

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. G.Ertl

Versuch einer Standardisierung der Exhalatkondensation

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Hagen Mehls
aus Hagen in Westfalen

Würzburg, Juli 2002

Referent: Prof. Dr. med. Michael Schmidt
Korreferent: Prof. Dr. med. Georg Ertl
Dekan: Prof. Dr. med. Volker ter Meulen

Tag der mündlichen Prüfung: 14.01.02

Der Promovend ist Arzt im Praktikum

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. FRAGESTELLUNG	5
III. METHODIK UND PATIENTENKOLLEKTIV	7
Atemkondensatsammlung	7
Technische Hinweise	10
Hygienevorschriften	10
Studiendesign	10
Probandenkollektiv	11
Durchführung der Messung	13
Behandlung der gewonnenen Exhalatprobe	14
Statistik	15
IV. ERGEBNISSE	17
1. Kondensat-Volumen u. Gewicht / Zeit	17
2. Volumen der geatmeten Luft (V^E) / Zeit	20
3. Kondensat-Volumen / V^E	21
Nach NaCl –Inhalation:	22
4.1. Kondensat-Volumen u. –Gewicht / Zeit	22
4.2. Vergleich: nach bzw. ohne NaCl- Inhalation	24
5. Proteine im Exhalat	26
5.1. Proteinmenge je Proband	26
5.2. Zusammenhang zwischen Proteinmenge und Atemvolumen	28
5.3. Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern (Proteinmenge)	30
5.4. Vergleich von Männern und Frauen (Proteinmenge)	32
6. Tag-zu-Tag-Variabilität (3 aufeinanderfolgende Tage)	34

6.1. Nichtraucher (Gewicht bzw.Volumen an 3 Tagen)	35
6.2. Raucher (Gewicht bzw.Volumen an 3 Tagen)	35
6.3. Vergleich : Raucher-Nichtraucher (Kondensat-Gewicht an 3 Tagen)	36
6.4. Vergleich : Raucher-Nichtraucher (Kondensat-Volumen an 3 Tagen)	36
6.5. Vergleich : Raucher-Nichtraucher (Atemvolumen (15 min) an 3 Tagen)	37
6.6. Kondensatmenge pro Atemvolumeneinheit (Mittelwerte aller Probanden)	38
6.7. Kondensatmenge pro Atemvolumeneinheit – ein Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern	38
6.8. Kondensatmenge pro Atemvolumeneinheit – ein Vergleich von Männern und Frauen	39

V. DISKUSSION 41

Einsatzmöglichkeiten und Perspektiven der Atemkondensatmethode	41
Kondensat-Volumen und -Gewicht / Zeit	43
Volumen der geatmeten Luft ($V'E$) / Zeit	43
Kondensat-Volumen / Volumen der geatmeten Luft ($V'E$)	44
Messungen nach NaCl-Inhalation	44
Totalprotein im Exhalationskondensat	45
Tag-zu-Tag-Variabilität	46

VI. ZUSAMMENFASSUNG 49

VII. LITERATURVERZEICHNIS 51

VIII. ABKÜRZUNGEN 53

IX. TABELLENANHANG 55

DANKSAGUNG

LEBENS LAUF

I. EINLEITUNG

In den letzten Jahren hat die Lungenmedizin große Fortschritte auf dem Sektor der diagnostischen Möglichkeiten, v.a. bei chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen, gemacht. Dabei nehmen konventionelle Methoden wie Lungenfunktionstests, Bronchoskopie, Lungenbiopsie, bronchoalveoläre Lavage und radiologische Diagnostik immer noch zentrale Rollen in der Beurteilung der Schweregrade eines entzündlichen Geschehens in der Lunge ein. Das Feld der etablierten Verfahren wird durch eine Zahl z.T. noch neuerer Tests erweitert: Urinanalysen, Bluttests, induziertes Sputum, Provokationstests oder die Verwendung visueller Analog- Skalen sowie Messungen des Atemkondensates (AKM). Fortschritte im Verständnis der Pathogenese und Pathophysiologie der Lungenerkrankungen führen zu direkten Möglichkeiten, Entzündungen der Luftwege zu messen, welche potentiell relevante Informationen zum klinischen Verlauf und zur Prognose liefern dürften.

Allerdings sind diese Methoden zur Zeit nicht genügend gesichert, um Patienten im klinischen Alltag suffizient zu bewachen und Schweregrade von Krankheitsprozessen zu bestimmen. Jedoch könnten sie eine hilfreiche unterstützende Diagnostik darstellen. Deshalb ist es wichtig, die Entwicklung in diese Richtung zu forcieren, die es ermöglicht, Lungenerkrankungen frühzeitig zu diagnostizieren und sie einer Verlaufskontrolle zu unterziehen ohne dabei den Patienten zusätzlich zu belasten. V. a. ist es von Bedeutung, diese Möglichkeiten durch Standardisierung des Verfahrens dem routinemäßigen Gebrauch zugänglich zu machen und sie so vielleicht schon bald im klinischen Alltag zu etablieren.

Die Lunge ist ein stoffwechselaktives Organ mit der Aufgabe des Gasaustausches und einer Vielzahl verschiedener endokriner Funktionen wie ACE – Synthese, Arachidonsäuremetabolismus, Abwehr gegen Krankheitserreger, Clearancefunktion der Atemwege und vielen anderen.

Die große Anzahl der in der Lunge befindlichen Zelltypen realisieren die dazu benötigten unterschiedlichen Funktionen wie Surfactantproduktion, Atemregulation und Abwehrreaktionen. Mit ihrer täglich geatmeten Atemluft von 15 – 25 m³ ist die Lunge ein Organ, das sich wie kein anderes mit der Umwelt auseinandersetzen muss. Ein Schutz vor Umwelteinflüssen, wie bei der Haut z.B. durch Bekleidung, Handschuhe oder Hautschutzcreme, ist bei der Lunge nur begrenzt und sehr kurzzeitig, z.B. durch Atemschutzmasken möglich.

Im Kontrast dazu verschließt sich die Lunge jedoch weitgehend diffizilen diagnostischen Methoden. Nichtinvasive Untersuchungen wie radiologische Methoden, Lungenfunktionsdiagnostik, Gaswechselanalysen und Belastungstests liefern nur Teilaspekte zur Funktion der Lunge. Die metabolischen Funktionen der Lunge sind nichtinvasiven Methoden nahezu vollständig verschlossen. Invasive diagnostische Methoden wie bronchologische Untersuchungen und Probennahme mittels einer bronchoalveolären Lavage (BAL) sind aufwendig, für den Patienten belastend und verändern die zu gewinnende Probe durch Reizung der Atemwege.

Als Provokationstest kann z.B. das induzierte Sputum, das mit hypertoner Salzhinhalation gewonnen wird, eingestuft werden. Durch solche relativ aggressive Methoden werden geringfügige Effekte in den Atemwegen nivelliert und iatrogene Entzündungsreize gesetzt. Patienten mit chronisch entzündlichen Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale benötigen bei der Sputuminduktion eine antiobstruktive Vorbehandlung mit zumindest einem Beta-Mimetikum. Dadurch werden die im Sputum gesuchten Befunde schon verändert bzw. gehemmt.

Die Methode der Atemkondensatmessung [AKM] gibt die Möglichkeit, ohne Belastung des Patienten aus der Lunge und aus den tieferen Atemwegen stammendes Material zu sammeln und einer Analyse zuzuführen (5). Sie könnte ein neues nichtinvasives diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von Veränderungen des Lungenstoffwechsels und des Entzündungsstatus werden. Eine künftige Nutzung ist denkbar zur Erkennung und Aufdeckung des Gesundheitsrisikos durch inhalative Noxen und des Aktivitätsstadiums entzündlicher Atemwegs – und Lungenveränderungen. Damit

könnte die Methode bei der Prävention umwelt – u. arbeitsbedingter Schädigungen des Organismus, als Instrument zur Verlaufskontrolle entzündlicher Lungenerkrankungen, sowie in der Umweltanalytik (biologisches Monitoring) Anwendung finden.

Untersuchungen von Becher et al. (1) an beruflich exponierten Personen (Friseure) zeigten, dass Personen bereits ohne Veränderung ihrer Lungenfunktion gegenüber einer Kontrollgruppe (Büroangestellte) signifikante Veränderungen im entzündlichen Mediatorspektrum ihres Atemkondensates [AK] nachgewiesen werden können. Möglicherweise besteht ein Dilemma in der Tatsache, dass diskrete entzündliche Veränderungen im Epithel des Respirationstraktes über lange Zeit schon Beschwerden machen, bevor funktionelle oder gar strukturelle Veränderungen diagnostisch erfassbar werden. An dieser Stelle könnte die Chance der neuen Methodik bestehen, bereits moderate entzündliche Veränderungen zu erfassen, die bisher der Diagnostik nicht zugänglich waren. Das könnte wiederum einen Ansatzpunkt für eine noch intensivere Form der Prävention von Erkrankungen, bzw. Krankheitsschüben darstellen. Die Untersuchungen des AK nach z. B. Entzündungsmediatoren (s.u.) könnten somit ein wichtiges diagnostisches Fenster öffnen für die Bewertung des Einflusses von Arbeitsbelastungen auf die Entstehung diskreter Atemwegsbeschwerden oder auch zur Verlaufskontrolle chronischer Atemwegserkrankungen.

Eine Grundvoraussetzung für eine routinemäßige Nutzung der AKM ist eine Standardisierung des Verfahrens, die es ermöglicht Laborbestimmungen schnell und einfach durchzuführen (evtl. sogar vor Ort) und gemessene Werte anhand bereits erhobener Daten und Erfahrungswerte einordnen zu können. In der folgenden Studie wurde versucht, weitere Grundlagen der Methodik, die unserer Meinung nach noch einiger Aufklärungen bedürfen, näher zu beleuchten, um eine weiterführende Diagnostik in der Zukunft zu unterstützen. Deshalb wurde in den Messungen zu einigen mehr oder weniger gut nachweisbaren Parametern (s.u.) z.T. kein Bezug genommen.

Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt gelang es, folgende Substanzen im AK zu bestimmen (4):

Substanz	Messbereich
Leukotrien B4	10...10.000 pg/ml
Leukotriene C4,D4,E4	1...10.000 pg/ml
Prostaglandin E2	0...250 pg/ml
ECP / EPX	0...100 ng/ml
Proteine –auch glykosilierte Proteine	20-60 sep. Banden
IL – 1 β	...370 pg/ml
sIL – 2R	...2.000 U/ml
TNF -alpha	...120 pg/ml
Stress – Proteine (HSB)	
D – Dimer	
Tumormarker (SCC, TPA- M,CYFRA)	
DNA	10...40 ng/ml
Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂)	0,03...0,60 μ M
8 - Isoprostan	

Tab.1: bestimmbare Substanzen in der Ausatemluft

II. FRAGESTELLUNG

Ziel der Studie sollte eine Standardisierung der AKM sein, da unserer Meinung auf diesem Sektor noch großer Nachholbedarf besteht (siehe I.). Aus diesem Grunde wurde der Schwerpunkt der Untersuchungen auf Grundlagenforschung gelegt, die es ermöglichen soll, basale Zusammenhänge aufzuklären, die dazu beitragen könnten, diese Methode der klinischen Routine zugänglich zu machen.

- Wie verhalten sich Kondensat-Volumen und –Gewicht mit zunehmender Atemzeit (insgesamt 15 min)?
- Ist die Exhalatmenge volumenabhängig ?
- Ist die Exhalatmenge durch NaCl-Inhalation zu steigern ? Unterscheiden sich die Parameter nach bzw. ohne NaCl-Inhalation ?
- Wie groß sind die pro Proband gefundenen Proteinmengen ? Besteht ein Zusammenhang zwischen Proteinmenge und Exhalatvolumen ? Unterscheiden sich Raucher und Nichtraucher hinsichtlich der gemessenen Proteinmenge? Unterscheiden sich Männer und Frauen hinsichtlich der gemessenen Proteinmenge?
- Ergeben sich unterschiedliche Werte an den 3 verschiedenen Tagen bezüglich des Gewichts und Volumens des Exhalats bei Nichtrauchern, bezüglich des Gewichts und Volumens des Exhalats bei Rauchern? Unterscheiden sich Raucher und Nichtraucher an den 3 verschiedenen Tagen hinsichtlich der folgenden Parameter: Exhalat-Gewicht, Exhalat-Volumen, Atemvolumen ? Ändert sich die pro Volumeneinheit geatmete Kondensatmenge an den 3 aufeinanderfolgenden Tagen bei den Probanden ?
- Wie ändern sich diese Werte bei Rauchern und Nichtrauchern ?
- Wie ändern sich diese Werte bei Männern und Frauen ?

III. METHODIK

3.1. Atemkondensatsammlung

Die eingesetzte Methode beruht auf einer Vorrichtung zur Sammlung von nichtgasförmigen Bestandteilen der Ausatemluft. Bei der in der Studie genutzten Variante (hier: ECo Screen, Firma Erich Jaeger, Höchberg) besteht das Sammelgerät aus einem doppelwandigen Rohr von 55 cm Länge und einem Innendurchmesser von 1,2 cm in dessen Wandung ein sekundärer Kühlkreislauf verläuft, der im Probensammelrohr eine Temperatur von -20 bis -25 °C erzeugt. Dieses Kühlgerät ist außen mit einer Wärmeisolation versehen, die an den Enden für die Durchlässe des auswechselbaren Sammelrohres, an den Anschlüssen des Kühlkreislaufes und proximal für den Ansatz eines Einatemventils und des Mundstückes durchbrochen ist. Das auswechselbare Probensammelrohr, welches in die zentrale Bohrung des Kühlmantels eingesetzt wird, besteht aus Teflon, einem biologisch inerten, Temperatur – und gegen Chemikalien beständigen Material. Am unteren Ende des Probensammelrohres wurde im Nebenschluss ein zweites Sammelgefäß befestigt.

