel ausgeatmet werden. Nach dem heutigen wissenschaftlichen Kenntnisstand ist die Messung dieser nichtflüchtigen Bestandteile noch nicht möglich.

Die meisten in der Aerosolfraktion nachgewiesenen Substanzen korrelieren mit entzündlichen Vorgängen oder oxidativem Stress (*Becher et al. 1997*).

Durch die Analyse des Atemkondensates ist es möglich, immunologische und entzündliche Reaktionen des Körpers durch den Nachweis von Markern von Entzündungen und oxidativen Stress zu erkennen, bevor es zu strukturellen oder funktionellen Einschränkungen am Patienten gekommen ist. Angestrebt wird eine frühere Erkennung als sie mit den konventionellen nicht-invasiven

Techniken der Lungenfunktionsdiagnostik (z.B.: Spirometrie, Bodyplethysmographie) möglich wäre.

4.2. Oxidativer Stress

Unter oxidativem Stress versteht man das Ungleichgewicht zwischen der Produktion und dem Abbau reaktiver Sauerstoffspezies (ROS). Beim oxidativen Stress liegen vermehrt reaktive Sauerstoffverbindungen vor. Dieses Ungleichgewicht kann zum einen durch eine verminderte ROS-Abbaurrate infolge eines reduzierten Antioxidationsmechanismus oder zum anderen durch eine Akkumulation von ROS, z.B. durch äußere Einflüsse (H₂O₂ etc.) oder intrazelluläre Störungen (u.a. Gendefekte), entstehen.

Bei oxidativem Stress kann es zu Superoxidanionradikalbildung und anschließend zur Bildung von 3-Nitrotyrosin kommen.

Zum besseren Verständnis der Entstehung von oxidativem Stress seien im Folgenden die biochemischen Grundlagen der Atmungskette und die Entstehung der Superoxidanionradikale dargestellt.

4.2.1. Die Atmungskette:

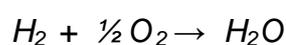
Die Energiegewinnung des Körpers findet in den Mitochondrien einer jeden Zelle unter Ausnutzung der Atmungskette statt.

Bei der Atmungskette handelt es sich um ein Multienzymsystem, in dem hintereinander geschaltete Redoxsysteme katalysiert werden. Das Ziel dieser Enzymkette ist die Oxidation von Sauerstoff und Wasserstoff zu Wasser. Die dabei freiwerdende Energie wird in Form des Adenosin-Tri-Phosphates (ATP) gespeichert (Komplex IV in der Abbildung 4.2.1.1.).

Insgesamt werden bei der Reduktion von Sauerstoff zu Wasser zwei Elektronen und zwei Protonen auf jedes Sauerstoffatom übertragen.

Formell findet in der Atmungskette die Knallgasreaktion statt, die in vitro 57 kcal/Mol Energie liefern würde.

Knallgasreaktion:



Da die Knallgasreaktion in vivo schrittweise und kontrolliert abläuft, wird eine Energie von 52 kcal/Mol freigesetzt, wobei 21 kcal/Mol der ATP-Synthese dienen und 31 kcal/Mol als Wärme entweichen.

Zunächst werden in der Atmungskette die Wasserstoffatome auf das Sauerstoffmolekül übertragen und danach erfolgt die Übertragung der Elektronen.

Die Übertragung des Wasserstoffes und der Elektronen erfolgt in drei Kaskaden über die Membranproteine Ubichinon, Cytochrom C und die Cytochrom-Oxidase.

Der Wasserstoff wird dabei in der ersten Kaskade (Komplex I in der Abbildung 4.2.1.1.) auf das Ubichinon transferiert.

In der zweiten Kaskade gelangen die Wasserstoffelektronen auf das Cytochromsystem, wobei das Cytochrom C reduziert wird (Komplex II und III in der Abbildung 4.2.1.1.). Die Elektronen erreichen anschließend die Cytochrom-Oxidase.

In dieser dritten Kaskade werden die Wasserstoffelektronen mit dem Sauerstoff verbunden und es entsteht Wasser (Komplex V in der Abbildung 4.2.1.1.).

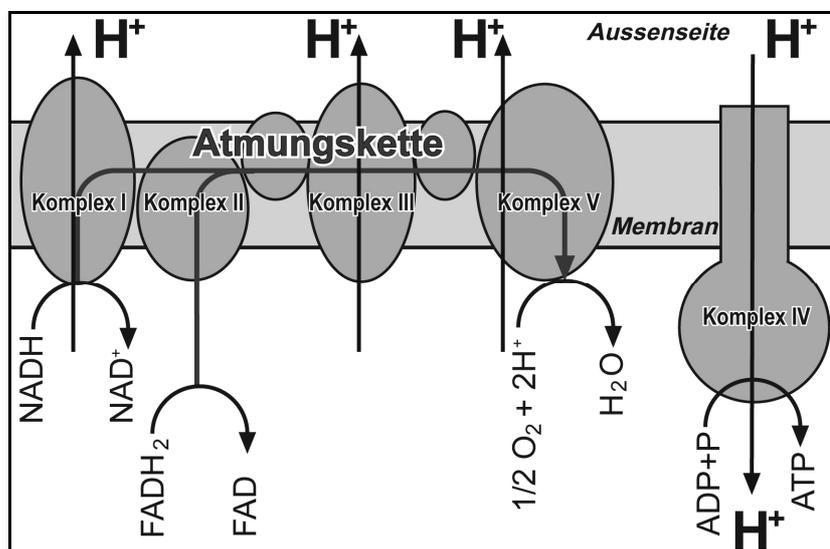


Abbildung 4.2.1.1.: schematische Darstellung der Atmungskette aus Schmidt, Thews „Physiologie des Menschen“

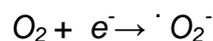
4.2.2. Superoxidationradikale:

Die Cytochrom-Oxidase ist, wie zuvor beschrieben, Bestandteil des Cytochromsystems der Atmungskette. Ihr aktives Zentrum besteht aus einer bimetallichen Anordnung eines Eisenatoms in einer Hämgruppe und eines

Kupferatoms. In diesem aktiven Zentrum wird ein Sauerstoffmolekül so lange sicher gebunden bis eine Reduktion zu Wasser möglich ist, d.h. bis eine ausreichende Menge von vier Elektronen angereichert wurde.

Das Sauerstoffmolekül weist jedoch eine sehr starke Affinität zu Elektronen auf, wodurch es zu einer verfrühten Bindung von nur einem Elektron kommen kann. Nach der Aufnahme nur eines Elektrons bildet sich ein Superoxidanionradikal.

Bildung des Superoxidanionradikals:



Dieses Superoxidanionradikal ist für den Organismus toxisch, da es durch sein ungepaartes Elektron hoch reaktiv und instabil ist und somit immerzu das Bestreben hat, drei weitere Elektronen aufzunehmen (*Chance et al. 1979*).

Aus diesem Bestreben nach Aufnahme von weiteren Elektronen resultieren Oxidationsprozesse. Als Folge dieser Oxidationsprozesse können Membranproteine, Enzyme und genetisches Material (DNA) verändert oder auch zerstört werden.

Die Cytochrom-Oxidase als Membranprotein in der Atmungskette hat damit eine wichtige Funktion als „Antioxidanz“ in der Vermeidung von Radikalbildung, indem sie das Sauerstoffmolekül so lange „festhält“ bis eine ausreichende Anzahl von vier Elektronen vorhanden ist. Trotz der Cytochrom-Oxidase entstehen unter physiologischen Bedingungen ständig kleinere Mengen freier Superoxidanionradikale. Die Aktivität der Cytochrom-Oxidase kann allerdings unterschiedliche Ausprägungen haben. Demzufolge kann auch die Bildung der Superoxidanionradikale unterschiedliche Ausmaße annehmen. Die Ursache für diese unterschiedlichen Ausprägungen der Cytochrom-Oxidase kann auf genetischen Varianten des Enzyms beruhen. Allelische Varianten mit einer Häufigkeit von 1% in der Bevölkerung werden als Polymorphismen bezeichnet (*Oesch 1994*). Diese Polymorphismen können zu einer erhöhten oder auch zu einer erniedrigten Aktivität bzw. zu einem vollständigen Fehlen des Genproduktes, in diesem Fall des Enzyms Cytochrom-Oxidase, führen (*Daly 1995*).

Superoxidanionradikale entstehen ebenso in der Immunabwehr. Entzündungszellen, in denen bei ihrer Aktivierung das Radikal gebildet wird, sind polymorphkernige Granulozyten (PMN), Makrophagen und eosinophile Granulozyten. In der Plasmamembran dieser Entzündungszellen wird Sauerstoff durch die NAD(P)H-Oxidase reduziert und es entstehen freie Sauerstoffradikale (*Babior et al. 1973, Babior 1999*). Diese Radikale sind in der Lage, mikrobielle Infektionserreger abzuwehren und beeinflussen auf diese Weise die Entzündungsvorgänge im menschlichen Organismus.

Auf das den Entzündungsvorgängen benachbarte Gewebe können die Superoxidanionradikale durch ihre hohe Reaktivität eine negative Wirkung haben. Es kann zu Schädigungen des Gewebes kommen (*Halliwell, Gutteridge 1986*).

Der menschliche Organismus besitzt Schutzmechanismen, die die Superoxidanionradikale, die durch die Immunabwehr und unter physiologischen Bedingungen in den Mitochondrien entstehen, neutralisieren. Hierzu gehören die Enzyme Superoxid-Dismutase (SOD) (*McCord 1974, Fridovich 1995*), die Katalase und die Glutathionperoxidase (GPx):

Als erste Enzyme des Schutzmechanismus gegen die Radikalbildung werden die Dismutasen aktiv. Hierunter fallen die intrazelluläre Kupfer-Zink-Dismutase (CuZnSOD), die mitochondriale Mangan-Superoxid-Dismutase (MnSOD) und die membranständige, extrazelluläre Superoxid-Dismutase (EC-SOD). Die EC-SOD kommt vor allem in der Lunge und in den Blutgefäßen vor. Sie sorgt dafür, dass die Entstehung des aggressiven Peroxynitrit (ONOO^-) verhindert wird.

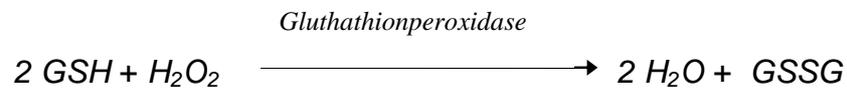


Das Reaktionsprodukt Wasserstoffperoxid (H_2O_2), das bei der Reaktion der Dismutase anfällt, ist ebenfalls sehr reaktiv. Um die Zellen vor dem toxischen Einfluss des Wasserstoffperoxids zu schützen, reduzieren die Enzyme Katalase

und Glutathionperoxidase (GPx) das Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff.



Die Glutathionperoxidase wird bei Vorhandensein von reduziertem Glutathion (GSH), das zu Glutathiondisulfid (GSSG) metabolisiert wird, aktiv.



4.2.3. Definition: „Oxidativer Stress“:

Physiologisch herrscht ein Gleichgewicht zwischen radikalen Verbindungen (Oxidantien) und den Antioxidantien, die die reaktiven Sauerstoffverbindungen wieder neutralisieren. Treten jedoch vermehrt reaktive Sauerstoffverbindungen auf, so ist dieses physiologische Gleichgewicht aufgehoben und es entsteht „oxidativer Stress“ (Sies 1986).

Die Folgen dieses oxidativen Stresses können Schädigungen an Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren sein. Einen schädigenden Einfluss auf die Nukleinsäuren haben unter Umständen gravierende Folgen für das zu übermittelnde Erbgut.

4.3. Die Bildung von 3-Nitrotyrosin

Stickstoffmonoxid (NO) ist ein sehr reaktionsfreudiges, freies Radikal, das im menschlichen Organismus mit einer Konzentration von 10-100 nM vorkommt (Mallinski und Taha 1992).

NO hat sowohl eine pathologische als auch eine physiologische Wirkung:

Als Antianginosum dient NO in der Pharmakologie als vasodilatorisches Mittel bei der Behandlung einer Angina pectoris und steigert die Durchblutung und damit das O₂-Angebot im Herzen.

NO wirkt u. a. hemmend auf die Thrombozytenaggregation und hat weitere Aufgaben als Transmitter im zentralen und peripheren Nervensystem und als Immunoregulator in der Immunabwehr. Außerdem dilatiert NO die Gefäße im Bereich der Atemwege und reguliert die Bronchienweite (*Rassaf et al. 2007*).

Die Bildung des NO's geschieht durch die NO-Synthase aus den Bestandteilen Sauerstoff, der Aminosäure Arginin und NADPH.

Die NO-Synthasen werden aufgrund ihrer unterschiedlichen Isoenzyme in zwei konstitutive und eine induzierbare NO-Synthase unterschieden:

Von den konstitutiven NO-Synthasen existieren die endotheliale und die neuronale konstitutive NO-Synthase. Allgemein beeinflussen die konstitutiven NO-Synthasen die homöostatischen, kardialen und neuralen Begebenheiten.

Die induzierbaren NO-Synthasen werden von Zellen des Immunsystems und von Endothelzellen gebildet. Diese Bildung der induzierbaren NO-Synthasen, die durch Zytokine und Endotoxine vermittelt wird, wird bei pathologischen Vorgängen (Entzündungen, Sepsis, Ischämien und Autoimmunerkrankungen) gesteigert. Aufgrund dieser Steigerung liegt dann ein erhöhter NO-Spiegel vor. Die Freisetzung des Stickstoffmonoxids ist beeinflussbar und kann z. B. durch Glukokortikoide gesteigert oder durch Zytokine gehemmt werden.

Da es sich beim Stickstoffmonoxid um ein elektrisch neutrales und kleines Molekül handelt, hat es die Eigenschaft, mit Leichtigkeit durch Membranen von Zellen zu diffundieren.

Die häufigste Reaktion, die das Stickstoffmonoxid im menschlichen Organismus zeigt, ist die Reaktion mit (Oxy-)Hämoglobin zu Nitrat und Methämoglobin. Diese Reaktion kommt zum einen dadurch zustande, dass Oxyhämoglobin in großer Menge vorkommt und zum anderen dadurch, dass Stickstoffmonoxid eine hohe Affinität zu metallhaltigen Proteinen, wie es im Oxyhämoglobin vorkommt, hat. Das metallhaltige Protein im Oxyhämoglobin ist ein eisenhaltiges Protein (Fe²⁺). Im Methämoglobin ist dieses eisenhaltige Protein zu einem Fe³⁺-Protein geworden, was eine Abnahme der

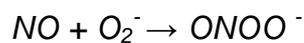
Sauerstoffbindungskapazität im Blut zur Folge hat (*Lancaster 1994, Rassaf et al. 2007*).

Das Stickstoffmonoxid kann ebenso im Blut mit schwefelhaltigen Aminosäuren und Proteinen zu Nitroso-Verbindungen reagieren. Diese Nitroso-Verbindungen exprimieren wiederum Stickstoffmonoxid (NO).

Als letzte und besonders wichtige Reaktion des Stickstoffmonoxids ist die Reaktion mit Superoxidanionradikalen zu nennen. Diese Reaktion läuft sehr schnell ab. Nach Huie und Padmaja dauert sie nur $\sim 7 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (*1993*).

Das Reaktionsprodukt ist Peroxynitrit (ONOO^-).

Reaktion des Stickstoffmonoxids mit Superoxidanionen:



Das Vorhandensein von Superoxidanionradikalen wird (wie zuvor beschrieben) von den Schutzmechanismen des menschlichen Körpers, den Superoxid-Dismutasen, limitiert und das trotz langsamerer Reaktionszeit ($k = 2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) als bei der Reaktion der Superoxidanionradikalen mit Stickstoffmonoxid. So wird fast alles O_2^- von den Superoxid-Dismutasen zu H_2O_2 und O_2 umgewandelt (*Klug et al. 1972*). Nach Nakano et al. liegt die Ursache dafür in der hohen intrazellulären Superoxid-Dismutase-Konzentration (*Nakano et al. 1990*).

Die Peroxynitritbildung wird somit fast ausschließlich durch die NO-Konzentration bestimmt. Bei ansteigendem NO-Spiegel steigt demzufolge auch die Konzentration von Peroxynitrit an (*Koppenol 1998*).

Unter physiologischen Bedingungen beträgt die Halbwertszeit des Peroxynitrits ca. 0,8 sec. (*Koppenol et al. 1993*). In biologischen Systemen liegt die Halbwertszeit aufgrund der Reaktionsfreudigkeit des Peroxynitrits unter 0,8 sec. Die starke Reaktivität des Peroxynitrits stellte Beckmann in einer Übersichtsarbeit zusammen (*Beckmann 1996*).

Nach dem heutigen wissenschaftlichen Kenntnisstand kann die Oxidation von Proteinen (*Ischiropoulos et al. 1995*), die Oxidation von DNS (*Inoue et al. 1995*) und die Oxidation von Lipiden (*Radi et al. 1991*) sowie die Nitrierung oder Nitrosylierung der Aminosäure Tyrosin (*Ischiropoulos 1998*) durch Peroxynitrit verursacht werden.

Das NO und das O_2^- aus dem Peroxynitrit reagieren mit Tyrosinresten eines Proteins und binden dabei eine Nitrogruppe an die Ortho-Position der Aminosäure Tyrosin. Das Reaktionsprodukt ist 3-Nitrotyrosin.

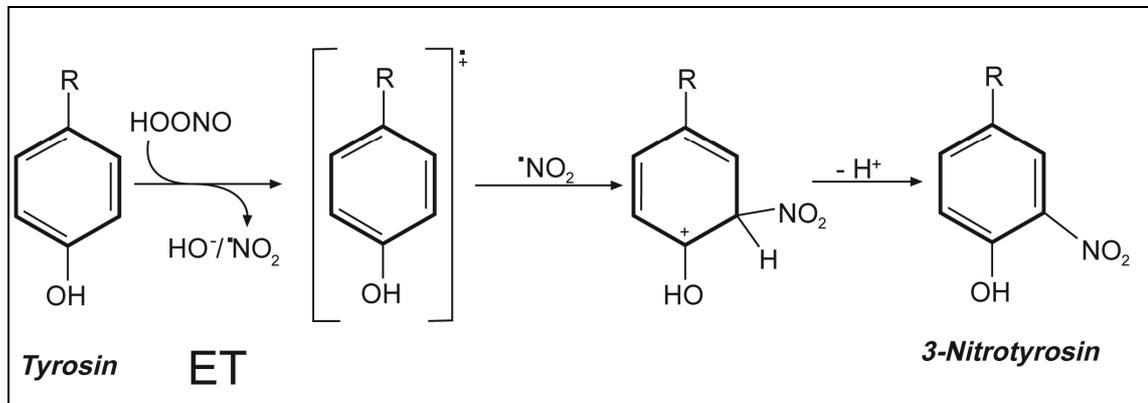


Abbildung 4.3.1.: Ein möglicher Mechanismus für die Bildung von 3-Nitrotyrosin aus Peroxynitrit (HOONO) und Tyrosin. ET = Elektronentransfer; R = organischer Rest (Pryor und Squadrito, 1995)

Das in dieser Reaktion entstandene 3-Nitrotyrosin ist im Gegensatz zum Peroxynitrit eine stabile Verbindung (Halliwell 1997).

Die Bildung des 3-Nitrotyrosins steht im direkten Zusammenhang mit dem Vorkommen von Peroxynitrit. Das Peroxynitrit steht wiederum im direkten Zusammenhang mit dem Vorkommen von Superoxidanionradikalen, die bei oxidativem Stress gebildet werden.

3-Nitrotyrosin dient demzufolge als Marker für oxidativen Stress (Ischiropoulos 1998, Schwedhelm et al. 2001).

In weiteren Studien wird eine alternative Entstehung des 3-Nitrotyrosins durch die Eosinophilenperoxidase (Wu 1999) und Myeloperoxidase diskutiert (van der Vliet 1997, Sampson 1998, Eiserich 1998).

3-Nitrotyrosin kann im Atemkondensat nachgewiesen werden (Ballint et al. 2001, Hanazawa et al. 2000, Wu et al. 2000). So wurden erhöhte Konzentrationen von Nitrotyrosin im Atemkondensat bei Asthmatikern (Hanazawa et al. 2000) und bei Patienten mit zystischer Fibrose gefunden (Ballint et al. 2001).

4.4. Definition des Begriffes Atopie

Die Atopie (*griech.: atopia = Ungewöhnlichkeit, Seltsamkeit*) bezeichnet zusammenfassend die klinischen Manifestationen der Überempfindlichkeitsreaktionen, d.h. vom allergischen Soforttyp. Die klinischen Erscheinungsbilder der Atopie werden im atopischen Formenkreis zusammengefasst. Zu diesem atopischen Formenkreis gehören die allergische Konjunktivitis, die allergische Rhinitis, das allergische Asthma und die allergische Dermatitis.

Es handelt sich bei der allergischen Konjunktivitis, bei der allergischen Rhinitis und beim allergischen Asthma um eine Typ I Allergie, d.h. die Patienten entwickeln nachweislich allergenspezifische IgE-Antikörper, die zur Auslösung der o.a. Krankheitsbilder führen.

Bei der allergischen Dermatitis liegt, sollte es sich z.B. um eine Nickelallergie handeln, eine Typ IV-Allergie vor. Die Typ IV-Allergie ist eine zellvermittelte Reaktion. Liegt jedoch eine allergische Dermatitis im Rahmen z.B. einer Latexallergie vor, so liegt ein Allergietyp I vor.

4.5. Spirometrie

Die Spirometrie ist die Basismessung in der Lungenfunktionsdiagnostik. Es werden u.a. Parameter wie das Atemzugvolumen, das Atemzeitvolumen, das inspiratorische und expiratorische Reservevolumen, die Vitalkapazität, das Residualvolumen, die Totalkapazität und die forcierte expiratorische Sekundenkapazität (FEV1) ermittelt.

Die Spirometrie ist von der Mitarbeit des Untersuchten abhängig. Doch auch die intensive Motivation des Probanden ist gemäß der DGAUM entscheidend, um falsch niedrige spirometrische Messwerte zu vermeiden (*Nowack et al. 2005*).

4.6. Bodyplethysmographie

Die Bodyplethysmographie gehört heutzutage zu den Standarduntersuchungen in der Lungenfunktionsdiagnostik. Durch diese Untersuchungsmethode ist es möglich, das intrathorakale Gasvolumen (ITGV) und die Atemwegswiderstände (Compliance, Resistance) zu ermitteln und zu beurteilen. Auch das Residualvolumen kann mit Hilfe der Bodyplethysmographie ermittelt werden.

Wie bei der Spirometrie hängt auch diese Untersuchungsmethode von der Mitarbeit des Probanden ab.

4.7. Spiroergometrie

Die Spiroergometrie setzt sich aus zwei Untersuchungseinheiten, der Ergometrie und der Spirometrie, zusammen. Man nennt sie auch „Cardiopulmonary Exercise Testing“ (CPX). Mit Hilfe der Ergometrie wird eine aufgebrachte körperliche Leistung, also Arbeit pro Zeit, quantitativ erfasst und durch die Spirometrie werden gleichzeitig die entsprechenden Atemgrößen (s.u.) gemessen.

Optimale Umgebungsbedingungen für die Durchführung der Spiroergometrie sind zum einen eine konstante, angenehme Raumtemperatur von 18-25°C und eine relative Luftfeuchtigkeit von 30-60% (*nach Medizinproduktegesetz, 2002*).

Während der Belastungsuntersuchung unterliegt die Testperson einer engmaschigen ärztlichen Überwachung. Es werden die hämodynamischen (Blutdruck, Pulsfrequenz), das EKG und die ventilatorischen Parameter [Atemzugvolumen (VT), Atemminutenvolumen (AMV), Atemfrequenz (AF), Atemreserve (BR), respiratorischer Quotient (RQ), maximale Sauerstoffaufnahme (VO_2 max), Totraumventilation (VD/VT), aerobe Kapazität (dVO_2/dWR), alveokapilläre Sauerstoffdifferenz ($AaDO_2$), anaerobe Schwelle (VO_2 AT) und Atemäquivalente (VE/VCO_2 ; VE/O_2)] kontinuierlich online überwacht, um bei pathologischen Veränderungen sofort mit entsprechenden Maßnahmen reagieren zu können.

4.7.1. Indikationen:

Dieses diagnostische Verfahren dient dazu, den gesamten kardiopulmonalen Apparat auf seine Belastungs- und Leistungsfähigkeit zu überprüfen. Physiologisch wird die Leistungsgrenze eines Menschen nicht respiratorisch limitiert, sondern durch das Herz-Kreislaufsystem.

Als Indikationen für die Durchführung dieser Untersuchungsmethode gelten gutachterliche Fragestellungen, die Beurteilung der Leistungsfähigkeit für

Fragestellungen in der Arbeits- und Sozialmedizin im Sinne z.B. einer Tauglichkeitsprüfung und die Beurteilung der Leistungsfähigkeit in der Sportmedizin im Sinne der individuellen Leistungsfähigkeit. Mit Hilfe der Spiroergometrie ist die Überwachung einer Therapie bei chronisch obstruktiven und interstitiellen Lungenerkrankungen und die Leistungs- und Verlaufskontrolle bei pulmonalen Hypertonikern bzw. Herz-Kreislauf-Erkrankten Patienten möglich. Auch in der Differentialdiagnostik der kardialen und pulmonalen Dyspnoe, in der Analyse von Gasaustauschstörungen und in der Diagnostik von Anstrengungsasthma und pulmonaler Hypertonie findet dieses Untersuchungsverfahren seine Anwendung. Des Weiteren wird sie präoperativ bei Resektionsoperationen von Lungentumoren und –emphysemen und bei Operationen in der Abdomenregion durchgeführt. Sie findet ebenfalls vor Herz- und Lungentransplantationen und bei der Überwachung einer Rehabilitationstherapie statt (*nach ERS, 1997*).

4.7.2. Kontraindikationen:

Als absolute Kontraindikationen gelten ein frischer oder ein drohender Myokardinfarkt, eine instabile Angina pectoris, schwere Herzarrhythmien, ein Herzwandaneurysma, symptomatische Aortenklappenstenosen, akute Lungenembolie und arterielle Hypertonie. Auch bei akuten Ischämiezeichen im Ruhe-EKG, bei einer akuten Endo-, Myo-, und Perikarditis, einer Thrombophlebitis, bei Thrombosen, akuten Entzündungen und fieberhaften Erkrankungen verbietet sich die Durchführung einer spiroergometrischen Untersuchung.

Als relative Kontraindikationen gelten z.B. Vitien, hypertrophe obstruktive Kardiomyopathien, Abnormalitäten im Elektrolythaushalt, unbehandelter Bluthochdruck (>200 mmHg systolisch, >120 mmHg diastolisch), pulmonale Hypertension, Tachyarrhythmien, Bradyarrhythmien, hypertrophe Kardiomyopathien, Kooperationsunfähigkeit des Probanden und ein hoher Grad eines atrioventrikulären Blocks (*nach ERS, 1997*).

4.7.3. Abbruchkriterien:

Sollten während der Belastung klinische Beschwerden wie akute Schmerzen in der Brust, Schwindel, Koordinationsverlust, mentale Verwirrung, Dyspnoe, ST-Senkungen, Inversion der T-Welle, ventrikuläre Tachykardie, systolischer

Blutdruckabfall um 20 mmHg des Ausgangswertes auftreten, so sind dies sofortige Abbruchkriterien für die Untersuchung (*nach ERS, 1997*).

Ob ein Proband seine maximale Leistungsfähigkeit erreicht hat, wird über die maximale Herzfrequenz ermittelt. Sie bestimmt die Ausbelastungsfrequenz.

Die maximale Belastung wird bei Gesunden über folgende Faustregel ermittelt (*Hollmann et al. 2006*):

$$\text{Maximale Herzfrequenz} = 220 - \text{Lebensalter}$$

Bei der Spiroergometrie sollte nach der DGAUM die individuelle submaximale Belastung (mindestens 75% der maximalen Belastung) erreicht werden (*2005*).

4.7.4. Atemparameter:

Parameter, die für diese Studie wichtig waren, seien im Folgenden kurz erläutert (*Ulmer 1998, Hollmann 2006, Kroidl et al. 2007*):

4.7.4.1. Das Atemzeitvolumen (AZV):

Das Atemzeitvolumen ist das Produkt aus Atemzugvolumen und Atemfrequenz.

Bei einer körperlichen Belastung steigt das Atemminutenvolumen an, da der Austausch von O₂ und CO₂ um ein Mehrfaches zunimmt. Der Anstieg des Atemzeitvolumens ist u.a. vom Trainingszustand des Probanden abhängig. Liegt ein geringer Trainingszustand vor, so ist auch das Atemzeitvolumen bei maximaler körperlicher Belastung kleiner.

4.7.4.2. Respiratorischer Quotient (RQ):

Dieser Quotient beschreibt das Verhältnis von der CO₂-Abatmung zur O₂-Aufnahme.

$$RQ = \frac{V'CO_2(\text{CO}_2\text{Abgabe})}{V'O_2(\text{O}_2\text{Aufnahme})}$$

Sobald die aerobe Muskelarbeit die Schwelle zum anaeroben Bereich erreicht, entspricht die O₂-Aufnahme der CO₂-Abgabe. Der Respiratorische Quotient erreicht so den Wert 1,0.

Am Anfang einer jeden Belastung sinkt der respiratorische Quotient zunächst ab, da initial mehr Sauerstoff aufgenommen als Kohlendioxid abgegeben wird. Bei anhaltender Belastung steigt die CO₂-Ausscheidung und damit nimmt der RQ zu. Bei Belastungen jenseits der anaeroben Schwelle kommt es folglich zu einer vermehrten Laktatansammlung im Muskel mit konsekutiver metabolischer Azidose. Zur Kompensation der azidotischen Stoffwechselsituation wird respiratorisch vermehrt CO₂ als Säureäquivalent abgegeben (*Nowacki 1975*). Der RQ steigt.

Anhand des respiratorischen Quotienten kann man also Stoffwechselforgänge während der Ergometrie beurteilen (*Hollmann et al. 2006*).

4.7.4.3. Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle (VO₂ AT):

Man nennt die anaerobe Schwelle auch „Anaerobic Threshold (AT)“. Sie beschreibt die Größe der O₂-Aufnahme bei Arbeit, bei der die Energiegewinnung über anaerobe Mechanismen läuft und eine metabolische Azidose auftritt. An der anaeroben Schwelle nimmt der Plasmabicarbonatgehalt im arteriellen Blut ab und der Laktatgehalt nimmt zu.

4.7.5. Herz- und Kreislaufparameter:

4.7.5.1. Herzfrequenz (HF):

Es ist physiologisch, dass die Herzfrequenz mit zunehmender Belastung ansteigt, um den vermehrten O₂-Bedarf mit einer Steigerung der Durchblutung decken zu können. Dieser Anstieg erfolgt normalerweise linear zur Atemfrequenz. Liegen Herzerkrankungen vor, so kann die Herzfrequenz überproportional oder inadäquat ansteigen

4.7.5.2. Herzfrequenzreserve (HRR):

Die Herzfrequenzreserve wird aus der Differenz zwischen der maximal erreichbaren Herzfrequenz während maximaler Arbeit und der aktuell höchsten Herzfrequenzzahl errechnet.

4.7.5.3. Herzzeitvolumen (HZV):

Das Herzzeitvolumen ist das Produkt aus Herzfrequenz und Schlagvolumen und ist ein Maß für die individuelle Leistungsfähigkeit. Unter Belastung steigt das HZV an.

4.7.5.5. Elektrokardiogramm (EKG):

Ein EKG ist grundsätzlich als Voruntersuchung, als kontinuierliche Verlaufskontrolle unter der Belastung und als Abschlusskontrolle nach der Belastung durchzuführen.

Es ist besonders wichtig vorab und während der Durchführung der Spiroergometrie pathologische Zustände wie Rhythmusstörungen, Extra- oder Ersatzsystemen und Leitungsverzögerungen zu erkennen.

4.8. Blutgasanalyse

Die Blutgasanalyse gibt Auskunft über den alveolaren Gasaustausch. Zu den gemessenen Parametern gehören die Partialdrücke der Blutgase O₂ und CO₂. Des Weiteren werden der pH-Wert und der Basenüberschuss (Base Excess, BE) bestimmt.

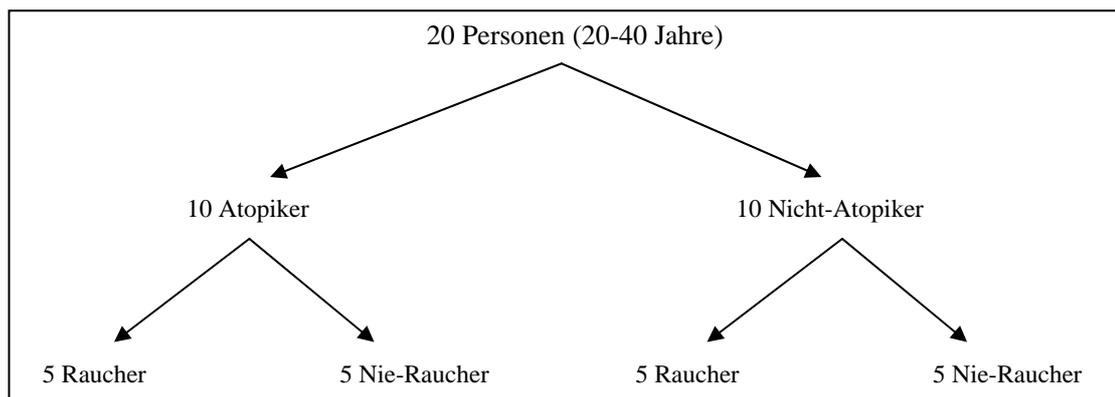
5. Materialien und Methoden

5.1. Das Probandenkollektiv

Es wurde im Sinne einer Machbarkeitsstudie ein Probandenkollektiv von 20 Personen zusammengestellt. Bei der Zusammenstellung des Probandenkollektivs wurde auf eine möglichst gleichmäßige Geschlechterverteilung geachtet. Des Weiteren wurde darauf geachtet, dass die Probanden gesund waren, d.h. an keinen akuten oder chronischen Allgemeinerkrankungen litten. Die Probanden nahmen unentgeltlich und freiwillig an dieser Studie teil. Jeder Proband wurde zu Anfang eingehend über den Versuchsablauf aufgeklärt und das Einverständnis eines jeden Probanden wurde eingeholt. Erst danach konnten die Probanden an der Studie teilnehmen. Mit Hilfe eines standardisierten Anamnesebogens (siehe Anhang 9.1.) wurden die Stammdaten des Probanden und der individuelle Gesundheitszustand eines jeden Teilnehmers erfasst. Zu den Stammdaten gehörten Name, Adresse, Geburtsdatum, Größe, Gewicht und Geschlecht. Weiterhin wurden mit Hilfe des Anamnesebogens Fragen zu allgemeinen Vorerkrankungen, zu operativen Interventionen, zu Infektionserkrankungen, zur aktuellen Medikamenteneinnahme, zur Familienanamnese, zu Voruntersuchungen, zu aktuellen subjektiven Beschwerden, zum Raucherstatus und zu sportlichen Aktivitäten abgeklärt. Des Weiteren wurde der Atopiezustand nach zuvor erläuteter Definition abgeklärt. Jeder Proband füllte zunächst den Anamnesebogen selbstständig aus und in einem Gespräch mit den Untersuchern wurden die für die Untersuchung wichtigen Details näher erläutert. Es wurde hierbei insbesondere auf Lungen- und Herzvorerkrankungen, auf aktuelle Beschwerden von Seiten des kardiopulmonalen Systems, auf eine medikamentöse Therapie, die Einfluss auf das Untersuchungsergebnis nehmen könnte und auf familiäre Vorbelastungen geachtet. Gesucht wurde ein gesundes Probandenkollektiv ohne Allgemeinerkrankungen. Daher führte es, sobald ein Proband eine Frage nach einer Erkrankung in der Anamnese bejahte, zum Ausschluss an der Teilnahme der Studie. So konnte ausgeschlossen werden, dass pathologische Faktoren die Aussagefähigkeit der Ergebnisse erschweren oder verfälschen konnten. Weiter wurde der jeweilige Leistungszustand vom Probanden subjektiv eingeschätzt und das Körpergewicht und die Körpergröße bestimmt.