Zum Sammeln des AK wird die Ausatemluft durch ein Nichtrückatmungsventil in das Sammelrohr eingeleitet. Die Ausatemluft wird im Sammelrohr dabei auf eine Temperatur von bis -10 °C abgekühlt, wobei Aerosole, Wasserdampf und alle anderen nichtgasförmigen Bestandteile als Kondensat an der inneren Wandung des Sammelrohres ausgeschieden werden. Die Vorrichtung ist so konstruiert, dass das Probensammelrohr im Mundstück frei beginnt, so dass Speichel nicht in das Probenröhrchen laufen kann, sondern in einem Probensammelrohr umhüllenden Zylinder aufgefangen wird (1).

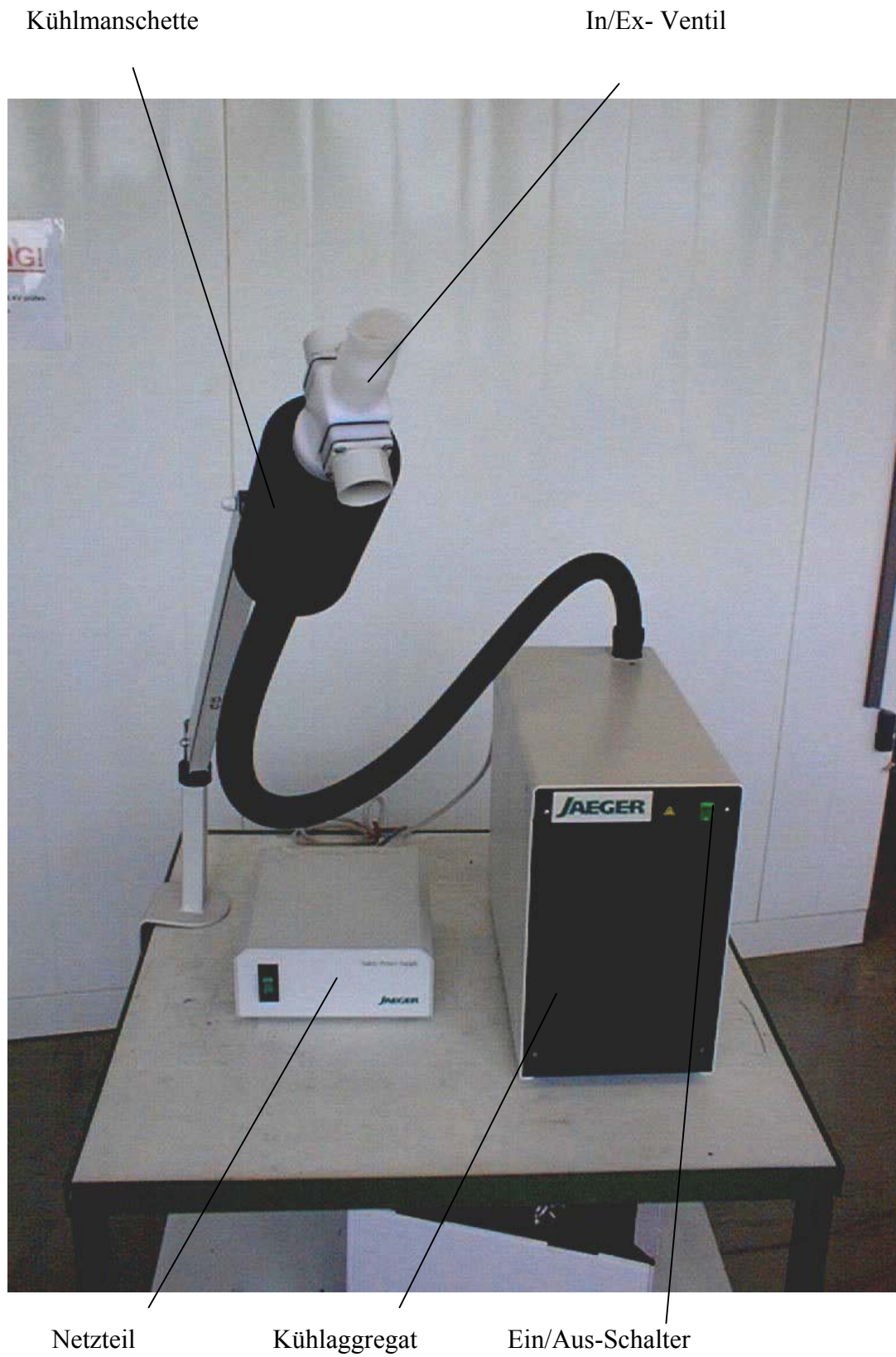


Abb.1: Das Eco-Screen

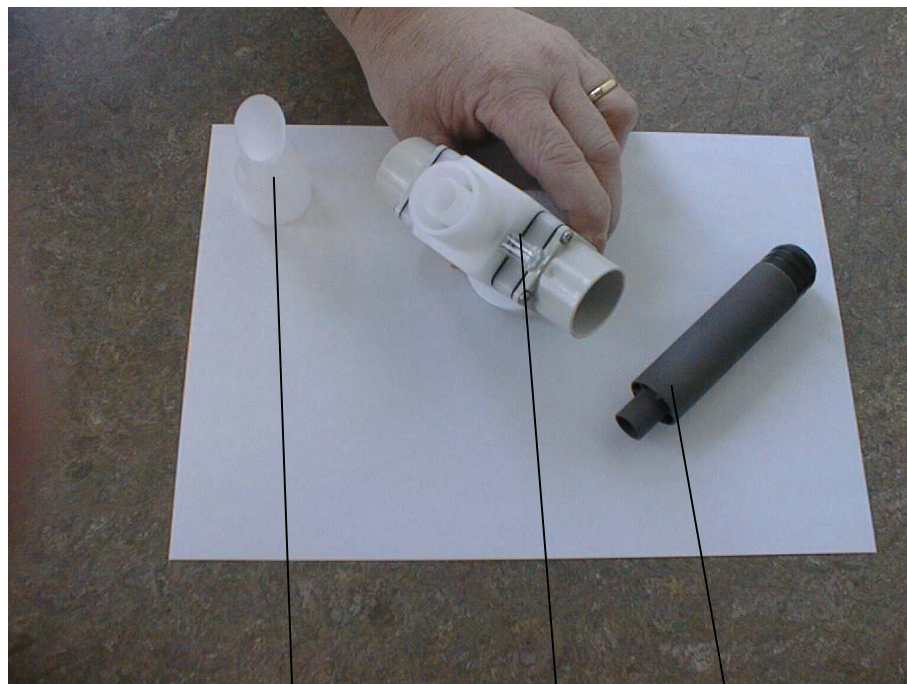
Abb. 2:



Kühlmanschette

In/Ex-Ventil Mundstück

Abb.3:



Mundstück

In/Ex-Ventil

Probensammelrohr

2. Technische Hinweise

Der Kryostat braucht 30 min, um die geforderte Betriebstemperatur zu erreichen (7).

3.3 Hygienevorschriften

Das Mundstück ist nach jedem Probanden zu wechseln. Das proximale Sammelröhrchen für am Mundstück herabgelaufenen Speichel sollte nach jeder Kondensatmessung überprüft und gewechselt werden. Bei Füllung mit Flüssigkeit ist der Ventilansatz vor dem nächsten Probanden zu desinfizieren. Der ferdere im Mundstück gelegene Teflon-Rohreinsatz muss als kontaminiert eingestuft werden und ist nach jedem Probanden zu desinfizieren. Da übliche Desinfektionsmittel atemwegsreizende Dämpfe erzeugen können, wird hier die Anwendung von Alkoholtupfern bzw. von mit Alkohol getränktem Zellstoff empfohlen (in diesem Fall wurde 70 %iges Ethanol verwendet). Schwerflüchtige Flächendesinfektionsmittel sind ebenfalls nicht empfohlen (alle Reste schwerflüchtiger Desinfektionsmittel können die Erfassung von Mediatoren aus dem Atemkondensat nachhaltig stören, da durch diese ein Abbau bzw. Oxidation der Substanzen erfolgen kann). Die Atemventile sollten zumindest 1mal täglich nach Benutzung einer Reinigung und Desinfektion unterzogen werden, entsprechend den Vorschriften der Firma Jaeger (7).

3.4 Studiendesign

Die Studie wurde durchgehend mit gesunden erwachsenen Probanden durchgeführt. Es wurde zum Ziel gesetzt, mit einer begrenzten Probandenzahl (siehe 5.) Parameter für Gesunde zu erstellen. Diese sollen zur Klärung und Erleichterung grundsätzlicher Fragen bei der Atemkondensatmessung bezüglich der Handhabung und Durchführung von Messungen an Kranken beitragen. Außerdem können die Messergebnisse als Vergleichswerte bei der Anwendung dieser Untersuchungsmethodik in der Klinik verwendet werden.

3.5 Probandenkollektiv

In einer zweiteiligen Studie wurden Atemkondensatmessungen mit freiwilligen Versuchspersonen durchgeführt. Es handelte sich bei diesen Personen durchweg um Studenten der Universität Würzburg. Diesen gaben allesamt an, weder an akuten oder chronischen (insbesondere Lungen -) Erkrankungen zu leiden, noch unter einer anderen ihnen bekannten Krankheit. Im ersten Teil der Studie fungierten 11 Personen (8 Männer, 3 Frauen) als Probanden, die alle Nichtraucher waren:

Probandenzahl (n)	Alter (Jahre)	Körper - gewicht (kg)	Größe (cm)	relatives Körper - gewicht (% Sollgewicht)
11	24 +/- 1,18	76,2 +/- 10,2	180,9 +/- 9,2	94,2 +/- 6,3

Tab. 2: Probandenkollektiv- erster Studienteil

Der zweite Studienteil wurde mit insgesamt 30 Probanden durchgeführt, darunter befanden sich 10 Raucher. Als Raucher wurde bezeichnet, wer zum Zeitpunkt der Messung seit mindestens 3 Jahren mehr als 10 Zigaretten am Tag geraucht hatte.

Das Probandenkollektiv des 2. Studienteils setzte sich folgendermaßen zusammen:

Zuordnung	Probanden (n)	Alter (Jahre)	Körper - gewicht (kg)	Größe (cm)	relatives Körpergewicht (% Sollgewicht)
weiblich	16	23,8 +/- 2,9	59,3 +/- 4,85	170,3 +/- 7,75	84,9 +/- 8,4
männlich	14	24,6 +/- 1,6	82,9 +/- 7,5	187,1 +/- 4,8	95,2 +/- 6,2
Raucher	10	24,7 +/- 3,7	66,2 +/- 14,6	175,2 +/- 11,7	86,7 +/- 8,4
Nichtraucher	20	24,0 +/- 2	72,3 +/- 12,5	179,4 +/- 9,96	90,9 +/- 9,8
gesamt	30	24,2 +/- 2,5	69,5 +/- 13,5	177,2 +/- 10,7	89,7 +/- 9,1

Tab. 3: Probandenkollektiv- zweiter Studienteil (alle)

Basisdaten der Raucher:

Geschlecht	Probanden (n)	Alter (Jahre)	Körpergewicht (kg)	Größe (cm)	relatives Körpergewicht (% Sollgewicht)
Männer	3	24,6 +/- 0,57	86,3 +/- 6,5	190,3 +/- 2,51	95,7 +/- 8,8
Frauen	7	24,7 +/- 4,1	57,6 +/- 3,8	169,7 +/- 7,5	82,9 +/- 4,8
gesamt	10	24,7 +/- 3,36	66,2 +/- 14,5	175,0 +/- 11,7	86,7 +/- 8,4

Tab. 4: Probandenkollektiv- zweiter Studienteil (Raucher)

Basisdaten der Nichtraucher:

Geschlecht	Probanden (n)	Alter (Jahre)	Körpergewicht (kg)	Größe (cm)	relatives Körpergewicht (% Sollgewicht)
Männer	11	24,5 +/- 1,8	82,0 +/- 6,5	186,1 +/- 5,1	95,1 +/- 5,8
Frauen	9	23,2 +/- 1,4	60,6 +/- 5,3	170,7 +/- 8,3	86,5 +/- 10,5
gesamt	20	24,0 +/- 2,0	72,7 +/- 12,5	179,4 +/- 9,9	90,9 +/- 9,8

Tab. 5: Probandenkollektiv- zweiter Studienteil (Nichtraucher)

3.6. Durchführung der Messung

Der Proband sitzt auf einem Stuhl vor dem Sammelgerät. Zum Sammeln des Exhalationskondensates atmet er über das Mundstück durch ein Rückschlagventil von oben in das schräg nach unten gelagerte bzw. gehaltene Sammelrohr aus, wobei das Atemkondensat an der inneren Wandung des Sammelrohres abgeschieden wird (s.o.). Die Messungen dauerten – in diesem Fall - zwischen 5 und 15 Minuten.

Es ist darauf zu achten, dass der Proband während der Probensammlung eine normale Atmung (Ruheatmung) einhält. Jede forcierte Atmung sollte vermieden werden.

Bei Hustenreiz, Niesen oder starker Speichelansammlung soll der Proband vom Gerät abgehen und erst nach Überwinden der Störung (Aushusten, Nase schnauben, Auspeien) am Gerät weiteratmen. Die Nasenatmung wird mit einer Nasenklemme unterbunden. Im Zeitraum von mindestens 10 min vor Abnahme des Atemkondensates sollte der Proband körperliche Anstrengung meiden sowie keine forcierten Atemmanöver (FEV, FVC, MVV) durchführen müssen.

Das Atemminutenvolumen wurde in diesem Fall während der Messung kontinuierlich durch einen der Apparatur zwischengeschalteten Volumen-Sensor (Triple V^{Delta}) bestimmt. Die Atemvolumina wurden hierbei direkt von einem Auswertungs-Programm (Oxycon Delta, Version 4,3) berechnet und angezeigt.

Ein Teil der Messungen im ersten Versuchsteil wurde nach vorheriger Inhalation von 10 ml Kochsalz (3%iger NaCl) durchgeführt. Hierzu wurde ein Medikamenten-Verneblungs-Set (Firma Kendall) verwendet. Unter gleichzeitiger Inhalation von ca. 8l O_2 wurde das Kochsalz eingeatmet. Es ist darauf zu achten, dass hierbei ebenfalls eine Nasenklemme zu tragen ist. Unmittelbar nachdem das Kochsalz vollständig inhaliert war (nach ca. 6 Minuten), wurde mit der Messung - wie unten beschrieben – begonnen.

a). 1.Versuchsreihe

Im ersten Teil der Messung (ohne NaCl-Inhalation) atmeten die Versuchspersonen (insgesamt 11 Nichtraucher) - jeweils mit kurzen Pausen nach jeder Messung - 5, 7.5, 10, 12.5 und 15 Minuten in das Sammelgerät. Im Anschluss daran mussten die Probanden noch einmal 7.5, 10, 12.5 und 15 min in das Sammelgerät atmen. Vor jeder einzelnen Messung musste Kochsalz inhaliert werden.

b) 2.Versuchsreihe

In diesem Versuchsteil wurden 20 Nichtraucher und 10 Raucher gemessen. Jeder Proband atmete einmal 15 min (ohne vorherige NaCl-Inhalation) in das Sammelgerät. Diese Messung wurde je Proband an 3 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, um die Tag-zu-Tag-Variabilität zu ermitteln.

3.7. Behandlung der gewonnenen Exhalatprobe

Das Probensammelrohr bzw. Sammelgefäß werden nach beendeter Messung aus dem Gerät entfernt. Das Gewicht des Exhalationskondensates wird durch Wägung des Sammelrohres bestimmt, indem man die Differenz der Gewichtswerte des Sammelröhrchens vor und nach der Probandenmessung errechnet. Daraufhin wird das Kondensat kurzzeitig aufgetaut (+4°C) und bei 3000 U/min 8 min zentrifugiert (Hettich Universal 30 RF, Rotor:1424 A), um es im flüssigen Zustand in ein Plastiksammelröhrchen (Original Eppendorf Safe Lock, 1,5 ml) zu pipettieren und es gleich wieder einzufrieren. Im Tiefkühlschrank verweilt die Probe bei – 80°C im geschlossenen Zustand bis zur Analyse. Durch das Pipetieren wird gleichzeitig die Volumenmenge des Kondensates ermittelt.

Zur quantitativen Bestimmung der Proteinmenge wurde der Microprotein Assay nach Pierce verwendet.

Durchführung des Tests:

Herstellung eines Farbreagens (Micro BCA, Pierce 23235) durch Mischung von drei verschiedenen Farbreagentien nach Anleitung. Standardverdünnung: Albumin Standard nach Pierce (Nr. 23209) in 1 ml- Ampullen. Ausgehend von dieser Stocklösung (Konzentration: 2000 µg/ml), von der 400 µl entnommen wurden und mit 1600 µl Aqua dest. gemischt wurden (Standard 1), wurde in einer Verdünnungsreihe von jedem Standard jeweils die Hälfte (1000 µl) abpipettiert und mit der gleichen Menge Aqua dest. verdünnt. So ergaben sich für die Standardlösungen von 1-6 folgende Konzentrationen: 400, 200, 100, 50, 25 und 12,5 µg/ml.

Testablauf:

Zuerst wurden alle Glasröhrchen für Standards (n = 6) und Proben (n = 30) beschriftet. Anschließend wurden 300 µl Standard bzw. Probe in entsprechendes Röhrchen pipettiert. Dann pipettierte man jeweils 300 µl Aqua dest. in Blank-Röhrchen. Zu allen Röhrchen musste darauf 300 µl Farbreagenz gegeben und gemischt werden. Alle Röhrchen wurden dann mit Parafilm verschlossen und 1 h bei 60° C in ein Wasserbad gestellt. Nach der Inkubation mussten alle Röhrchen auf Raumtemperatur abgekühlt werden. Nun wurden jeweils 200 µl aus jedem Röhrchen in eine Microtiterplatte pipettiert (Doppelbestimmung). Bei 562 nm im Elisa-Reader wurde dann die optische Dichte gemessen.

3.8 Statistik

Die Eingabe der Originaldaten und die Erstellung von Tabellen und Diagrammen erfolgte über Excel 97. Die weitere Analyse der Daten wurde über ein Statistikprogramm (STASY V10.11 © PIC GmbH) erstellt. Dabei wurden die folgenden Tests verwendet:

- Regressionsanalysen (4.A. –D.) zur Erstellung von Regressionsgleichungen.

•Spearman'scher Rang-Korrelationskoeffizient (4.A.,C.,D.1.) zur Prüfung, ob eine Korrelation zwischen 2 unterschiedlichen Reihen von Messwerten besteht.

•U-Test nach Mann-Whitney (4.D.2.,E.2.-4.,F.3.-8.) zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben.

•U-Test nach Wilcoxon (4.F.1.u.2.) zum Vergleich zweier verbundener Stichproben.

Ferner wurden über Excel 97 zu allen gemessenen Daten Mittelwerte und Standardabweichungen ermittelt.

IV. ERGEBNISSE

1. Kondensat- Volumen bzw.- Gewicht / Zeit

Mit zunehmender Dauer der geatmeten Zeit steigen sowohl das Gewicht, als auch das Volumen des AK nahezu linear. Beim Gewicht ergab sich eine Regressionsformel von $y = 0,031 x + 0,144$ ($R^2 = 0,9901$) für das Volumen betrug die Regression $y = 0,030 x + 0,49$ ($R^2 = 0,982$). Es besteht, wie auch aus den Diagrammen (unter 4.A.) ersichtlich wird, ein enger Zusammenhang zwischen Volumen bzw. Gewicht und geatmeter Zeit. Diese Tatsache konnte mit dem Rangkorrelationstest nach Spearman, wo die beiden Messgrößen gegenübergestellt wurden, statistisch bestätigt werden. Zu allen Messzeitpunkten war die Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ und somit signifikant.

	5 min	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
Gewicht (g)	0,30 +/- 0,06	0,38 +/- 0,07	0,43 +/- 0,078	0,52 +/- 0,1	0,62 +/- 0,13
Volumen (µl)	205,4 +/- 74,5	283,6 +/- 51,8	346,3 +/- 68,4	404,5 +/- 110,6	523,6 +/- 130,1
V`E (l)	53,81 +/- 16,5	74,75 +/- 19,5	99,17 +/- 24,5	124,18 +/- 25,7	148,6 +/- 36,4

Tab. 6: Gewicht, Volumen und V`E (arithm. Mittel +/- Standardabweichung)

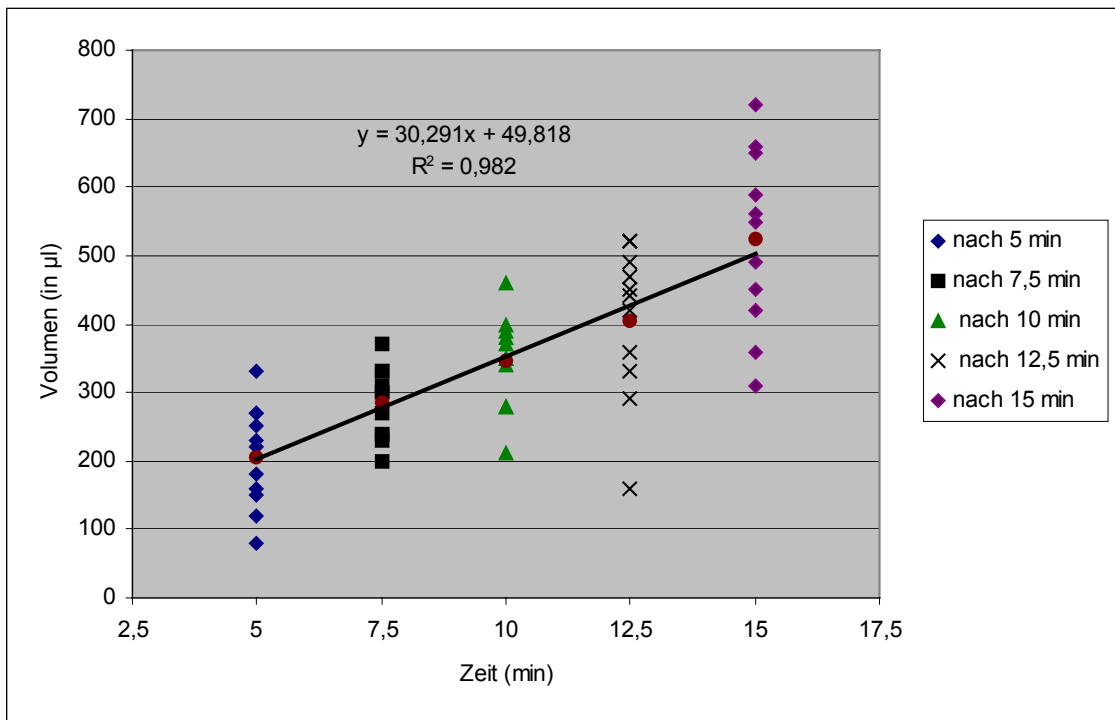


Abb. 4: Volumen(μl) / Zeit(min)

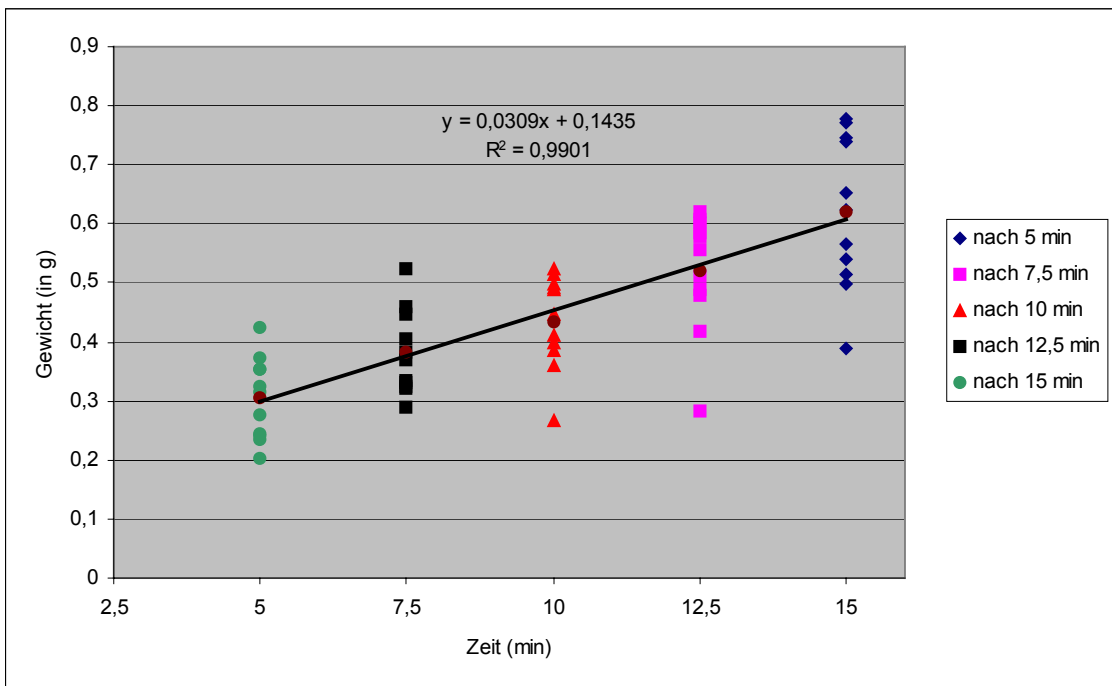


Abb. 5: Gewicht(g) / Zeit(min)

	5 min	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
p- Wert	0,032	0,014	0,001	0,0001	0,0001
R- Wert	0,574	0,650	0,826	0,920	0,927

Tab. 7 Korrelation von Gewicht und Volumen:

Die deutlichen Ergebnisse zeigen, daß die Korrelation zu den längeren Meßzeiten hin besser wird.

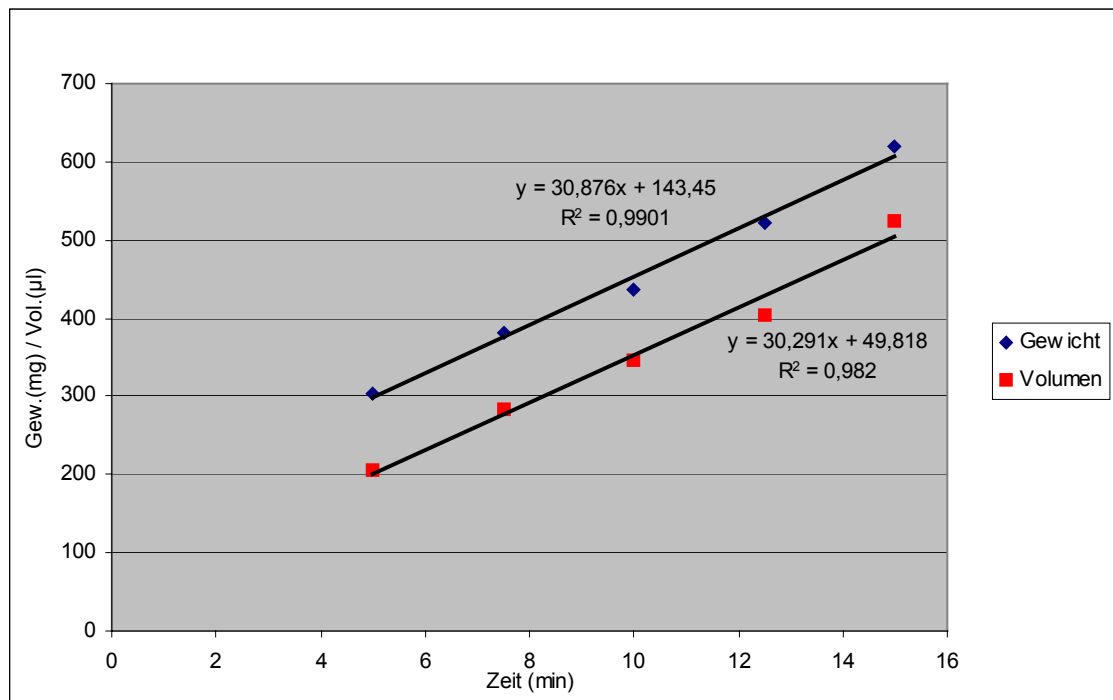


Abb. 6: Gewicht u. Volumen / Zeit

2. Volumen der abgeatmeten Luft ($\dot{V}E$) / Zeit

Während der gesamten Versuchsdauer waren die Werte von $\dot{V}E$ sehr konstant. In diesem Fall bedeutete das, dass ein Proband zu allen Messzeitpunkten im Durchschnitt 10,08 +/- 0,35 Liter / min exhalierete. Die abgeatmete Luft ($\dot{V}E$) verhielt sich auch annähernd linear steigend zur Zeit. Hieraus lässt sich eine Regressionsformel von $y = 30,29x + 49,82$ ($R^2 = 0,982$) berechnen.