Anhand der zuvor aufgestellten Definition der Atopie (Kapitel 4.4.) wurden die Probanden in Atopiker und Nichtatopiker eingeteilt und anhand der Angaben über ihre Rauchgewohnheiten erfolgte die Einteilung in Nieraucher bzw. Nichtraucher und Raucher. Als Raucher wurden die Probanden definiert, die zum Zeitpunkt der Messung Gewohnheitsraucher waren und die Probanden, die zwar aufgehört hatten zu rauchen, aber in ihrer Vergangenheit schon einmal Gewohnheitsraucher gewesen waren. Dabei war es unerheblich seit wann die Exraucher nicht mehr rauchten. Entscheidend war allein, dass mal eine Rauchgewohnheit vorgelegen hatte. Ob eine Belastung der Probanden durch Passivrauchen bestand, wurde nicht berücksichtigt.

Es ergaben sich insgesamt vier Probandengruppen, bestehend aus je 5 Probanden: 1. die Gruppe der nichtrauchenden Nichtatopiker, 2. die Gruppe der rauchenden Nichtatopiker, 3. die Gruppe der nichtrauchenden Atopiker und 4. die Gruppe der rauchende Atopiker.



5.1.1. Abbildung.: Aufteilung des Probandenkollektivs

Jeder Proband wurde nun vor der Teilnahme erneut aufgeklärt. Auch wurde die genaue Durchführung und sein Verhalten während der Bodyplethysmographie, der Spirometrie, der Atemkondensatspende und der Spiroergometrie detailliert erklärt. Am Tag der Untersuchung wurden die Probanden gebeten in nicht beengender Kleidung und ausgeruht zu erscheinen und eine leichte Mahlzeit eingenommen zu haben. Außerdem sollten die Raucher am Tag der Testung nicht geraucht haben. Ansonsten sollten sich die Probanden verhalten, wie sie es gewohnt waren. Es durfte keine andere Untersuchung parallel zu der Versuchsdurchführung stattfinden.

Durch die Auskultation von Lunge und Herz sowie die Überprüfung des Ruheblutdrucks und des Ruhepulses wurde der aktuelle physische Status des

Probanden vor Testbeginn überprüft. Es wurde von jedem Probanden zu diesem Zweck vorab ein Ruhe-EKG erstellt.

Keiner der Probanden musste aus gesundheitlichen Gründen von der Studie ausgeschlossen werden.

Nach Anamneseerhebung, Aufklärung und Voruntersuchung willigte der Proband nun schriftlich ein, an dieser Studie teilzunehmen.

Des Weiteren wurde zuvor die Zustimmung der Ethikkommission beantragt und bewilligt (Nummer der Bewilligung der Ethikkommission: 11/06).

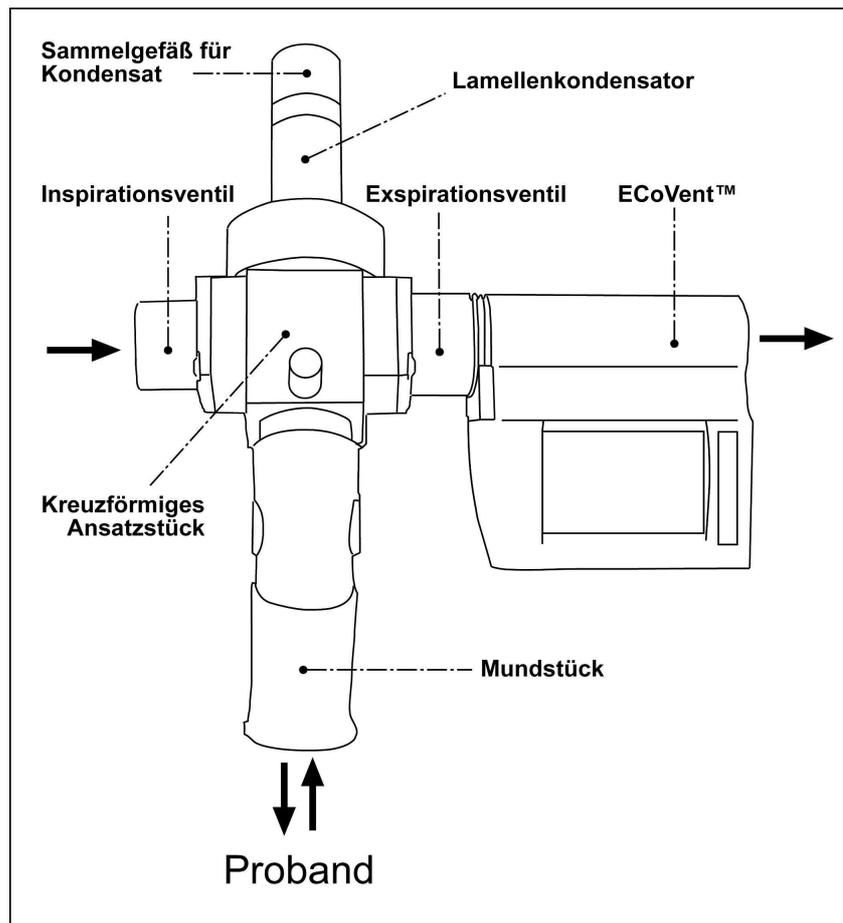
5.2. Atemkondensatgewinnung

Mit Hilfe der Atemkondensatanalyse können, wie eingangs beschrieben, nicht-invasiv die Verhältnisse des bronchoalveolären Extrazellulärtraumes untersucht werden.

Im Rahmen dieser Studie dauerte jede Atemkondensatspende 15 Minuten. Zuerst fand eine Atemkondensatspende vor der körperlichen Belastung statt. Nach der körperlichen Belastung bis zur anaeroben Schwelle musste der Proband innerhalb von 15 Minuten die Elektroden der Spiroergometrie entfernt bekommen und die Atemmaske absetzen. Des Weiteren hatte er Zeit, sich nach der Untersuchung wieder anzukleiden. Die zweite Atemkondensatspende fand also 15 Minuten nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle statt. Anschließend wurde nach einer Ruhephase von 60 Minuten die dritte Atemkondensatspende durchgeführt. Die dritte Spende fand demnach 90 Minuten nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle statt.

Gewonnen wurde das Atemkondensat mit Hilfe des ECo-ScreenTM-Gerät der Firma Viasys Healthcare (Höchberg/Bayern).

Bei dem ECo-ScreenTM der Firma Viasys Healthcare handelt es sich um ein kommerziell erhältliches, transportables Gerät, das der Gewinnung von Atemkondensat dient (Siehe Abbildung 5.2.1.).



5.2.1. Abbildung: Abbildung des ECo-Screen der Firma Viasys Healthcare

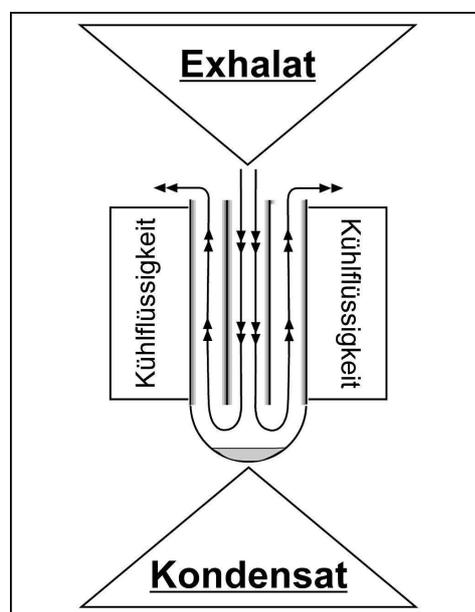
Das ECo-ScreenTM-Gerät der Firma Viasys Healthcare besteht aus einem zentralen kreuzförmigen Ansatzstück, über das ein Kühlgefäß, das den Lamellenkondensator und das Kondensatsammelgefäß enthält, ein Mundstück für den Probanden sowie das ECo-VentTM Gerät miteinander verbunden werden. Des Weiteren befinden sich in diesem Ansatzstück das Inspirations- und das Expirationsventil.

Der Proband wurde angehalten, seine Nase mit einer Nasenklemme zu verschließen, um die Nasenatmung zu verhindern und so die reine Mundatmung für die Gewinnung der Atemkondensatprobe zu gewährleisten. Anschließend wurde der Teilnehmer gebeten, für eine Zeitdauer von 15 Minuten ruhig in das Gerät ein- und auszuatmen, da dies laut Gessner et al. (2001) ausreicht, um eine Menge von 1-3 ml Atemkondensat gewinnen zu können. Die vorgegebene Zielatemfrequenz lag bei 16-20 Atemzügen/Minute. Die Teilnehmer wurden angehalten, bei Hustenreiz, beim Schlucken oder Ähnlichem die Atmung für diese Zeit kurzfristig zu unterbrechen und anschließend die Ruheatmung am Gerät unverändert fortzusetzen.

Bei der Einatmung strömte die Luft durch das Inspirationsventil im Ansatzstück. Die expirierete Luft strömte anschließend durch den Lamellenkondensator im Kühlgefäß und dann durch das Expirationsventil. Durch das Zweiwegeventil wurde sichergestellt, dass eine Vermischung von expirierter und inspirierter Luft ausgeschlossen wurde.

Im Kühlgefäß wurde eine Temperatur von -30°C erreicht, wodurch sich die ausgeatmete Luft auf -10°C abkühlte und an den Wänden des Lamellenkondensators kondensierte. Der Lamellenkondensator besteht aus Aluminium und ist an seiner Innenseite teflonbeschichtet, was ihn chemisch- und kälteresistent macht.

Das Herunterkühlen findet nach dem so genannten Gegenstromprinzip statt.



5.2.2. Abbildung: Abbildung der Luftströme im 2-Wegeventil des ECo-Screen (nach Firma Erich Jaeger Medizintechnik GmbH, Würzburg)

Das flüssige Kondensat sammelte sich im Sammelgefäß. Nach Durchlaufen des Lamellenkondensators und Gewinnung des Kondensates verlässt die Expirationsluft das kreuzförmige Ansatzstück durch das Expirationsventil und passiert das ECo-VentTM mit dem darin integrierten ECoScreenTM. Der ECoVentTM ist ein Volumensensor, der die Atemfrequenz, die Atemdauer, das Atemzugvolumen, den Spitzenfluss und das insgesamt geatmete Volumen erfasst. Die Werte waren über einen LC-Bildschirm des ECoScreenTM für den Probanden sichtbar und so war es ihm möglich, die vorgegebene Zielatemfrequenz von 16-20 Atemzüge/Minuten einzuhalten. Laut Reinhold et al. (2000) ist die gewonnene Atemkondensatmenge neben der Temperatur und

der Feuchtigkeit der Ausatemluft nämlich vom Atemminutenvolumen abhängig. Daher ist eine gleichmäßige Atmung bei der Atemkondensatspende wichtig. Jede Atemkondensatprobe wurde protokolliert (siehe Anhang 9.4.)

Die Proben wurden nach Abschluss der Atemkondensatentnahme umgehend für die spätere Analyse in Eppendorfgefäße aliquotiert, wobei das erste Eppendorfgefäß mit 0,6 ml Atemkondensat gefüllt wurde. Die gesamte Atemkondensatrestmenge wurde in weitere Eppendorfgefäße je 1,2 ml abgefüllt. Die gesamte Probenmenge wurde dann bei -80°C tiefgefroren, um die Proben asservieren zu können. Der Transport der Atemkondensatproben zum Gefrierschrank erfolgte unmittelbar nach der Aliquotierung in einer mit Eis gefüllten Kühlbox.

5.3. Spirometrie und Bodyplethysmographie

Die Spirometrie und die Bodyplethysmographie dienen, wie eingangs beschrieben, der Messung von Lungenfunktionsparametern.

.

5.3.1. Eichung vor Durchführung einer Bodyplethysmographie bzw. einer Spirometrie:

Bevor eine Messung durchgeführt werden konnte, war die Bodyplethysmographiekammer auf die Umgebungsbedingungen, d.h. Raumtemperatur und Luftdruck zu eichen. Des Weiteren fand eine Eichung auf ein Standard Atemvolumen gemäß der *American Thoracic Society* statt (*Standardization Update 1994*).

5.3.2. Durchführung der Bodyplethysmographie:

Der in dieser Studie verwendete Bodyplethysmograph ist das MasterScreen[®] Body-System der Firma Jaeger/Toennis GmbH (Viasys Healthcare, Höchberg/Bayern). Der zu untersuchende Proband saß in dieser Kammer und atmete die Luft durch ein Mundstück ein und aus.

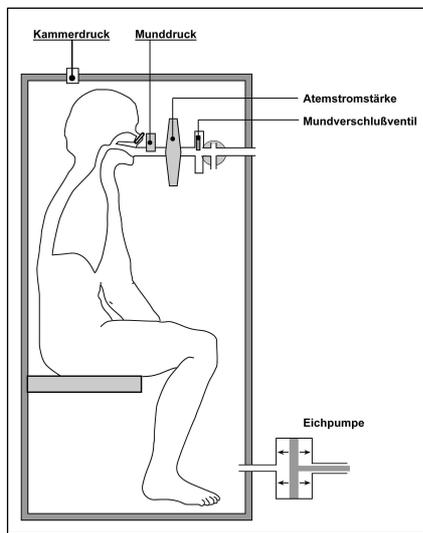


Abbildung 5.3.2.1.: Darstellung eines Bodyplethysmographen (vereinfacht nach Schmidt, Thews, 2005)

Die Türe der Messkabine wurde während des Messvorgangs verschlossen. Die Nase der Testperson wurde während des Atemmanövers mit einer Nasenklemme verschlossen, um das Entweichen von Luftmengen über den Nasentrakt zu verhindern. In der Kammer entstanden somit atmungsbedingt Druckschwankungen, woraus mit Hilfe eines Eich- und Vergleichsverfahrens der Druck in den Lungenbläschen (Alveolardruck) ermittelt wurde.

Für die korrekte Durchführung der Messung war darauf zu achten, dass sowohl die Sitzhöhe als auch die Höhe des Mundstückes in einer für den Probanden optimalen aufrechten Sitzposition eingerichtet waren. Nachdem sich der Teilnehmer in richtiger Sitzhaltung positioniert hatte, wurde die Türe der Atemkammer verschlossen. Der Proband wurde angewiesen, das Mundstück mit dem Mund komplett zu umschließen und darauf zu achten, dass keine Luft seitlich des Mundstückes austrat. Eine hierüber potentiell entweichende Luftmenge hätte zur Verfälschung des Messergebnisses geführt.

In der Messkammer wurden bei normaler und etwas beschleunigter Atmung sowie beim tiefen Ein- und Ausatmen die Atemvorgänge durch verschiedene Messfühler (Drucksensor und Pneumotachograph) erfasst, mittels Computer berechnet und mit geschlechts- und altersbezogenen Referenzwerten verglichen (EGKS, 1993). Die Erfassung und Aufzeichnung der erhaltenen Werte geschah mit MasterLab Pro® (Jaeger/Toennis GmbH, Höchberg/Bayern).

Zunächst atmete der Proband ruhig über das Mundstück (mit mehr als 16 Atemzüge pro Minute) ein und aus. Es kam hierbei zu Druckänderungen in der Lunge und damit zu Druckänderungen in der Kabine, die registriert wurden. Die entstehenden Strömungsgeschwindigkeiten beim Atemvorgang wurden über

einen Pneumatotachographen gemessen und ebenfalls registriert. Der Quotient aus Atemstromstärke und Druckänderung lieferte die Resistance, die grafisch dargestellt wurde.

Es wurden in Ruheatmung fünf Strömungswiderstandskurven („Resistancekurven“) unter online Monitorkontrolle registriert. Die unmittelbare Kurvendarstellung auf dem Monitor gewährleistete eine direkte Überprüfung der Mitarbeit des Probanden. Fehlende bzw. unzureichende Mitarbeit oder technische Fehler waren somit direkt erkennbar und korrigierbar.

Mit Hilfe dieser Resistancekurven war die Bestimmung des Atemwegswiderstandes möglich.

Im nächsten Schritt wurde die Verschlussdruckkurve erfasst, bei der der Alveolardruck (Munddruck) gegen den Kammerdruck aufgetragen wird. Bei dieser Messung wird automatisch nach Betätigung einer Taste vor Beginn einer Einatemphase das Mundstück durch einen automatischen Magnetmechanismus verschlossen.

Aus dieser Verschlussdruckkurve ließ sich das ITGV (intrathorakale Gasvolumen) ermitteln.

5.3.3. Durchführung der Spirometrie:

Nach Durchführung der bodyplethysmographischen Messung wurde die Kabinentüre geöffnet und in einem zweiten Schritt eine Spirometrie durchgeführt. Es galten auch hier die nach der European Respiratory Society festgelegten Bestimmungen (1993).

Die Messung konnte begonnen werden, wenn der Proband sich in aufrechter Sitzposition vor dem Plethysmographen positioniert hatte.

Der Proband atmete auf Aufforderung mit aufgesetzter Nasenklammer über das Mundstück in das Gerät ein und aus. Nach initialer Ruheatmung folgte das Kommando der möglichst tiefen bis an die individuelle Grenze heranreichenden Ausatmung. An dem endexpiratorischen Plateau der Atemkurve war die maximale individuelle Ausatemgrenze einer Testperson erkennbar und man forderte die Person schließlich auf, wieder zu seiner Ruheatmung zurückzukehren. Dieses Manöver der maximalen Ausatmung wurde in dieser Untersuchung mindestens dreimal wiederholt, um möglichst valide Ergebnisse der ERV-Bestimmung zu erhalten. In einem nächsten Schritt wurde nach

Erreichen des endexpiratorischen Plateaus die maximale Inspiration (für die Bestimmung der VC) mit anschließender stoßartiger und tiefer Expiration (für die Bestimmung von FEV₁) gefordert. Der jeweils größte gemessene Wert wurde automatisch vom Computer erkannt und als bestes Ergebnis festgehalten. Das Atemmanöver wurde mehrmals wiederholt, um mindestens zwei deckungsgleiche und repräsentative Kurven zu erhalten.

Die Ergebnisse der beiden Messungen (Bodyplethysmographie, Spirometrie) wurden in einem zusammenfassenden Bericht dargestellt (siehe Anhang 9.2.)

5.4. Spiroergometrie

5.4.1. Aufbau des Fahrradergometers „Ergoline“ und des „Oxycon Delta“-Gerätes der Firma Viasys Healthcare:

Die Spiroergometrie wurde mittels des Fahrradergometers „Ergoline“ und dem Gerät „Oxycon Delta“ (Programmversion Oxycon 4.5) der Firma Viasys Healthcare (Höchberg/Bayern) durchgeführt.

Der Fahrradergometer beinhaltet einen Pneumotachograph, einen O₂- und CO₂-Sensor, der den O₂-Verbrauch und das anfallende CO₂ misst, und einen EKG-Monitor zur Überprüfung der kardialen Situation (Auszug einer Spiroergometrie siehe Anhang 9.3). Außerdem wurde der Blutdruck regelmäßig gemessen. Vor Beginn der Spiroergometrie sollten die Probanden ihre persönliche Leistung einschätzen. Die individuelle Einschätzung der Leistung diene anschließend dazu, die spiroergometrische Rampenbelastung dem Fitnesslevel der Probanden anzupassen.

5.4.2. Durchführung der Fahrradergometrie:

Die Sitzposition des Fahrrades wurde auf die individuelle Körpergröße des Probanden abgestimmt und entsprechend ausgerichtet. Der Proband wurde aufgefordert, seinen Oberkörper für die Durchführung der Fahrradergometrie zu entkleiden. Nun wurden die EKG-Elektroden am Oberkörper des Probanden angelegt und die passende Atemmaske dem Probanden aufgesetzt und mit Hilfe von Gummibändern fixiert. Die Dichtigkeit der Atemmaske wurde überprüft.

Anschließend wurde ein Ruhe-EKG erhoben, um bei eventuellen Auffälligkeiten den Ausschluss des Probanden von der Versuchsreihe vorzunehmen. Die Durchführung der Spiroergometrie folgte den Richtlinien der ERS (1997).

Die Belastungsuntersuchung gliederte sich in vier Phasen, die nach einem gespeicherten Programm abliefen:

In der ersten so genannten „**Ruhephase**“ wurde der Blutdruck, die Ruheherzfrequenz, das EKG (Elektrokardiogramm), das AMV (Atemminutenvolumen), das VEO_2 und $VECO_2$ gemessen bzw. aufgezeichnet und abgespeichert.

In der sich an diese Phase anschließenden „**Referenzphase**“ wurden die o.g. Parameter erneut unter einer beginnenden Belastung von initial 25 Watt mit einer Tretgeschwindigkeit von 50 Umdrehungen/Minute kontrolliert. Die Dauer der Referenzphase betrug 3 min.

In der darauf folgenden „**Testphase**“ fand innerhalb von 6-9 Min. eine rampenförmige Belastung bis zur persönlichen AT-Schwelle statt. Bei gesunden Erwachsenen wurde mit der üblichen Lasthöhe von 25-50 Watt und bei trainierten mit 75 Watt begonnen. Die Gesamtbelastung wurde auf den zuvor im Fragebogen subjektiv bewerteten Trainingszustand des Probanden auf eine geschätzte maximale Soll-Leistung abgestimmt.

Schätzung der max. Soll-Leistung in Watt:

<i>Männer</i>	<i>Körpergewicht x 3</i>
<i>Frauen</i>	<i>Körpergewicht x 2,5</i>
<i>Breitensportler</i>	<i>Körpergewicht x 4</i>
<i>Leistungssportler</i>	<i>Körpergewicht x 5-6</i>

jeweils - (10% je Altersdekade > 30 J.)

Während der Untersuchung wurde das EKG in einminütigen Abständen und die Parameter wie AMV, VO_2 , VCO_2 , HF und RR wurden im Abstand von 2-4 Minuten gemessen und gespeichert. Diese Messungen erfolgten automatisch und standardisiert.

Zu Beginn der Untersuchung, auf dem Niveau der submaximalen und auf dem der maximalen Belastungsstufe wurden jeweils Fluss-Volumen-Kurven erfasst. Dafür wurde der Proband aufgefordert, tief ein- und schnell und stoßartig auszuatmen.

Zum Zeitpunkt des Erreichens der individuellen anaeroben Schwelle wurde eine kapilläre Blutgasanalyse am Ohrläppchen entnommen, um den Säure-Basen-Haushalt zum Zeitpunkt von AT zu verifizieren.

Unmittelbar nach der Belastungsphase schloss sich eine 6 minütige „**Erholungsphase**“ an, in der die o.a. Parameter wie zuvor fortlaufend beobachtet, gemessen und abgespeichert wurden. Die Parameter und das EKG waren während der gesamten Messzeit online zu beobachten.

5.5. Blutgasanalyse

Die modernen Blutgasgeräte sind mikroprozessorgesteuerte Geräte, die selbstständig Funktionsprüfungen der wichtigsten Module durchführen und nach definierten Intervallen Kalibrations- und Reinigungsprozeduren durchlaufen. Kernstücke sind die pH-Glaselektrode, die pCO₂-Elektrode nach Stow-Severinghaus und die pO₂-Elektrode nach Clark. Die Messprinzipien dieser Elektroden beruhen auf elektrochemischen Reaktionen, die sich an der Grenzfläche zwischen Festkörpern (Elektrode) und Flüssigkeiten (z.B. Plasma) abspielen (*Severinghaus et al. 1987*).

5.5.1. Blutentnahme für die BGA:

Zur Entnahme von Kapillarblut wurde 15 Minuten vor der Blutentnahme das Ohrläppchen mit der Salbe Finalgon® eingerieben, um so eine lokale Hyperämisierung zu erreichen (*Hollmann et al. 2006*). Hierzu wurde die Finalgonsalbe mit einem Tupfer großflächig auf das untere Drittel des Ohrläppchens aufgetragen. Mit einem kurzen heftigen Lanzetteneinstich wurde die Hautoberfläche am untersten Teil des Ohrläppchens angestochen, um eine heparinisierte Mikrogaskapillare mit den austretenden Blutstropfen möglichst ohne Druckmanipulationen aufnehmen zu können. Dabei war darauf zu achten, dass es zu keinen Lufteinschlüssen in der Kapillare kam, die zur Verfälschung des Ergebnisses geführt hätten. Für die BGA wurde eine Blutmenge von 0,07-0,1 ml entnommen. Anschließend wurde die Blutprobe umgehend mit dem Blutgasanalysator „Radiometer ABL 700 Serie (Drott-Medizintechnik; Wiener Neudorf/Österreich)“ analysiert. (Ergebnis einer BGA siehe Anhang 9.5.)

5.6. Probenaufbereitung und die Nitrotyrosinmessung

Die Probenaufbereitung der Atemkondensatproben und die Messung des 3-Nitrotyrosins erfolgten nach dem Protokoll des klinischen Labors des Institutes der Arbeitsmedizin:

SOP des klinischen Labors für Arbeitsmedizin vom Dezember 2004

3-Nitrotyrosin

Bearbeiter: P. Dewes, Th. Göen

Anwendbarkeit: Bestimmung im Atemkondensat

Analytisches Prinzip: LC-MS/MS nach SPE-Anreicherung

Mit dem Verfahren lässt sich der Gehalt von 3-Nitrotyrosin in Atemkondensat im gesamten pg/ml-Bereich quantitativ erfassen.

Das Verfahren basiert auf eine Festphasenextraktion an Reverse-Phase-Material, bei dem der Clean-up sowie eine Anreicherung um den Faktor 10 stattfindet. Die analytische Bestimmung erfolgt mittels LC-ESI-MS/MS im SRM-Modus. Als interner Standard wird 3,5-Dinitrotyrosin verwendet.

5.6.1. Geräte und Chemikalien:

5.6.1.1. Geräte:

- Agilent HPLC-System Serie 1100 mit Degasser G1379A, Binärer Pumpe G1312A und Probengeber G1379A
- HPLC-Säulenofen: Thermsphere TS-130 (Phenomenex)
- API3000 Triplequadrupol-Massenspektrometer (Applied Biosystems) mit Turbo-Ion-Spray-Quelle (ESI)
- Mikroflaschen aus Polypropylen (Agilent 9301-0978)
- Bördelgläser, 1,8ml (MN Art 70201HP)
- Reaktionsgefäße, 2 ml (Eppendorf)
- Bördelgläser, 5 ml (MN Art 70204)
- Pipetten
- SPE-Anlage von Baker
- N₂-Begasungsvorrichtung

5.6.1.2. Chemikalien:

- Ammoniumacetat, p.a. (Merck, Darmstadt)
- Methanol, SupraSolv (Merck, Darmstadt)

- Nitrotyrosin (Cayman, USA, Catalogue No 89540)
- Extraktionssäulen C18 POLAR RP, 100 mg (Baker)
- Zorbax SB-Phenyl, 3,5 µm Korngröße (2,1 x 100 mm) (Agilent)
- Essigsäure, 100 % (Merck)
- 3,5-Dinitro-L-Tyrosin (Aldrich)

5.6.1.3. Lösungen:

5.6.1.3.1. Elutionslösung:

Zur Herstellung der Elutionslösungen werden zunächst 7,71 g NH₄Ac in 1 l destilliertes Wasser gelöst (100 mM NH₄Ac). Diese Lösung wird mit destilliertem Wasser um den Faktor 1 zu 50 verdünnt (2 mM NH₄Ac). Danach werden 600 ml diese 2mM NH₄Ac-Lösung mit 400 ml MeOH gemischt und anschließend wird der pH-Wert mit Essigsäure auf 4,35 eingestellt.

5.6.1.3.2. Waschlösung:

Zur Herstellung der Waschlösung wird die 2 mM NH₄Ac-Lösung mit 10%iger Essigsäure auf einen pH-Wert von 4,35 eingestellt.

5.6.1.3.3. Resuspensionslösung und Laufmittel A:

Zur Herstellung dieser Lösung werden zunächst 7,71 g NH₄Ac in 1 l destilliertem Wasser gelöst (100 mM NH₄Ac). Diese Lösung wird mit destilliertem Wasser um den Faktor 1 zu 50 verdünnt (2 mM NH₄Ac). Danach werden 980 ml diese 2 mM NH₄Ac-Lösung mit 20 ml MeOH gemischt und anschließend der pH-Wert mit Essigsäure (ca. 3 ml) auf 3,4 eingestellt. Diese Lösung dient sowohl als Resuspensionslösung als auch als Laufmittel A für die HPLC.

5.6.1.3.4. Laufmittel B:

Zur Herstellung dieser Lösungen werden zunächst 7,71 g NH₄Ac in 1 l destilliertem Wasser gelöst (100 mM NH₄Ac). Diese Lösung wird mit destilliertem Wasser um den Faktor 1 zu 25 verdünnt (4 mM NH₄Ac). Danach werden 500 ml dieser 4 mM NH₄Ac-Lösung mit 500 mL MeOH gemischt und anschließend der pH-Wert mit konzentrierter Essigsäure (ca. 12 ml) auf 3,5 eingestellt.

5.6.1.3.5. Interner Standard:

Zur Herstellung einer Stammlösung des Internen Standards (Lösung 1) wurden 10 mg Dinitrotyrosin in 10 ml 2mM NH₄Ac-Lösung aufgelöst (1 mg/ml). Zur Herstellung der Gebrauchslösung wurde zunächst Lösung 1 mit 2mM NH₄Ac-Puffer um den Faktor 1: 100 verdünnt. Die resultierende Lösung (Lösung 2) besaß eine Konzentration von 100 ng/ml. Durch weiteres Verdünnen von 100 µl der Lösung A in 9900 µl 2mM NH₄Ac-Puffer ergab sich die Gebrauchslösung (1000 pg/ml). Die Gebrauchslösung des Internen Standards wurde in Aliquote a 150 µl portioniert und bei -80° C gelagert. Alle anderen L ösungen des internen Standards wurden ebenfalls bei -80° C gelagert.

5.6.1.3.6. Kalibrierstandards:

Zur Herstellung der Nitrotyrosin-Stammlösung (Lösung B) wurden 10 mg in einen 10 ml Messkolben eingewogen und mit 2mM NH₄Ac-Lösung bis zur Marke aufgefüllt (1 mg/ml). Danach wurden 40 µl dieser Lösung in einen 20ml Messkolben überführt und dieser mit 2mM NH₄Ac-Lösung bis zur Marke aufgefüllt (Lösung C: 2000 ng/mL). Die nächste Zwischenlösung (Lösung Z) diente zur Dotierung der Kalibrierstandards. Dazu wurden 20 µl der Lösung C in einen 20 ml Messkolben überführt und dieser mit 2mM NH₄Ac-Lösung bis zur Marke aufgefüllt (2000 pg/mL). Die Herstellung der Kalibrierstandards erfolgte mit 2mM NH₄Ac-Lösung.

Tabelle 5.6.1.3.6.1.: Pipettierschema zur Herstellung der Kalibrierstandards:

End-Konzentration	Dotier-Lösung	Volumen der Dotierlösung	Volumen der End-Lösung
10 pg/ml NT	Z	50 µl	10 ml
15 pg/ml NT	Z	75 µl	10 ml
25 pg/ml NT	Z	125 µl	10 ml
50 pg/ml NT	Z	250 µl	10 ml
75 pg/ml NT	Z	375 µl	10 ml
100 pg/ml NT	Z	500 µl	10 ml
125 pg/ml NT	Z	625 µl	10 ml
150 pg/ml NT	Z	750 µl	10 ml
250 pg/ml NT	Z	1250 µl	10 ml
500 pg/ml NT	Z	2500 µl	10 ml

5.6.2. Probenaufbereitung:

Die Baker SPE-Anlage wurde mit 5ml Bördelgläsern und den Bakerbond SPE C₁₈-Säulen bestückt. Vor der Probenextraktion wurden SPE-Säulen zunächst viermal mit je 1 ml der Elutionslösung und anschließend mit 1 ml der Waschlösung konditioniert. Dabei durfte das Festphasenmaterial nicht trocken laufen.

Anschließend wurden 500 µl Atemkondensat bzw. Standardlösung in ein Eppendorf Reaktionsgefäß gegeben und mit 50 µl 5%ige Essigsäure angesäuert. Dazu wurden 100 µl der Gebrauchslösung des Internen Standards (Lösung G) gegeben.

Diese Probenmischungen wurden mit dem Vortex-Schüttler durchmischt und mit Hilfe von Pasteurpipetten auf die Säulen aufgegeben. Nach Durchlauf der Probenlösung wurden sie mit 1ml Waschlösung gewaschen. Nach kurzem Vollvakuum (Entfernung der Waschlösung) wurden die 5ml Bördelgläser gegen 1,8 ml Bördelgläser ausgetauscht. Das Eluieren erfolgte mit 1,4 ml Elutionslösung. Durch das Anlegen des Vollvakuums an die SPE-Station (1 min) wurde die Elution abgeschlossen. Danach wurden die Eluate im N₂-Strom unter leichtem Erwärmen (bis ca. 50° C) bis zum Trocknen eingengt und die Rückstände in 50 µl Resuspensionslösung aufgenommen. Die so gewonnenen Analysenlösungen wurden in High-Recovery-Mikroflaschen aus Polypropylen überführt. Die Mikroflaschen wurden mit Schnappverschlüssen verschlossen. Eventuell vorliegende Luftblasen, die im Spitzboden der Mikroflasche eingeschlossen waren, wurden durch leichtes Klopfen entfernt und die Probengefäße in den Autosampler des LC-MS/MS-Systems gestellt.

5.6.3. Instrumentelle Arbeitsbedingungen:

- Programm: NT-Phenyl-Hexyl
- HPLC-Säule : BETASIL Phenyl-Hexyl, 3 µm Korngröße (2,1 x 100 mm)
zzgl. entsprechender Vorsäule (Thermo Electron), thermostatisiert bei 30°C(HPLC-Säulenofen)
- Mobile Phase:

Tabelle 5.6.3.1.: Gradientenprogramm der Laufmittel A und B bei der HPLC als mobile Phase:

Zeit (min)	Fluss ($\mu\text{l}/\text{min}$)	Laufmittel A (%)	Laufmittel B (%)
0,00	280	100,0	0,0
1,00	280	100,0	0,0
1,50	280	90,0	10,0
2,00	280	90,0	10,0
2,50	280	80,0	20,0
4,50	280	80,0	20,0
6,00	280	100,0	0,0
12,00	280	100,0	0,0

- Injektionsvolumen: 20 μl
- Detektor : API 3000 Triple-Quadropol-Massenspektrometer
- Ionisationsquelle : ESI, Turboion-Spray
- Auswertemaske: NT-Ph-Hex.qmf

Tabelle 5.6.3.2.: SRM- Modus:

Analyt	SRM	SRM	Retentionszeit
	Quantifier	Qualifier	(min.)
3-Nitrotyrosin	227,0 / 180,9	227,0 / 90,0	7,2
3,5-Dinitrotyrosin	272,0 / 225,9		4,2

5.6.4. Präzision:

5.6.4.1. Präzision in der Serie:

Zur Ermittlung der Präzision in der Serie wurden für die Analyten zwei Konzentrationen hergestellt: Je Konzentration wurden 10 Proben parallel aufgearbeitet und analysiert.