	5 min	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
$\dot{V}E$ (l)	53,8 +/- 16,54	74,75 +/- 19,5	99,2 +/- 24,56	124,1 +/- 25,77	148,6 +/- 36,4

Tab. 8: $\dot{V}E$ / Zeit

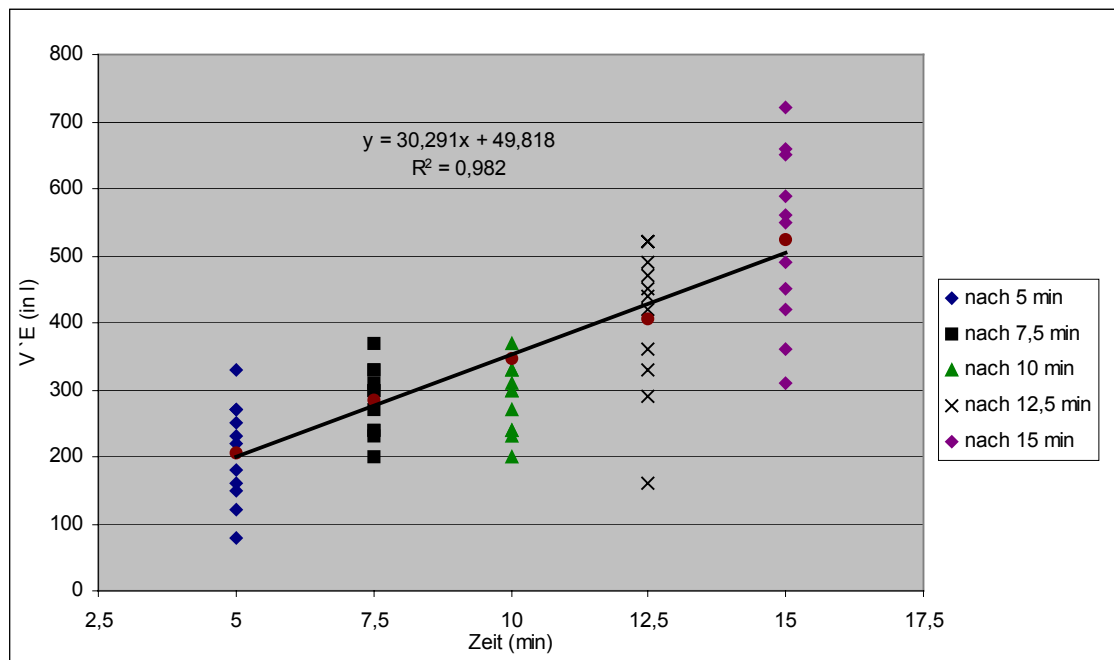


Abb. 7: $\dot{V}E$ / Zeit

3. Kondensat-Volumen / Volumen der abgeatmeten Luft (V`E)

In diesem Fall wurde der Zusammenhang zwischen dem zu einem bestimmten Zeitpunkt produziertem AK-Volumen und der geatmeten Luft (V`E) überprüft. Die Ergebnisse zeigten wieder eine fast lineare Regression: $y = 3,17x + 35,68$ ($R^2 = 0,982$). Im Rangkorrelationstest nach Spearman wurden die Variablen Volumen und V`E einander gegenübergestellt:

	5 min	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
Volumen (µl)	205,4 +/- 74,5	283,6 +/- 51,8	346,3 +/- 68,4	404,5 +/- 110,6	523,6 +/- 130,1
V`E (l)	53,81 +/- 16,5	74,75 +/- 19,5	99,17 +/- 24,5	124,1 +/- 25,7	148,6 +/- 36,4
p- Wert	0,052	0,052	0,093	0,038	0,014
R- Wert	0,515	0,513	0,429	0,553	0,655

Tab. 9: Volumen / V`E

Eine gute, d.h. signifikante Korrelation zeigte sich bei 12.5 und 15 min, da hier jeweils $p < 0,05$ war. Die beste Korrelation zeigte sich nach 15 Minuten.

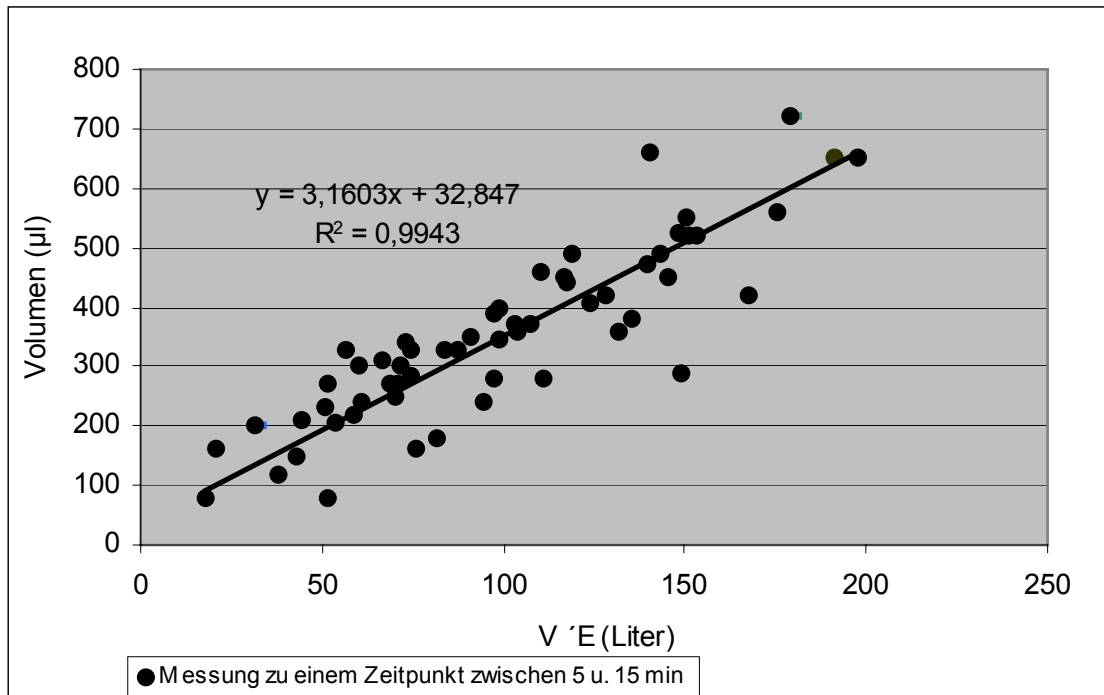


Abb. 8: Volumen (μl) / V'E (l)

4. Nach NaCl-Inhalation

4.1. Kondensat-Volumen bzw.-Gewicht / Zeit

Wie auch schon in Ergebnisteil A (ohne NaCl-Inhalation) beobachtet, wachsen die Werte des AK-Volumens, bzw. -Gewichts auch in diesem Falle, in Abhängigkeit zur Zeit, mit ähnlicher Steigung (siehe Diagramm). Es konnten folgende Regressionsformeln errechnet werden: $y = 71,23 x + 351,7$ ($R^2 = 0,9419$) beim Gewicht und $y = 76,4 x + 252,7$ ($R^2 = 0,9882$) beim Volumen. Im Rangkorrelationstest nach Spearman (Gegenüberstellung von Volumen und Gewicht) war allerdings nur zu einem Zeitpunkt (12,5 min) eine signifikante Übereinstimmung der beiden Messwerte festzustellen ($p < 0,05$).

	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
Gewicht (g)	0,41 +/- 0,1	0,49 +/- 0,07	0,59 +/- 0,11	0,61 +/- 0,099
Volumen (µl)	321,8 +/- 62,7	410 +/- 46,0	495 +/- 90,3	548,1 +/- 106,7
V _E (l)	78,4 +/- 12,3	105,7 +/- 13,5	126,4 +/- 16,2	152,9 +/- 20,1

Tab. 10: Gewicht, Volumen u. V_E nach NaCl-Inhalation (arithm. Mittel +/- Standardabweichung)

	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
p - Wert	0,060	0,004	0,262	0,058
R- Wert	0,494	0,740	0,219	0,500

Tab. 11: Korrelation von Gewicht und Volumen

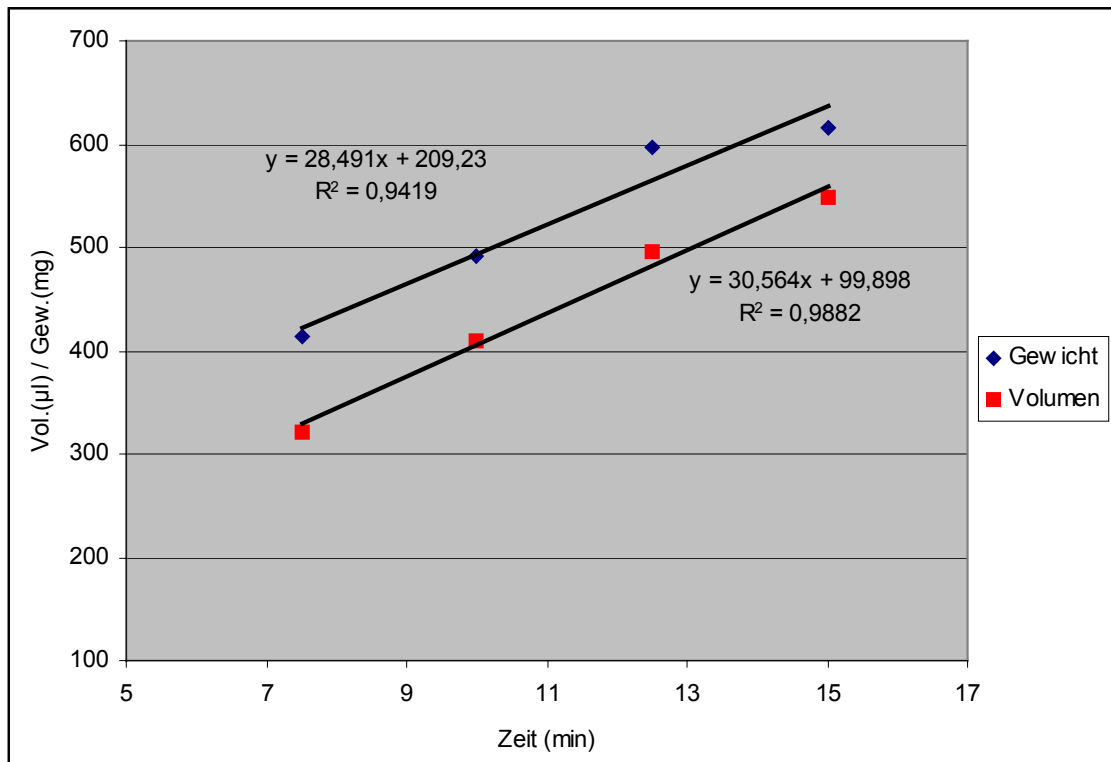


Abb. 9 : Volumen (µl) u. Gewicht (mg) / Zeit

4.2. Vergleich: nach bzw. ohne NaCl –Inhalation

Die Werte von Kondensatvolumen und -Gewicht differieren zu den Zeitpunkten 7.5, 10 und 12.5 Minuten leicht: Wurde vorher NaCl eingeatmet, lagen die AK-Volumina und das Gewicht der Proben durchweg, wenn auch nur geringfügig, über den Werten der Proben ohne vorherige NaCl- Inhalation. Nach 15 Minuten war jedoch fast kein (Gewicht) bzw. nur geringer (Volumen) Unterschied feststellbar. Im U-Test nach Mann-Whitney wurden Gewicht und Volumen nach bzw. ohne NaCl- Inhalation miteinander verglichen:

	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
ohne NaCl	0,38 +/-0,07	0,43 +/-0,078	0,52+/-0,1	0,62 +/-0,13
mit NaCl	0,41 +/- 0,1	0,49 +/- 0,07	0,59 +/- 0,11	0,61 +/- 0,099
p – Wert	0,125	0,026	0,089	0,435
U – Wert	43,0	31,0	40,0	58,0

Tab.12: Gewicht nach bzw. ohne NaCl-Inhalation; Gewicht (μg):

	7,5 min	10 min	12,5 min	15 min
ohne NaCl	283,6 +/-51,8	346,3 +/-68,4	404,5+/-110,6	523,6 +/-130,1
mit NaCl	321,8 +/-62,7	410 +/- 46,0	495 +/- 90,3	548,1 +/-106,7
p – Wert	0,048	0,016	0,26	0,359
U – Wert	35,5	28,0	31,0	55,0

Tab. 13: Volumen nach bzw. ohne NaCl-Inhalation; Volumen (l):

Beim Gewicht waren nach 10 min, beim Volumen nach 7.5, 10 und 12.5 min signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) messbar. Nach 15 min war in beiden Fällen statistisch kein Unterschied mehr feststellbar ($p = 0,435$ und $0,359$).