Tabelle 5.6.4.1. Relative Standardabweichungen (RSD) der Untersuchung:

Analyt	15 pg/ml	250 pg/ml
3-Nitrotyrosin	20,7 %	5,0 %

5.6.5. Wiederfindung:

Zur Ermittlung der aufarbeitungsbedingten Verluste wurden Kalibrierstandards in Doppelbestimmung gemäß der Vorschrift aufgearbeitet. Aus der ermittelten Kalibrierkurve wurde die Steigung berechnet.

Für die 100%-Bezugswerte wurden Kalibrierstandards gemäß dem theoretischen Anreicherungsfaktor von 10 direkt in Resuspensionslösung hergestellt und in der gleichen Serie wie die aufgearbeiteten Proben analysiert. Auch hier wurde aus der ermittelten Kalibrierkurve die Steigung berechnet. Der direkte Vergleich bei den Steigungen ergab eine Wiederfindung von 85,0%

5.6.6. Nachweisgrenze:

Die Nachweisgrenze für 3-Nitrotyrosin wurde nach DIN 32645 mit 2,5 pg/ml bestimmt. Auf der Grundlage einer relativen Ergebnisunsicherheit von 33 % resultierte daraus eine Bestimmungsgrenze von 8,5 pg/ml.

5.7. Auswertung der gemessenen Nitrotyrosinwerte und der gesammelten Probandendaten

5.7.1. Datenverarbeitung:

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss körperlicher Arbeit auf die 3-Nitrotyrosin-Konzentration im Atemkondensat (in pg/ml) der teilnehmenden Probanden zu untersuchen. Bei der Auswertung der Messergebnisse wurden der Atopiestatus und die Rauchgewohnheiten eines Probanden gesondert berücksichtigt.

Mit Hilfe der Software SPSS 12.0 (SPSS GmbH Software, München) wurden alle erhobenen und ermittelten Daten aus Anamnese, Versuchsdokumentation und Probenauswertung zentral in einer Datenbank erfasst. Hierzu wurde jedem Probanden eine eindeutige Identifikationsnummer (ERGO1-ERGO20) fest zugeteilt. Die gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen zu den drei Zeitpunkten T0 (Baseline Messung vor Ergometrie), T1 (Zeitpunkt 15 Minuten nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle) und T2 (Zeitpunkt 90 min. nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle) wurden entsprechend als NTYR0, NTYR1 und NTYR2 bezeichnet.

Für die Auswertung der Untersuchung ergab sich ein Design mit zwei Variablen mit jeweils zwei Ausprägungen:

Die erste Variable beschreibt den Atopiestatus eines Probanden. Gemäß Anamneseerhebung hatten 50% der teilnehmenden Probanden einen positiven und 50% der teilnehmenden Probanden einen negativen Atopiestatus.

Die zweite interessierende Einflussvariable war der Raucherstatus eines Probanden. So waren jeweils 50% der Probanden Raucher und 50% der Probanden Nieraucher.

Bei gleichzeitiger Anwendung beider Einflussvariablen auf das Gesamtkollektiv ergibt sich durch deren Ausprägung eine Aufteilung in vier einzelne Untergruppen mit jeweils 25% des Probandenkollektivs: Raucher/Atopiker, Raucher/Nichtatopiker, Nieraucher/Atopiker und Nieraucher/Nichtatopiker.

5.7.2. Deskriptive Statistik:

Die ermittelten Messwerte der Nitrotyrosinkonzentration zu den drei Zeitpunkten wurden als Mittelwerte samt Standardabweichung für das Gesamtkollektiv, die Ausprägung Atopiker/Nichtatopiker bzw. Raucher/Nieraucher und für die vier Untergruppen separat errechnet und ausgewertet.

Für eine zusätzliche Betrachtung der Verteilung der Messwerte wurde analog der zuvor geschilderten Unterteilung außerdem der Medianwert, die Quartile (25% und 75%), sowie Minimum und Maximum für die Messwerte bestimmt.

Die gleichzeitige Verwendung von Mittelwert und Medianwert innerhalb dieser Studie liegt darin begründet, dass die Varianzanalyse auf einem parametrischen Verfahren fußt und eine Darstellung der dazugehörigen Mittelwerte daher erforderlich ist. Die Verwendung des Medianwertes gründet auf dem Vorteil der Medianwerte robuster auf extreme Messwerte zu reagieren. Da aufgrund des explorativen Ansatzes das Probandenkollektiv mit 20 Probanden sehr klein war, könnten „Ausreißer“ den Mittelwert leicht verfälschen. Daher wurde zusätzlich der Medianwert angegeben, der konstruktionsbedingt bei einer kleinen Anzahl von Messgrößen stets in der Mitte aller Messwerte liegt.

Die grafische Darstellung der Mittelwerte samt einfacher Standardabweichung und die Darstellung der Medianwerte als (Min-Max-)Boxplots erfolgte mit der Software Microsoft® Excel®.

Zur weiteren Standardisierung der Messergebnisse wurde die Differenz der Nitrotyrosinkonzentration zu den drei Zeitpunkten auf die individuell erreichte Wattzahl, die bei der körperlichen Belastung zum Erreichen der anaeroben Schwelle führte, normalisiert. Hierzu wurde zunächst die jeweilige Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Vergleich zu den einzelnen

Zeitpunkten ermittelt, d.h. ΔT_0-T_1 , ΔT_0-T_2 und ΔT_1-T_2 . Mit den so errechneten Werten wurde dann ein Quotient mit der jeweils individuell erreichten Wattzahl gebildet.

Die Auswertung der errechneten Quotienten erfolgte analog unter Ermittlung der Mittel- und Medianwerte.

Mit Hilfe des Statistikprogramms SAS (SAS Institute Inc.) wurde die statistische Auswertung ausgeführt: Zur Auswertung dieser Daten wurde ein Programm geschrieben, das die GLM-Prozedur (General Linear Models Procedure) und die ANOVA-Varianzanalyse nutzt. Die ANOVA-Varianzanalyse, die hier verwendet wurde, war eine Varianzanalyse mit Messwiederholung (*repeated measurement ANOVA-Varianzanalyse*). D.h. in dieser Studie wurden die gemessenen Daten (Nitrotyrosinkonzentration) zu den drei Zeitpunkten (T0, T1 und T2) im Verlauf zu den beiden Einflussfaktoren Raucher und Atopie mit Testwiederholung analysiert.

So war es auch möglich, die gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen zwischen den verschiedenen Zeitpunkten und zwischen den Ausprägungen der beiden Einflussvariablen zu vergleichen. (Weitere Informationen zu dieser Methode: *“Applications of Multivariate Analysis of Variance to Repeated Measures Experiment“*, J.W. Cole, J.E. Grizzle (1966)).

Da es sich bei dieser Studie um eine explorative Studie handelt, ist eine Anpassung des Signifikanzniveaus nicht erforderlich. Das Signifikanzniveau lag in dieser Studie bei 5%, d.h. ein p-Wert $\geq 0,05$ galt als statistisch signifikant.

6. Ergebnisse

6.1. Das Probandenkollektiv

Das Probandenkollektiv (n=20) setzte sich zu 45% (n=9) aus weiblichen und zu 55% (n=11) aus männlichen Probanden zusammen.

Im Median war das Kollektiv 24 Jahre alt, wobei der jüngste Proband 20 Jahre alt war und der älteste Proband war 34 Jahre alt.

Tabelle 6.1.1.1. Übersicht über die Altersverteilung (Jahre im Durchschnitt):

	Altersmedian	Maximum	Minimum
♀ weiblich (n=9)	25	27	23
♂ männlich (n=11)	24	34	20
Gesamtkollektiv (n=20)	24	34	20

Die Probanden waren entsprechend ihrer Körpergrößen normalgewichtig. Keiner der Probanden gab aktuelle Beschwerden oder körperliche Beeinträchtigungen an. Es lagen ebenfalls keine Allgemeinerkrankungen vor. Vorgenommene Operationen bei den Probanden fanden mindestens 6 Jahre vor Teilnahme an dieser Studie statt. Zum Zeitpunkt der Testung bestanden für die betroffenen Probanden keine Beeinträchtigungen oder Nachbehandlungen mehr, so dass davon ausgegangen werden konnte, dass die operativen Eingriffe keine Relevanz auf die Ergebnisse dieser Studie haben konnten. Zwei Probanden gaben an, vor ca. 18 Jahren an einer Kur teilgenommen zu haben. Nachbehandlungen fanden auch hier nicht statt.

Bei der Abfrage zur aktuellen Medikamenteneinnahme nahmen zwei Probanden regelmäßig Vitaminpräparate (Vitamin C) zu sich. Ein Proband war Atopiker/Nichtraucher und ein Proband war Nichtatopiker/Raucher. Zum Zeitpunkt der Studie nahm kein Proband entzündungshemmende Medikamente, die eventuell Einfluss auf die Entstehung von oxidativen Stress gehabt hätten.

Ein Proband (Nichtatopiker/Nichtraucher) gab an, nie Alkohol zu sich zu nehmen. Die anderen Probanden nahmen zwar regelmäßig Alkohol zu sich, jedoch konnte ein krankhaft übermäßiger Alkoholkonsum bei keinem der Probanden festgestellt werden.

Bei der Angabe über die sportliche Betätigung der Probanden stellte sich heraus, dass die Gruppe der Atopiker/Raucher die unsportlichste Gruppe war.

60% der Probanden in dieser Gruppe gaben an, nie Sport zu machen. Die sportlichste Gruppe war die Gruppe der Nichtatopiker/Raucher. Hier machte jeder Proband regelmäßig mehrmalig die Woche Sport. Durchschnittlich machten die Probanden zweimal pro Woche Sport.

Gemäß dem Studiendesign ließ sich das Probandenkollektiv zu gleichen Teilen in Raucher, Nieraucher, Atopiker und Nichtatopiker einteilen.

Tabelle 6.1.1.2. Übersicht über die Zusammensetzung des Probandenkollektivs mit geschlechtsspezifischer Trennung (Die Prozentangaben beschreiben den Anteil am Gesamtkollektiv mit n=20 Studienteilnehmern.):

	weiblich	männlich	gesamt (n)
Raucher	3 (15%)	7 (35%)	10 (50%)
Nichtraucher	6 (30%)	4 (20%)	10 (50%)
Gesamtkollektiv (n)	9 (45%)	11 (55%)	20 (100%)
Atopiker	5 (25%)	5 (25%)	10 (50%)
Nichtatopiker	4 (20%)	6 (30%)	10 (50%)
Gesamtkollektiv (n)	9 (45%)	11 (55%)	20 (100%)

Im Probandenkollektiv der Raucher waren alle Raucher Zigarettenraucher und es gab drei ehemalige Raucher, die vor weniger als 5 Jahren aufgehört hatten. Durchschnittlich rauchten die Raucher 10,9 Zigaretten pro Tag seit durchschnittlich 7,71 Jahren.

Unter der Betrachtung des Kollektivs nach den Faktoren Raucher, Nieraucher, Atopiker, Nichtatopiker ergab sich folgende Unterteilung des Kollektivs in vier Kollektivgruppen.

In der Probandengruppe der Atopiker war es für die Einteilung in die Probandengruppe unerheblich, welche Form der Atopie vorlag. 50% der Atopiker gaben an, dass in ihrer Familie ebenfalls Formen der Atopie vorlagen. Bei den Atopien hatten 6 Probanden eine allergische Rhinitis verbunden mit einer allergischen Konjunktivitis im Sinne einer Hausstauballergie und Heuschnupfen. Bei drei Probanden lag eine allergische Dermatitis vor und ein Proband litt unter allergischem Asthma bei Kontakt mit Hausstaubmilben. Die vier Probanden, die unter Heuschnupfen litten, waren alle Atopiker/Raucher.

Tabelle 6.1.1.3. Übersicht über die geschlechterspezifische Zusammensetzung des Probandenkollektivs und der einzelnen Untergruppen (Prozentangaben beschreiben den Anteil am Gesamtkollektiv mit n=20 Studienteilnehmern.):

	weiblich	männlich	gesamt (n)
Raucher/Atopiker	1 (5%)	4 (20%)	5 (25%)
Raucher/Nichtatopiker	2 (10%)	3 (15%)	5 (25%)
Nichtraucher/Atopiker	4 (20%)	1 (5%)	5 (25%)
Nichtraucher/Nichtatopiker	2 (10%)	3 (15%)	5 (25%)
Gesamtkollektiv (n)	9 (45%)	11 (55%)	20 (100%)

Bei der körperlichen Voruntersuchung bestehend aus Spirometrie, Bodyplethysmographie und Ruhe-EKG, sowie der anschließenden Auskultation von Herz und Lunge musste kein Proband aus gesundheitlichen Gründen ausgeschlossen werden. Auch bei der Spiroergometrie konnten alle Probanden bis zum Erreichen der anaeroben Schwelle belastet werden. Somit durchliefen alle Probanden erfolgreich die Testreihe und die gesammelten Atemkondensatproben konnten ausgewertet werden.

6.1.2. Ausschluss eines Probanden bei der Auswertung der Ergebnisse:

Nach Analyse und Auswertung der Atemkondensatproben ergab sich bei einem Proband zum Zeitpunkt T2 ein um etwa Faktor 25 höhere Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat in Relation zu den erhaltenen Konzentrationen von Nitrotyrosin der anderen Probanden. Diese extreme Wertabweichung bestätigte sich auch nach wiederholter Probenmessung. Es wurde vermutet, dass auf ungeklärte Weise eine Verunreinigung der Atemkondensatprobe stattgefunden hat. Aufgrund dessen wurde der Ausschluss des Probanden an der Auswertung der Studie beschlossen. Der Proband war männlich, Nichtraucher und Nichtatopiker. Gerechnet wurde also auf ein Probandenkollektiv n=19 mit einer Anzahl von 4 Probanden in der Probandengruppe Nichtraucher/ Nichtatopiker.

6.2. Ergebnisse der gemessenen 3-Nitrotyrosinkonzentrationen

Da die statistische Auswertung der erhaltenen Messwerte der Nitrotyrosinkonzentrationen zu den einzelnen Zeitpunkten mit Hilfe der Varianzanalyse geschah, wurden die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen mit den Standardabweichungen angegeben und dargestellt. Bei dieser Studie handelt es sich um ein sehr kleines Probandenkollektiv, deshalb wurden ebenfalls die Medianwerte mit Quartilen (25% und 75%) und den Minimum- und Maximumwerten angegeben.

6.2.1. Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml):

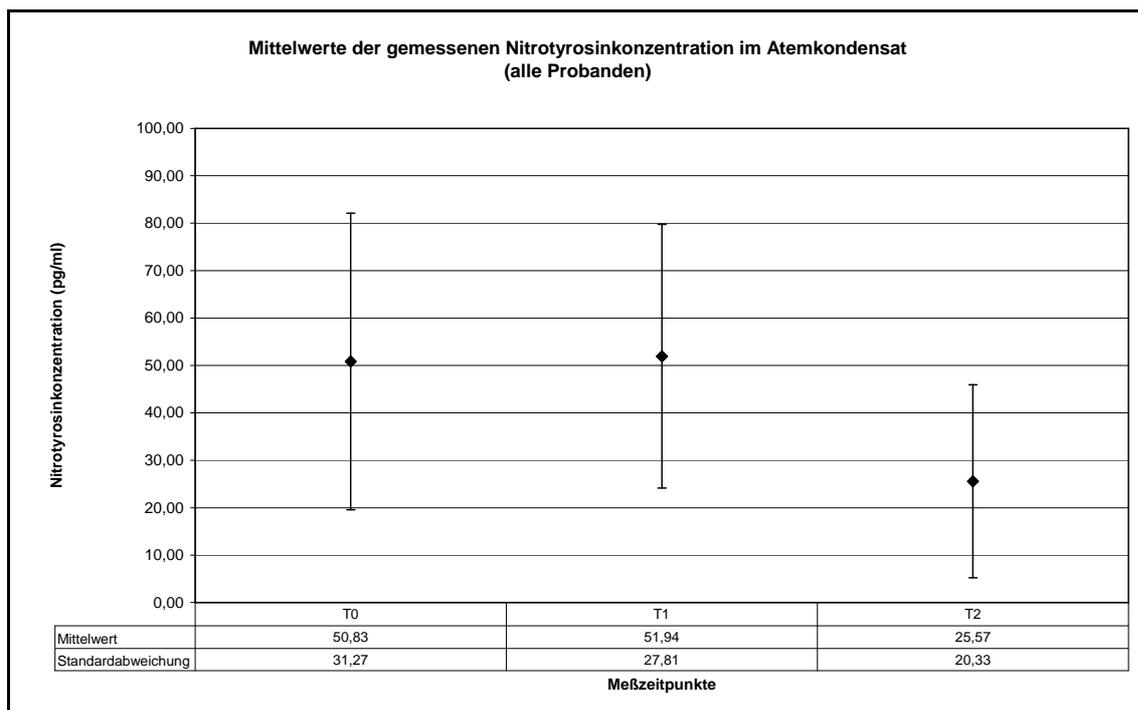


Abbildung 6.2.1.1.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (alle Probanden). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.2.1.1. beschreibt die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinwerte in pg/ml im Atemkondensat zu den drei definierten Zeitpunkten T0 (vor der Ergometrie), T1 (15 Minuten nach Erreichen der anaeroben Schwelle) und T2 (90 Minuten nach Erreichen der anaeroben

Schwelle) mit Standardabweichungen. Betrachtet werden hier alle Probanden (n=19) ohne Unterscheidung in die einzelnen Probanden- oder Kollektivgruppen. Festgestellt wurde ein geringer Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration von +1,11 pg/ml vom Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T1. Vergleicht man die Zeitpunkte T0 zu T2 und T1 zu T2, so erkennt man einen Abfall der Nitrotyrosinkonzentration (ΔT_0-T_2 : -25,26 pg/ml; ΔT_1-T_2 : -26,37 pg/ml). Diese Veränderungen der Nitrotyrosinkonzentrationen sind statistisch nicht signifikant.

Tabelle 6.2.1.2.: Maximal- und Minimalwerte der Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentration (in pg/ml) im Atemkondensat (alle Probanden) zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2:

	Zeitpunkt T0	Zeitpunkt T1	Zeitpunkt T2
Maximum [pg/ml]	119	110	84,9
Minimum [pg/ml]	5	13,1	5

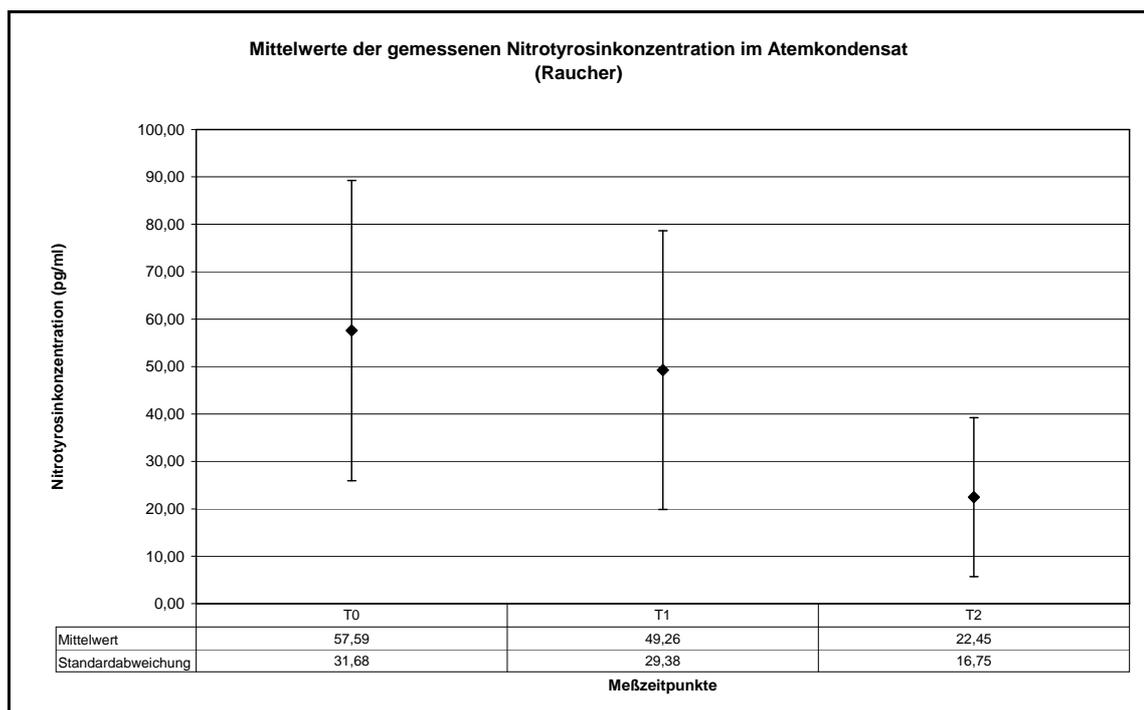


Abbildung 6.2.1.3.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Raucher). Neben den Mittelwerten (◆) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.2.1.3. beschreibt die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinwerte (in pg/ml) im Atemkondensat mit Standardabweichungen zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 im Probandenkollektiv der Raucher. Festgestellt wurde ein geringer, nicht signifikanter Abfall der

Nitrotyrosinkonzentration von T0 zu T1 (ΔT_0-T_1 : -8,33 pg/ml) und ein größerer, ebenfalls nicht signifikanter Abfall der Nitrotyrosinkonzentration von T0 zu T2 und T1 zu T2 (ΔT_0-T_2 : -35,14 pg/ml; ΔT_1-T_2 : -26,81 pg/ml). In der Probandengruppe der Raucher findet sich die höchste Nitrotyrosinausgangskonzentration im Vergleich zu den anderen Probandengruppen. Die Nitrotyrosinkonzentrationen in dieser Probandengruppe zu den Zeitpunkten T1 und T2 sind im Vergleich zu den anderen Probandengruppen niedriger. Auch dies ist statistisch nicht signifikant.

Tabelle 6.2.1.4.: Maximal- und Minimalwerte der Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentration (in pg/ml) im Atemkondensat (Raucher) zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2:

	Zeitpunkt T0	Zeitpunkt T1	Zeitpunkt T2
Maximum [pg/ml]	119	110	57,2
Minimum [pg/ml]	5	13,1	5

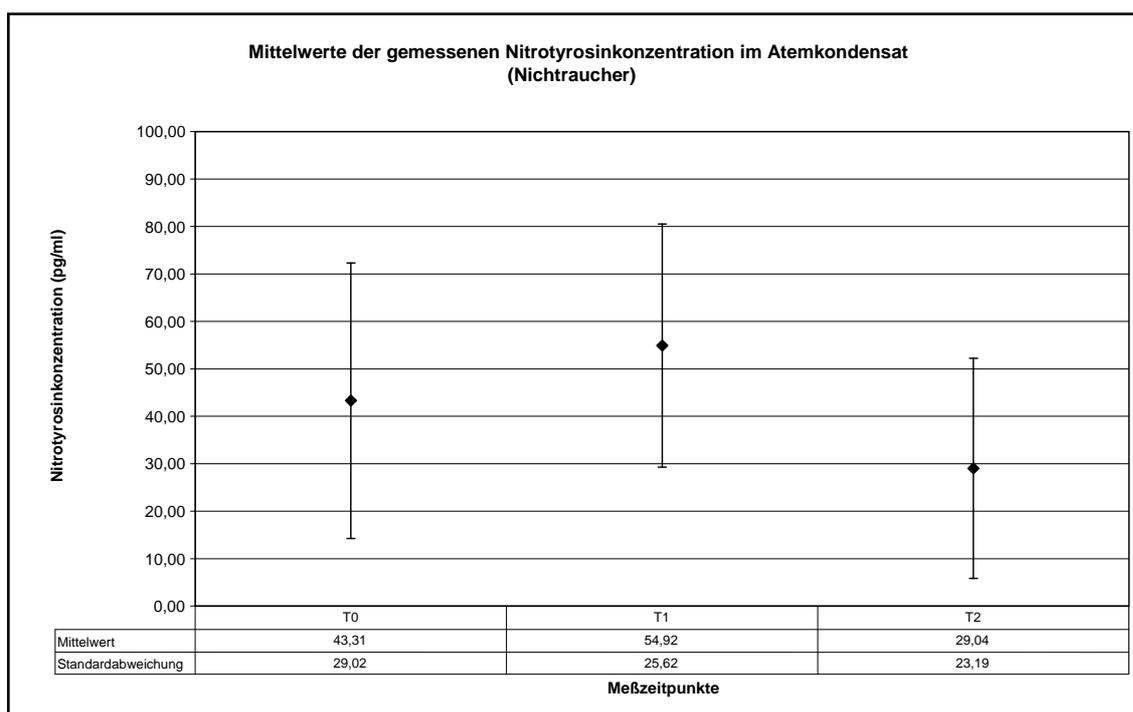


Abbildung 6.2.1.5.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtraucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.2.1.5. zeigt die Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Kollektivgruppe der Nieraucher. Man sieht einen Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration von T0 zu T1 von +11,61 pg/ml und eine Verringerung der Nitrotyrosinkonzentration

von T0 zu T1 von -14,27 pg/ml und von T1 zu T2 von -25,88 pg/ml. Diese Probandengruppe zeigt die niedrigste Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T0 im Vergleich zu den anderen Probandengruppen. Hingegen sind die Nitrotyrosinkonzentrationen zu den Zeitpunkten T1 und T2 höher als bei den anderen Probandengruppen. Alle erhaltenen Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

Tabelle 6.2.1.6.: Maximal- und Minimalwerte der Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentration (in pg/ml) im Atemkondensat (Nichtraucher) zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2:

	Zeitpunkt T0	Zeitpunkt T1	Zeitpunkt T2
Maximum [pg/ml]	97,70	99,90	84,90
Minimum [pg/ml]	13,70	13,10	5,00

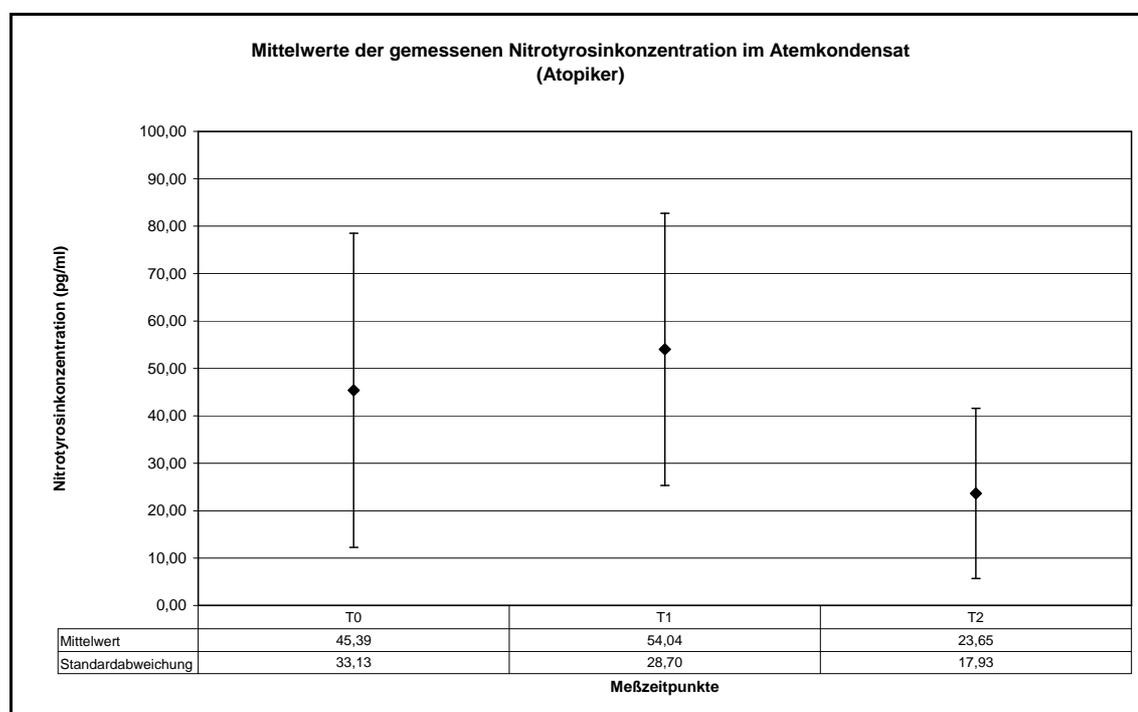


Abbildung 6.2.1.7.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Atopiker). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

In dieser Abbildung 6.2.1.7. werden nun die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1, T2 bei der Probandengruppe der Atopiker betrachtet. Es fand ein statistisch nicht signifikanter Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration von T0 nach T1 von +8,65 pg/ml und ein statistisch nicht signifikanter Abfall der Konzentration von T0 nach T2 ($\Delta T0-T2$: -21,74 pg/ml und von T1 nach T2 ($\Delta T1-T2$: +30,39 pg/ml) statt. Die Nitrotyrosinkonzentration zu Beginn der Testung

(Zeitpunkt T0) ist in dieser Probandengruppe die zweithöchste Ausgangskonzentration im Vergleich zu den anderen Probandengruppen. Auch dieses hat keine statistische Signifikanz.

Tabelle 6.2.1.8.: Maximal- und Minimalwerte der Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentration (in pg/ml) im Atemkondensat (Atopiker) zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2:

	Zeitpunkt T0	Zeitpunkt T1	Zeitpunkt T2
Maximum [pg/ml]	119	110	57,20
Minimum [pg/ml]	5,00	13,10	5,00

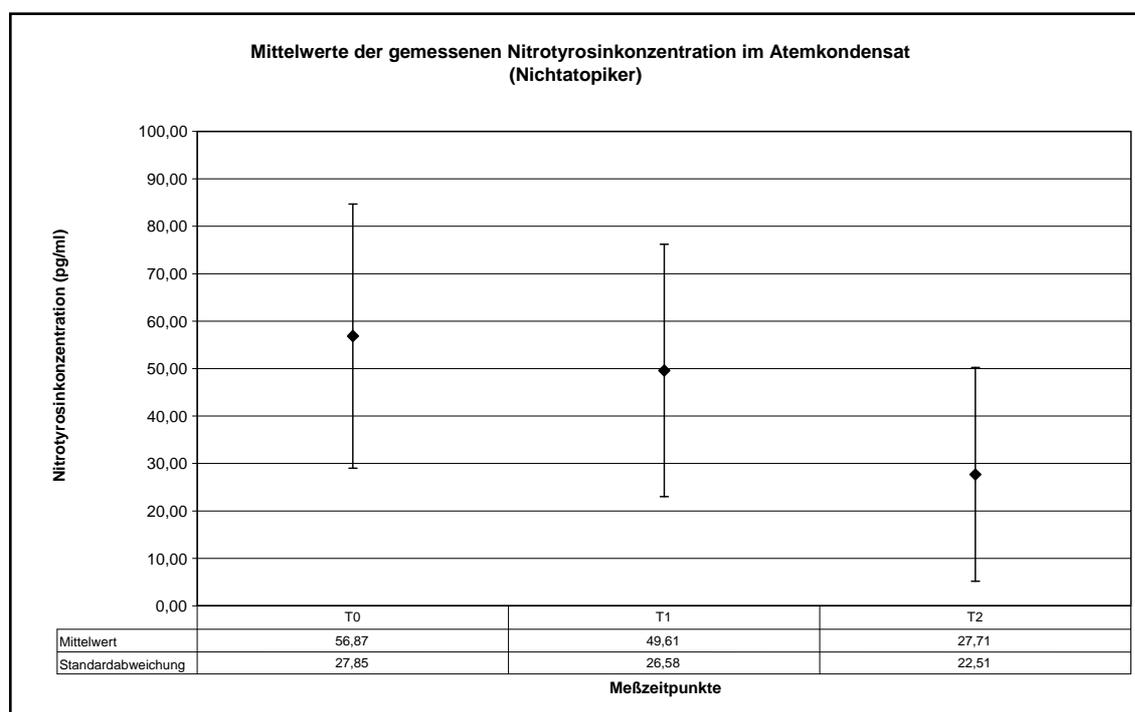


Abbildung 6.2.1.9.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtatopiker). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Anschließend wird nun für die Probandengruppe der Nichtatopiker die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen (in pg/ml) im Atemkondensat mit Standardabweichungen zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 dargestellt (Abbildung 6.2.1.9.). Die Nitrotyrosinkonzentration sank von T0 nach T1 um -7,26 pg/ml. Auch von T0 zu T2 und T1 zu T2 wurde eine erniedrigte Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat gemessen [$\Delta T0-T2$: -29,16 pg/ml; $\Delta T1-T2$: -21,9 pg/ml). Die Nitrotyrosinkonzentration zu Beginn der Testung ist in dieser Probandengruppe nach der Probandengruppe der

Raucher die zweithöchste Ausgangskonzentration. Die erhaltenen Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

Tabelle 6.2.1.10.: Maximal- und Minimalwerte der Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentration (in pg/ml) im Atemkondensat (Atopiker) zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2:

	Zeitpunkt T0	Zeitpunkt T1	Zeitpunkt T2
Maximum [pg/ml]	97,70	99,90	84,90
Minimum [pg/ml]	22,50	15,70	10,20

Laut Studiendesign wurden die Probanden in die vier Kollektivgruppen Atopiker/Raucher, Nichtatopiker/Raucher, Atopiker/Nichtraucher und Nichtatopiker/Nichtraucher unterteilt:

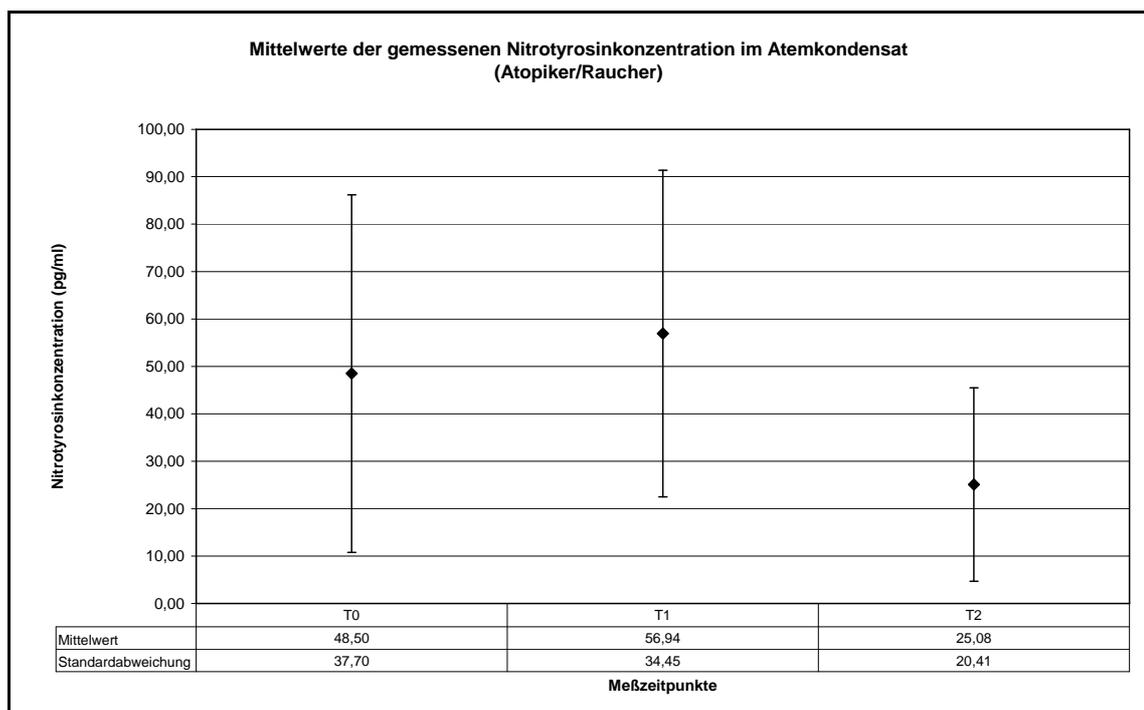


Abbildung 6.2.1.11.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Atopiker/Raucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

In dieser Abbildung 6.2.1.11. werden die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) mit den Standardabweichungen zu den drei definierten Zeitpunkten T0, T1, T2 bei der Kollektivgruppe der Atopiker/Raucher betrachtet. Man beobachtet einen Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration vom Zeitpunkt T0 zum Zeitpunkt T1 um

+8,44 pg/ml. Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T2 ist im Vergleich zu T0 und T1 niedriger ($\Delta T0-T2$: -23,42 pg/ml, $\Delta T1-T2$: -31,86 pg/ml). Die Ausgangsnitrotyrosinkonzentration ist bei dieser Kollektivgruppe am zweithöchsten im Vergleich zu den anderen Kollektivgruppen. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

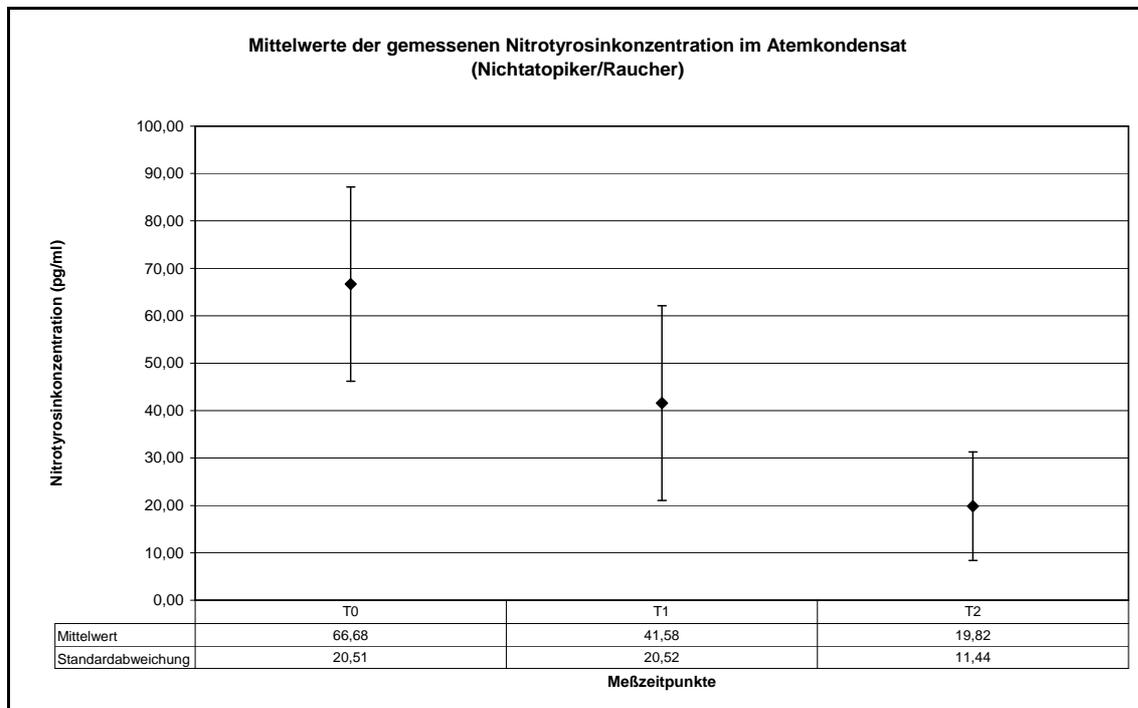


Abbildung 6.2.1.12.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtatopiker/Raucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.2.1.12. zeigt die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen (in pg/ml) im Atemkondensat mit Standardabweichungen für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Raucher. Gemessen wurden die Nitrotyrosinkonzentrationen zu den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2. Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T0 ist im Vergleich zu den anderen Kollektivgruppen die höchste Ausgangskonzentration. Von T0 nach T1 findet eine Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration statt ($\Delta T0-T1$: -25,1 pg/ml). Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T2 ist geringer als die zum Zeitpunkt T1 oder zum Zeitpunkt T0 ($\Delta T0-T2$: -46,86 pg/ml, $\Delta T1-T2$: -21,76 pg/ml). Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T2 ist im Vergleich zu den anderen Kollektivgruppen die niedrigste. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

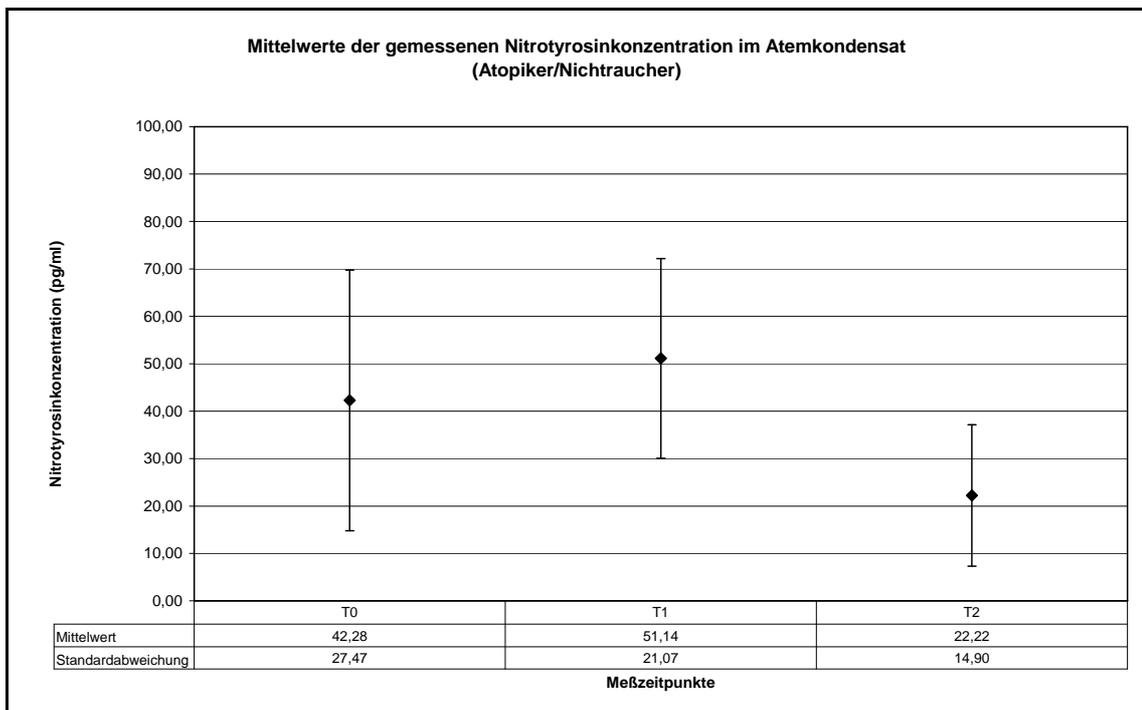


Abbildung 6.2.1.13.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Atopiker/Nichtraucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

In der Abbildung 6.2.1.13. werden die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) mit Standardabweichungen zu den drei definierten Zeitpunkten für die Kollektivgruppe Atopiker/Nichtraucher angegeben. Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T0 ist verglichen zu den Konzentrationen zum Zeitpunkt T0 bei den anderen Kollektivgruppen die niedrigste Ausgangskonzentration. Zum Zeitpunkt T1 steigt die Nitrotyrosinkonzentration statistisch nicht signifikant um +8,86 pg/ml an. Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T2 ist im Vergleich zu den Konzentrationen zu T0 und T1 nicht signifikant erniedrigt ($\Delta T0-T2$: -20,06 pg/ml, $\Delta T1-T2$: -28,92 pg/ml).

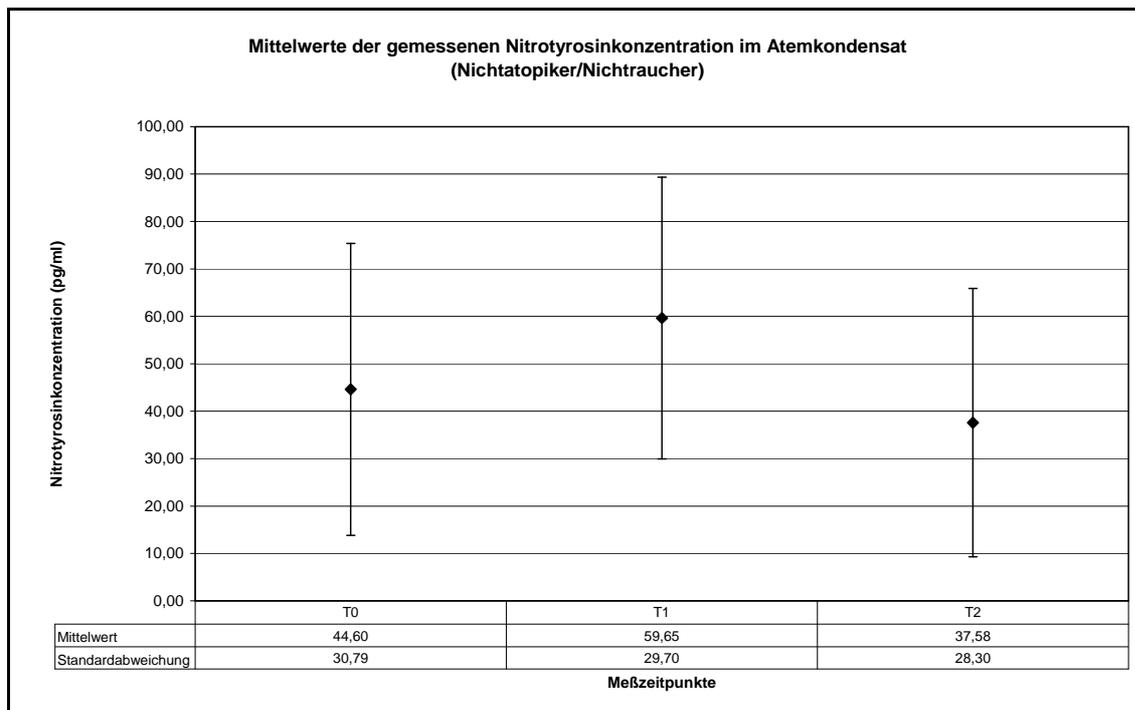


Abbildung 6.2.1.14.: Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtatopiker/Nichtraucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Diese Abbildung 6.2.1.14 zeigt die Mittelwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen (in pg/ml) mit den Standardabweichungen im Atemkondensat zu den drei definierten Zeitpunkten T0, T1, T2 für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Nichtraucher. Zu beobachten ist ein Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration von +15,05 pg/ml vom Zeitpunkt T0 zum Zeitpunkt T1. Zum Zeitpunkt T2 ist die Nitrotyrosinkonzentration geringer als zu den Zeitpunkten T0 und T1 ($\Delta T0-T2$: -7,02 pg/ml, $\Delta T1-T2$: -22,07 pg/ml). Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

6.2.2. Medianwerte der gemessenen 3-Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (pg/ml):

Nun werden die Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die einzelnen Probandengruppen und die einzelnen Kollektivgruppen dargestellt.

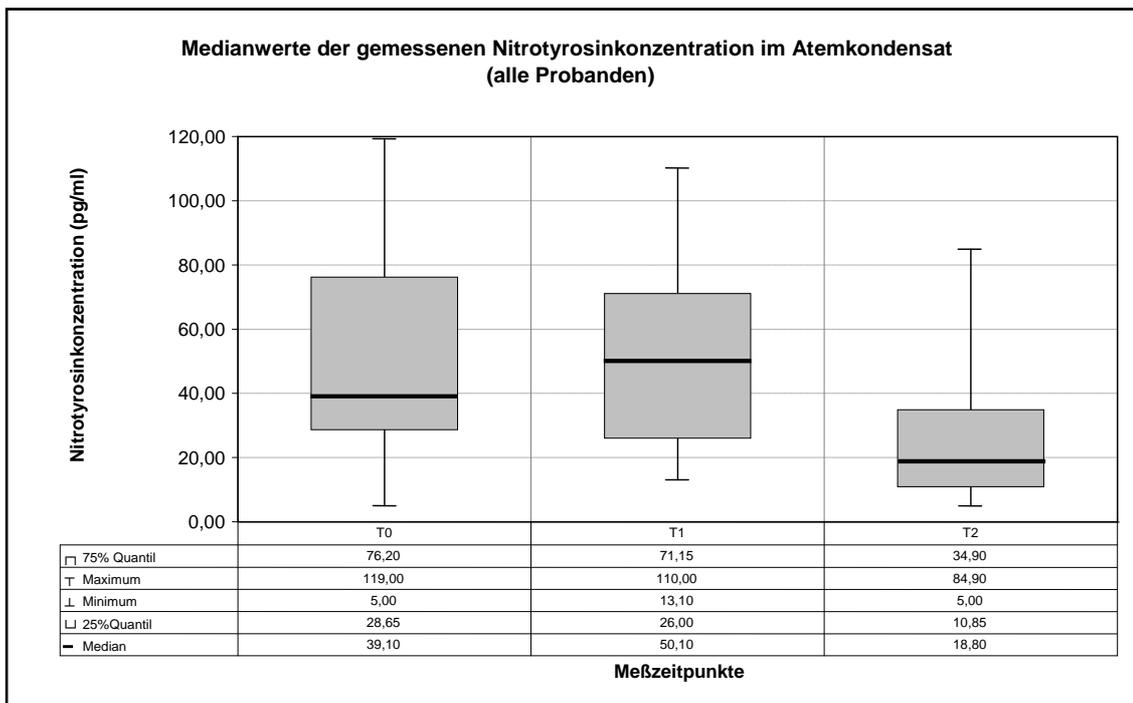


Abbildung 6.2.2.1.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (alle Probanden). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.1. werden die Medianwerte der Nitrotyrosinkonzentrationen (in pg/ml) aller Probanden (n=19) im Atemkondensat zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2 als Boxplots dargestellt. Dargestellt wird auch der Interquartilsabstand. Man erkennt einen Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration von T0 nach T1 ($\Delta T0-T1$: +11 pg/ml) und einen Abfall von T0 nach T2 ($\Delta T0-T2$: -20,3 pg/ml) und von T1 nach T2 ($\Delta T1-T2$: -31,3 pg/ml). Der Verlauf der Konzentrationsabnahme und der Konzentrationszunahme ähnelt der bei der Betrachtung der Mittelwerte.

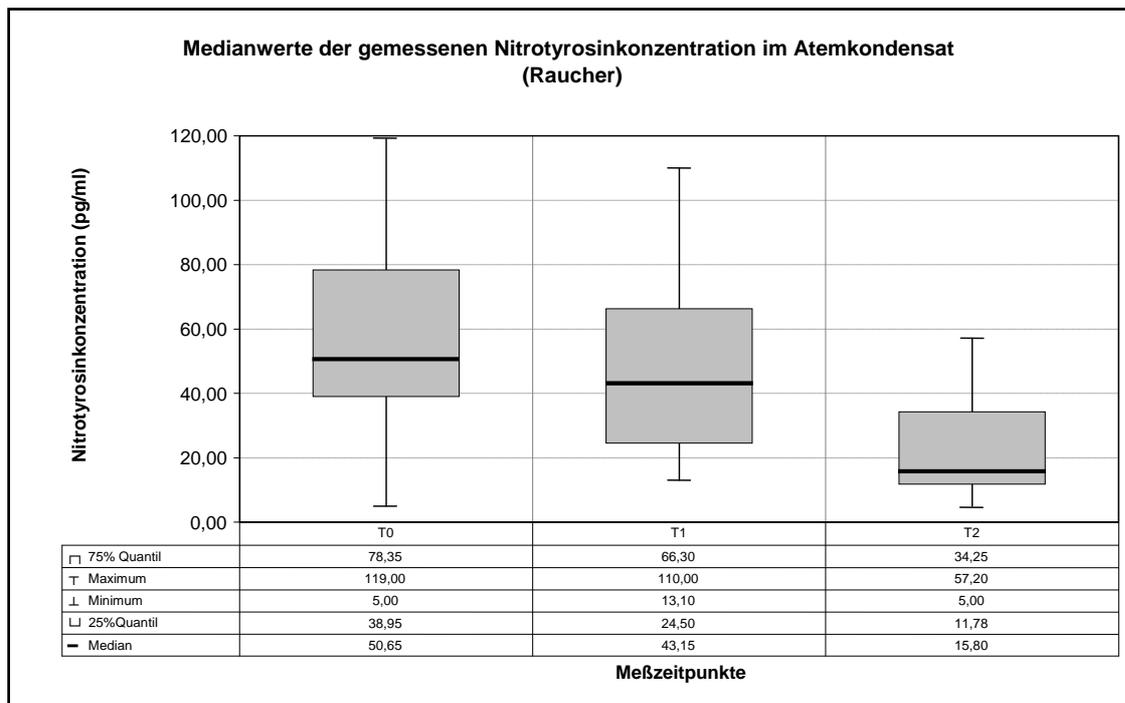


Abbildung 6.2.2.2.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Raucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.2. werden die Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Probandengruppe der Raucher angegeben. Es wird der Interquartilsabstand angegeben. Erkennbar ist ein Abfall der Nitrotyrosinkonzentration von Zeitpunkt T0 nach T1, von T0 nach T2 und von T1 nach T2 ($\Delta T0-T1$: -7,5 pg/ml; $\Delta T0-T2$: -34,84 pg/ml; $\Delta T1-T2$: -27,35 pg/ml). Der Verlauf der Konzentrationsabnahme ähnelt den Ergebnissen bei der Betrachtung der Mittelwerte.

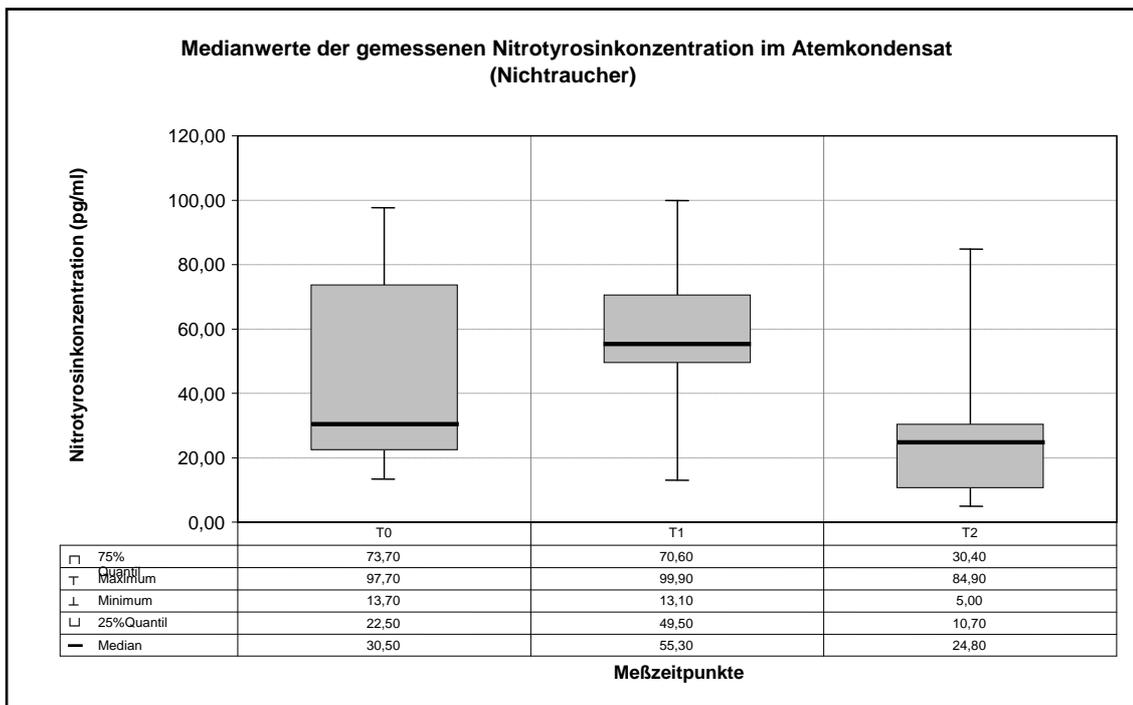


Abbildung 6.2.2.3.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtraucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.3. werden die Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Probandengruppe der Nieraucher dargestellt. Ebenso ist der Interquartilsabstand in der Abbildung zu erkennen. Es wurde eine erhöhte Konzentration von Nitrotyrosin im Atemkondensat zum Zeitpunkt T1 im Vergleich zu T0 gemessen ($\Delta T0-T1$: +24,8 pg/ml). Im Vergleich von T0 zu T2 und T1 zu T2 sank die Nitrotyrosinkonzentration ab ($\Delta T0-T2$: -5,7 pg/ml; $\Delta T1-T2$: +30,5 pg/ml). Der Medianwert der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T0 ist im Vergleich zu den anderen Probandengruppen der niedrigste gemessene Ausgangswert. Dieses Ergebnis ist analog zu dem erhaltenen Ergebnis bei der Ermittlung der Mittelwerte.

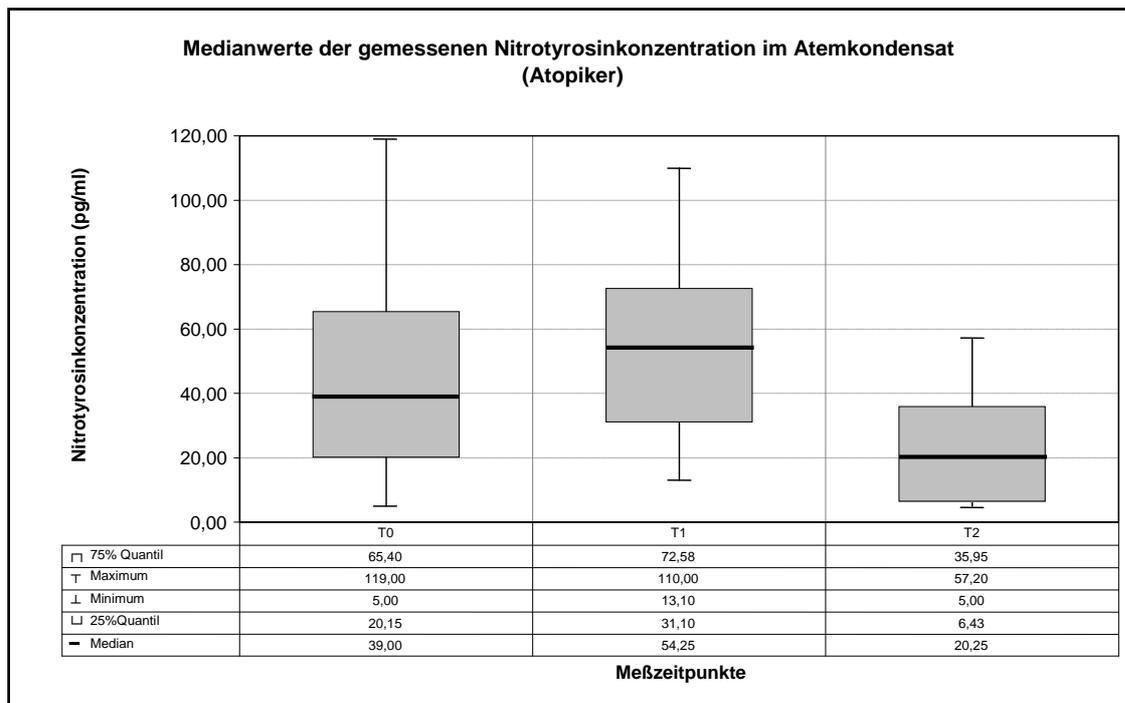


Abbildung 6.2.2.4.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Atopiker). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.4. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Probandengruppe der Atopiker dargestellt. Zu erkennen war eine Zunahme der Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat vom Zeitpunkt T0 nach T1 ($\Delta T0-T1$: +15,25 pg/ml) und eine Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration vom Zeitpunkt T0 nach T2 und T1 nach T2 ($\Delta T0-T2$: -18,75 pg/ml; $\Delta T1-T2$: -34 pg/ml). Zum Zeitpunkt T0 ist der Medianwert für diese Probandengruppe der zweitniedrigste Wert der gemessenen Ausgangskonzentration von Nitrotyrosin im Atemkondensat. Der Verlauf der Konzentrationen zu den einzelnen Zeitpunkten entspricht dem Verlauf bei der Betrachtung der Mittelwerte.

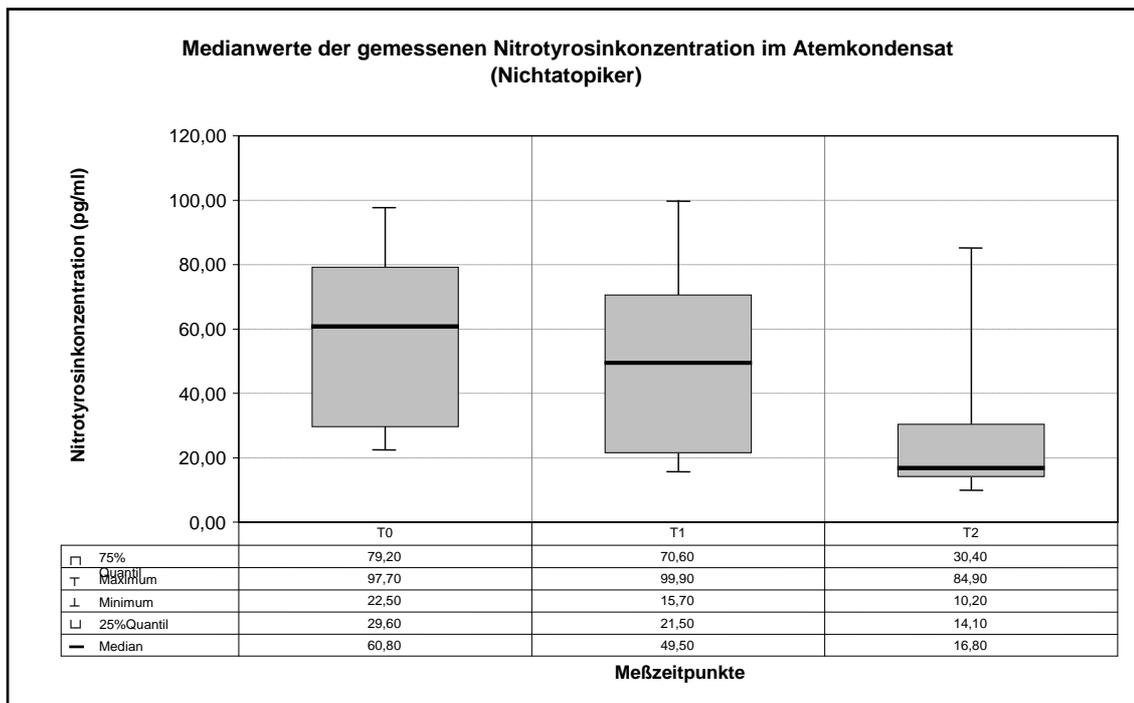


Abbildung 6.2.2.5.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtatopiker). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.5. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Probandengruppe der Nichtatopiker dargestellt. Beobachten konnte man hier einen Abfall der Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat vom Zeitpunkt T0 zu T1 und von T0 nach T2 und von T1 nach T2 ($\Delta T0-T1$: -11,3 pg/ml; $\Delta T0-T2$: -44 pg/ml; $\Delta T1-T2$: -32,7 pg/ml). Im Vergleich zu den anderen Probandengruppen ist der Medianwert der Ausgangsnitrotyrosinkonzentration bei dieser Probandengruppe der höchste erhaltene Wert. Der Verlauf der Konzentrationsabnahme von T0 zu T1 und T2 und von T1 zu T2 ähnelt den erhaltenen Ergebnissen bei der Betrachtung der Mittelwerte.

Gemäß dem Studiendesign werden nun die vier Kollektivgruppen Atopiker/Raucher, Nichtatopiker/Raucher, Atopiker/Nichtraucher und Nichtatopiker/Nichtraucher betrachtet:

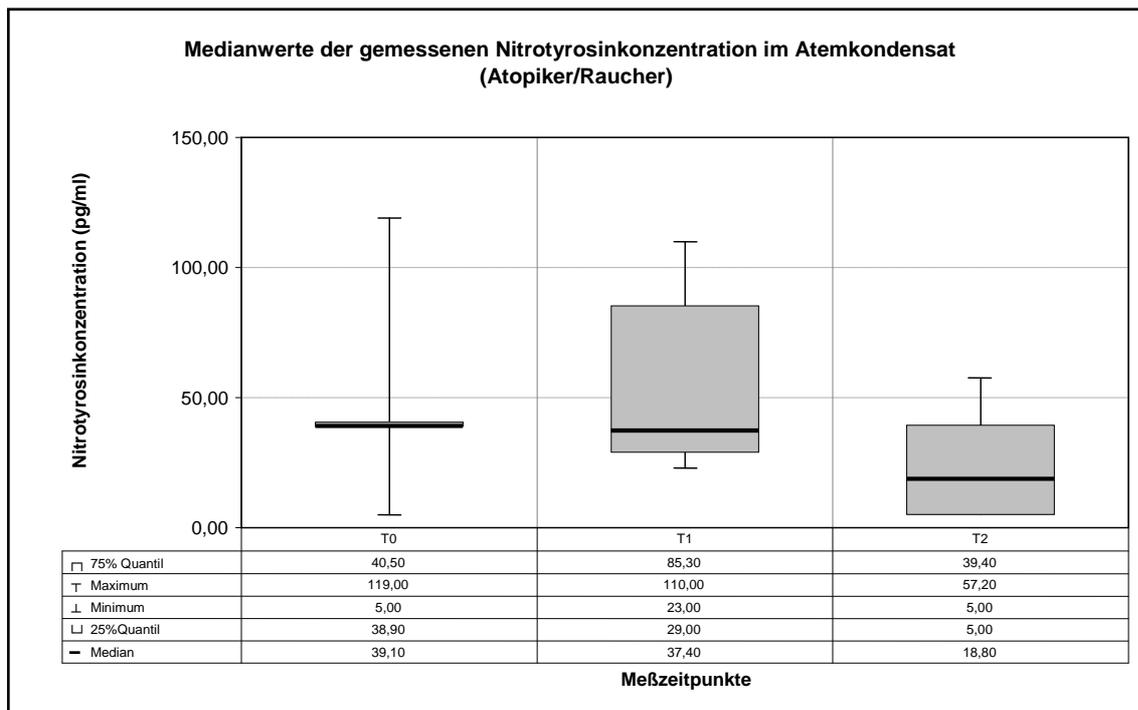


Abbildung 6.2.2.6.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Atopiker/Raucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.6. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Kollektivgruppe der Atopiker/Raucher dargestellt. Beobachtet kann in dieser Probandengruppe ein ähnlicher Verlauf der Nitrotyrosinkonzentrationsschwankungen wie bei den Mittelwerten. Im Vergleich zum Zeitpunkt T0 steigt die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T1 um +1,7 pg/ml. Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T2 ist geringer als zum Zeitpunkt T0 und zum Zeitpunkt T1 ($\Delta T0-T2$: -20,3 pg/ml, $\Delta T1-T2$: 18,6 pg/ml). Die Nitrotyrosinausgangskonzentration ist die zweithöchste Ausgangskonzentration im Vergleich zu den anderen Kollektivgruppen.

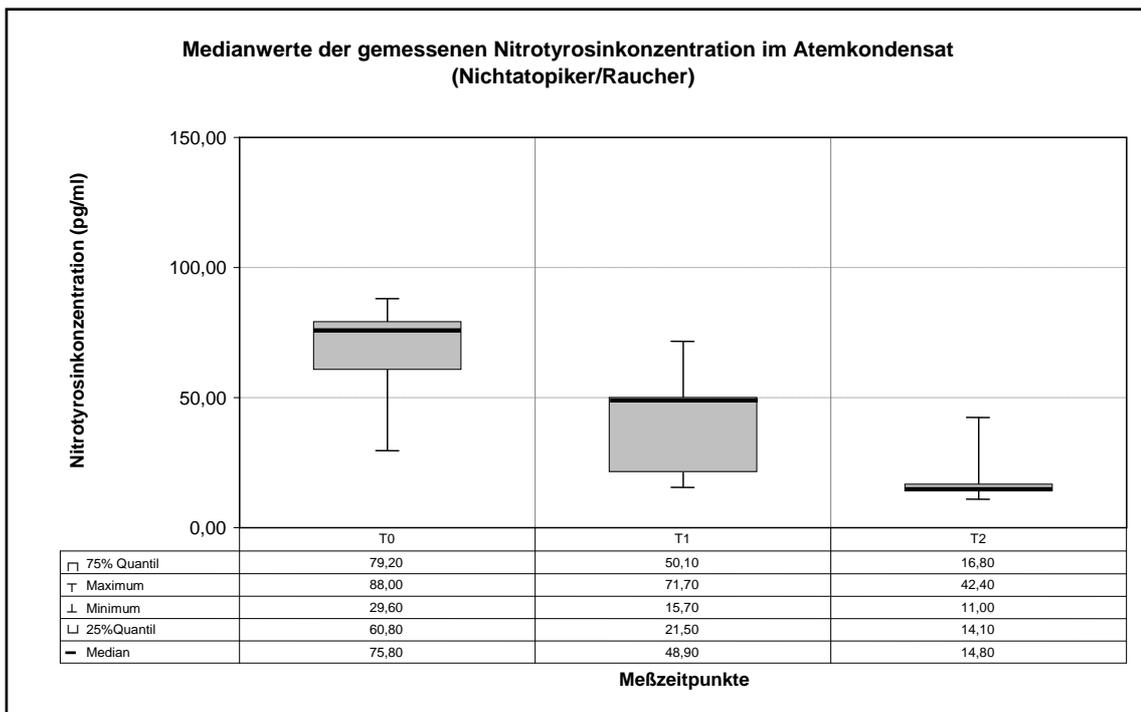


Abbildung 6.2.2.7.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtatopiker/Raucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.7. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Raucher dargestellt. Bei der Betrachtung der Medianwerte kann man bei dieser Probandengruppe wie bei der Betrachtung der Mittelwerte eine Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration vom Zeitpunkt T0 zu T1 und von T1 zu T2 erkennen ($\Delta T0-T1$: -26,9 pg/ml, $\Delta T0-T2$: -61 pg/ml, $\Delta T1-T2$: -34 pg/ml).

Ebenso wie bei der Betrachtung der Mittelwerte ist der Wert der Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T0 hier verglichen mit den anderen Kollektivgruppen am höchsten.