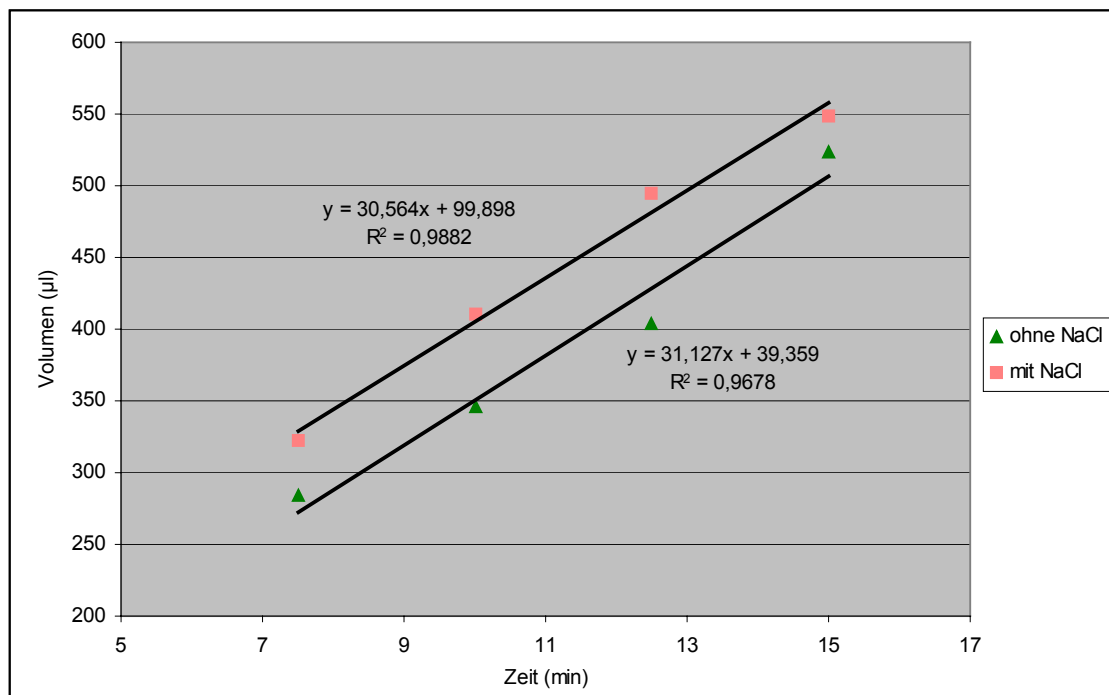


Abb.10: Vergleich: mit bzw. ohne NaCl-Inhalation (Volumen / Zeit)

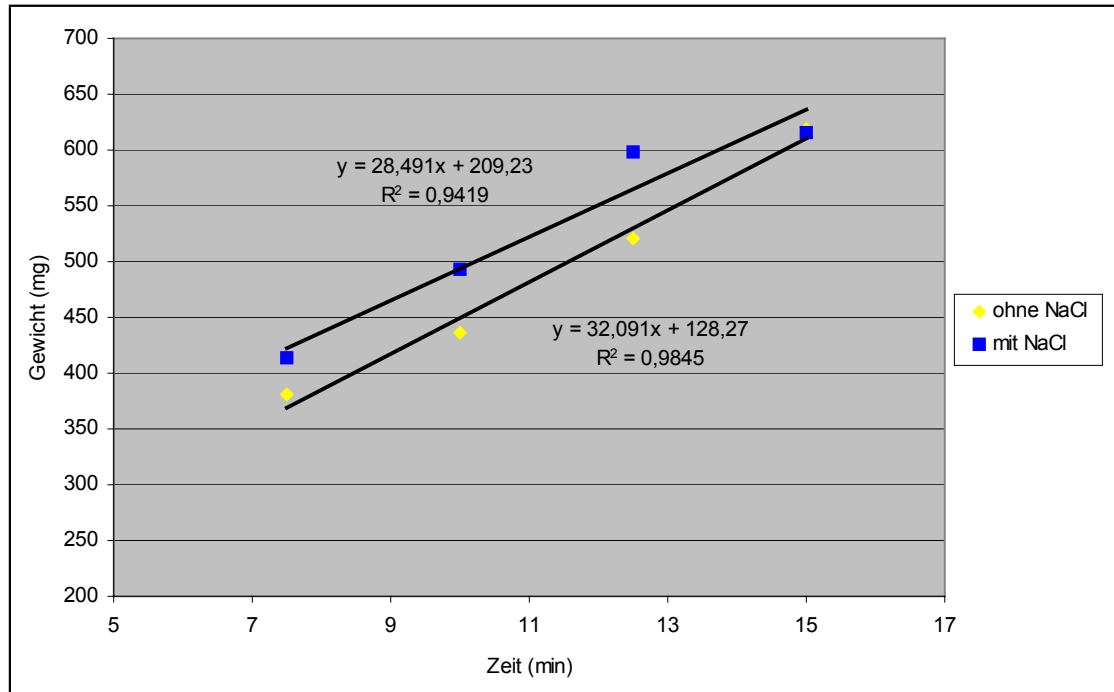


Abb.11: Vergleich: mit bzw. ohne NaCl-Inhalation (Gewicht / Zeit)

Totalprotein im Exhalationskondensat

5.1. Ergebnisse aller Probanden

Bei der Messung von insgesamt 30 Probanden (davon 10 Raucher, 20 Nichtraucher, bzw. 16 Frauen und 14 Männer) ergab sich photospektrometrisch ein Mittelwert von $44,40 \pm 17,27 \mu\text{g/ml}$ Protein je Proband.

Proband-Nr.	Prot.(µg/ml)	Gewicht(mg)	Volumen(µl)
1.	34,34	740	680
2.	60,81	725	620
3.	56,03	739	570
4.	49,67	607	430
5.	65,8	826	685
6.	36,23	785	650
7.	33,63	1075	930
8.	53,3	996	940
9.	49,88	662	580
10.	62,65	700	600
11.	16,3	821	720
12.	40,68	616	520
13.	40,71	735	620
14.	59,32	753	660
15.	30,84	766	680
16.	20,69	835	835
17.	38,9	744	744
18.	40,57	687	687
19.	32,3	579	579
20.	34,6	576	576
21.	22,5	680	680
22.	28,6	691	691
23.	74,9	546	546
24.	29,6	656	656
25.	47,4	641	641
26.	95	507	507
27.	42,7	388	388
28.	44,7	740	740
29.	60,8	522	522
30.	28,6	770	650

Mittelwert	44,4016667	703,6	644,233333
Stabw. +/-	17,2797306	137,416708	122,117152

Tab. 14 : Proteinmenge, Gewicht und Volumen des AK

5.2. Zusammenhang zwischen der Proteinmenge und dem Exhalatvolumen

Mit dem Pearsonschen Korrelationstest wurden die Ergebnisse der photospektrometrisch bestimmten Proteinmengen (Mikroproteintest nach Pierce) der 30 Probanden den Werten der entsprechenden Exhalatvolumina gegenübergestellt, um einen möglichen Zusammenhang zu ermitteln. Die negative Korrelation von $R = -0,366$ zeigt, dass ein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern offensichtlich nicht besteht. Die Proteinmengen weisen keine Abhängigkeit von der AK-Menge auf, sondern gehen zum Teil mit großen Werten bei kleinen Exhalatvolumina (und umgekehrt) einher, so dass keine Gesetzmäßigkeiten ersichtlich werden.

Proband-Nr.	Prot.($\mu\text{g/ml}$)	Gewicht(mg)	Volumen(μl)
1.	34,34	740	680
2.	60,81	725	620
3.	56,03	739	570
4.	49,67	607	430
5.	65,8	826	685
6.	36,23	785	650
7.	33,63	1075	930
8.	53,3	996	940
9.	49,88	662	580
10.	62,65	700	600
11.	16,3	821	720
12.	40,68	616	520
13.	40,71	735	620
14.	59,32	753	660
15.	30,84	766	680
16.	20,69	835	835
17.	38,9	744	744
18.	40,57	687	687
19.	32,3	579	579
20.	34,6	576	576
21.	22,5	680	680
22.	28,6	691	691
23.	74,9	546	546
24.	29,6	656	656
25.	47,4	641	641
26.	95	507	507
27.	42,7	388	388
28.	44,7	740	740
29.	60,8	522	522
30.	28,6	770	650

Tab. 15: Zusammenhang zwischen Proteinmenge und Exhalatvolumen

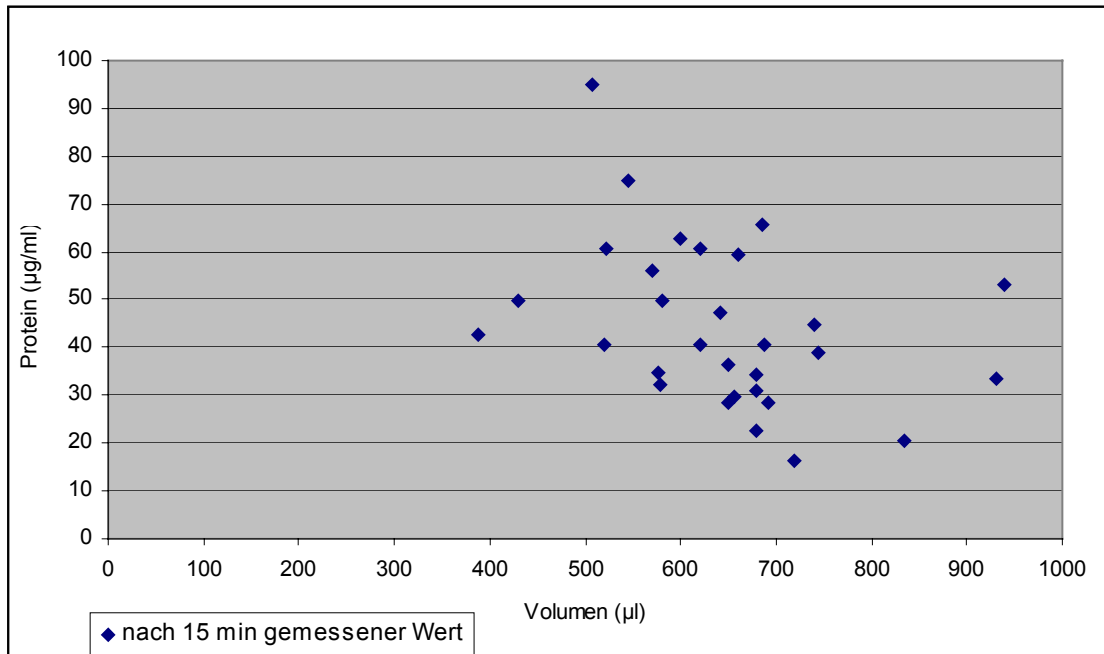


Abb. 12: relative Proteinmenge: Protein ($\mu\text{g/ml}$) / Volumen (μl)

5.3. Totalprotein im Exhalationskondensat

Ein Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern

Bei der getrennten Betrachtung von Rauchern ($n = 10$) und Nichtrauchern ($n = 20$) ergab sich für die Raucher ein Mittelwert von $40,5 \pm 10,9 \mu\text{g/ml}$ und für die Nichtraucher ein Mittelwert von $46,14 \pm 19,6 \mu\text{g/ml}$ Protein im AK. Mit dem U-Test nach Mann-Whitney wurden beim Vergleich der beiden Gruppen die folgenden Werte errechnet: $p = 0,275$ und $U = 82,0$. Somit unterscheiden sich die Proteinmengen von Rauchern und Nichtrauchern nicht entscheidend.

Proband-Nr.	Prot.($\mu\text{g/ml}$)	Gewicht(mg)	Volumen(μl)
1.	34,34	740	680
2.	60,81	725	620
3.	56,03	739	570
4.	49,67	607	430
5.	65,8	826	685
6. Raucher	36,23	785	650
7.	33,63	1075	930
8. Raucher	53,3	996	940
9.	49,88	662	580
10. Raucher	62,65	700	600
11.	16,3	821	720
12. Raucher	40,68	616	520
13. Raucher	40,71	735	620
14.	59,32	753	660
15. Raucher	30,84	766	680
16. Raucher	20,69	835	835
17. Raucher	38,9	744	744
18. Raucher	40,57	687	687
19.	32,3	579	579
20.	34,6	576	576
21.	22,5	680	680
22.	28,6	691	691
23.	74,9	546	546
24.	29,6	656	656
25.	47,4	641	641
26.	95	507	507
27.	42,7	388	388
28. Raucher	44,7	740	740
29.	60,8	522	522
30.	28,6	770	650

Raucher:	Mittelwert	40,5	762,6	696,9
	Stabw. +/-	10,9	96,7	115,6
Nichtraucher:	Mittelwert	46,139	675,2	615,55
	Stabw. +/-	19,6027372	146,232907	115,142235

Tab. 16: Totalprotein im AK - Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern

5.4. Totalprotein im Exhalationskondensat

Ein Vergleich von Männern und Frauen

Die getrennte Betrachtung von Männern (n = 14) und Frauen (n = 16) zeigte nur sehr geringe Unterschiede der beiden Geschlechter bezüglich ihrer AK-Proteinmengen (p = 0,483, U = 103,0) im U-Test nach Mann-Whitney. Folgende Mittelwerte ergaben sich: 43,87 +/- 14,94 µg/ ml Protein bei den Männern und 45,83 +/- 19,49 µg/ml Protein bei den Frauen im AK.