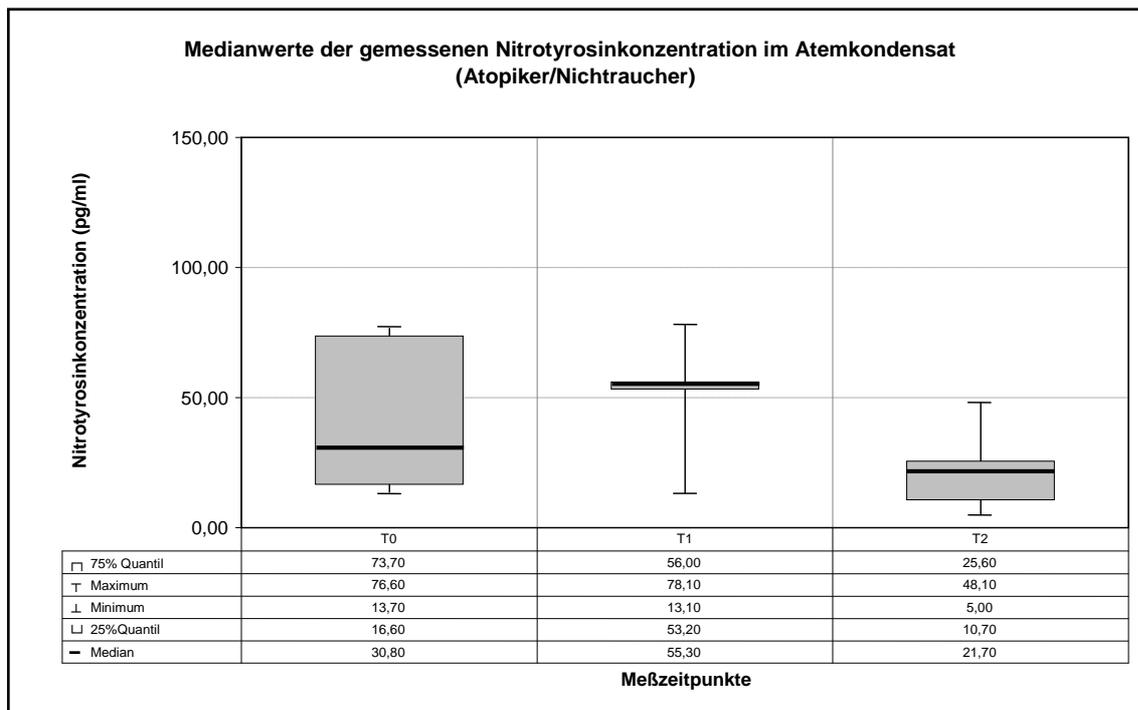


Abbildung 6.2.2.8.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Atopiker/Nichtraucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.8. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Kollektivgruppe der Atopiker/Nichtraucher dargestellt. Der Verlauf der Nitrotyrosinkonzentrationsschwankungen zu den drei Zeitpunkten ähnelt wieder den Ergebnissen beim Betrachten der Mittelwerte für diese Kollektivgruppe. Man beobachtet einen Anstieg der Konzentration von T0 nach T1 ($\Delta T0-T1$: +24,5 pg/ml). Die Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T2 ist geringer als die zum Zeitpunkt T0 und die zum Zeitpunkt T1 ($\Delta T0-T2$: -9,1 pg/ml, $\Delta T1-T2$: -33,6 pg/ml). Die Ausgangsnitrotyrosinkonzentration ist hier die zweitniedrigste im Vergleich zu den anderen Kollektivgruppen. Dieses Ergebnis weicht von dem erhaltenen Ergebnis bei der Betrachtung der Mittelwerte für diese Probandengruppe ab.

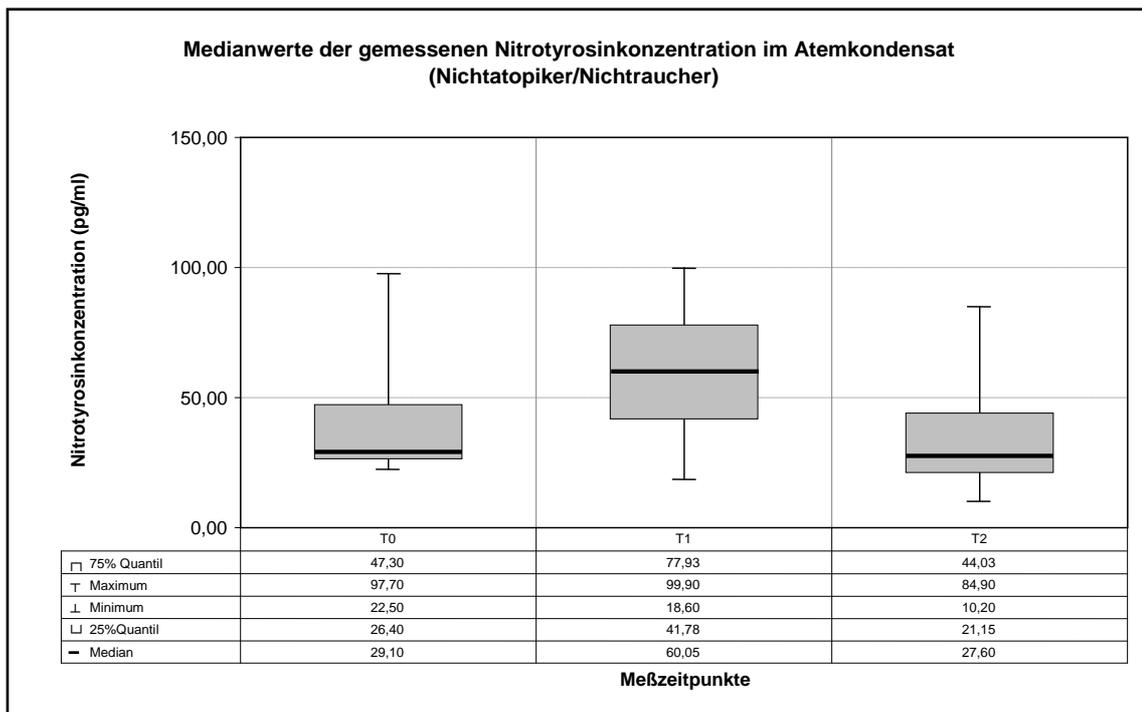


Abbildung 6.2.2.9.: Medianwerte der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (Nichtatopiker/Nichtraucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.2.2.9. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zu den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Nie-Raucher dargestellt. Der Verlauf der Nitrotyrosinkonzentrationsschwankungen zu den drei Zeitpunkten ähnelt den Ergebnissen, die beim Betrachten der Mittelwerte für diese Kollektivgruppe entstanden sind. Zunächst einmal wird ein Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration vom Zeitpunkt T0 zum Zeitpunkt T1 um +30,95 pg/ml beobachtet. Zum Zeitpunkt T2 ist die Nitrotyrosinkonzentration im Vergleich zum Zeitpunkt T0 um -1,5 pg/ml und im Vergleich zum Zeitpunkt T2 um -32,45 pg/ml erniedrigt.

6.2.3. Betrachtung der einzelnen Hypothesen:

Es ergab sich bei der Ermittlung der p-Werte (Signifikanzniveau 0,05) zu keiner der zuvor aufgestellten Hypothesen eine signifikante Änderung.

1. Hypothese: „Die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat unmittelbar nach der Spiroergometrie ist höher als vorher.“:

Die Varianzanalyse mit wiederholten Messungen ergab für die Innerhalb-Subjekteffekte bei Betrachtung des Gesamtkollektivs einen p-Wert von 0,7358 und für die Kontrastvariablen (Kontrast Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T1) einen p-Wert von 0,8749.

2. Hypothese: *„Die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat 90 Minuten nach der Spiroergometrie ist höher als vorher und als unmittelbar nach der Belastung.“:*

Die Varianzanalyse mit wiederholten Messungen ergab für die Innerhalb-Subjekteffekte einen p-Wert von 0,7358. Bei der Analyse der Kontrastvariablen bei Kontrast von Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T1 ergab sich ein p-Wert von 0,5357 und beim Kontrast von Zeitpunkt T1 zu Zeitpunkt T2 ergab sich ein p-Wert von 0,5802.

3. Hypothese: *„Die unter 1 und 2 beschriebenen Effekte sind bei Rauchern stärker ausgeprägt als bei Nichtrauchern.“:*

Der univariante Hypothesentest für die Innerhalb-Subjekteffekte unter alleiniger Betrachtung der Kollektivgruppe Raucher ergab einen p-Wert von 0,3495. Die Varianzanalyse der Kontrastvariablen ergab bei einem Kontrast von Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T1 einen p-Wert von 0,1226 und von Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T2 ein p-Wert von 0,2724.

4. Hypothese: *„Die unter 1 und 2 beschriebenen Effekte sind bei Atopikern stärker ausgeprägt als bei Nichtatopikern.“:*

Der univariante Hypothesentest für die Innerhalb-Subjekteffekte unter alleiniger Betrachtung der Kollektivgruppe Atopiker ergab einen p-Wert von 0,6170. Die Varianzanalyse der Kontrastvariablen ergab bei einem Kontrast von Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T1 einen p-Wert von 0,2243 und von Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T2 ein p-Wert von 0,7175.

5. Hypothese: *„Die unter 1 und 2 beschriebenen Effekte sind bei rauchenden Atopikern stärker ausgeprägt als bei nichtrauchenden Atopikern und bei rauchenden Nichtatopikern.“:*

Die Varianzanalyse für Innerhalb-Subjekteffekte aufgeschlüsselt in die vier Probandengruppen (Atopiker/Raucher, Atopiker/Nieraucher, Nichtatopiker/

Raucher und Nichtatopiker/Nieraucher) ergab einen p-Wert von 0,5561. Die Varianzanalyse der Kontrastvariablen ergab bei einem Kontrast von Zeitpunkt T0 zu Zeitpunkt T1 einen p-Wert von 0,0765, von Zeitpunkt T0 zu T2 einen p-Wert von 0,5253 und von Zeitpunkt T1 zu T2 einen p-Wert von 0,9629.

6.3. Ergebnisse unter Berücksichtigung der individuell von den Probanden erreichten Wattzahl (Erreichen der anaeroben Schwelle)

Jeder Proband erreichte während der Belastung die anaerobe Schwelle bei einer unterschiedlichen Wattzahl. Um die erhaltenen Nitrotyrosinkonzentrationen weiter zu standardisieren wurden jeweils die Differenz der Nitrotyrosinkonzentration zu den drei Zeitpunkten und die individuell erreichte Wattzahl beim Erreichen der anaeroben Schwelle gebildet. Aus oben bereits erwähnten Gründen wurden wieder die Mittelwerte mit Standardabweichung und die Medianwerte mit Quartilen (25% und 75%) und die Minimum- und Maximumwerte angegeben.

6.3.1. Mittelwerte der Ergebnisse der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration unter Berücksichtigung der individuell von den Probanden erreichten Wattzahl (Erreichen der anaeroben Schwelle):

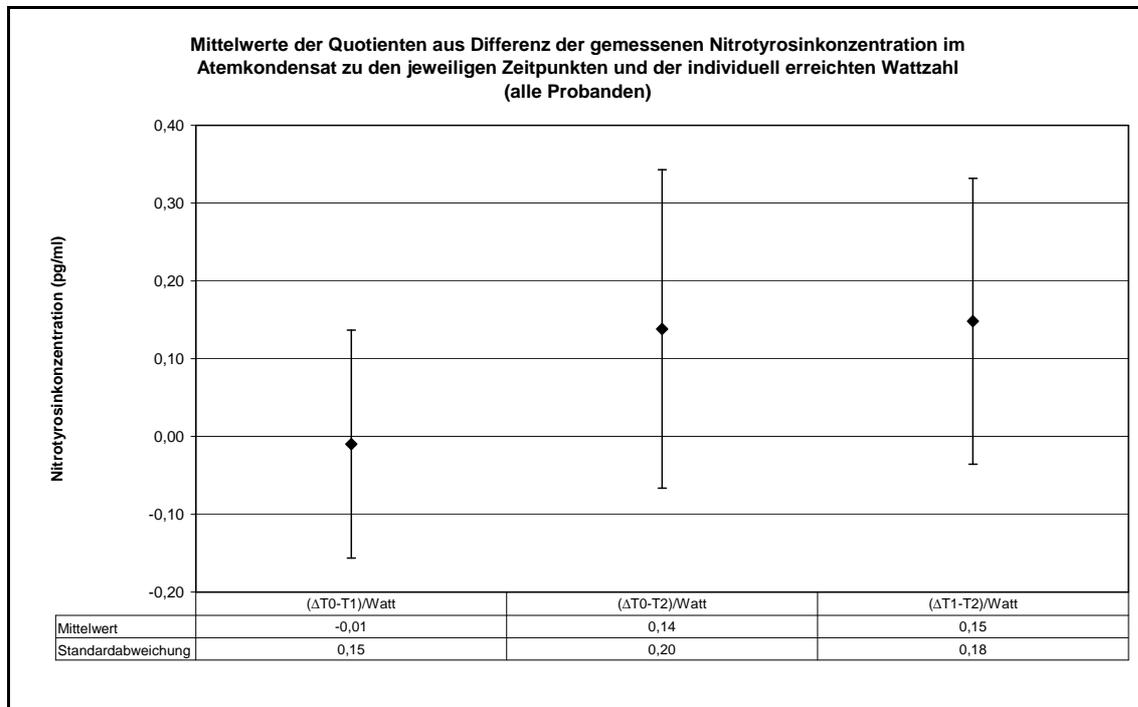


Abbildung 6.3.1.1.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (alle Probanden). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

In der Abbildung 6.3.1.1. werden die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl beim Erreichen der anaeroben Schwelle für das ganze Probandenkollektiv (n=19) gezeigt. Die Grafik zeigt, dass der Mittelwert der Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ mit -0,01 (pg* Watt)/ml um 0,15 (pg* Watt)/ml geringer ist als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,16 (pg*Watt)/ml geringer ist als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

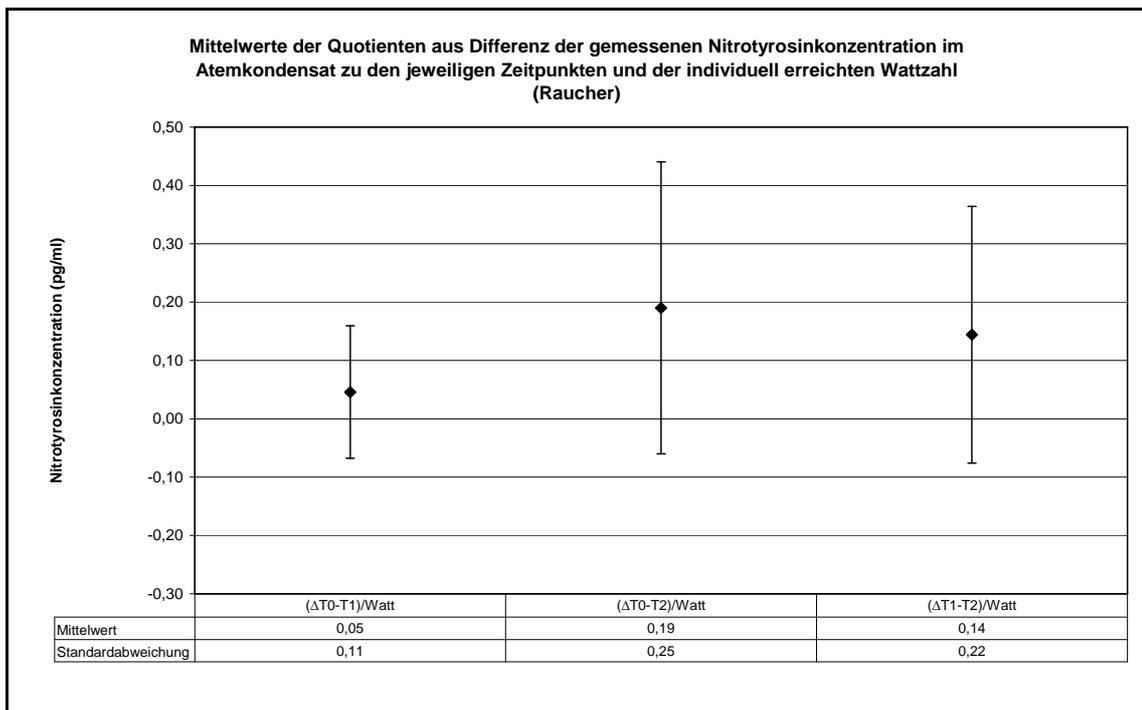


Abbildung 6.3.1.2.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Raucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.3.1.2. zeigt die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl für die Probandengruppe der Raucher. Der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T0-T1)/Watt]$ ist mit 0,05 (pg*Watt)/ml um 0,14 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T0-T2)/Watt]$ und um 0,09 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T1-T2)/Watt]$. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

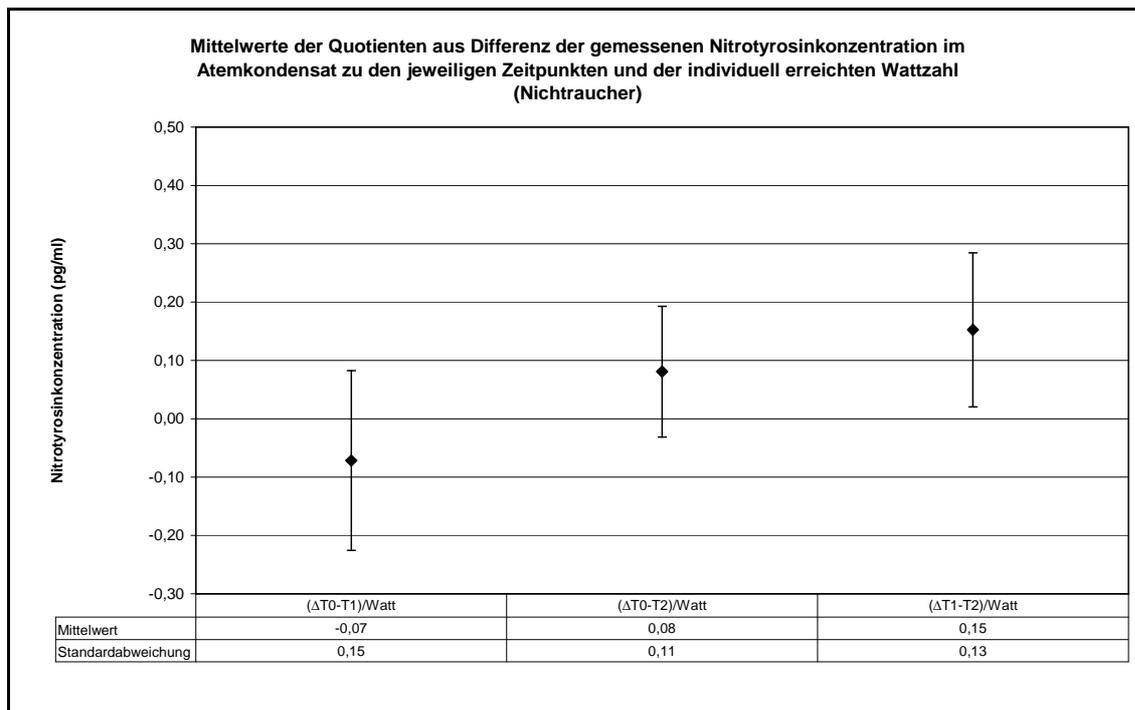


Abbildung 6.3.1.3.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtraucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.3.1.3. beschreibt die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl für die Probandengruppe der Nieraucher. Der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/Watt]$ ist mit -0,07 (pg*Watt)/ml um 0,15 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/Watt]$ und um 0,22 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/Watt]$. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

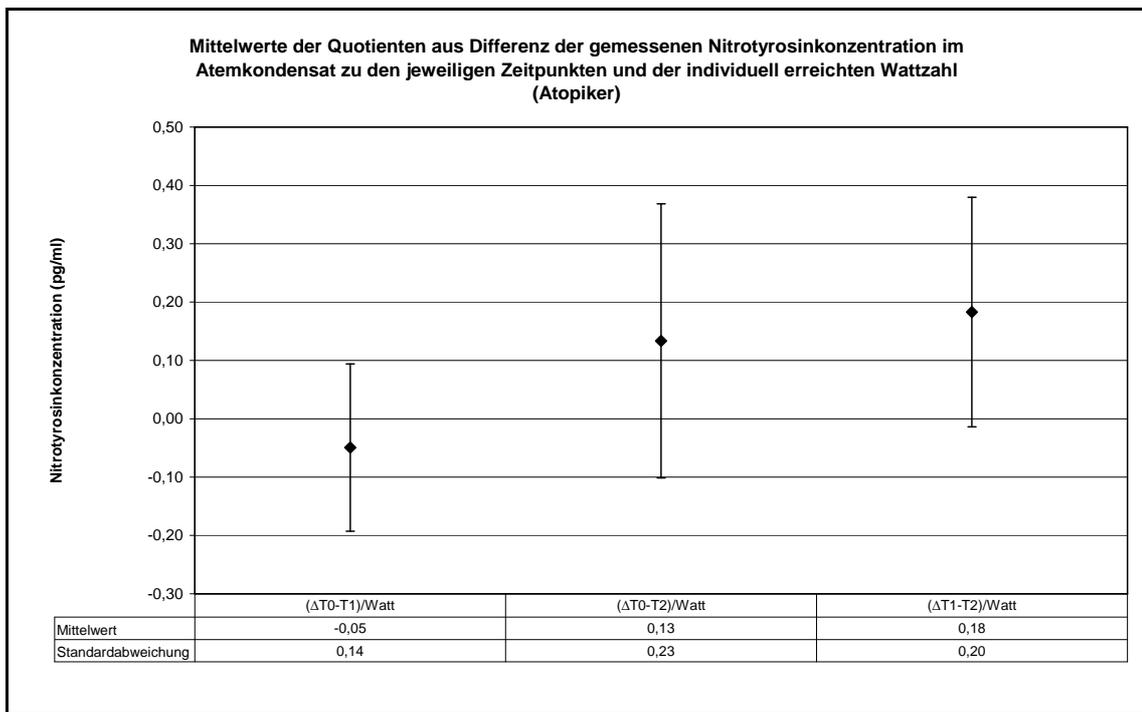


Abbildung 6.3.1.4.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Atopiker). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

In der Abbildung 6.3.1.4. werden die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl beim Erreichen der anaeroben Schwelle für die Probandengruppe Atopiker dargestellt. Der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit -0,05 (pg*Watt)/ml um 0,18 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,23 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$. Die Ergebnisse zeigen keine statistische Signifikanz.

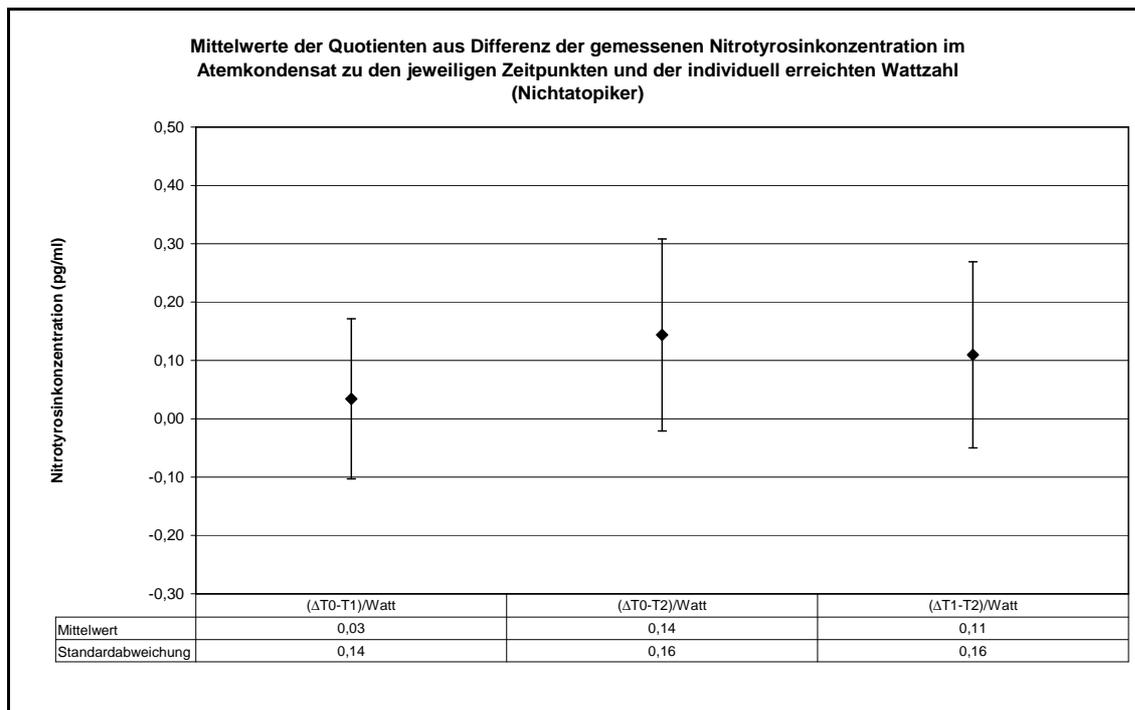


Abbildung 6.3.1.5.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtatopiker). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.3.1.5. beschreibt die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl für die Probandengruppe der Nichtatopiker. Auch in dieser Probandengruppe ist der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/Watt]$ mit 0,03 (pg*Watt)/ml um 0,17 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/Watt]$ und um 0,14 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/Watt]$. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

Gemäß dem Studiendesign werden nun die vier Kollektivgruppen Atopiker/Raucher, Nichtatopiker/Raucher, Atopiker/Nichtraucher und Nichtatopiker/Nichtraucher betrachtet:

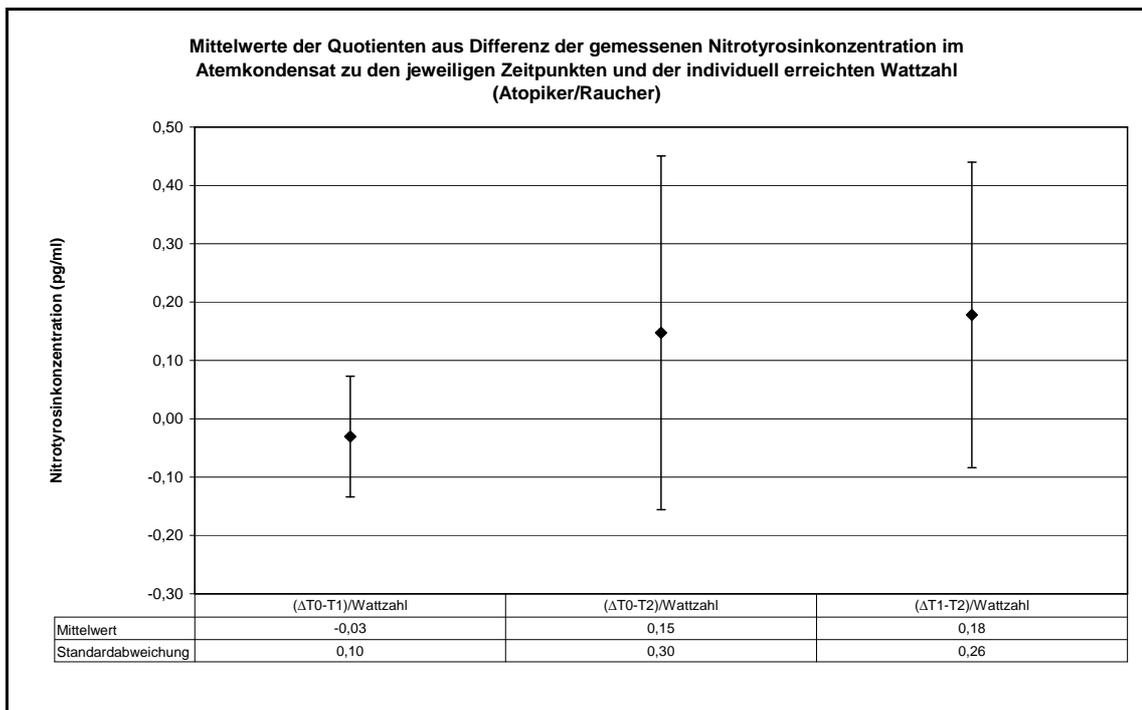


Abbildung 6.3.1.6.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Atopiker/Raucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.3.1.6. beschreibt die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl der Kollektivgruppe der Atopiker/Raucher.

Der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit -0,03 (pg*Watt)/ml um 0,18 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,21 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

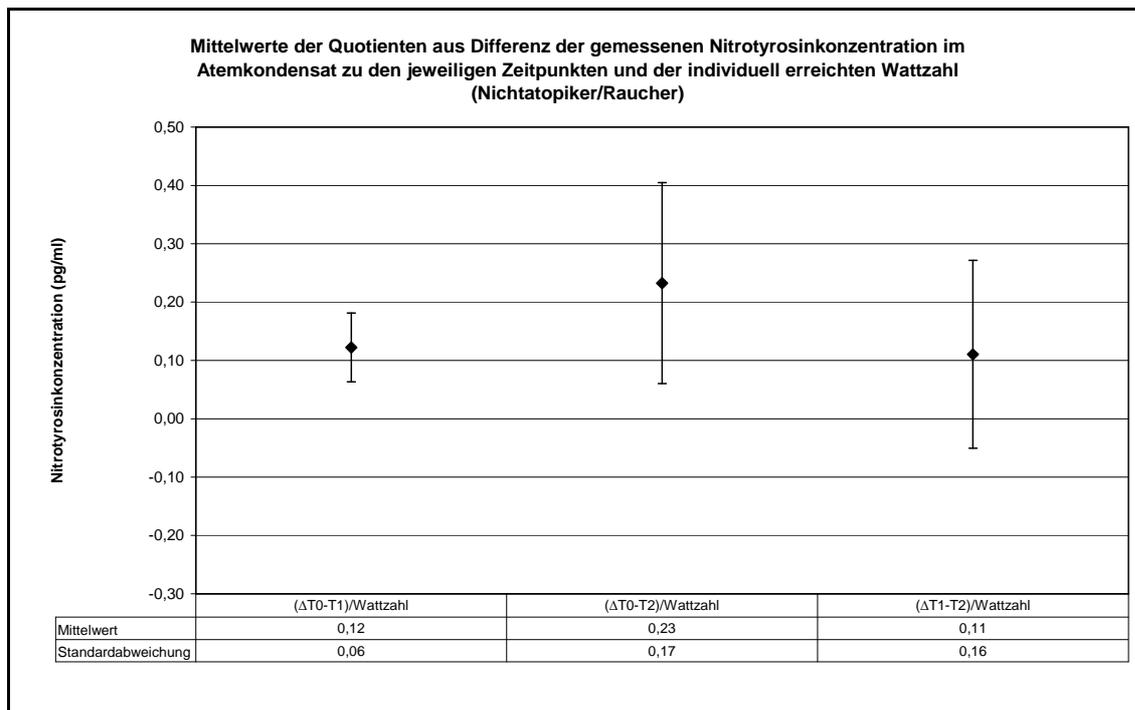


Abbildung 6.3.1.7.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtatopiker/Raucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.3.1.7. zeigt die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Raucher.

Der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T0-T1)/Watt]$ ist mit 0,12 (pg*Watt)/ml um 0,11 (pg*Watt)/ml nicht signifikant geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T0-T2)/Watt]$ und um 0,01 (pg*Watt)/ml nicht signifikant höher als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T1-T2)/Watt]$.

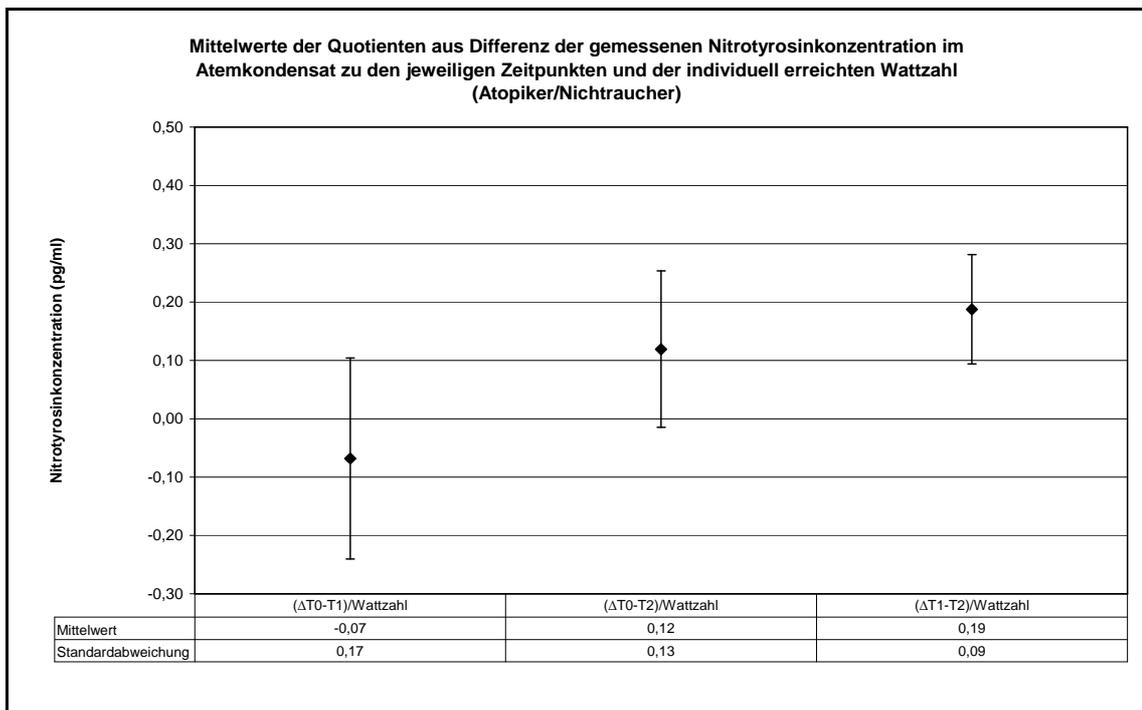


Abbildung 6.3.1.8.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Atopiker/Nichtraucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.3.1.8. stellt die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei definierten Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl für die Kollektivgruppe der Atopiker/Nichtraucher dar.

Der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit -0,07 (pg*Watt)/ml um 0,19 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,26 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

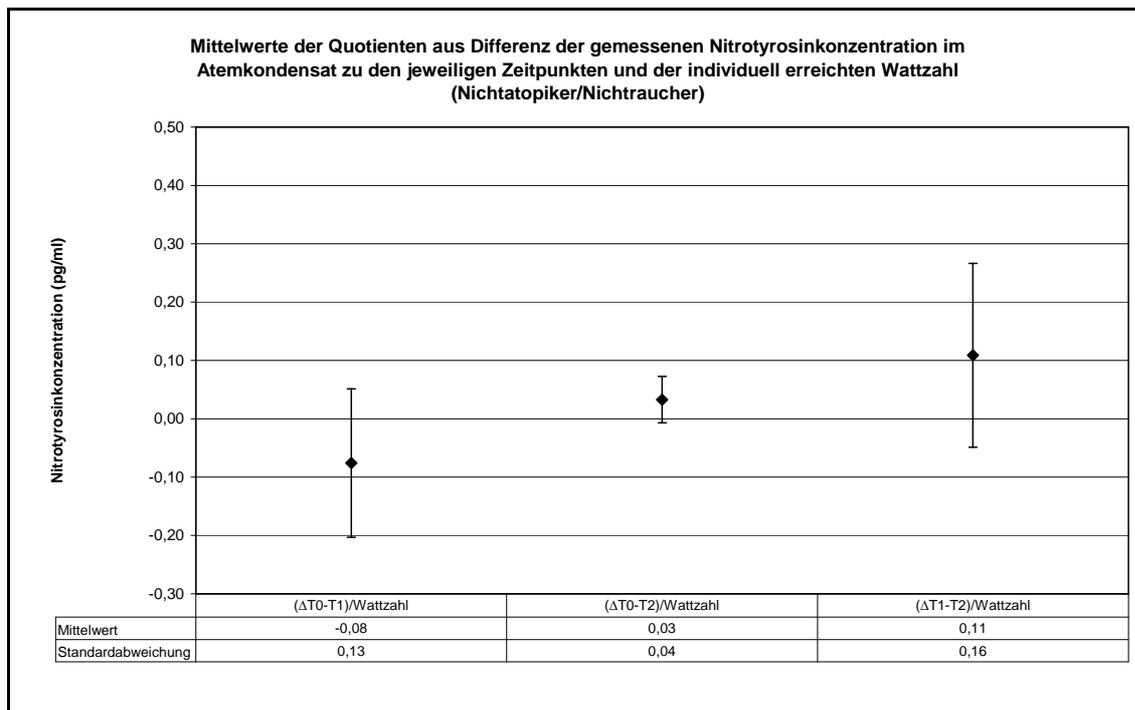


Abbildung 6.3.1.9.: Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtatopiker/Nichtraucher). Neben den Mittelwerten (♦) wird die einfache Standardabweichung grafisch dargestellt.

Die Abbildung 6.3.1.9. stellt die Mittelwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei definierten Zeitpunkten T₀, T₁ und T₂ und der individuell erreichten Wattzahl für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Nichtraucher dar.

Der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit -0,08 (pg*Watt)/ml um 0,11 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,19 (pg*Watt)/ml geringer als der Mittelwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

6.3.2. Medianwerte der Ergebnisse der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen unter Berücksichtigung der individuell von den Probanden erreichten Wattzahl (Erreichen der anaeroben Schwelle):

Als nächstes sollen nun die Medianwerte der Differenz aus gemessener Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zwischen den drei definierten Zeitpunkten und der von den Probanden zum Erreichen der anaeroben Schwelle erreichten Wattzahl betrachtet werden.

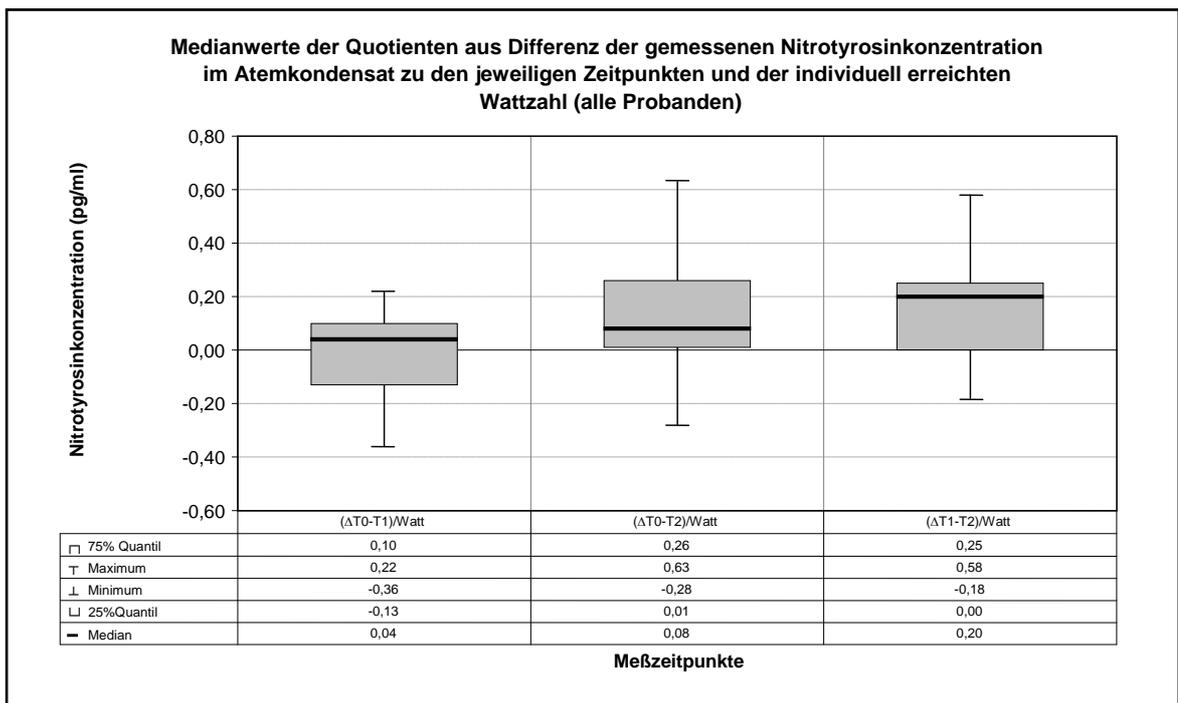


Abbildung 6.3.2.1.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (alle Probanden). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.1. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für alle Probanden (n=19) dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit 0,04 (pg*Watt)/ml um 0,04 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,16 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$.

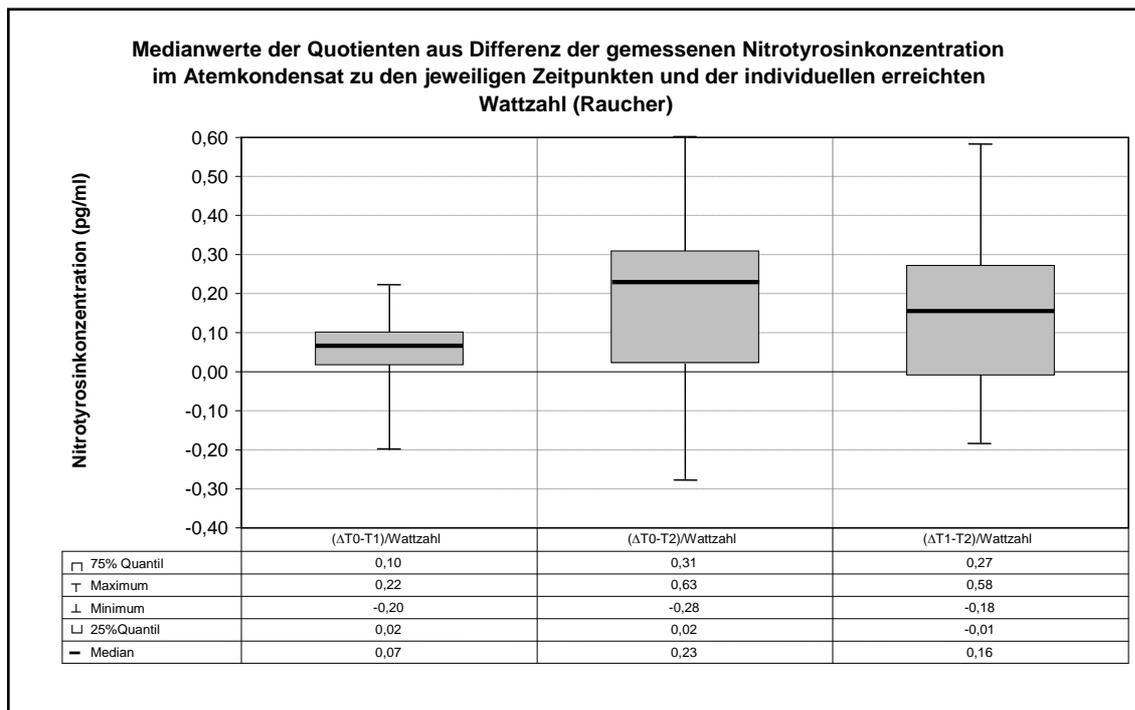


Abbildung 6.3.2.2.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Raucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.2. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Probandengruppe der Raucher dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit 0,07 (pg*Watt)/ml um 0,16 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,09 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$.

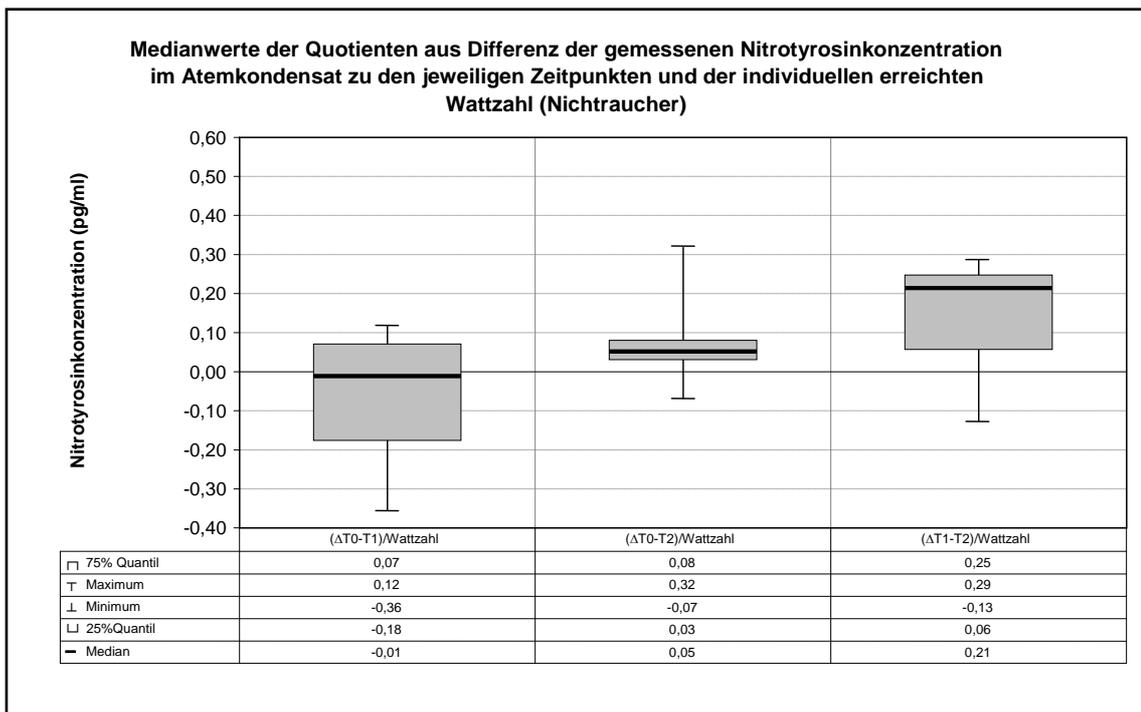


Abbildung 6.3.2.3.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtraucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.3. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T₀, T₁ und T₂ und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Probandengruppe der Nieraucher dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/Watt]$ ist mit -0,01 (pg*Watt)/ml um 0,06 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/Watt]$ und um 0,22 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/Watt]$.

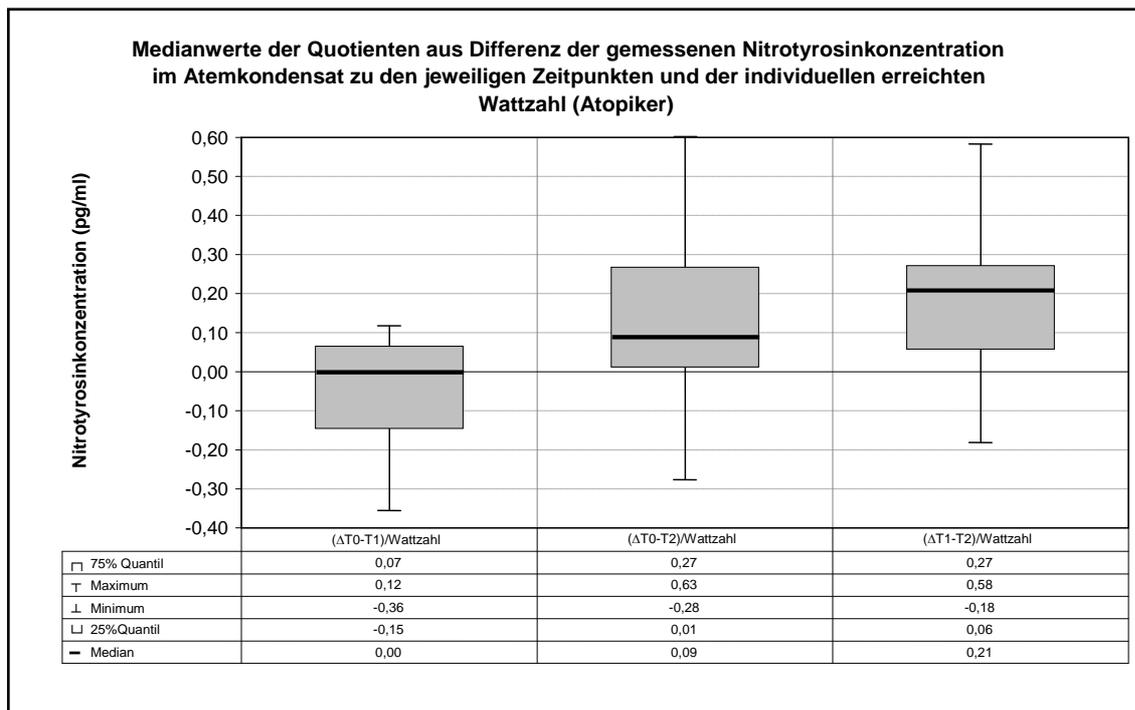


Abbildung 6.3.2.4.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Atopiker). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.4. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Probandengruppe der Atopiker dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit 0,00 (pg*Watt)/ml um 0,09 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,21 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$.

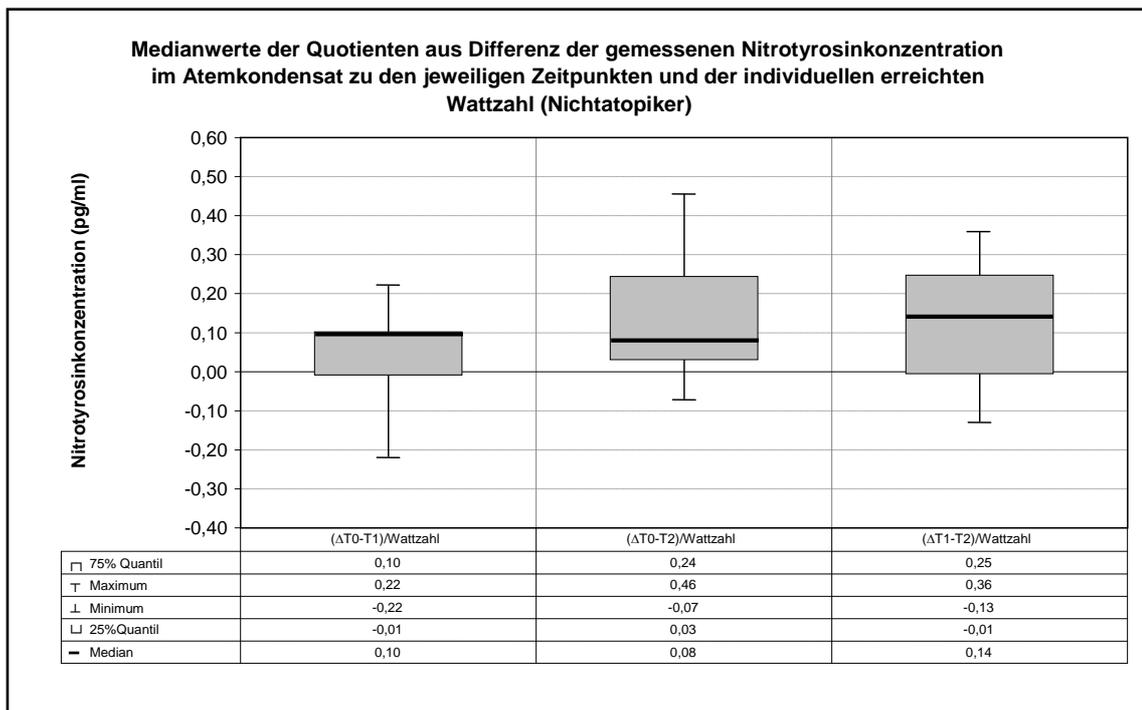


Abbildung 6.3.2.5.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtatopiker). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.5. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Probandengruppe der Nichtatopiker dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/Watt]$ ist mit 0,10 (pg*Watt)/ml um 0,02 (pg*Watt)/ml höher als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/Watt]$ und um 0,04 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/Watt]$.

Gemäß dem Studiendesign werden nun die vier Kollektivgruppen Atopiker/Raucher, Nichtatopiker/Raucher, Atopiker/Nichtraucher und Nichtatopiker/Nichtraucher betrachtet:

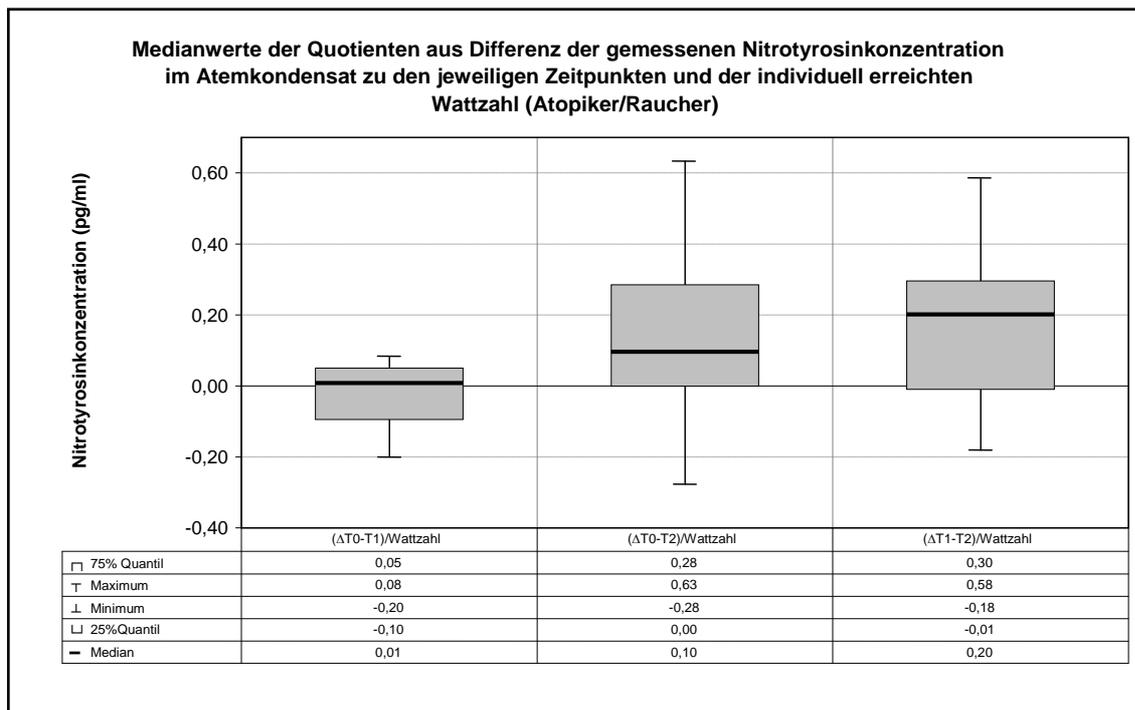


Abbildung 6.3.2.6.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Atopiker/Raucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.6. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Kollektivgruppe der Atopiker/Raucher dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit 0,01 (pg*Watt)/ml um 0,09 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um 0,19 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$.

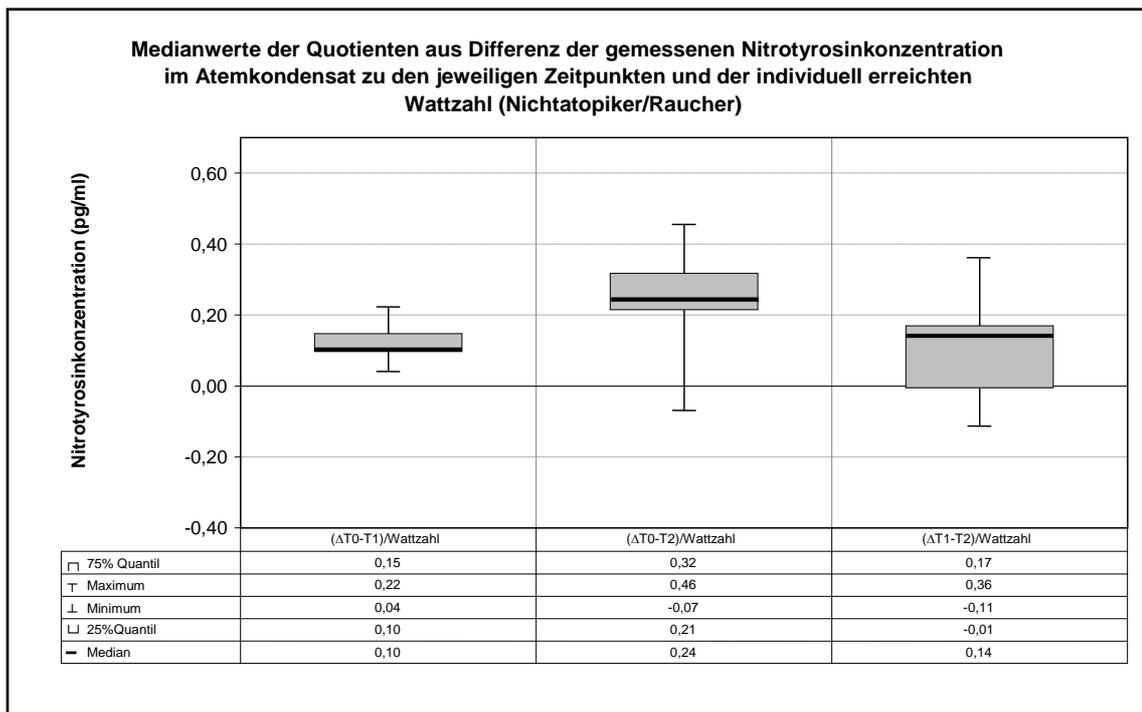


Abbildung 6.3.2.7.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtatopiker/Raucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.7. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Raucher dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/Watt]$ ist mit 0,10 (pg*Watt)/ml um 0,14 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/Watt]$ und um 0,04 (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/Watt]$.

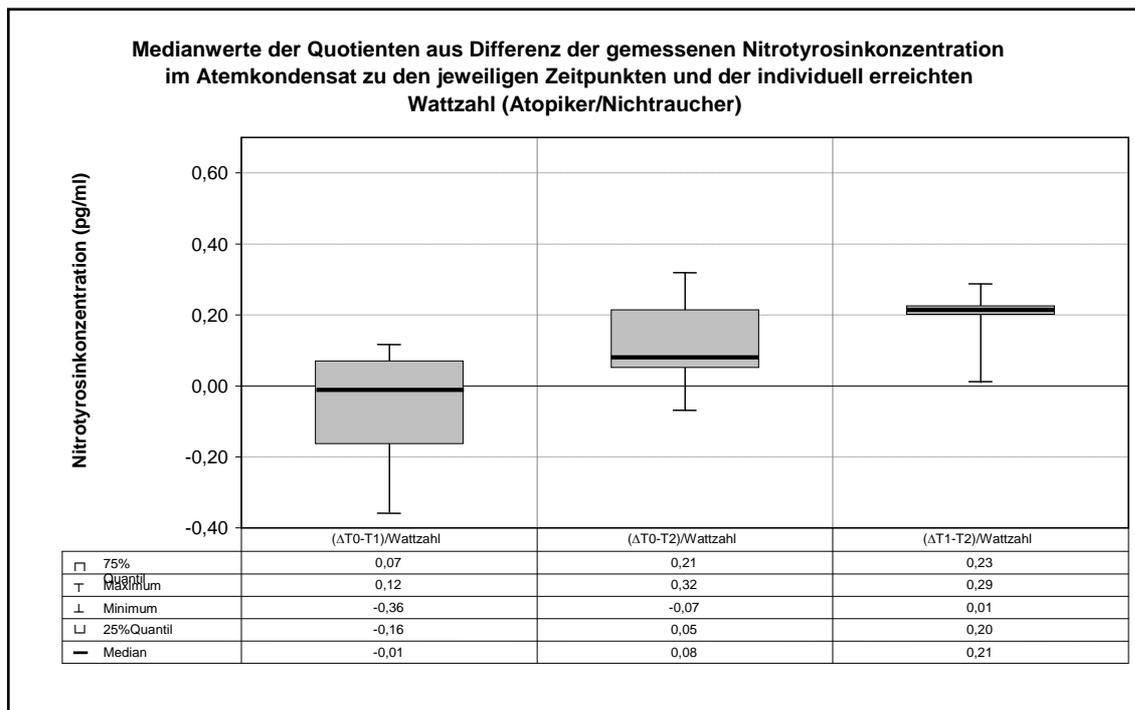


Abbildung 6.3.2.8.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Atopiker/Nichtraucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.8. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Kollektivgruppe der Atopiker/Nieraucher dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T0-T1)/Watt]$ ist mit $-0,01$ (pg*Watt)/ml um $0,09$ (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T0-T2)/Watt]$ und um $0,22$ (pg*Watt)/ml geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T1-T2)/Watt]$.

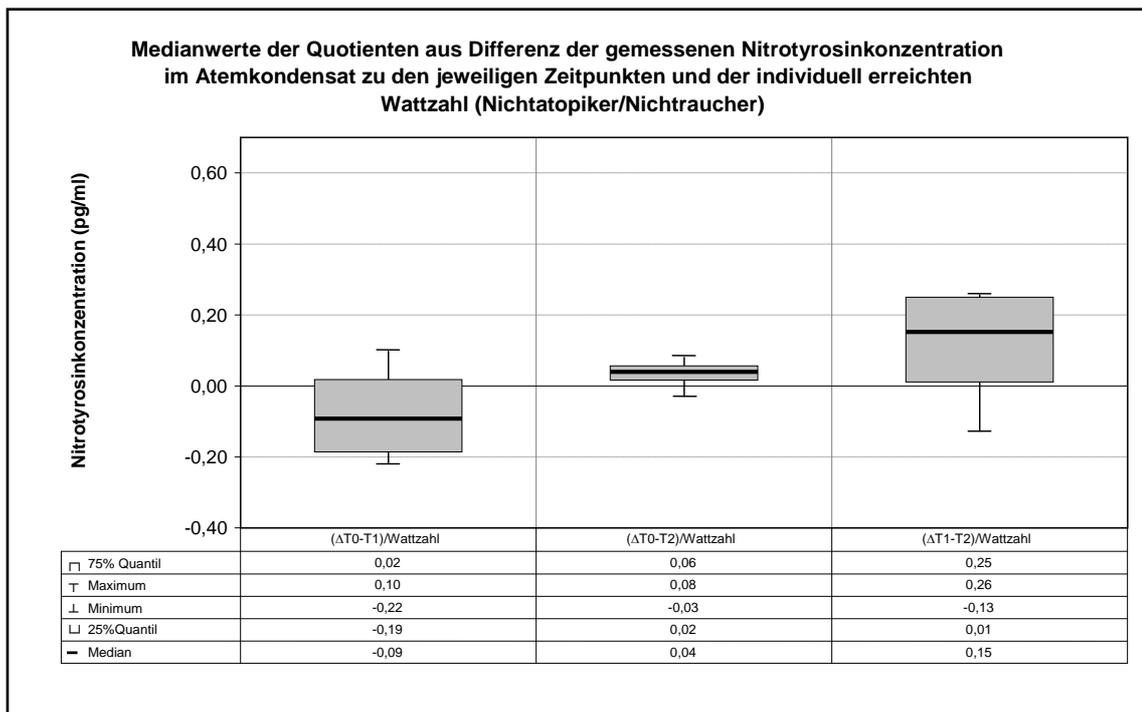


Abbildung 6.3.2.9.: Medianwerte der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat zu den jeweiligen Zeitpunkten und der individuell erreichten Wattzahl (Nichtatopiker/Nichtraucher). Grafische Darstellung der Medianwerte, 25%- und 75%-Quantile, Minimum, Maximum.

In der Abbildung 6.3.2.9. werden die Medianwerte mit Interquartilsabstand der Quotienten aus der Differenz der gemessenen Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat (in pg/ml) zwischen den drei Zeitpunkten T0, T1 und T2 und der individuell erreichten Wattzahl zum Erreichen der anaeroben Schwelle für die Kollektivgruppe der Nichtatopiker/Nichtraucher dargestellt.

Der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_1)/\text{Watt}]$ ist mit $-0,09 \text{ (pg}\cdot\text{Watt)/ml}$ um $0,13 \text{ (pg}\cdot\text{Watt)/ml}$ geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_0-T_2)/\text{Watt}]$ und um $0,24 \text{ (pg}\cdot\text{Watt)/ml}$ geringer als der Medianwert des Quotienten $[(\Delta T_1-T_2)/\text{Watt}]$.

7. Diskussion

Im Rahmen dieser Studie konnte gezeigt werden, dass körperliche Belastung erzeugt durch die Fahrradergometrie, bei der die anaerobe Schwelle erreicht wurde, keinen Einfluss auf die 3-Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat hat.

Bei einer körperlichen Belastung ab der anaeroben Schwelle kommt es zum Phänomen des oxidativen Stresses. Da dem oxidativen Stress, ob nun endogen oder exogen verursacht, eine wichtige Bedeutung in der Entstehung von Atemwegserkrankungen zukommt, ist es von besonderem Interesse, diese Prozesse möglichst früh zu erkennen. Die Analyse des Atemkondensates ist insoweit besonders interessant, da diese Untersuchungsmethode nicht-invasiv ist.

Eine Vielzahl von Studien beschäftigt sich mit der Messung und Auswertung von Biomarkern im Atemkondensat zur Früherkennung von oxidativem Stress. Aufgrund der unterschiedlichen Analysemethoden und den meist kleinen Probandengruppen bei den unterschiedlichen Studien ist ein Vergleich zwischen den Studien schwierig. Diese Studie soll als Pilotstudie dazu beitragen, Nitrotyrosin als Marker für oxidativen Stress zu etablieren und den Zusammenhang zwischen der Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat und körperlicher Belastung näher zu erkunden.

So fanden die hier verwendeten Untersuchungsmethoden nach den Leitlinien und Vorgaben der European Respiratory Society (ERS) und der American Thoracic Society (ATS) statt. Auch die Asservierung der Atemkondensatproben folgte den Vorgaben der ATS/ERS. Alle Schritte des Versuchsablaufes wurden streng protokolliert.

Bei dem untersuchten Probandenkollektiv handelte es sich um gesunde Personen ohne Vorliegen einer Allgemeinerkrankung. Der Gesundheitsstatus eines jeden Probanden wurde mit Hilfe eines ausführlichen Anamnesebogens erfasst und ausgewertet. Horváth et al. (2005) konnten bisher keine Beeinflussung der Zusammensetzung des Atemkondensates durch geschlechts-, gewichts- und altersbezogene Faktoren nachweisen. Dennoch wären solche Einflußfaktoren möglich. Daher ist es von Vorteil, dass das Probandenkollektiv in dieser Studie recht jung, in einem Alter (24-34 Jahre) und

entsprechend ihrer Körpergrößen normalgewichtig war. Auch die geschlechtliche Verteilung war in allen Probandengruppen gleichmäßig. Gäbe es einen Einfluss von Geschlecht, Alter und Gewicht, so wäre er bei den Probanden des Kollektivs ähnlich und damit die Messwerte vergleichbar.

Da ein Proband von der Auswertung der Daten ausgeschlossen wurde, befanden sich in der Kollektivgruppe der Nichtraucher/Nichtatopiker nur vier Probanden. Ein kleines Probandenkollektiv hat stets den Nachteil, dass Messschwankungen stärker auffallen bzw. dass geringe Veränderungen in den Messwerten statistisch nicht verarbeitet werden können. Daher wurden bei der statistischen Auswertung der Mittelwert mit Standardabweichung **und** der Medianwert mit Interquartilsabstand sowie Minimum und Maximum angegeben. Der Mittelwert ist wichtig für die Aussage der statistischen Signifikanz, kann aber durch „Ausreißer“ bei den Messergebnissen leicht verändert werden. Der Medianwert ist bei einem kleinen Probandenkollektiv „robuster“ gegenüber Ausreißern.

Bei der Betrachtung der erhaltenen Mittelwerte ist festzustellen, dass die Ausgangskonzentration des Nitrotyrosins im Atemkondensat bei den Rauchern am höchsten ist. Ryttilä et al. (2006) kamen zu einem ähnlichen Ergebnis. Sie fanden heraus, dass die Nitrotyrosinkonzentration, gewonnen durch induzierte Sputumanalyse, im Vergleich zu der Konzentration bei Nichtrauchern erhöht ist. Da die Sputumanalyse ebenfalls wie die Atemkondensatsammelmethode Vorgänge aus den unteren Atemwegen widerspiegelt, bestätigt diese Studie das erhöhte Vorkommen von Nitrotyrosin in den unteren Atemwegen bei Rauchern.

Das erhöhte Vorkommen von Nitrotyrosin im Atemkondensat bei Rauchern wird ebenfalls von Corradi et al. (2003) und Horváth et al. (2005) beschrieben. Somit herrscht bei den Rauchern im Ruhezustand ein erhöhter Level an oxidativem Stress im Vergleich zu den Nichtrauchern. Auch bei der Ermittlung der Medianwerte war bei den Rauchern der Ausgangswert der Nitrotyrosinkonzentration höher als bei den Nichtrauchern.

Im Rahmen dieser Studie wurden alle die Probanden als Raucher gezählt, die zum Zeitpunkt der Studie aktive und Ex-Raucher waren. Die gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen der Raucher und Ex-Raucher scheinen keinen

erkennbaren Unterschied vorzuweisen. Eine Unterscheidung zwischen Rauchern und Ex-Rauchern und auch Einflüsse des Passivrauchens sollten jedoch in folgenden Studien näher untersucht werden.

Bei den Mittelwerten der gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen fand sich der zweithöchste Ausgangswert der Nitrotyrosinkonzentrationen bei den Nichtatopikern. Der Ausgangswert war bei den Nichtatopikern höher als bei den Atopikern. Auch der Medianwert zeigt eine erhöhte Ausgangskonzentration bei Nichtatopikern gegenüber den Atopikern.

Nach Studien wie die von Kharitonov und Barnes (2002), die eine erhöhte Konzentration von NO in der exhaliierten Luft bei Kindern mit allergischem Asthma herausfanden, würde man eine erhöhte Konzentration von Nitrotyrosin im Atemkondensat bei den Atopikern erwarten, da das Atemkondensat Vorgänge in den unteren Atemwegen genauer widerspiegelt.

Da in dieser Studie nur ein Atopiker an allergischem Asthma litt und die anderen Atopiker überwiegend an allergischer Rhinitis und Konjunktivitis und allergischer Dermatitis litten, kann dies ein Grund für dieses abweichende Ergebnis sein. Allerdings würde man bei dem Probanden, der an allergischem Asthma litt, eine wesentlich höhere Ausgangskonzentration von Nitrotyrosin im Atemkondensat im Vergleich zu den anderen atopischen Probanden erwarten. Dies war nicht der Fall.

40% der Atopiker hatten eine saisonale Form der Atopie, nämlich Heuschnupfen. Alle von Heuschnupfen betroffenen Probanden wurden im Frühling und Sommer getestet. Damit wäre die Wahrscheinlichkeit für diese Probanden erhöht, akut an Heuschnupfen zu leiden, was keiner der betroffenen Probanden zum Zeitpunkt der Testung tat. Man könnte daraus schließen, dass nicht jede Form des atopischen Formenkreises in gleicher Weise auf die Zusammensetzung des Atemkondensates wirkt.

Zum anderen untersuchten Kharitonov und Barnes die NO-Konzentration in der exhaliierten Luft. Die Reaktion des NO mit Superoxidanionradikalen und damit die Bildung von Nitrotyrosin ist nur eine der vielen möglichen Reaktionen, die das NO eingehen kann. Daher ist eine direkte Korrelation zwischen der NO- und der Nitrotyrosinkonzentration zwar gegeben, jedoch nicht obligatorisch. Horváth et al. (2005) warnen vor einer leicht entstehenden Kontamination der Messinstrumente mit NO durch die Umgebungsluft und damit vor einer

Verfälschung der Messergebnisse, was bei Kharitonov und Barnes vorgefallen sein könnte. Damit wären die Ergebnisse von Kharitonov und Barnes schwer zu interpretieren. Für die Messung des Nitrotyrosins werden solche Verunreinigungen nicht beschrieben.

Es bleibt immer noch die Frage offen, ob es einen quantitativen Unterschied zwischen den einzelnen Formen der Atopie gäbe. Dies müsste statistisch belastbar in weiteren Studien untersucht werden.

In allen Gruppen findet sich bei der Darstellung der Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentrationen zu den drei Zeitpunkten eine deutlich niedrigere Konzentration von Nitrotyrosin zum Zeitpunkt T2 im Gegensatz zu den davor gemessenen Nitrotyrosinkonzentrationen. Dieses Phänomen, das in allen Gruppen ersichtlich ist, ist statistisch nicht signifikant. Dennoch fällt auf, dass nach 60minütiger Ruhezeit nach der zweiten Atemkondensatspende anscheinend weniger oxidativer Stress vorhanden ist als noch vor der Belastung bei der ersten Atemkondensatentnahme. Auch bei der Betrachtung der Medianwerte zeigt sich das gleiche Phänomen.