Proband-Nr.	Prot. (µg/ml)	Gewicht(mg)	Volumen(µl)
1. F	34,34	740	680
2. M	60,81	725	620
3. M	56,03	739	570
4. F	49,67	607	430
5. M	65,8	826	685
6. M	36,23	785	650
7. M	33,63	1075	930
8. M	53,3	996	940
9. F	49,88	662	580
10. F	62,65	700	600
11. F	16,3	821	720
12. F	40,68	616	520
13. F	40,71	735	620
14. M	59,32	753	660
15. F	30,84	766	680
16. M	20,69	835	835
17. F	38,9	744	744
18. F	40,57	687	687
19. F	32,3	579	579
20. M	34,6	576	576
21. M	22,5	680	680
22. M	28,6	691	691
23. F	74,9	546	546
24. F	29,6	656	656
25. M	47,4	641	641
26. F	95	507	507
27. M	42,7	388	388
28. M	44,7	740	740
29. F	60,8	522	522
30. M	28,6	770	650

F=Frauen:	Mittelwert	46,47	659,2	604,73
	Stabw. +/-	19,99	94,62	89,64

M=Männer:	Mittelwert	42,32	748	683,73
	Stabw. +/-	14,47	161,05	139,68

Tab. 17: Totalprotein im AK: Vergleich von Männern und Frauen

6.Tag –zu-Tag-Variabilität

6.1. Raucher (Gew. u. Vol. / Zeit)

Die Werte für Volumen und Gewicht des AK verhalten sich bei Rauchern nur an 2 von 3 Tagen relativ konstant. Es ergaben sich prozentuale Differenzen von max. 11,7 % (Vol.) und 10,3 % (Gew.) an den 3 verschiedenen Tagen. Im Wilcoxon-Test, in dem die Werte jedes Tages miteinander verglichen wurden, drückte sich das folgendermaßen aus: nur Tag 2 und Tag 3 wiesen dabei keinen signifikanten Unterschied zueinander auf ($p = 0,187$ beim Volumen und $p = 0,254$ beim Gewicht).

	Tag 1	Tag 2	Tag 3
Gewicht (mg)	741,1 +/-122,1	664,7 +/-121,2	682,6 +/-80,6
Volumen (µl)	643 +/-127,8	568 +/-105,38	585 +/-87,71

Tab. 18: Gewicht und Volumen an 3 verschiedenen Tagen; Tagesmittelwerte:

	Tag 1-Tag 2	Tag 1-Tag 3	Tag 2-Tag 3
Gewicht (mg)	0,005	0,008	0,254
Volumen (µl)	0,01	0,004	0,187

Tab. 19: Vergleich der einzelnen Tage miteinander; Wilcoxon-Test (p-Wert)

6.2. Nichtraucher (Gew. u. Vol./ Zeit)

Bei den Nichtrauchern waren die Ergebnisse weniger unterschiedlich: die Werte für Gewicht und Volumen differierten an den 3 aufeinanderfolgenden Tagen nicht so deutlich. Der Wilcoxon –Test ergab keine signifikanten Unterschiede (die p-Werte lagen zwischen 0,73 und 0,374). In Prozent ausgedrückt bedeutete das Variationen von max. 5,1 % (Vol.) und 1,7 % (Gew.) für die 3 verschiedenen Tage.

	Tag 1	Tag 2	Tag 3
Gewicht (mg)	678,4 +/- 130,8	692,5 +/- 104,9	684,4 +/- 114,3
Volumen (µl)	550,75 +/-133,1	580,2 +/- 116,2	572,2 +/- 117,8

Tab. 20: Tagesmittelwerte der Raucher (Gew. u. Vol.)

	Tag 1 – Tag 2	Tag 1 – Tag 3	Tag 2 -Tag 3
Gewicht (mg)	0,217	0,222	0,361
Volumen (µl)	0,73	0,81	0,374

Tab. 21: Vergleich der einzelnen Tage (Gew. u. Vol.); Wilcoxon-Test (p- Wert):

6.3. Tag-zu-Tag-Variabilität

Ein Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern (Kondensatgewicht / Zeit)

In diesem Fall wurden Raucher mit Nichtrauchern hinsichtlich ihres in 15 Minuten produzierten AK-Gewichtes verglichen. Der Gruppenvergleich im U-Test nach Mann-Whitney zeigte an Tag 1 gewisse - wenn auch keine signifikanten - Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,052$). An den nächsten Tagen lagen die Ergebnisse jeweils nur wenig auseinander ($p = 0,299$ an Tag 2 und $p = 0,413$ an Tag 3).

	Tag 1	Tag 2	Tag 3
Raucher	741,1 +/- 122,1	664,7 +/- 121,2	682,6 +/- 80,6
Nichtraucher	678,4 +/- 130,8	692,5 +/- 104,9	684,4 +/- 114,3
p - Wert	0,052	0,299	0,413
U - Wert	63,0	88,0	95,0

Tab. 22: Vergleich der Raucher und Nichtraucher an 3 verschiedenen Tagen (Gewicht (mg))

6.4. Tag-zu-Tag-Variabilität

Ein Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern (Kondensatvolumen / Zeit)

Beim AK-Volumen ergaben sich ähnliche Zahlen: Tag 1 zeigt hier signifikant unterschiedliche Werte für die beiden Gruppen ($p = 0,028$), die anderen Tage weisen mehr oder weniger vergleichbare Volumina auf ($p = 0,422$ an Tag 1 und $p = 0,145$ an Tag 2).

	Tag 1	Tag 2	Tag 3
Raucher	643 +/- 127,8	568 +/- 105,38	585 +/- 87,72
Nichtraucher	550,75 +/-133,1	580,2 +/- 116,2	572,2 +/- 117,8
p - Wert	0,028	0,422	0,145
U - Wert	56,5	95,5	76,0

Tab.23: Vergleich der Raucher und Nichtraucher an 3 verschiedenen Tagen (Volumen (μ l))

6.5. Tag-zu-Tag-Variabilität

Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern: Atemvolumen in 15 Minuten an 3 verschiedenen Tagen

Das Atemvolumen der Nichtraucher lag an allen 3 Tagen über dem Wert der Raucher. Durchschnittlich war es bei der Nichtrauchergruppe um 5,4 % höher. Im -Test nach Mann-Whitney drückte sich das folgendermaßen aus: Die Unterschiede an den einzelnen Tagen wurden zwar offensichtlich, aber dennoch an keinem U der Tage statistisch signifikant, d.h. p war immer größer als 0,05.

	Tag 1	Tag 2	Tag 3
Raucher	156,51 +/-32,83	152,32 +/-29,32	146,13 +/-28,57
Nichtraucher	159,53 +/-30,27	163,69 +/-36,72	156,72 +/-28,55
p- Wert	0,255	0,189	0,189
U- Wert	85,0	80,0	80,0

Tab. 24: Vergleich der Raucher und Nichtraucher an 3 verschiedenen Tagen ($V'E$ (l))

6.6. Tag-zu-Tag-Variabilität

Relatives Kondensatvolumen (Kond.-Vol./ V` E)

Tag 1	Tag 2	Tag 3
3,7	3,65	3,84

Tab. 25 Mittelwerte aller Probanden (Kond.-Vol. (μ l)/ V` E (l))

An den 3 Tagen zeigen sich bei den Tagesmittelwerten aller Probanden (n = 30) nur geringe Abweichungen bezüglich ihres relativen AK-Volumens. Die durchschnittlich in 15 min bei den Probanden pro exhaliertem Liter Luft gesammelte Kondensatmenge lag bei 3,73 +/- 0,098 μ l / l.

6.7. Tag-zu-Tag-Variabilität:

Relatives Kondensatvolumen (Kond.-Vol. / V` E)

Ein Vergleich von Rauchern und Nichtrauchern

Bei der getrennten Betrachtung von Rauchern (n = 10) und Nichtrauchern (n = 20) zeigten sich an 2 von 3 Tagen relativ gut übereinstimmende Werte zwischen den beiden Gruppen. Lediglich der Gruppenvergleich an Tag 1 zeigte signifikante Unterschiede.

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Mittelwert	Standardabw.
Raucher	4,123	3,75	4,06	3,97	+/- 0,197
Nichtraucher	3,44	3,59	3,64	3,56	+/- 0,1

Tab. 26: Vergleich von Rauchern-Nichtrauchern: Volumen / V`E (μ l/l) an 3 verschiedenen Tagen

Im U-Test nach Mann-Whitney ergab ein Gruppenvergleich am ersten Tag einen sehr signifikanten Unterschied ($p = 0,001$) zwischen Rauchern und Nichtrauchern. Tag 2 zeigt geringere Differenzen ($p = 0,354$), der dritte Tag weist mit $p = 0,073$ etwas mehr Abweichungen auf. Insgesamt lagen die Werte der Raucher um 10,4 % höher als die der Nichtraucher. Anders ausgedrückt bedeutete das: trotz eines um 5,2% tiefer liegendem Atemminutenvolumens der Rauchergruppe, lag ihre AK-Produktion um 5,2 % über derjenigen der Nichtrauchergruppe.

6.8. Tag-zu-Tag-Variabilität:

Relatives Kondensatvolumen (Kond.-Vol./ V`E)

Ein Vergleich von Männern und Frauen

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Mittelwert	Standardabw.
Männer	3,47	3,61	3,85	3,64	+/- 0,186
Frauen	3,87	3,68	3,84	3,8	+/- 0,100

Tab. 27: Vergleich von Männern und Frauen : Volumen / V`E ($\mu\text{l/l}$) an 3 verschiedenen Tagen

Tag 1	Tag 2	Tag 3
0,042	0,434	0,492

Tab. 28: p -Werte (U-Test):

Beim Vergleich der Geschlechter zeigten sich wiederum keine entscheidenden Unterschiede: In diesem Fall wiesen die Werte der pro Liter exhalierter Luft produzierten Kondensatmenge, gemäß U-Test nach Mann Whitney, an Tag 2 ($p = 0,434$) und Tag 3 ($p = 0,492$) wenig Differenzen zwischen den Geschlechtern auf. Lediglich Tag 1 zeigt mit $p = 0,042$ signifikante Unterschiede.

V. DISKUSSION

Einsatzmöglichkeiten und Perspektiven der Atemkondensatmethode

Das Verfahren der AK-Sammlung zur Erfassung von Entzündungsmediatoren in den Atemwegen ist eine neue Generation „sanfter“ nicht invasiver Diagnostik. Diese Methode gibt die Möglichkeit ohne Belastung des Patienten aus der Lunge und den tiefen Atemwegen stammendes Material selektiv ohne Speichelbeimengung zu sammeln und einer Analyse zuzuführen. Sie könnte ein neues diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von Veränderungen des Lungenstoffwechsels und des Entzündungsstatus der Lunge werden. Aus einem Bericht der FILT Forschungsgesellschaft für Lungen – und Thoraxerkrankungen (7) geht hervor, dass diese Technik nach aktuellem Wissensstand hilfreich bei der Diagnostik und Therapie von

- Asthma bronchiale,
- chronischer Bronchitis und
- cystischer Fibrose sein kann.

Außerdem sei ein Einsatz des ECo Screen bei den folgenden Fragestellungen von besonderem Interesse, bzw. empfehlenswert (3;7):

- Nachweis der entzündlichen Reaktion der Atemwege während oder nach einer inhalativen Belastung durch Irritantien oder Allergene bzw. Stäube, Aerosole oder Gase schon im subklinischen Bereich, d.h. bei noch fehlender Veränderung der Lungenfunktion:

- nach natürlicher oder professioneller Exposition
- im Rahmen von gezielten Expositions- oder Provokationstests (z.B. beruflich bedingtem Asthma)

-

- Therapiekontrolle, bzw. Effektmonitoring bei antientzündlicher Therapie von Atemwegserkrankungen mit z.B. inhalativen Glukokortikoiden oder Leukotrienrezeptorantagonisten
- Nachweis von tumorassoziierten DNA-Mutationen z.B. Ki-ras oder P53-Gen-Mutationen oder sogar direkt von Krebswachstum

Es wird diskutiert (2), dass die AKM zu punktuellen Einmalbestimmungen und auch zu Verlaufsbeobachtungen benutzt werden kann. Außerdem könne sie wegen ihrer einfachen Durchführung und geringen Belastung für den Patienten beliebig oft durchgeführt werden (2;5) und sei somit als Routineuntersuchung oder Screeningtest zumutbar. Gerade zur Verlaufskontrolle von asthmatischen Erkrankungen könnte die AKM eine große Hilfe sein.

Trotz einiger sehr vielversprechender Ansätze und Möglichkeiten dieser Methodik, wird aus den noch relativ wenigen Quellen, die sich mit dieser Thematik befassen, immer wieder deutlich, dass sich die Forschung auf diesem Gebiet noch in einem relativen Anfangsstadium befindet. So ist es nicht verwunderlich, dass noch viel Bedarf an Erfahrungswerten und standardisierten Werten vorhanden ist, um auf diese Ergebnisse als Grundlagen zurückgreifen zu können und darauf aufbauende Forschung zu betreiben. Neue Forschungsergebnisse können auf diese Weise besser eingestuft werden. Wie auch in Texten z.B. von S.V. Culpitt und R.E.K. Russel zur AKM (8) wird immer wieder der Ruf nach Standardisierung der Sammlung und Verarbeitung von AK laut.

Die bisher vorliegenden Studien befassen sich ausschließlich mit der Messung gesunder Probanden. Sie verfolgen das Ziel einer Validierung des AK. Da es in diesem Bereich (wie oben angesprochen) - aufgrund der kurzen Vorgeschichte der Erforschung - nicht sehr viele Erfahrungswerte gibt, sollen die durchgeführten Untersuchungen dazu

beitragen, das Messverfahren zu standardisieren, um es möglicherweise demnächst dem klinischen Gebrauch zugänglich zu machen.

In der ersten Versuchsreihe werden grundsätzliche Zusammenhänge, bezüglich des Volumens, Gewichts und $V \cdot E$ geklärt:

Kondensat – Volumen und –Gewicht / Zeit

Jeder Proband musste sich in diesem ersten Versuchsteil mehreren aufeinanderfolgenden Messungen unterziehen (5 – 7,5 – 10 – 12,5 – 15 min). Hierdurch wurde sehr bald die direkte Abhängigkeit der AK-Menge – d.h. sowohl des Gewichts als auch des Volumens – von der Zeit ersichtlich. Nahezu konstant wurden pro Minute 47,5 +/- 5,2 mg bzw. 36,2 +/- 3,2 μ l AK gemessen, was sich (wie in Abb. 1 ersichtlich) in einem linearen Anstieg der Kurven dieser beiden Werte äußert. Auch korrelieren Gewicht und Volumen untereinander sehr gut. Die Irrtumswahrscheinlichkeit p liegt zu jedem Zeitpunkt im deutlich signifikanten Bereich, ab 10 min Messdauer bei $p = 0,001$. Aufgrund der Deutlichkeit dieses Ergebnisses kann geschlussfolgert werden, dass es ausreichend ist, nur einen der beiden Werte zu bestimmen.