Da das Phänomen bei allen Probanden bei der Betrachtung der Mittel- und Medianwerte auftritt, könnte der Grund dafür im Versuchsaufbau zu suchen sein. Die Probanden mussten vor der ersten Atemkondensatspende eine Lungenfunktionsprüfung mit Hilfe der Bodyplethysmographie und Spirometrie durchführen. Die Probanden waren also durch die ungewohnten Untersuchungen angestrengt. Vor der letzten Atemkondensatspende fand keine weitere Untersuchung oder Beanspruchung des Probanden statt. Somit war der Proband nach der Erholungsphase ausgeruht und die Wahrscheinlichkeit von auftretendem oxidativen Stress geringer als bei der ersten Atemkondensatspende.

Im weiteren Verlauf der Mittelwerte der Nitrotyrosinkonzentrationen zu den einzelnen Zeitpunkten fand sich bei den Rauchern und Nichtatopikern eine erniedrigte Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T1 im Vergleich zu der Konzentration zum Zeitpunkt T0 und bei den Nichtraucher und Atopikern konnte man eine leicht erhöhte Konzentration zum Zeitpunkt T1 im Vergleich zu der Ausgangskonzentration feststellen (statistisch nicht signifikant, $p \geq 0.05$). Die Betrachtung der Medianwerte bestätigt dieses Bild.

Sowohl bei der Auswertung der Ergebnisse der Raucher wurde die Quantität des Zigarettenkonsums und die Tatsache, dass es 3 Ex-Raucher gab, nicht berücksichtigt. Deshalb würde man bei der Darstellung der Ergebnisse der Nichtraucher und der Raucher bei den Rauchern eine erhöhte Streuung der Messwerte der Ergebnisse erwarten, die die Variabilität des Faktors „Rauchen“ zeigt. Dies ist jedoch bei den ermittelten Mittel- und Medianwerten nicht festzustellen. Deshalb lässt es sich vermuten, dass die genaue Auffächerung des Rauchverhaltens der aktiven Raucher und die Unterscheidung in aktive und Ex-Raucher unerheblich sind.

Der atopische Formenkreis wurde in dieser Studie als Ganzes betrachtet und das Vorliegen bzw. Nichtvorliegen der Symptome des atopischen Formenkreises führte zu der Einteilung Atopiker bzw. Nichtatopiker. So vermutet man eine erhöhte Streuung der Ergebnisse bei den Mittel- und Medianwerten bei Nichtberücksichtigung dieser Details bei den Atopikern. Doch auch hier ist die Streuung der Messergebnisse bei den Atopikern und Nichtatopikern ähnlich, so dass es anscheinend für die Aussage der Ergebnisse nicht von Belang ist, welche Art der Atopie nun vorliegt.

Bei der Betrachtung der einzelnen Probandengruppen fand sich der höchste Ausgangswert (Mittel- und Medianwert) der Nitrotyrosinkonzentrationen bei den Nichtatopikern/Rauchern.

Das grundsätzliche Phänomen, das bei der Betrachtung der einzelnen Confounder auftritt, setzt sich auch bei der Betrachtung der einzelnen Probandengruppen fort. Die Mittelwerte zeigen bei allen Kollektivgruppen eine statistisch zwar nicht signifikante, aber dennoch erkennbare niedrigere Nitrotyrosinkonzentration nach der Ruhephase als noch vor der Testung und direkt nach der körperlichen Belastung. Dieses zeigt sich auch bei der Betrachtung der Medianwerte.

Der Mittelwert mit Standardabweichung der Nitrotyrosinkonzentration 15 Minuten nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle ist bei den Nichtatopikern/Rauchern als einzige Gruppe erniedrigt. Die anderen Probandengruppen zeigen erhöhte Konzentrationen zum Zeitpunkt T1. Der bei einem kleinen Probandenkollektiv repräsentativere Medianwert dagegen zeigt auch bei der Probandengruppe der Atopiker/Raucher eine erniedrigte

Nitrotyrosinkonzentration. So lässt sich auf eine Verfälschung des Mittelwertes durch Ausreißer in dieser Gruppe schließen.

Es scheint, dass der Confounder Rauchen einen stärkeren Einfluss auf die Nitrotyrosinkonzentration hat als der Confounder Atopie. Bei allen Rauchern zeigt sich eine Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration nach der körperlichen Belastung. Alle Probandengruppen mit Nichtrauchern zeigten in dieser Studie eine erhöhte Nitrotyrosinkonzentration nach der körperlichen Belastung wie es auch Santangelo et al. (2003) herausfanden. Santangelo et al. kamen zu diesen Ergebnissen, nachdem sie gesunde und Patienten mit Hypertonie mit Hilfe der Fahrradergometrie belastet haben und dann den Nitrotyrosinspiegel im peripheren venösen Blut der Probanden gemessen haben. Allerdings berücksichtigten Santangelo et al. bei der Auswertung ihrer Ergebnisse nicht genügend den Raucherstatus ihrer Probanden. So wurde z.B. nicht berücksichtigt, ob ein Proband ein Ex-Raucher gewesen war.

Santangelo et al. haben zwar Vorgänge oxidativen Stresses beobachtet, aber nicht genauer untersucht, was in den unteren Atemwegen geschieht. Für die Beurteilung von Vorgängen in den unteren Atemwegen ist das Atemkondensat als Matrix besser geeignet.

Es ist eine verminderte Durchblutung des Gewebes bei Rauchern bekannt. Dadurch vergrößert sich der funktionelle Totraum eines rauchenden Patienten, d.h. weniger Fläche der Alveolen nimmt am Gasaustausch teil, da sie nicht durchblutet werden. Allerdings findet eine Belüftung dieser Bereiche statt. Der genaue Entstehungsort des Atemkondensates ist bisher noch unklar, so dass auch Effekte dieser Art auf die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat unklar sind.

Es bleibt bei der Studie von Santangelo et al. unbeantwortet, ob sich bei den Rauchern ihrer Studie ebenfalls erniedrigte Nitrotyrosinkonzentrationen in den unteren Atemwegen finden würden.

Ein weiterer Kritikpunkt an der Studie von Santangelo et al. ist die verwendete Messmethode. Santangelo et al. verwendeten zum Nachweis des Nitrotyrosins im peripheren Blut die ELISA-Technik. Die ELISA-Technik hat den Nachteil und ist damit als Nachweisteknik für Nitrotyrosin nicht generell anerkannt, da sie nur nitrolysierte Proteine nachweisen und freies Nitrotyrosin nicht messen kann (Horváth et al. 2005). Die LC-MS/MS-Methode ist wesentlich genauer als die ELISA-Technik. Es müsste untersucht werden, ob sich die Ergebnisse von

Santangelo et al. mit Hilfe der genaueren Messmethode der Massenspektrometrie wiederholen lassen.

In zukünftigen Studien müsste untersucht werden, wie genau sich das Rauchen auf die Bildung von Nitrotyrosin nach körperlicher Belastung verhält. Es scheint nach den erhaltenen Ergebnissen einen hemmenden Effekt des Rauchens auf die Bildung von Nitrotyrosin nach körperlicher Belastung zu geben.

Die beeinträchtigende Wirkung des Tabakrauchens auf die Infektabwehr ist bekannt. So ist die Chemotaxis und Phagozytose neutrophiler Granulozyten vermindert und die Antikörperbildung eingeschränkt. Die genauen Zusammenhänge zwischen Tabakrauchen und der Nitrotyrosinentstehung sind bisher noch unklar.

Die sportliche Fitness der Probanden hatte keinen Effekt auf die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat. Nach eigener Einschätzung der Probanden und Auswertung der sportlichen Tätigkeit der Probanden war die Probandengruppe der Atopiker/Raucher am unsportlichsten und die Probandengruppe der Nichtatopiker/Raucher am sportlichsten. Jeder Proband wurde jedoch bis zur anaeroben Schwelle belastet, so dass der Fitnessstand zwar für die Durchführung der Spiroergometrie interessant war, aber keinen Einfluss auf die Nitrotyrosinkonzentration haben konnte.

Zwei Probanden gaben an, Vitamin-C-Präparate täglich zu sich zu nehmen. Vitamin C (Ascorbat) verhindert als Antioxidant die Bildung von oxidativem Stress (Sies 2006). Zu erwarten wären also niedrigere gemessene Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat bei diesen beiden Probanden. Dies war nicht der Fall. Die Einnahme der Vitaminpräparate hatte keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Probandengruppen Atopiker/Nichtraucher und Nichtatopiker/Raucher, in die die beiden Probanden zugeteilt worden waren.

Bei der ersten Betrachtung der Ergebnisse (Mittel- und Medianwerte) wurde die individuelle Leistung eines jeden Probanden nicht berücksichtigt. Es wäre möglich, dass die individuelle Leistung eines Probanden unterschiedliche Wirkung auf die gewonnene Nitrotyrosinkonzentration hat. Da jeder Proband bei einer anderen Wattzahl während der Spiroergometrie seine anaerobe Schwelle erreicht hatte, wäre es möglich, dass das Erreichen einer größeren Wattzahl

eine erhöhte Nitrotyrosinkonzentration begünstigt. Daher wurde in dieser Studie zur weiteren Standardisierung der Ergebnisse ein Quotient aus der Differenz der Nitrotyrosinkonzentrationen zwischen den unterschiedlichen Zeitpunkten und der erreichten Wattzahl gebildet. Diese Relativierung der Messwerte auf eine Bezugsgröße erhöht die Vergleichbarkeit der Messwerte untereinander und ein Einfluss der erreichten Wattzahl auf die Nitrotyrosinkonzentration ist ausgeschlossen. Man erhält eine weitere Homogenisierung der Messwerte.

Die relativierten Werte wurden wieder als Mittelwerte und als Medianwerte für die einzelnen Probanden- und Kollektivgruppen ausgewertet und dargestellt. Die Ermittlung des Quotienten ergab, dass zum Zeitpunkt T2 im Vergleich zum Zeitpunkt T0 bei der Betrachtung der Confounder bei allen eine Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration stattgefunden hat. Es bestätigt sich die zuvor bei der Betrachtung der Mittel- und Medianwerte erkennbare Tendenz der Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T2 im Vergleich zur Ausgangskonzentration.

Bei den Rauchern ist weiterhin zu erkennen, dass die Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration von Zeitpunkt T2 zum Zeitpunkt T0 größer ist als zum Zeitpunkt T1. Dieser stetige Abfall der Nitrotyrosinkonzentration von T0 nach T1 nach T2 bei den Rauchern zeigt sich auch bei der Betrachtung der Mittel- und Medianwerte. Dasselbe Bild zeigt sich bei der Betrachtung der Mittel- und Medianwerte für die Nichtatopiker und wird durch den Mittelwert des Quotienten bestätigt.

Doch nach Standardisierung und Erstellen des Medianwertes des Quotienten erscheint die Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration vom Zeitpunkt T2 zu T0 geringer zu sein als zum Zeitpunkt T1. Durch diese widersprüchlichen Aussagen ist eine Deutung der Ergebnisse schwierig.

Der bei der Betrachtung der Mittel- und Medianwerte feststellbare Abfall der Nitrotyrosinkonzentration direkt nach der körperlichen Belastung bestätigt sich nur eindeutig für die Raucher. Somit kann auch nach Ausschluss des Faktors „erreichte Wattzahl“ festgehalten werden, dass es bei den Rauchern nach körperlicher Belastung zu einer reduzierten Bildung von Nitrotyrosin kommt. Daraus lässt sich schließen, dass Prozesse des oxidativen Stresses bei diesen Probanden weniger auftreten als bei Nichtrauchern, Atopikern und Nichtatopikern. Mögliche Gründe hierfür wurden zuvor bereits erörtert.

Für die anderen Probanden (Nichtraucher, Atopiker, Nichtatopiker) kann ein Einfluss der körperlichen Arbeit nicht eindeutig geklärt werden, da zum Teil sehr widersprüchliche Ergebnisse zwischen den Mittel- und Medianwerten der Quotienten herauskamen. Unter Betrachtung der Mittelwerte der Quotienten würde man bei den Nichtrauchern, Atopikern und Nichtatopikern eine Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration erkennen. Doch bei der Betrachtung der Medianwerte der Quotienten besteht für die Atopiker keine Veränderung der Nitrotyrosinkonzentration direkt nach der körperlichen Belastung im Vergleich zur Ausgangskonzentration und bei den Nichtrauchern und Nichtatopikern wäre eine vermehrte Nitrotyrosinkonzentration nach der körperlichen Belastung zu sehen. Die Medianwerte sind für dieses kleine Probandenkollektiv wohl aussagekräftiger. In zukünftigen Studien müsste dieses weiter untersucht werden, um eine eindeutige Antwort zu erhalten.

Bei den Probandengruppen zeigt die Probandengruppe Raucher/Nichtatopiker eine vermehrte Abnahme der Nitrotyrosinkonzentration von Zeitpunkt T0 zu T1. Alle anderen Probandengruppen Raucher/Atopiker, Nichtraucher/Atopiker und Nichtraucher/Nichtatopiker zeigen einen Anstieg der Nitrotyrosinkonzentration nach der körperlichen Belastung. In der Probandengruppe Raucher/Atopiker ist im Median eine kaum wahrnehmbare Abnahme (0,01 pg/ml) der Nitrotyrosinkonzentration zum Zeitpunkt T1 zu sehen. Insgesamt sind die Nitrotyrosinkonzentrationsschwankungen bei Einbeziehung des Faktors wesentlich geringer als bei Nichtbeachten des Faktors der erreichten Wattzahl. Es scheint unklar, ob beobachtete Effekte überhaupt beurteilbar sind. In weiteren Studien müsste untersucht werden, ob sich der Faktor Rauchen auch in Kombination mit anderen Faktoren durchsetzt.

Gemessen wurden die Nitrotyrosinkonzentrationen mit Hilfe der LC-MS/MS nach SPE-Anreicherung. Der Vorteil dieses Messverfahrens ist das sehr hohe Auflösungsvermögen. Gemessen wurden Konzentrationen im pg/ml-Bereich. Die Nachweisgrenze dieses Verfahrens liegt bei 2,5 pg/ml und die sichere Bestimmungsgrenze bei 8,5 pg/ml. Herkömmlich wird die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat mit Hilfe von ELISA oder EIA gemessen. Die Nachweisgrenze der EIA liegt bei 3,9 ng/ml (*Horváth et al. 2005*). Somit ist die Massenspektrometrie wesentlich höher in der Auflösung.

Dennoch lagen die Ergebnisse so nah an der Nachweisgrenze des Verfahrens, dass eventuell vorliegende Konzentrationsschwankungen nicht erkannt und somit auch nicht statistisch ausgewertet werden konnten.

Mit der Validierung der Messmethode zur Auswertung der Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat mit Hilfe der LC-MS/MS nach SPE-Anreicherung beschäftigten sich Göen et al. (2005).

Mit Hilfe dieser Studie konnte festgestellt werden, dass die körperliche Belastung bis zur anaeroben Schwelle (durchgeführt mit der Fahrradergometrie) keinen Einfluss auf die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat hat. Einzelne Schwankungen in der Auswertung waren grafisch erkennbar, aber statistisch nicht signifikant. Daraus ergibt sich für die eingangs aufgestellten Hypothesen folgendes:

1. Die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat unmittelbar nach der Spiroergometrie ist nicht höher als vorher.
2. 90 Minuten nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle ist die Nitrotyrosinkonzentration nicht höher als vor der Durchführung der Spiroergometrie.
3. Die unter 1. und 2. erwarteten Effekte sind bei Rauchern nicht stärker als bei Nie-Rauchern.
4. Die unter 1. und 2. erwarteten Effekte sind bei Atopikern nicht stärker als bei Nichtatopikern.
5. Die unter 1. und 2. erwarteten Effekte sind bei rauchenden Atopikern nicht stärker als bei nie-rauchenden Nichtatopikern

Da die Atemkondensatsammelmethode eine nicht-invasive Methode zur Gewinnung von Bestandteilen der extrazellulären Auskleidungsflüssigkeit aus den unteren Atemwegen ist, ist diese Methode zukünftig vor anderen invasiven oder semi-invasiven Methoden, die uns Informationen aus den unteren Atemwegen liefern, zu bevorzugen. Nitrotyrosin als Marker zur Früherkennung von oxidativen Stress sollte anhand weiterer Studien untersucht werden. Auch die Messung mittels der Massenspektrometrie ist aufgrund ihres hohen Auflösungsvermögens sehr viel versprechend für die Zukunft, daher sollten weitere Studien folgen.

Sollte es zukünftig möglich sein, Prozesse des oxidativen Stresses bei körperlicher Arbeit zu erkennen, wäre es aus arbeitsmedizinischer Sicht möglich, bei körperlich arbeitenden Menschen eine Früherkennung bzw. Risikoeinschätzung durchzuführen.

8. Zusammenfassung

Die Lunge ist aufgrund ihrer Funktion der Atmung ein Organ, das sich mehr als jedes andere Organsystem mit der Umwelt auseinandersetzen muss. Nicht selten werden in der arbeitsmedizinischen Routine atemwegsbezogene Beschwerden geschildert, die mit den konventionellen Untersuchungsmethoden der Lungenfunktionsdiagnostik (z.B. Spirometrie) nicht erkannt werden können. Die bisherigen Untersuchungsmethoden erfassen nur bereits entstandene strukturelle und funktionelle Beschwerden. Mit der Atemkondensatsammelmethode steht der arbeitsmedizinischen Präventivdiagnostik eine nicht-invasive Untersuchungsmethode zu Verfügung, die einen direkten Zugang zu den Atemwegen ermöglicht.

Das Atemkondensat enthält per definitionem die nichtgasförmigen Bestandteile der Ausatemluft, die die Zusammensetzung der bronchoalveolären extrazellulären Auskleidungsflüssigkeit widerspiegeln. So ist es möglich durch den Marker 3-Nitrotyrosin im Atemkondensat oxidativen Stress in den unteren Atemwegen zu erkennen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist die Atemkondensatsammelmethode noch nicht als präventivdiagnostisches Routineverfahren in der arbeitsmedizinischen Diagnostik etabliert. Die vorliegende Studie soll einen Beitrag für diese Etablierung leisten.

Es wurde die Auswirkung von körperlicher Belastung auf die 3-Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat untersucht. An der Studie nahmen 20 Probanden im Alter von 20-35 Jahren teil. Dabei wurde auf eine gleichmäßige Geschlechterverteilung des Kollektivs geachtet. Das Kollektiv wurde in 10 Atopiker und 10 Nichtatopiker aufgeteilt. Diese beiden Gruppen enthielten jeweils 5 Raucher und 5 Nichtraucher. Damit ergaben sich vier Kollektivgruppen:

1. Raucher/Atopiker
2. Raucher/Nichtatopiker
3. Nichtraucher/Atopiker
4. Nichtraucher/Nichtatopiker

Bei jedem Probanden wurden mittels eines standardisierten Fragebogens der allgemeine Gesundheitsstatus, der Allergiestatus und die Rauchgewohnheiten abgeklärt. Nach einer körperlichen Untersuchung, wurde bei jedem Probanden eine Lungenfunktionsuntersuchung mittels der Bodyplethysmographie und der

Spirometrie durchgeführt. Anschließend fand die erste 15-minütige atemfrequenzkontrollierte Atemkondensatspende statt (Zeitpunkt T0). Der Proband wurde dann mit Hilfe der Spiroergometrie körperlich belastet. Die körperliche Belastung fand bis zur anaeroben Schwelle, die mittels einer kapillären Blutgasanalyse verifiziert wurde, statt. 15 Minuten nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle erfolgte eine zweite 15-minütige atemfrequenzkontrollierte Atemkondensatspende (Zeitpunkt T1). 90 Minuten nach dem Erreichen der anaeroben Schwelle erfolgte dann die dritte 15-minütige atemfrequenzkontrollierte Atemkondensatspende. Die Nitrotyrosinkonzentrationen im Atemkondensat wurden mittels der LC-MS/MS-Methode nach SPE-Anreicherung gemessen.

Die Nitrotyrosinkonzentrationen betragen für die drei Zeitpunkte im Mittel 50,83 pg/ml (SD: $\pm 31,27$), 51,94 pg/ml (SD: $\pm 27,81$), 25,57 pg/ml (SD: $\pm 20,33$) und im Median 39,1 pg/ml (IQR: 47,55), 50,1 pg/ml (IQR: 45,15), 18,8 pg/ml (IQR: 24,05).

Die statistische Auswertung der Ergebnisse ergab, dass die körperliche Belastung bei keiner der vier Probandengruppen einen Einfluss auf die Nitrotyrosinkonzentration im Atemkondensat hatte.

9. Anhang

9.1. Der Anamnesebogen:

	UNIVERSITÄTSKLINIKUM - RHEINISCH-WESTFÄLISCHE TECHNISCHE HOCHSCHULE AACHEN Institut für Arbeitsmedizin am Universitätsklinikum DIREKTOR: UNIVERSITÄTSPROFESSOR DR. MED. THOMAS KRAUS																																																																																																																																												
<h3>Anamnese-Bogen</h3>																																																																																																																																													
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="3">Name, Vorname</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Geburtsdatum und -ort</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Adresse</td> </tr> <tr> <td colspan="3"> </td> </tr> <tr> <td>Größe (cm)</td> <td>Gewicht (kg)</td> <td>Geschlecht (w/m)</td> </tr> </table>	Name, Vorname			Geburtsdatum und -ort			Adresse						Größe (cm)	Gewicht (kg)	Geschlecht (w/m)	<p>Sehr geehrte Teilnehmerin, sehr geehrter Teilnehmer,</p> <p>um die von Ihnen erhaltenen Daten im Rahmen der Studie richtig auswerten und interpretieren zu können, bitten wir Sie um Beantwortung der folgenden Fragen zur allgemeinen Vorgeschichte (Anamnese). Die Angaben unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht. Bei Unklarheiten können Sie uns gerne fragen.</p> <p>Datum/Unterschrift: _____</p>																																																																																																																													
Name, Vorname																																																																																																																																													
Geburtsdatum und -ort																																																																																																																																													
Adresse																																																																																																																																													
Größe (cm)	Gewicht (kg)	Geschlecht (w/m)																																																																																																																																											
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 70%;">Besteht bzw. bestand bei Ihnen eine der folgenden Erkrankungen?</th> <th style="width: 10%;">ja</th> <th style="width: 10%;">nein</th> <th style="width: 10%;">Falls Sie mit ja antworten: bitte ggf. ergänzende Angaben eintragen</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 <u>Atemwegserkrankungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 1.1 <u>Asthma</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 1.2 <u>Tuberkulose</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 1.3 <u>Bronchitis</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 1.4 <u>Pneumonie</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 1.5 <u>Mukoviszidose</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 1.6 <u>sonstige Atemwegserkrankung</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>2 <u>Allergien (welche)</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>3 <u>Herz-Kreislauf-Erkrankung</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.1 <u>Herzinsuffizienz</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.2 <u>Koronare Herzkrankheit/ Angina pectoris</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.3 <u>Herzinfarkt</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.4 <u>Herzrhythmusstörungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.5 <u>Herzschrittmacher</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.6 <u>Herzklappenfehler/-ersatz</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.7 <u>Hypertonie</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.8 <u>Hypotonie, Synkopen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 3.9 <u>Mangeldurchblutung des ZNS/Apoplex</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>4 <u>Blutgerinnungsstörungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>5 <u>Diabetes (welcher Typ)</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>6 <u>Glaukom (erhöhter Augendruck)</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>7 <u>Hämatologische Erkrankungen (Erkrankung blutbildener Organe)</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>8 <u>Anfallsleiden (Epilepsie)</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>9 <u>Infektionskrankheiten</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 9.1 <u>Hepatitis</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 9.2 <u>Immunmangel-Syndrom (AIDS)</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td> 9.3 <u>sonstige Infektionen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>10 <u>Lebererkrankungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>11 <u>Magen-Darm-Erkrankungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>12 <u>Nierenerkrankungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>13 <u>Osteoporose</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>14 <u>Schilddrüsenerkrankungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>15 <u>Tumorerkrankungen</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>16 <u>Rückenbeschwerden (welcher Art)</u></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> </tr> </tbody> </table>	Besteht bzw. bestand bei Ihnen eine der folgenden Erkrankungen?	ja	nein	Falls Sie mit ja antworten: bitte ggf. ergänzende Angaben eintragen	1 <u>Atemwegserkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	1.1 <u>Asthma</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	1.2 <u>Tuberkulose</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	1.3 <u>Bronchitis</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	1.4 <u>Pneumonie</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	1.5 <u>Mukoviszidose</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	1.6 <u>sonstige Atemwegserkrankung</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	2 <u>Allergien (welche)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3 <u>Herz-Kreislauf-Erkrankung</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.1 <u>Herzinsuffizienz</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.2 <u>Koronare Herzkrankheit/ Angina pectoris</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.3 <u>Herzinfarkt</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.4 <u>Herzrhythmusstörungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.5 <u>Herzschrittmacher</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.6 <u>Herzklappenfehler/-ersatz</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.7 <u>Hypertonie</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.8 <u>Hypotonie, Synkopen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	3.9 <u>Mangeldurchblutung des ZNS/Apoplex</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	4 <u>Blutgerinnungsstörungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	5 <u>Diabetes (welcher Typ)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	6 <u>Glaukom (erhöhter Augendruck)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	7 <u>Hämatologische Erkrankungen (Erkrankung blutbildener Organe)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	8 <u>Anfallsleiden (Epilepsie)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	9 <u>Infektionskrankheiten</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	9.1 <u>Hepatitis</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	9.2 <u>Immunmangel-Syndrom (AIDS)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	9.3 <u>sonstige Infektionen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	10 <u>Lebererkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	11 <u>Magen-Darm-Erkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	12 <u>Nierenerkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	13 <u>Osteoporose</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	14 <u>Schilddrüsenerkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	15 <u>Tumorerkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	16 <u>Rückenbeschwerden (welcher Art)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	Anamnese 01
Besteht bzw. bestand bei Ihnen eine der folgenden Erkrankungen?	ja	nein	Falls Sie mit ja antworten: bitte ggf. ergänzende Angaben eintragen																																																																																																																																										
1 <u>Atemwegserkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
1.1 <u>Asthma</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
1.2 <u>Tuberkulose</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
1.3 <u>Bronchitis</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
1.4 <u>Pneumonie</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
1.5 <u>Mukoviszidose</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
1.6 <u>sonstige Atemwegserkrankung</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
2 <u>Allergien (welche)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3 <u>Herz-Kreislauf-Erkrankung</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.1 <u>Herzinsuffizienz</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.2 <u>Koronare Herzkrankheit/ Angina pectoris</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.3 <u>Herzinfarkt</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.4 <u>Herzrhythmusstörungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.5 <u>Herzschrittmacher</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.6 <u>Herzklappenfehler/-ersatz</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.7 <u>Hypertonie</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.8 <u>Hypotonie, Synkopen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
3.9 <u>Mangeldurchblutung des ZNS/Apoplex</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
4 <u>Blutgerinnungsstörungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
5 <u>Diabetes (welcher Typ)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
6 <u>Glaukom (erhöhter Augendruck)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
7 <u>Hämatologische Erkrankungen (Erkrankung blutbildener Organe)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
8 <u>Anfallsleiden (Epilepsie)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
9 <u>Infektionskrankheiten</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
9.1 <u>Hepatitis</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
9.2 <u>Immunmangel-Syndrom (AIDS)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
9.3 <u>sonstige Infektionen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
10 <u>Lebererkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
11 <u>Magen-Darm-Erkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
12 <u>Nierenerkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
13 <u>Osteoporose</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
14 <u>Schilddrüsenerkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
15 <u>Tumorerkrankungen</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										
16 <u>Rückenbeschwerden (welcher Art)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____																																																																																																																																										

Beantworten Sie bitte folgende Angaben mit ja oder nein:	ja	nein	Falls Sie mit ja antworten: bitte ggf. ergänzende Angaben eintragen		
17 Röntgenbilder vom Thorax (wann)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
18 Unfälle im Thoraxbereich (was, wann)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
19 Rippenbrüche (wann, wie)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
20 allg. Operationen (was, wann)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
21 Diagnostische Untersuchungen:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
21.1 Bodyplethysmographie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
21.2 Bronchoskopie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
22 Haben Sie jemals eine Kur gemacht?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23 Einnahme von Medikamenten:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23.1 Letzte Medikation (was, wann)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23.2 Schmerzmedikamente • z.B. Aspirin, etc. (wann zuletzt)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23.3 Schleimlösende Medikamente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23.4 Cortison	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23.5 Vitaminpräparate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23.6 Antikonzeptiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
23.7 sonstige Medikamente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24 Aktuelle Beschwerden	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.1 Husten (wieviel, mit Auswurf) • wie sieht der Auswurf aus?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.2 Schmerzen (wo, seit wann)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.3 Fieber (seit wann, wie hoch)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.4 Erkältungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.5 Luftnot (bei Belastung?) • Auslöser bekannt/vorhanden?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.6 Schlafstörungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.7 Appetitlosigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.8 (Nacht-)Schweiß	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.9 Unregelmäßigkeiten: Stuhlgang	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.10 Gynäkologische Unregelmäßigkeiten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.11 Unregelmäßigkeiten beim Gewichtsverlauf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.12 Unwohlsein	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
24.13 sonstige Beschwerden	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
25 Rauchen Sie: (früher einmal?)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
25.1 was? (Pfeife, Zigaretten, etc.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
25.2 wieviel? (Anzahl/Tag)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
25.3 wann?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
25.4 wie lange? (Jahre)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
26 Trinken Sie Alkohol? • regelmäßig, manchmal, selten, nie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
27 Treiben Sie Sport • was, wie oft, wie lang, wie intensiv?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
28 Familienanamnese:					
28.1 Allergien (welche)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
28.2 Lungenkarzinome	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
28.3 Asthma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
28.4 Tuberkulose	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
28.5 sonstige Atemwegserkrankungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
28.6 Diabetes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
28.7 sonstiges	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
29 Sind Sie schwanger?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
Beurteilen Sie folgenden Aspekt mit Hilfe einer Skala von 1 (=sehr gut) bis 5 (=sehr schlecht):					
	1	2	3	4	5
30 allgemeine Leistungsfähigkeit und Belastbarkeit:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Anamnese|02

Abbildung 9.1.: Anamnesebogen

9.3. Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie:

Identifikation:	[REDACTED]	Geburtsdatum:	[REDACTED]	Station:	[REDACTED]
Name:	[REDACTED]	Alter:	[REDACTED]	Untersucher:	[REDACTED]
Vorname:	[REDACTED]	Größe:	[REDACTED]	Bediener:	[REDACTED]
Geschlecht:	weiblich	Gewicht:	[REDACTED]	Einw. Arzt:	--

EKG-Zusammenfassung - Belastungs-EKG

Testdatum:	24.03.2004 12:53:29	Testprotokoll:	ER_RA-150
Gesamte Testdauer:	14:48 min	Rampenprotokoll	
Dauer Ruhephase:	00:52 min	Startlast:	25 Watt
Dauer Referenzphase:	01:00 min		
Dauer Testphase	07:51 min		
Maximale Laststufe	127 Watt		
09:32 min			
Dauer Erholungsphase	05:05 min		

Herzfrequenz Ruhe	96 [1/min]		
Herzfrequenz max	171 [1/min]	zum Zeitpunkt 09:47 min	bei 44 Watt
% Ziel-Herzfrequenz	87 [%]	Soll-Herzfrequenz	197 [1/min]

Blutdruck Ruhe	107 / 72 [mmHg]		
Blutdruck max	163 / 88 [mmHg]	zum Zeitpunkt 08:57 min	bei 119 Watt

Patient erreichte maximal:	127 [Watt]		
	89 [%]	der Sollast von	143 [Watt]

ST Senkung, max	-3.20 [mm]	in Ableitung II	
ST max Dauer	15 [sec]		

Abbruch der Messung vom Patienten wegen:

Abbruch der Messung vom Arzt wegen:

Subjektives Empfinden des Patienten (RPE):

Bewertung des Untersuchers:

Symptome:

.....

Arzt Datum

PS991026: BELASTUNGS-EKG

Abbildung 9.3.1.: Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie: EKG-Zusammenfassung



Universitätsklinikum Aachen

UNIVERSITÄTSKLINIKUM AACHEN
INSTITUT FÜR ARBEITSMEDIZIN
AMBULANZ FÜR ARBEITSMEDIZIN

DIREKTOR: UNIVERSITÄTSPROFESSOR DR. MED. THOMAS KRAUS

Identifikation: [redacted]
 Name: [redacted] Vorname: [redacted]
 Geburtsdatum: [redacted] Geschlecht: [redacted]
 Alter: [redacted] Größe: 174,0 cm
 Gewicht: 60,0 kg Beruf: [redacted]
 Untersucher: [redacted] Sollwert-Modul: Standard-erg

Kardiopulmonaler Belastungstest
-Ergospirometrie-

Belastung

Zusammenfassung	Ruhe	Ref.	AT Manuell	Max Watt	Soll	Max W %Soll
Atemzugmittelung 8 Atemzüge						
Zeit min	00:54	01:53	08:07	09:24		
RER	0.93	1.03	1.12	1.24		
VO2 ml/min	227	243	1733	1792	2041	88
VO2/kg ml/min/kg	3.8	4.0	28.9	29.9		
MET	1.1	1.2	8.3	8.5		
VE l/min	7	9	45	53	107	49
VTin l	0.833	0.959	2.103	2.212		
BF l/min	6	13	22	24	42	57
Watt W	0	25	107	123	143	86
EqO2	28.5	31.7	25.3	28.4		
EqCO2	30.6	30.6	22.6	22.9		

Herz/Kreislauf

Zusammenfassung	Ruhe	Ref.	AT Manuell	Max Watt	Soll	Max W %Soll
Atemzugmittelung 8 Atemzüge						
HR l/min	95	96	158	169	197	86
HRR l/min	102	101	39	28		
dO2/dH l/ml	0.00	-	-	-		
Psys mmHg	107	107	141	163		
Pdia mmHg	72	72	81	88		
Pmitt mmHg	0	0	0	0		

Anaerobe Schwelle

Zusammenfassung	AT Manuell
Atemzugmittelung 8 Atemzüge	
VO2%p %	85
VO2%am %	97

Ventilation

Zusammenfassung	Max Watt
Atemzugmittelung 8 Atemzüge	
BR %	64

Abbildung 9.3.2.: Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie

Identifikation: [redacted] Name: [redacted]
 Vorname: [redacted] Geburtsdatum: [redacted]

Ventilation/Perfusion

Zusammenfassung	Ruhe	Ref.	AT	Max	Soll	Max W
			Manuell	Watt		%Soll
<i>Atemzugmitteilung 8 Atemzüge</i>						
Zeit	min	00:54	01:53	08:07	09:24	
PETCO ₂	kPa	0.00	0.00	0.00	0.00	
PECO ₂	kPa	3.56	3.41	4.97	4.92	
PETO ₂	kPa	0.00	0.00	0.00	0.00	
PEO ₂	kPa	15.79	16.23	15.01	15.39	
VT _{ex}	l	1.080	0.674	2.085	2.220	
VD _f /VT	%	0	0	0	0	21
VD _e /VT	%	0	0	0	0	21
VD _f	ml	0	0	0	0	0

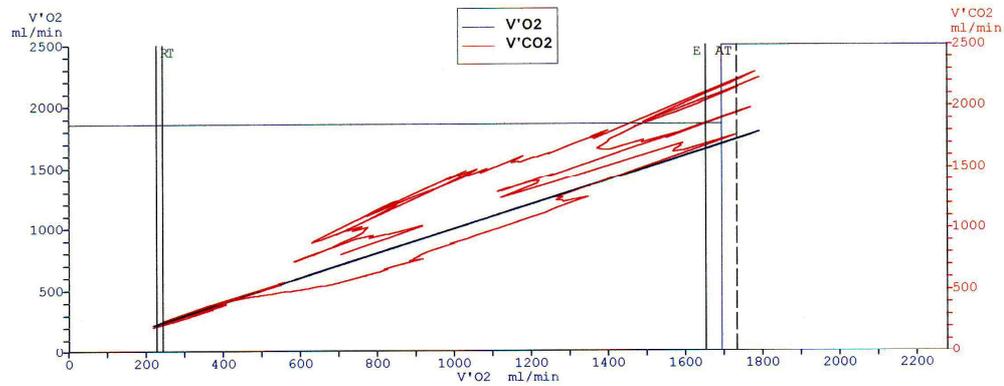
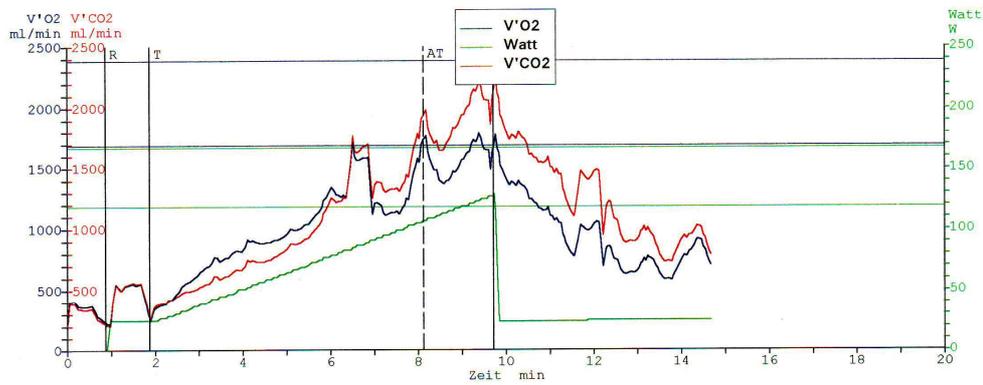


Abbildung 9.3.3.: Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie

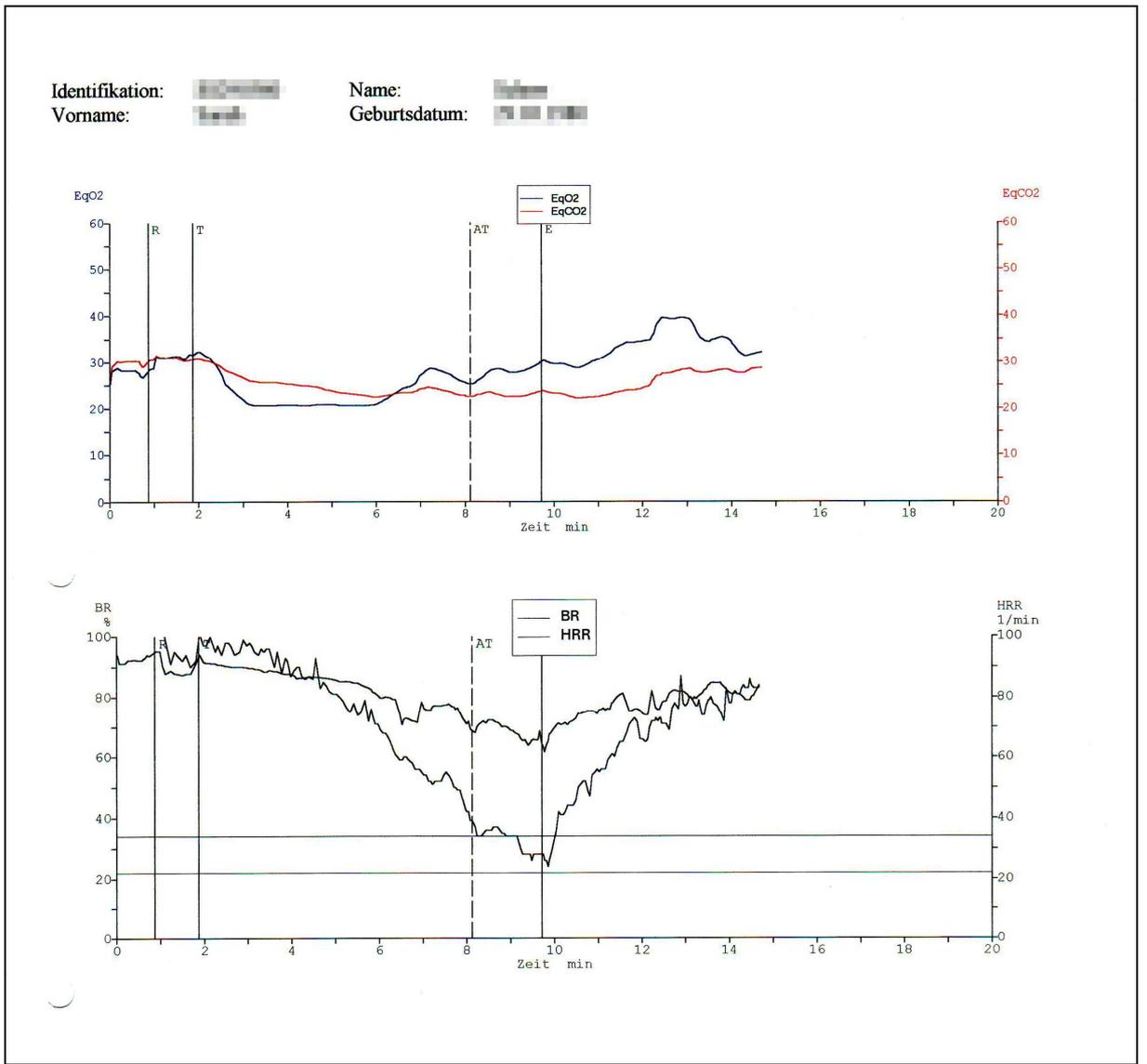


Abbildung 9.3.4.: Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie

Identifikation: [redacted]
Vorname: [redacted]

Name: [redacted]
Geburtsdatum: [redacted]

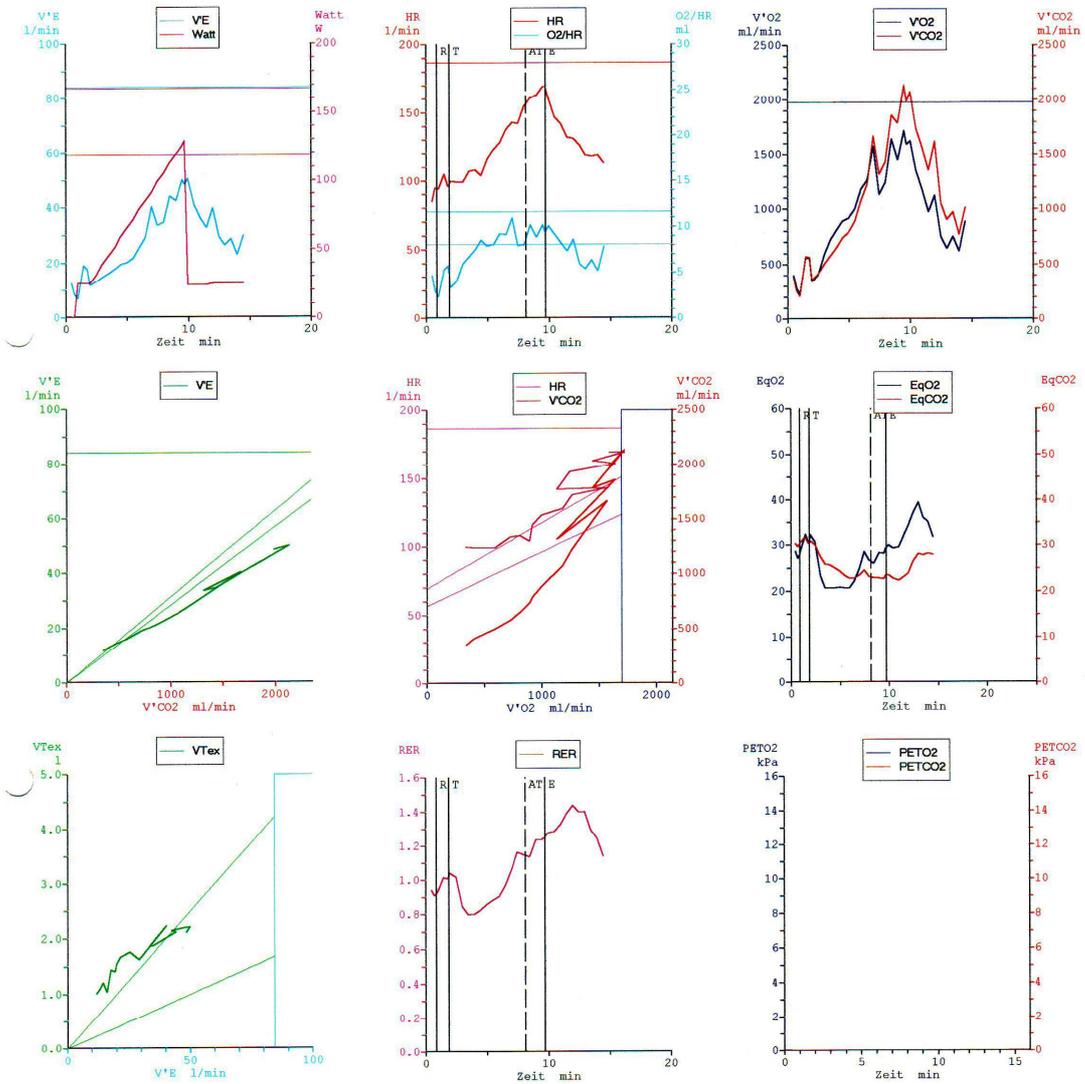


Abbildung 9.3.5.: Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie

Identifikation: ██████████ Name: ██████████
 Vorname: ████████ Geburtsdatum: ██████████

Zeit min	Watt W	V'E l/min	BF l/min	HR l/min	Psys mmHg	Pdia mmHg	V'O2 ml/min	VO2/kg ml/ min/kg	V'CO2 ml/min	RER
01:00	25	7	8	94	107	72	222	3.7	208	0.93
02:00	25	12	12	100	107	72	340	5.7	355	1.04
03:00	39	15	12	99	114	75	590	9.8	501	0.85
04:00	51	18	12	108	114	75	814	13.6	654	0.80
05:00	65	20	13	116	114	75	919	15.3	791	0.86
06:00	79	25	14	128	141	81	1184	19.7	1073	0.91
07:00	91	40	18	143	141	81	1571	26.2	1666	1.06
08:00	105	35	18	155	141	81	1247	20.8	1435	1.15
09:00	119	42	20	163	163	88	1446	24.1	1790	1.24
10:00	24	51	26	161	163	88	1625	27.1	2077	1.28
11:00	24	36	19	142	163	88	1177	19.6	1560	1.33
12:00	25	40	15	131	163	88	1127	18.8	1622	1.44
13:00	25	27	15	119	142	73	644	10.7	904	1.40
14:00	25	23	19	119	120	68	618	10.3	770	1.25
14:30	25	30	23	113	120	68	890	14.8	1014	1.14

Abbildung 9.3.6.: Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie

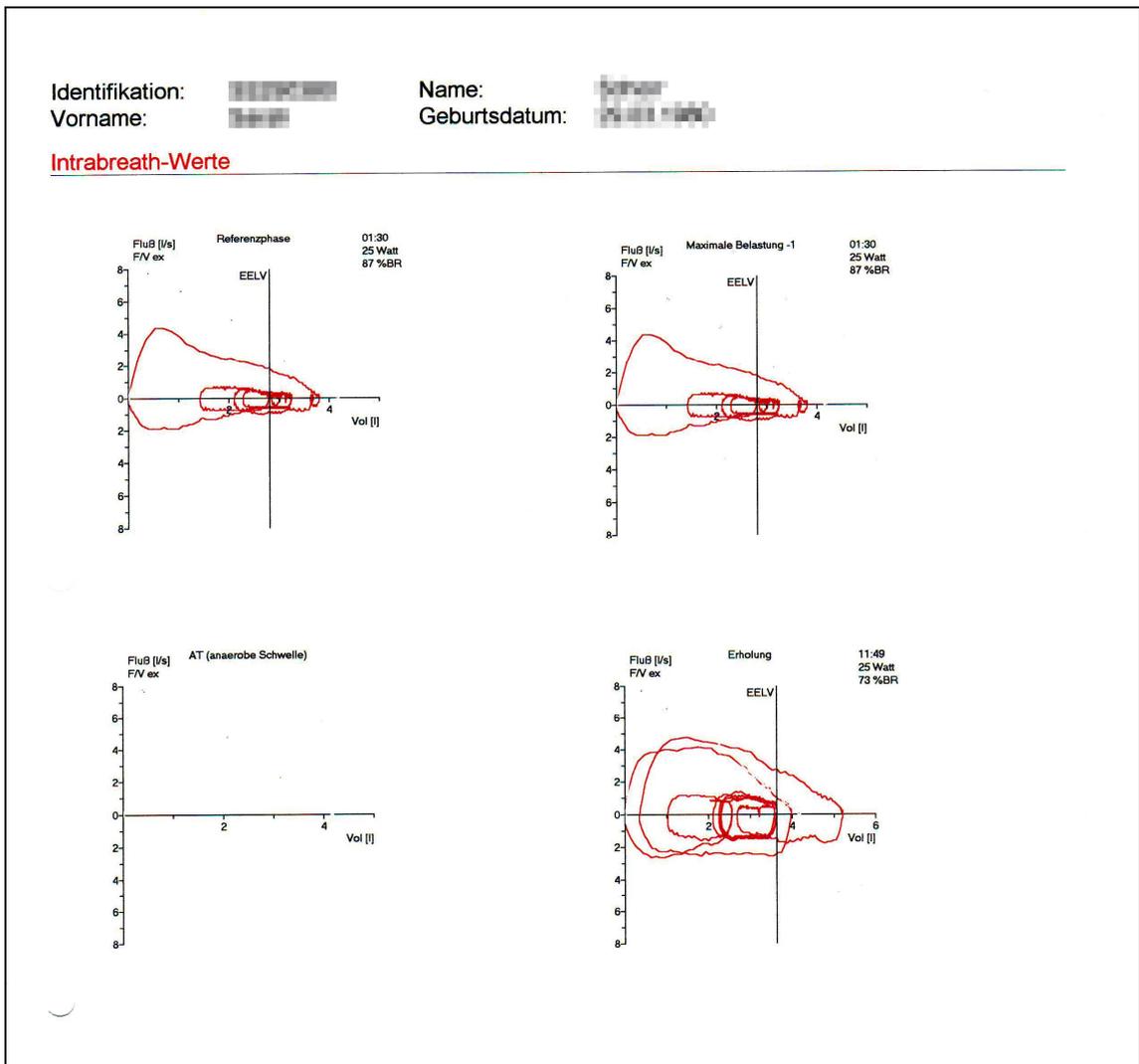


Abbildung 9.3.7.: Beispiel eines Ergebnisauszuges Spiroergometrie

9.4. Beispiel für die Datenzusammenfassung bei der Atemkondensatspende:

Studie: oxidativer Stress durch die Fahrradergometrie (Promotionsarbeit: emd N. Breuckmann)

Nachname: [REDACTED] **Vorname:** [REDACTED] **Geburtsort:** [REDACTED] **Geschlecht (weiblich)**
Größe (cm): 174 **Gewicht (kg):** 60 **Raucher:** Ja **Atopiker:** Ja **Geburtsdatum:** [REDACTED] **Datum:** 24.03.2004

1. Probe: Uhrzeit: 11:56 Atemdauer: 14:32 Geatmetes Volumen (l): 150,7 Volumen: Atemkondensat (ml): 2,3
2. Probe: Uhrzeit: 12:52 Atemdauer: 15:00 Geatmetes Volumen (l): 139,3 Volumen: Atemkondensat (ml): 1,8
3. Probe: Uhrzeit: 14:10 Atemdauer: 15:04 Geatmetes Volumen (l): 177,4 Volumen: Atemkondensat (ml): 2,4

Zeit (min)	Watt	P_{sys}	P_{dia}	HF	sonstiges
00:07		107	72	83	
01:22	25	107	72	102	
02:50	37	114	75	100	
05:40	77	141	81	127	
09:13	121	163	88	167	
12:34	25	142	73	123	
14:05	25	120	68	112	

Sonstiges:

Abbildung 9.4.: Beispiel für die Datenzusammenfassung bei der Atemkondensatspende

9.5. Beispiel eines Ergebnisauszuges der BGA

RADIOMETER ABL700 SERIE			
ABL720		12:39:00	25.02.2005
PATIENTENBERICHT	Kapillare - K 55µL	Probe Nr.	16184
Identifikation			
Patienten ID	010101BB		
Nachname (Pat.)			
Vorname (Pat.)			
Probentyp	Nicht spezifiziert		
temp	37,0 °C		
Blutgas Ergebnis			
pH	7,324	[-]
pCO ₂	36,0	mmHg	[-]
pO ₂	94,5	mmHg	[-]
Oxymetrie Ergebnis			
ctHb	13,9	g/dL	[-]
sO ₂	97,3	%	[-]
FO ₂ Hb	96,9	%	[-]
FCOHb	0,0	%	[-]
FHHb	2,7	%	[-]
FMetHb	0,4	%	[-]
Sauerstoff Status			
ctO _{2c}	19,0	Vol%	
p50 _e	28,65	mmHg	
Säure Basen Status			
cBase(Ecf) _c	-6,7	mmol/L	
cHCO ₃ ⁻ (P,st) _c	19,1	mmol/L	
Meldungen			
c	Kalkulierte(r) Wert(e)		
e	Ästmierte(r) Wert(e)		
Gedruckt: 12:40:33 25.02.2005			

Abbildung 9.5.: Beispiel eines Ergebnisauszuges der BGA

10. Literaturverzeichnis

- 01 **American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force (members: Horváth I, Hunt J, Barnes PJ):**
Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions.
In: *Eur Respir J* (2005), Nr.26, S. 523-548
- 02 **American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force (members: Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Enright P, van der Grinten CPM, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wagner J):**
General considerations for lung function testing.
In: *Eur Respir J* (2005), Nr. 26, S. 153-161
- 03 **American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force (members: Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Crapo R, Enright P, van der Grinten CPM, Gustafsson P, Hankinson J, Jensen R, Johnson D, MacIntyre N, McKay R, Miller MR, Navajas D, Pellegrino R, Viegi G):**
Standardisation of the measurement of lung volumes.
In: *Eur Respir J* (2005), Nr. 26, S. 511-522
- 04 **American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force (members: Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CPM, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wagner J):**
Standardisation of spirometry.
In: *Eur Respir J* (2005), Nr. 26, S. 319-338
- 05 **Babior BM, Knipnes RS, Curnutte JT:**
Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent.
In: *J Clin Invest* 52 (1973), Nr.3, S.741-744
- 06 **Babior BM:**
NADPH oxidase: an update.
In: *Blood* (1999), Nr. 93, S.1464-1476
- 07 **Balint B, Kharitonov SA, Hanazawa T, Donnelly LE, Shah PL, Hodson ME, Barnes PJ:**
Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate in cystic fibrosis.
In: *Eur Respir J* 17 (2001), Nr.6, S.1201-1207
- 08 **Becher G, Beck E, Rothe M, Neubauer G, Stresemann E:**
Vorrichtung zur Sammlung von nichtgasförmigen Bestandteilen der Ausatemluft durch Ausfrieren (Atemkondensat).
In: *Mt Medizintechnik* (1997), Nr. 117, S. 89-95
- 09 **Becher G, Winsel K, Beck E, Neubaur G, Stresemann E:**
Das Atemkondensat als Methode zur nichtinvasiven Erfassung von Entzündungsmediatoren aus den unteren Atemwegen.
In: *Pneumologie* 51 (1997), Nr.2, S.456-459
- 10 **Beckmann JS:**
The physiological and pathophysiological chemistry of nitric oxide.
In: *Lancaster J (Hrsg.): Nitric Oxide: Principles and Actions. San Diego, Kalifornien: Academic Press (1996), S.1-82*
- 11 **Brand P:**
Quelle der biochemischen Information im Exhalat.
In: *Sonderausgabe Firma Jaeger (2001), Nr.1, S.12*

- 12 **Chance B, Sies H, Boveris A:**
Hydroperoxide metabolism in mammalian organs.
In: *Physiol Rev* 59 (1979), Nr.3, S.527-605
- 13 **Cole JW, Grizzle JE:**
Applications of multivariate analysis of variance to repeated measurements experiments.
In: *Biometrics* 22 (1966), Nr.4, S.810-828
- 14 **Corradi M, Pesci A, Casana R, Alinovi R, Goldoni M, Vettori MV, Cuomo A:**
Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases.
In: *Nitric Oxide* 8 (2003), Nr.1, S.26-30
- 15 **Daly AK:**
Molecular drug metabolism.
In: *J Mol Med* (1995), Nr.73, S.539-553
- 16 **Effros RM, Hoagland KW, Bosbous M, Castillo D, Foss B, Dunning M, Gare M, Lin W, Sun F:**
Dilution of respiratory solutes in exhaled condensates.
In: *Am J Respir Crit Care Med* 165 (2002), Nr.5, S.663-669
- 17 **Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, van der Vliet A:**
Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils.
In: *Nature* 391 (1998), Nr.6665, S.393-397
- 18 **European Respiratory Society Task Force (members: Roca J, Whipp BJ, Augusti AGN, Anderson SD, Casaburi R, Cotes JE, Donner CF, Estenne M, Folgering H, Higenbottam TW, Killian KJ, Palange P, Patessio A, Prefaut C, Sergysels R, Wagner PD, Weisman I):**
Clinical exercise testing with reference to lung diseases: indications, standardization and interpretation strategies.
In: *Eur Respir J* (1997), Nr. 10, S.2662-2689
- 19 **Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA:**
Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects.
In: *Am Rev Respir Dis* 147 (1993), Nr.5, S.1126-1131
- 20 **Fridovich I:**
Superoxide radical and superoxide dismutases.
In: *Ann Rev Biochem* (1995), Nr.64, S.97-112
- 21 **Gessner C, Conrad K (Hrsg.), Sack U (Hrsg.):**
Das Atemkondensat - nicht-invasiv gewonnene biochemische Information aus der Lunge.
Lengerich: Pabst Science Publishers (2006)
- 22 **Gessner C, Hammerschmidt S, Kuhn H, Wirtz H**
Gehauchte Diagnose? Zum Potential von Atemkondensatuntersuchungen.
In: *Pneumologie* 58 (2004), Nr.4, S.230-237
- 23 **Gessner C, Kuhn H, Seyfahrt HJ, Pankau H, Winkler J, Schauer J, Wirtz H**
Factors influencing breath condensate volume.
In: *Pneumologie* 55 (2001), Nr.9, S.414-419
- 24 **Göen T, Müller-Lux A, Dewes P, Musiol A, Kraus T:**
Sensitive and accurate analyses of free 3-nitrotyrosine in exhaled breath condensate by LC-MS/MS.
In: *J Chromatogr B* 825 (2005), Nr.1-2, S.261-266

- 25 **Halliwell B, Gutteridge JM:**
Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts.
In: *Arch Biochem Biophys* 246 (1986), Nr.2, S.501-514
- 26 **Halliwell B:**
What nitrates tyrosin? Is nitrotyrosin specific as a biomarker of peroxynitrite formation in vivo?
In: *FEBS Lett* 411 (1997), Nr.2-3, S.157-160
- 27 **Haslam PL, Baughman RP:**
Report of ERS Task Force: guidelines for measurement of acellular components and standardization of BAL (editorial).
In: *Eur Respir J* 14 (1999), S.245-248
- 28 **Hollmann W, Strüder H, Predel HG, Tagarakis C (Hrsg.):**
Spiroergometrie: Kardiopulmonale Leistungsdiagnostik des Gesunden und Kranken.
Stuttgart: Schattauer Verlag (2006)
- 29 **Holz O, Kips J, Magnussen H:**
Update on sputum methodology.
In: *Eur Resp J* 16 (2000), Nr.2, S.355-359
- 30 **Huie RE, Padmaja S:**
The reaction of NO with superoxide.
In: *Free Radic Res Commun* 18 (1993), Nr.4, S.195-199
- 31 **Inoue S, Kawanishi S:**
Oxidative DNA damage induced by simultaneous generation of nitric oxide and superoxide.
In: *FEBS Lett* 371 (1995), Nr.1, S.86-88
- 32 **Ischiropoulos H, al Mehdi AB:**
Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications.
In: *FEBS Lett* 364 (1995), Nr.3, S.279-282
- 33 **Ischiropoulos H:**
Biological tyrosine nitration: a pathophysiological function of nitric oxide and reactive oxygen species.
In: *Arch Biochem Biophys* 356 (1998), S.1-11
- 34 **Kharitonov SA, Barnes PJ:**
Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath.
In: *Biomarkers* 7 (2002), Nr. 1, S.1-32
- 35 **Kietzmann D, Kahl R, Muller M, Burchadi H, Kettler D:**
Hydrogen peroxide in expired breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS.
In: *Intensive Care Med* 19 (1993), Nr.2, S.78-81
- 36 **Klug D, Rabani J, Fridovich I:**
A direct demonstration of the catalytic action of superoxide dismutase through the use of pulse radiolysis.
In: *J Biol Chem* 247 (1972), Nr.15, S.4839-4842
- 37 **Koppenol WH, Moreno JJ, Pryor WA, Ischiropoulos H, Beckman JS:**
Peroxynitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide.
In: *Chem Res Toxicol* 5 (1993), Nr.6, S.834-842
- 38 **Koppenol WH:**
The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite.
In: *Free Radic Biol Med* 25 (1998), Nr.4-5, S.385-391

- 39 **Kroidl RF, Schwarz S, Lehnigk B (Hrsg.):**
Kursbuch Spiroergometrie.
1. Auflage Stuttgart: Thieme Verlag (2006)
- 40 **Lancaster JR, Jr.:**
Simulation of the diffusion and reaction of endogenously produced nitric oxide.
In: *Proc Natl Acad Sci USA* (1994), Nr.91, S.8137-8141
- 41 **Malinski T, Taha Z:**
Nitric oxide release from a single cell measured in situ by a porphyrinic-based microsensor.
In: *Nature* (1992), Nr.358, S.676-678
- 42 **McCafferty JB, Bradshaw TA, Tate S, Greening AP, Innes JA:**
Effects of breathing pattern and inspired air conditions on breath condensate volume, pH, nitrite and protein concentration.
In: *Thorax* 59 (2004), Nr.8, S.694-698
- 43 **McCord JM:**
Free radical and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase.
In: *Science* 185 (1974), Nr. 150, S.529-531
- 44 **Nakano M, Kimura H, Hara M, Kuroiwa M, Kato M, Totsune K, Yoshikawa T:**
A highly sensitive method for determining both Mn- and Cu-Zn-superoxide dismutase in tissues and blood cells.
In: *Anal Biochem* 187 (1990), Nr.2, S.277-280
- 45 **Nowack D, Szadkowski D, Baur X, Triebig G, Schneider J and the Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin:**
Leitlinie: Lungenfunktionsprüfungen in der Arbeitsmedizin.
URL: <http://www-dgaum.med.uni-rostock.de/leitlinien/lungfunk.htm>
Stand: 13.07.2005
- 46 **Nowacki P:**
Die Bedeutung des Ventilations-RQ bei ergometrischer Belastung.
In: *Mellerowicz H., Jokl E., Hansen G. (Hrsg.): Ergebnisse der Ergometrie.*
Erlangen: Perimed Verlag (1975), S.167-171
- 47 **Oesch F:**
Fremdstoffmetabolismus
In: *Marquart H, Schäfer SG (Hrsg.): Lehrbuch der Toxikologie*
Mannheim: BI Wissenschaftsverlag (1994), S.68-93
- 48 **Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanovic R, Maestrelli P, Sterk PJ:**
Sputum induction.
In: *Eur Respir J Suppl* 20 (2002), S.3-8
- 49 **Papineni RS, Rosenthal FS:**
The size distribution of droplets in the exhaled breath of healthy human subjects.
In: *J Aerosol Med* 10 (1997), Nr.2, S.105-116
- 50 **Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Garbado A, Denburg JA, Hargreave FE, Dolovich J:**
Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma.
In: *Thorax* 47 (1992), Nr.1, S.25-29
- 51 **Pryor WA, Squadrito GL:**
The chemistry of peroxyxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide.
In: *Am J Physiol* 268 (1995), Nr. 5, S.699-722
- 52 **Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC:**
Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardisation of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the

- European Respiratory Society.
In: *Eur Respir J* 6 (1993), Nr. 16, S.5-40
- 53 **Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA:**
Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide.
In: *Arch Biochem Biophys* 288 (1991), Nr.2, S.481-487
- 54 **Rassaf T, Lauer T, Heiss C, Balzer J, Mangold S, Leyendecker T, Rottler J, Drexhage C, Meyer C, Kelm M:**
Nitric oxide synthase-derived plasma nitrite predicts exercise capacity.
In: *Br J Sports Med* 41 (2007), Nr. 10, S.669-673
- 55 **Reinhold P, Becher G, Rothe M:**
Evaluation of the measurement of leukotriene B4 concentrations in exhaled condensate as a non-invasive method for assessing mediators of inflammation in the lungs of calves.
In: *Am J Vet Res* 61 (2000), Nr.7, S.742-749
- 56 **Rothe M:**
Atemkondensatmessungen: Entstehung, Gewinnung, Lagerung und Analytik.
In: *Sonderausgabe Firma Jaeger 1* (2001), Nr.1, S.13-16
- 57 **Rytilä P, Rehn T, Ilumets H, Rouhos A, Sovijärvi A, Myllärniemi M, Kinnula VL**
Increased oxidative stress in asymptomatic current chronic smokers and GOLD stage 0 COPD.
In: *Respir Res* 7 (2006), S.69
- 58 **Sackner MA:**
Bronchofiberscopy.
In: *Am Rev Respir Dis* 111 (1975), Nr. 1, S.62-88
- 59 **Sampson JB, Ye Y, Rosen H, Beckman JS:**
Myeloperoxidase and horseradish peroxidase catalyze tyrosin nitration in protein from nitrite and hydrogen peroxide.
In: *Arch Biochem Biophys* 356 (1998), Nr.2, S.207-213
- 60 **Santangelo L, Cigliano L, Montefusco A, Spagnuolo MS, Nigro G, Golino P, Abrescia P:**
Evaluation of the antioxidant response in the plasma of healthy or hypertensive subjects after short-term exercise.
In: *Journal of Human Hypertension* 17 (2003), S.791-798
- 61 **Schmidt RF, Lang F, Thews G (Hrsg.):**
Physiologie des Menschen.
29. Auflage Heidelberg: Springer Medizin (2005)
- 62 **Schwedhelm E:**
Isoprostane und 3-Nitrotyrosin als neue Indexparameter des oxidativen Stresses in vivo: Analytik, Bildung, Metabolismus und biologische Bedeutung. (*Dissertation*)
URL: <http://edok01.tib.uni-hannover.de/edoks/e002/323295835.pdf>
Stand: 11.01.2001
- 63 **Severinghaus JW, Astrup PB:**
History of blood gas analysis.
In: *J Clin Mon Com* 3 (1987), Nr. 2, S.135-138
- 64 **Sies H, Stahl W, Klotz L, Brenneisen P:**
Oxidativer Stress: vom molekularen Mechanismus zur Klinik.
URL: <http://www.uni-düsseldorf.de/Home/Jahrbuch/2003/Sies>
Stand: 17.01.2006
- 65 **Sies H:**
Biochemie des oxidativen Stresses.

In: *Angew Chemie* 98 (1986), Nr. 12, S. 1061-1075

- 66 **Ulmer WT (Hrsg.):**
Lungenfunktions-Manual.
2. Auflage Stuttgart: Thieme Verlag (1998)
- 67 **Van der Vliet A, Eiserich JP, Halliwell B, Cross CE:**
Formation of reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite.
In: *J Biol Chem* 272 (1997), Nr. 12, S. 7616-7625
- 68 **Wu W, Chen Y, Hazen SL:**
Eosinophil peroxidase nitrates protein tyrosyl residues.
In: *J Biol Chem* 274 (1999), Nr. 36, S. 25933-25944
- 69 **Wu W, Samoszuk MK, Comhair SA, Thomassen MJ, Farver CF, Dweik RA, Kavaru MS, Erzurum SC, Hazen SL:**
Eosinophils generate brominating oxidants in allergen-induced asthma.
In: *J Clin Invest* 105 (2000), Nr. 10, S. 1455-1463

11. Danksagung

Mein Dank gilt Herr Prof. Dr. T. Kraus für die langjährige Unterstützung und die geduldige Anleitung im Prozess dieser Arbeit.

Für die Betreuung bei meiner Doktorarbeit danke ich vor allem Frau Dr. A. Müller-Lux, die mit viel Engagement und Zeit mir zur Seite stand.

Herrn Dr. T. Göen danke ich für die Analyse und Auswertung der gewonnenen Proben.

Ich bedanke mich auch sehr herzlich bei den Mitarbeitern des Institutes für Arbeit- und Sozialmedizin, allen voran Frau P. Dewes, Frau A. Musiol und Frau E. Paulußen, die mir sowohl bei den Versuchsdurchführungen, als auch bei der Auswertung von unverzichtbaren Wert waren.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Dr. N. Heussen, die im Institut für medizinische Statistik tätig ist, und mir bei der Auswertung der Daten sehr hilfreich war.

Ein sehr herzlicher Dank gilt auch allen, die sich als Probanden zur Verfügung gestellt haben. Ohne sie wäre die Arbeit nicht möglich gewesen. Ich weiß, dass die Versuchsdurchführung oft langwierig war und einiges von meinen Probanden abverlangt hatte. Ich danke jeden für sein Durchhaltevermögen, seine Geduld und Vertrauen in mich.

Ich danke auch meiner Familie und der Familie meines Mannes, die mich immer unterstützt haben. Jeder hat auf seine Art zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Zuletzt möchte ich mich noch besonders bei meinem Ehemann Daniel Gerritz bedanken. Ich kann gar nicht alles aufzählen, was er im Prozess dieser Arbeit für mich getan hat und wie viel Hilfe und Unterstützung ich von ihm erhalte. Ich danke ihm dafür von Herzen. Diese Doktorarbeit sei ihm gewidmet.

12. Erklärung zur Datenaufbewahrung:

Erklärung § 5 Abs. 1 zur Datenaufbewahrung

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Originaldaten in dem Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der RWTH Aachen hinterlegt sind.

13. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Nicola Gerritz geb. Breuckmann
Geburtsdatum: 28. November 1979
Geburtsort: Köln, Deutschland
Familienstand: verheiratet
Ehepartner: Daniel P.D. Gerritz
Eltern: Vater: Dr. Erwin F. Breuckmann
Mutter: Monika Breuckmann, geb. Chelius

Schulbildung:

1986-1990 Grundschule am Tierpark, Bergheim-Quadrath
1990-1999 Gutenberg-Gymnasium, Bergheim
1999 Abitur

Hochschulausbildung:

1999-2004 Studium der Zahnmedizin an der RWTH Aachen
2001 Naturwissenschaftliche Vorprüfung
2002 Zahnärztliche Vorprüfung
2004 Zahnärztliche Prüfung, Staatsexamen

Beruflicher Werdegang:

2005 Assistenz Zahnärztin, kieferorthopädische Praxis Drs. Stenmans,
Duisburg
2005-2006 Zahnärztin, Andover, England
2006-2007 Zahnärztin, Wakefield, England
2007-2009 Weiterbildungsassistenz Zahnärztin für Kieferorthopädie Praxis Dr.
Schmidt, Duisburg
seit 2009 Weiterbildungsassistenz Zahnärztin für Kieferorthopädie
Universitätsklinikum Jena