Volumen der abgeatmeten Luft ($V \cdot E$) / Zeit

Die Probanden wurden vor der Messreihe dazu aufgefordert, ruhig und gleichmäßig zu atmen, um große Schwankungen in der Messung zu vermeiden. Tatsächlich zeigte sich eine deutliche Konstanz der Ergebnisse: 10,08 +/- 0,3 Liter / min wurden im Durchschnitt exhalieret. Tagesdifferenzen von nur durchschnittlich 3 % belegen, dass sich die Werte von $V \cdot E$ zu allen Zeitpunkten sehr konstant zueinander verhielten und dass es ganz offensichtlich unproblematisch für die Probanden war, eine gleichmäßige Atmung durchzuhalten. Offenbar ändert auch eine längere Versuchsdauer von max. 15 min daran nichts. Aus dieser Tatsache kann man schließen, dass die Atmung auch mit dem leicht vergrößertem Totraum wie bei der hier verwendeten Messapparatur, keiner

besonderen körperlichen Anstrengung bedurfte. So müssten auch Versuchszeiten dieser Länge einem kranken Patienten, der in der Lage ist aus eigener Kraft zu atmen, ohne große Bedenken zugetraut werden können, was die Probanden nach der Messung noch einmal subjektiv bestätigten. Becher et al. schreiben (2), dass aufgrund der für den Patienten nicht belastenden Probengewinnung auch Mehrfachmessungen im Rahmen von Verlaufskontrollen unproblematisch sind.

Kondensatvolumen / Volumen der abgeatmeten Luft ($V'E$)

AK-Volumen und $V'E$ wurden hier auf einen möglichen Zusammenhang untersucht. Es zeigte sich, dass die produzierte Volumenmenge direkt von der geatmeten Luft abhängig ist. Bei Ruheatmung war der Anstieg des gemessenen Volumens nahezu linear zur geatmeten Luftmenge ($V'E$). V.a. bei 12,5 und 15 min Atemzeit war die Korrelation der beiden Größen signifikant. Dabei betrug die relative AK-Menge $3,65 \pm 0,17 \mu\text{l}$ pro Liter. Wie auch Ch. Gessner et al. vermuten (10), kann man aufgrund der Deutlichkeit des Ergebnisses folgern, dass nicht funktionelle Lungenparameter entscheidend für die produzierte AK-Menge sind, sondern eine direkte Abhängigkeit von $V'E$ besteht. Die Kondensatwerte könnten in Zukunft zur Vereinfachung und Vereinheitlichung (wie o.a.) immer auf den Liter geatmeten Volumens bezogen angegeben werden.

Messung nach NaCl – Inhalation

In diesem Versuchsteil sollte geklärt werden, inwiefern durch eine NaCl – Inhalation die Messwerte beeinflusst werden können und ob sich dadurch die AK-Menge steigern

lässt. Die Probanden mussten vor jeder Messung 3 %ige Kochsalzlösung inhalieren. Anschließend jeweils 7,5 – 10 – 12,5 und 15 min in den Exhalationskondensator atmen. Wie auch in der Messung ohne NaCl – Inhalation (IV.1.), kommt es auch hier zu einem fast linearen Anstieg der Kurven von Gewicht und Volumen. Allerdings liegen die Messwerte mit NaCl – Inhalation bis 12,5 min kontinuierlich über den Werten ohne NaCl, so dass sich im U-Test nach Mann Whitney bis zu diesem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zeigen ($p < 0,05$). Je länger die Atemzeit aber dauert, umso weniger macht sich der Unterschied noch bemerkbar. Bei 15 min haben sich die Werte nahezu einander angeglichen, so dass $p = 0,359$ beim Volumen und $p = 0,435$ beim Gewicht ist und der Unterschied somit nicht mehr signifikant ist. Da NaCl – Inhalation keine wesentliche Steigerung der AK-Menge bewirkt und da sowohl mit, wie auch ohne NaCl eine suffiziente AK-Menge (, die gemäß der Forschungen von Dohlmann und Becher (2;9) bei $> 500 \mu\text{l}$ liegt,) erst nach 15 min erreicht wird, läßt sich daraus schließen, daß NaCl - Inhalation keine Vorteile bringt.

Totalprotein im Exhalationskondensat

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt befindet sich die Erforschung von Proteinen im AK noch im Anfangsstadium. Das liegt zum einem daran, dass aktuelle Proteinanalyseverfahren an ihrer Nachweisbarkeitsgrenze angelangt sind, zum anderen hat sich die Wissenschaft bisher v.a. auf andere (vielversprechende) Parameter wie Leukotrien B₄, H₂O₂ oder 8-Isoprostan konzentriert, um nur einige Namen zu nennen. Ziel dieses Versuchsteils war es, anhand photospektrometrischer Messungen quantitative Aussagen über Proteinmengen zu machen und dabei eventuell Gesetzmäßigkeiten offen zu legen. Als Probanden dienten 30 Personen, diese wurden in Abhängigkeit ihrer Gruppenzugehörigkeit miteinander verglichen:

- Raucher (n = 10)
- Nichtraucher (n = 20)
- Männer (n = 14)
- Frauen (n = 16)

Alle Probanden produzierten durchschnittlich $44,95 \pm 17,32 \mu\text{g/ml}$ Protein. Die Raucher ($40,5 \pm 10,9 \mu\text{g/ml}$) unterschieden sich von den Nichtrauchern ($46,1 \pm 19,6 \mu\text{g/ml}$) zwar etwas, jedoch nicht signifikant ($p = 0,275$). Ähnliche Ergebnisse sah man bei Männern ($43,8 \pm 14,9 \mu\text{g/ml}$) und Frauen ($45,8 \pm 19,4$): hier waren die Unterschiede sehr gering ($p = 0,483$).

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass weder Rauchen noch das Geschlecht erkennbaren Einfluss auf die exhalierte Proteinmenge haben. Aufgrund der relativ kleinen Anzahl der gemessenen Raucher ($n = 10$) kann jedoch nicht eindeutig gesagt werden, ob dieser Unterschied nicht durch ein größeres Probandenkollektiv egalisiert worden wäre. Dieser Sachverhalt sollte in Zukunft weiter beobachtet werden, um herauszufinden, ob zwischen Raucher und Nichtraucher unterschieden werden muss oder ob diese Schwankung zufallsbedingt war.

Außerdem wurde geprüft, ob eine Abhängigkeit der Proteinmenge von der AK-Menge besteht. Auch das scheint nicht der Fall zu sein, was durch eine negative Korrelation ($R = -0,366$) unterstrichen wird, d.h. individuelle Faktoren der Probanden scheinen größeren Einfluss auf die Proteinmenge zu haben. Es könnte in Zukunft z.B. geprüft werden, wie sich verschiedene Krankheiten quantitativ und qualitativ auf Proteinwerte auswirken. Ob diese Untersuchungen wirklich diagnostisches Potential bieten, könnten weitere Studien zeigen.

Tag – zu – Tag – Variabilität

Becher et al. postulieren immer wieder (6;7), daß die AKM aufgrund ihrer geringen Belastung für den Patienten beliebig oft wiederholt werden kann. Aber sind die Ergebnisse späterer Messungen mit vorher gemessenen Werten überhaupt zuverlässig vergleichbar? Gibt es Schwankungen der Messergebnisse (Gewicht, Volumen, V`E), wenn man den Test an einem anderen Tag wiederholt?

Um diese Fragen zu klären, wurden bei 30 Probanden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen – wieder getrennt nach Rauchern (n = 10), Nichtrauchern (n = 20), Männern (n= 14) und Frauen (n = 16) – miteinander verglichen. Bei Rauchern und Nichtrauchern (innerhalb der Gruppe) zeigten die Ergebnisse von Gewichts- und Volumenmessung relativ geringe Abweichungen zwischen den 3 Tagen. Lediglich die Werte von Tag 1 bei Rauchern weisen signifikante Unterschiede zu den anderen 2 Tagen ($p < 0,05$) auf.

Bei einer Gegenüberstellung der Raucher und Nichtraucher im Gruppenvergleich fanden sich keine wesentlichen Unterschiede bezüglich Gewicht, Volumen und V'_{E} . Nur Tag 1 weist Differenzen zwischen den Gruppen beim Gewicht ($p = 0,052$) und Volumen ($p = 0,028$) auf, was allerdings auch an einer etwas größeren V'_{E} bei den Rauchern an Tag 1 liegt (was automatisch zu einer etwas höheren AK-Produktion führt). Trotz der Abweichung des 1. Tages (die aber, wenn Gewicht und Volumen auf den Liter geatmeter Luft bezogen werden ohnehin fast egalisiert ist), kann man schließen, dass die Wiederholbarkeit der AKM sehr gut ist (3).

An dieser Stelle soll noch einmal darauf hingewiesen werden, dass es sehr wichtig ist, den Patienten zu einer ruhigen, gleichmäßigen Atmung aufzufordern, um kleine Wertschwankungen wie – in diesem Fall – an Tag 1 bei den Rauchern zu vermeiden. Becher et al. fordern in *Medizintechnik* 3/97 (2), jegliche Atemmanöver während der Messung zu unterlassen, um eine belastungsbedingte Beeinflussung der Atemwegsfunktion zu verhindern.

Bei der Betrachtung des relativen Kondensatvolumens ($\mu\text{l} / V'_{E}$) lagen die Werte der Raucher (4,12 ; 3,75 ; 4,06 $\mu\text{l/l}$) an allen Tagen um durchschnittlich 10,4 % über denen der Nichtraucher (3,44 ; 3,59 ; 3,64 $\mu\text{l/l}$), was allerdings noch keinem signifikantem Unterschied entspricht. Dieses Ergebnis würde aber zu der Beobachtung von P.Panagou et al. (12) passen, dass Personen mit Atemwegsbelastungen, bzw. mit chronischen Erkrankungen nicht nur mehr Entzündungsmediatoren produzieren, sondern auch quantitativ höhere AK-Mengen. Ob größere Probandenzahlen eindeutigere Ergebnisse gezeigt hätten, konnte nicht geklärt werden und ist fraglich.

Beim Vergleich der beiden Geschlechter ist es ähnlich, wenn auch weniger deutlich: die Frauenwerte (3,87 ; 3,68 ; 3,84 $\mu\text{l/l}$) sind gegenüber den Männerwerten (3,47 ; 3,61 ; 3,85 $\mu\text{l/l}$) etwas höher und Tag 1 zeigt leicht signifikante Unterschiede ($p = 0,042$). Doch auch hier bleibt zu fragen, ob ein noch größeres Probandenkollektiv die Wert – Schwankungen nicht verringert hätte.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Methode der Atemkondensatmessung ist ein relativ neues und sehr sensitives Verfahren zur Erfassung des Entzündungsstatus in der Lunge. Sie ermöglicht eine nichtinvasive und damit für den Patienten wenig belastende Form der Diagnostik, die beliebig oft wiederholbar ist. Aufgrund der erst kurzen Vorgeschichte dieser Methodik besteht noch ein großer Bedarf an Messergebnissen, die zu einer Standardisierung der AKM beitragen und damit den Weg zu einer routinemäßigen Nutzung ebnen könnten. In den vorliegenden Studien, die mit gesunden Nichtrauchern und Rauchern durchgeführt wurden, konnten einige grundlegende Zusammenhänge geklärt werden:

- Volumen und Gewicht des AK sowie V`E verhielten sich linear steigend zur Zeit (5 – 15 min), dasselbe gilt für die Beziehung Volumen zu V`E.
- Je länger geatmet wurde (max. 15 min), um so besser war die Korrelation zwischen produziertem Volumen und V`E (nach 15 min: $p = 0,014$).
- Vorherige NaCl-Inhalation konnte die Kondensatmenge zwar bis einschließlich 12,5 min z.T. signifikant steigern, nach 15 min war jedoch kein maßgeblicher Unterschied mehr erkennbar.
- Die quantitative Proteinbestimmung im AK brachte einen Mittelwert von $44,4 \pm 17,3$ $\mu\text{l/ml}$ Protein je Proband. Es konnte kein Zusammenhang zwischen Proteinmenge und der Menge des Exhalationsvolumens gefunden werden, vielmehr scheinen individuelle Faktoren einen größeren Einfluss auf die Kondensatmenge zu haben.
- Außerdem unterschieden sich weder die Werte von Rauchern und Nichtrauchern noch von Männern und Frauen signifikant voneinander.

In einem weiteren Teil der Studie wurden 30 Probanden jeweils an 3 aufeinanderfolgenden Tagen gemessen, um Aussagen über die Reproduzierbarkeit der Messungen treffen zu können. Bis auf einige Ausnahmen wiesen die Messergebnisse von Gewicht, Volumen und V`E ähnliche Zahlen auf, was für eine ziemlich gute

Wiederholbarkeit der AKM spricht. Lediglich die Mittelwerte von Volumen und Gewicht bei den Rauchern an Tag 1 unterschieden sich signifikant von Tag 2 und 3.

Die Ergebnisse von Rauchern und Nichtrauchern unterschieden sich nur beim Volumen an Tag 1 ($p = 0,028$) deutlich, was auch am relativ kleinen Probandenkollektiv gelegen haben kann. Ähnliche Resultate zeigten sich auch hinsichtlich des relativen Kondensatvolumens (Vol./V^{E}): hier waren sowohl beim Vergleich von Männern und Frauen wie auch von Rauchern und Nichtrauchern die Werte nur an Tag 1 unterschiedlich.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. G. Becher, M.Rothe, E.Stresemann, E.Beck, K.Falck: Bestimmung von Entzündungsparametern im Atemkondensat zur Früherkennung von Inhalationsschäden (Abschlußbericht). Schriftreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, 1998

G.Becher, E.Beck, M.Rothe, G.Neubauer, E.Stresemann: Sammlung von nichtgasförmigen Bestandteilen der Ausatemluft durch Ausfrieren. mt-Medizintechnik 117, Nr.3: 89-94, 1997

G.Becher, E.Beck, W.Schütte, M.Rothe, A.Tacke, G.Georgit, E.Stresemann: Erste klinische Erfahrungen mit der Messung von Leukotrienen und Eosinophilenparametern im Atemkondensat. Bericht der FILT-Forschungsgesellschaft für Lungen- u.Thoraxerkrankungen mbH, Berlin, 1998

G.Becher, M.Rothe, E.Beck, G.Neubauer, E,Stresemann: Das ECo-Screen, der Einstieg in die biochemische Lungenfunktionsdiagnostik. FILT-Forschungsgesellschaft für Lungen-und Thoraxerkrankungen mbH, Berlin, info-Heft, Firma Jaeger, Ausgabe 1, S.18, 1999

G.Becher, K.Winsel, E.Beck, G.Neubauer, E.Stresemann: Das Atemkondensat als Methode zur nicht-invasiven Erfassung von Entzündungsmediatoren aus den unteren Atemwegewegen. Pneumologie 51 Sonderheft 2 : 456-459, 1997

G.Becher, M.Rothe, E.Beck, G.Neubauer, E.Stresemann: Eco-Screen- der Einstieg in die biochemische Lungenfunktionsdiagnostik. info-Heft , Firma Jaeger, Ausgabe 1, 1999

G.Becher: Kurzanleitung zur Abnahme des Atemkondensates. Bericht der FILT Forschungsgesellschaft für Lungen-und Thoraxerkrankungen mbH, 39. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Pulmonologie, Leipzig, 11.-14. März 98

S.V.Culpitt, R.E.K. Russel: The measurement of hydrogen peroxide in airways disease. Eur Respir Rev 1999; 9: 68, 246-248

A.W.Dohlmann, H.R.Black, J.A.Royall: Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. American review of respiratory disease, Vol.148.pp 955-960, 1993

Ch.Gessner, H.J.Seyfarth, J.Schauer, H.Wirtz: Dependence of breath condensate volume on total respired volume. Eur Resp J 14, Suppl 30: 253s, 1999

E.Jaeger GmbH, Würzburg: ECo-Screen-Gebrauchsanweisung. Medizintechnik mit System Jaeger-Toennies, 2.Ausgabe, April 1999

P.Panagou, G.Papatheodorou, H.Mermigis, S.Tsipra, V.Vourha, J.Kalomenidis, S.Loukidis, K.Tsintiris, N.Kalogeropoulos: Evaluation of expired air condensate (hydrogen peroxide) in mild asthma. Eur. Resp.J. 12, suppl.28 (1998), abstracts ERS-Kongress, Genf, 19-23.9.98

P.J.Sterk: Non-invasive monitoring of bronchial inflammation in asthma. Schweiz Med Wochenschrift, congress report 1997; 127: 1686-1692

IX. ABKÜRZUNGEN

AK	Atemkondensat
AKM	Atemkondensatmethode

VII. TABELLENANHANG

Tab 29: Versuchsreihe 1 (ohne NaCl-Inhalation)

	5 min Exhalation	5 min	5 min	7,5 min Exhalation	7,5 min	7,5 min	10 min Exhalation	10 min	10 min
	$\dot{V}E$	Gewicht	Volumen	$\dot{V}E$	Gewicht	Volumen	$\dot{V}E$	Gewicht	Volumen
Proband 1	51,85	0,243	80	79,75	0,335	230	111,05	0,386	280
Proband 2	81,58	0,423	180	94,25	0,459	240	125	0,493	350
Proband 3	51,8	0,316	270	60,5	0,325	300	91,2	0,399	350
Proband 4	68,45	0,353	270	87,45	0,446	310	110,1	0,523	460
Proband 5	58,65	0,204	220	70,75	0,331	270	97,1	0,36	280
Proband 6	70,05	0,373	250	103,05	0,525	370	135,1	0,497	380
Proband 7	20,95	0,278	160	31,6	0,289	200	44,45	0,268	210
Proband 8	50,55	0,324	230	87,35	0,406	330	107,7	0,515	370
Proband 9	43,1	0,24	150	71,95	0,369	300	97,2	0,446	390
Proband 10	56,7	0,354	330	74,65	0,382	330	98,8	0,49	400
Proband 11	38,3	0,235	120	61	0,323	240	73,15	0,413	340
Mittelwert	53,81636	0,303909	205,4545	74,75454	0,380909	283,6366	99,168182	0,43545	346,3636
Stabw (+/-)	16,53653	0,069007	74,48001	19,50407	0,071690	51,82137	24,565538	0,07886	68,45038

Fortsetzung Tab. 29: Versuchsreihe 1 (ohne NaCl-Inhalation)

	12,5 min Exhalation	12,5 min	12,5 min	15min Exhalation	15min	15min
	<i>VE</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>	<i>VE</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>
Proband 1	132,16	0,489	360	175,6	0,653	560
Proband 2	149,1	0,479	290	167,3	0,567	420
Proband 3	128,15	0,512	420	150,35	0,515	550
Proband 4	151,25	0,602	520	179,4	0,777	720
Proband 5	117,05	0,556	450	140,2	0,746	660
Proband 6	153,5	0,62	520	191,5	0,77	650
Proband 7	75,7	0,284	160	66,5	0,388	310
Proband 8	139,45	0,607	470	171,05	0,74	590
Proband 9	117,35	0,586	440	145,7	0,54	450
Proband 10	118,6	0,577	490	143,45	0,623	490
Proband 11	83,7	0,419	330	103,7	0,499	360
Mittelwert	124,182727	0,521	404,5454	148,6136	0,61981	523,6363
Stabw. (+/-)	25,7752416	0,100889	110,5769	36,38229	0,12931	130,0978

Tab.30: Versuchsreihe 2 (nach NaCl-Inhalation)

	7,5 min Exhalation	7,5 min	7,5 min	10 min Exhalation	10 min	10 min
	V`E	Gewicht	Volumen	V`E	Gewicht	Volumen
Proband 1	74,2	0,348	230	103,65	0,326	380
Proband 2	90	0,406	340	108,2	0,468	350
Proband 3	82,65	0,525	420	114,25	0,531	450
Proband 4	93,1	0,584	400	123,95	0,589	460
Proband 5	73,5	0,208	210	100,85	0,461	410
Proband 6	88,45	0,451	330	119,2	0,564	460
Proband 7	86,45	0,492	330	111,55	0,526	450
Proband 8	81,9	0,389	330	109,65	0,516	370
Proband 9	72,65	0,421	330	94,4	0,511	420
Proband 10	70,1	0,396	340	104,2	0,533	430
Proband 11	49,5	0,327	280	73,65	0,391	330
Mittelwert	78,40909	0,413363	321,8181	105,7772	0,492363	410
Stabw. (+/-)	12,35143	0,102025	62,74044	13,52513	0,076928	46,04345

Fortsetzung Tab. 30: Versuchsreihe 2 (nach NaCl-Inhalation)

	12,5 min Exhalation	12,5 min	12,5 min	15min Exhalation	15min	15min
	V`E	Gewicht	Volumen	V`E	Gewicht	Volumen
Proband 1	129,6	0,885	700	165	0,435	520
Proband 2	153,2	0,61	520	177,6	0,595	580
Proband 3	142,4	0,569	470	167,4	0,586	460
Proband 4	133,75	0,597	470	153,25	0,591	550
Proband 5	119,4	0,481	460	135,1	0,593	570
Proband 6	128	0,601	530	176,7	0,738	760
Proband 7	132,5	0,572	510	153,9	0,619	480
Proband 8	131,6	0,63	480	165,75	0,738	660
Proband 9	112,15	0,594	480	135,6	0,578	440
Proband 10	116,5	0,594	515	138,8	0,771	620
Proband 11	92,15	0,44	310	113,85	0,529	390
Mittelwert	126,4772	0,597545	495	152,9954	0,615727	548,1818
Stabw. (+/-)	16,21228	0,111241	90,36038	20,09770	0,099030	106,7537

Tab.31: Versuchsreihe 3 (Totalprotein im AK(und Gewicht u. Volumen))

Proband	Prot.($\mu\text{g/ml}$)	Gewicht(mg)	Volumen(μl)
1. w	34,34	740	680
2. m	60,81	725	620
3. m	56,03	739	570
4. w	49,67	607	430
5. m	65,8	826	685
6. m / R	36,23	785	650
7. m	33,63	1075	930
8. M / R	53,3	996	940
9. w	49,88	662	580
10.w / R	62,65	700	600
11.w	16,3	821	720
12.w / R	40,68	616	520
13.w / R	40,71	735	620
14.m	59,32	753	660
15.w / R	30,84	766	680
16.m / R	20,69	835	835
17.w / R	38,9	744	744
18.w / R	40,57	687	687
19.w	32,3	579	579
20.m	34,6	576	576
21.m	22,5	680	680
22.m	28,6	691	691
23.w	74,9	546	546
24.w	29,6	656	656
25.m	47,4	641	641
26.w	95	507	507
27.m	42,7	388	388
28.m / R	44,7	740	740
29.w	60,8	522	522
30.m	28,6	770	650

m = männlich; w = weiblich; R = Raucher

Tab.32: Versuchsreihe 4 (Tag-zu-Tag-Variabilität) (Nichtraucher)

	Tag 1			Tag 2			Tag 3		
<i>Proband.</i>	<i>VE</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>	<i>VE</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>	<i>VE</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>
1	205,6	0,74	680	162,05	0,72	650	186,45	0,865	720
2	151,2	0,725	620	138,7	0,726	640	150,25	0,77	680
3	143	0,739	570	148	0,745	600	133,4	0,82	730
4	128,35	0,607	430	115,45	0,635	500	132,2	0,665	520
5	199	0,826	685	193,05	0,853	730	200,6	0,861	730
6	243,4	1,075	930	248,04	0,944	890	197,1	0,922	880
7	150,6	0,662	580	143,55	0,624	530	151,2	0,59	520
8	153,9	0,821	720	142,2	0,644	550	138,4	0,595	530
9	160,45	0,753	660	118,2	0,57	460	134,95	0,687	570
10	129,9	0,579	490	152,85	0,621	560	155,75	0,582	515
11	166,55	0,576	480	193,25	0,681	590	201,2	0,543	440
12	184,55	0,68	480	231,6	0,684	570	186,15	0,701	580
13	165,65	0,691	540	176,6	0,79	710	172,9	0,646	510
14	146,9	0,546	440	189,1	0,753	620	151,45	0,688	520
15	145,7	0,656	520	147,6	0,63	540	134,55	0,644	510
16	177,7	0,641	500	211	0,817	660	185,65	0,738	620
17	126,6	0,507	410	147,3	0,633	510	135,75	0,5485	440
18	151,7	0,647	400	122,65	0,66	450	95,8	0,683	470
19	137,3	0,575	430	150,95	0,599	480	153,95	0,618	490
20	122,65	0,522	450	141,7	0,496	365	136,84	0,525	470
Mittelwert	159,53	0,6784	550,75	163,69	0,69125	580,25	156,72	0,684575	572,25
Stabw. (+/-)	30,273	0,130878	133,1033	36,724	0,104834	116,2628	28,547	0,11431	117,8589

Tab. 33: Versuchsreihe 4 (Tag-zu-Tag-Variabilität (Raucher))

	Tag 1			Tag 2			Tag 3		
	<i>V[^]E</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>	<i>V[^]E</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>	<i>V[^]E</i>	<i>Gewicht</i>	<i>Volumen</i>
Proband 1	136,7	0,785	650	145,4	0,548	490	126,3	0,612	540
Proband 2	220,15	0,996	940	180,2	0,835	680	183,2	0,851	770
Proband 3	146,8	0,7	600	135,55	0,668	580	139,2	0,649	520
Proband 4	122,05	0,616	520	132,35	0,56	470	108,2	0,625	530
Proband 5	144,4	0,735	620	133	0,727	600	135,1	0,715	600
Proband 6	165,25	0,766	680	162,2	0,711	620	151,8	0,71	630
Proband 7	198	0,835	700	200,9	0,846	750	200,05	0,754	660
Proband 8	174,6	0,744	680	190,8	0,697	610	145,35	0,675	600
Proband 9	137,25	0,687	570	123,25	0,551	450	156,4	0,669	540
Proband 10	119,95	0,547	470	119,5	0,504	430	115,7	0,566	460
Mittelwert	156,515	0,7411	643	152,315	0,6647	568	146,13	0,6826	585
Stbw. (+/-)	32,8355	0,12216	127,8062	29,32392	0,121236	105,3881	28,57225	0,080640	87,71798

Ich danke meinen Eltern für ihre langjährige Unterstützung während meiner gesamten Studienzeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Schmidt für die Überlassung des Themas und die stets zuverlässige und freundliche Betreuung.

Herrn Professor Ertl möchte ich für die Möglichkeit, an seiner Klinik promoviert zu werden und die Übernahme des Korreferates danken.

Ein ganz großes Dankeschön gilt Frau Wechner, die mit ihrer jederzeit hilfsbereiten und liebenswerten Unterstützung einen wichtigen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet hat.

LEBENS LAUF

Name :	Hagen Mehls
Geburtsdatum :	05. Juni 1975
Geburtsort :	Lippstadt
Anschrift :	Goldenene Pforte 2, 58093 Hagen
Eltern :	Andreas Mehls, Dipl. Volkswirt Monika Mehls, geb. Mollerus, Lehrerin a.D.
08/1981 - 06/1985	Grundschule in Hagen
08/1985 - 05/1994	Albrecht-Dürer-Gymnasium Hagen, Abitur
08/1994 - 10/1995	Zivildienst, Rettungsdienst Arbeiter-Samariter-Bund in Hagen
11/1995 - 06/2002	Medizinstudium an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
08/1997	Physikum
08/1998	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2001	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2001 - 03/2002	Praktisches Jahr
06/2002	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung