

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik
Professur für Innere Krankheiten der Pferde
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Untersuchungen zur Anwendbarkeit der
Atemkondensatgewinnung
beim Pferd und ihre potentiellen Einsatzmöglichkeiten in
der Lungendiagnostik**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
SANDRA SCHACK

Gießen 2002

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik

Professur für Innere Krankheiten der Pferde

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. H.H.L. Sasse

**Untersuchungen zur Anwendbarkeit der
Atemkondensatgewinnung
beim Pferd und ihre potentiellen Einsatzmöglichkeiten in
der Lungendiagnostik**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades beim

Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

SANDRA SCHACK

Tierärztin aus Dreieich

Gießen 2002

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H.H.L. Sasse

2. Berichterstatter: P.D. Dr. M. Gerwing

Tag der mündlichen Prüfung: 12.4.2002

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>EINLEITUNG</u>	1
2. <u>LITERATURÜBERSICHT</u>	2
2.1 <u>DIAGNOSTISCHE ASPEKTE DER ATEMANALYTIK IM GESCHICHTLICHEN ÜBERBLICK</u>	2
2.2 <u>ATEMKONDENSAT</u>	3
2.2.1 DEFINITION VON ATEMKONDENSAT	3
2.2.2 GRUNDSÄTZLICHES ZUM ATEMKONDENSAT	4
2.2.3 DIE GEWINNUNG VON MATERIAL ZUR ATEMANALYTIK	6
2.2.3.1 Methoden zur Sammlung von Atemluft	6
2.2.3.1.1 Die Ausfriermethode	9
2.2.3.1.2 Die Adsorptionsmethode	13
2.3 <u>ANWENDUNG DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG</u>	14
2.3.1 ZIELE DER ATEMKONDENSATANALYTIK BEIM MENSCHEN	14
2.3.2 BISHER BEIM MENSCHEN IM ATEMKONDENSAT BESTIMMTE PARAMETER	16
2.3.2.1 Wasserstoffperoxid	17
2.3.2.2 Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen	22
2.3.2.3 Stickstoffmonoxid (NO), Nitrit (NO ₂ ⁻) und Nitrat (NO ₃ ⁻)	23
2.3.2.4 Nitrothiosole und Nitrosamine	26
2.3.2.5 Lipidmediatoren der Lunge	28
2.3.2.5.1 Leukotriene	28
2.3.2.5.2 Prostaglandine und Thromboxane	32
2.3.2.5.3 Isoprostane	33
2.3.2.6 Interleukine	34

2.3.2.7	Tumornekrosefaktor α	35
2.3.2.8	Eosinophilenproteine	36
2.3.2.9	Biogene Amine und Milchsäure	37
2.3.2.10	DNA	38
2.3.2.11	D-Dimer	39
2.3.2.12	Heat-shock-protein, Tumormarker und α 1-Säure-Glycoprotein	39
2.3.2.13	Harnstoff	39
2.3.3	ANWENDUNG DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG BEIM TIER	41
2.3.4	BISHER BEIM TIER IM ATEMKONDENSAT BESTIMMTE PARAMETER	42
2.3.4.1	Leukotrien B ₄	42
2.3.4.2	Harnstoff und Gesamteiweiß	43
3.	<u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	45
3.1	MATERIAL UND METHODEN	45
3.1.1	UNTERSUCHUNGSPLAN	45
3.1.2	PATIENTENGUT	45
3.1.3	PATIENTENEVALUATION	46
3.1.3.1	Klinische Untersuchung	46
3.1.3.2	Arterielle Blutgasanalyse	46
3.1.3.3	Tracheobronchoskopie	47
3.1.3.4	Lungenfunktionsprüfung	48
3.1.3.5	Patientenklassifizierung	49
3.1.4	ATEMKONDENSATGEWINNUNG	51
3.1.4.1	Gerätebeschreibung	51
3.1.4.2	Gewinnung am Pferd	52
3.1.4.3	Bestimmung der Atemkondensatmenge	55
3.1.4.4	Bestimmung des Durchflussexpirationsvolumens	55
3.1.4.5	UNTERSUCHUNGEN ZUR WIEDERHOLBARKEIT DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG	57
3.1.5	STATISTISCHE AUSWERTUNG	59

3.2	ERGEBNISSE	60
3.2.1	ERGEBNISSE DER KLINISCHEN UNTERSUCHUNGEN EINSCHLIESSLICH PATIENTENKLASSIFIZIERUNG	60
3.2.1.1	Ergebnisse der klinischen Untersuchung	61
3.2.1.2	Ergebnisse der arteriellen Blutgasanalyse	61
3.2.1.3	Ergebnisse der Tracheobronchoskopie	62
3.2.1.4	Ergebnisse der für die Studie relevanten Lungenfunktions-Parameter	63
3.2.2	ERGEBNISSE ZUR ATEMKONDENSATGEWINNUNG	64
3.2.2.1	Handling des Atemkondensatgerätes	64
3.2.2.2	Akzeptanz der Untersuchung	65
3.2.2.3	Atemkondensatmenge	66
3.2.2.4	Verhältnis der Atemkondensatmenge zur Atemstromstärke	67
3.2.2.5	Einfluss weiterer Parameter auf die Atemkondensatmenge	68
3.2.2.6	Durchflussexpirationsvolumina	69
3.2.2.6.1	Verhältnis der Durchflussexpirationsvolumina zur Atemkondensatmenge	71
3.2.2.6.2	Einfluss weiterer Parameter auf das Durchflussexpirationsvolumen	72
3.2.3	ERGEBNISSE ZUR WIEDERHOLBARKEIT DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG	72
4.	<u>DISKUSSION</u>	76
4.1	DISKUSSION DER METHODIK	76
4.1.1	PATIENTENGUT UND PATIENTENEVALUATION	76
4.1.2	ATEMKONDENSATGEWINNUNG	77
4.1.2.1	Einsatz des Atemkondensatgerätes und Anwendung am Pferd	78
4.1.2.2	Bestimmung der Atemkondensatmenge	81
4.1.2.3	Bestimmung des Durchflussexpirationsvolumens	81
4.1.2.4	Wiederholbarkeit der Anwendung	81

4.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	82
4.2.1	AKZEPTANZ	82
4.2.2	ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN ATEMKONDENSATMENGE, ATEMSTROMSTÄRKE UND DURCHFLUSSEXPIRATIONS- VOLUMEN	83
4.2.3	WIEDERHOLBARKEIT DER ANWENDUNG	85
4.2.4	VORSCHLÄGE ZUR OPTIMIERUNG DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG BEIM PFERD	86
4.3	SCHLUSSFOLGERUNGEN	88
5.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	89
6.	<u>SUMMARY</u>	90
7.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	91
8.	<u>ANHANG</u>	-1-
8.1	TABELLENVERZEICHNIS	-1-
8.1.1	TABELLEN IM TEXT	-1-
8.1.2	TABELLEN IM ANHANG	-2-
8.2	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	-3-
8.3	TABELLARISCHER ANHANG	-5-

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:

A-aDO ₂	Alveolo-arterielle Sauerstoffdifferenz
Abb.	Abbildung
Ast.	Atemstromstärke
α1G	α1 saures Glykoprotein
AMV	Atemminutenvolumen
ARDS	adult respiratory distress syndrome
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BMDP	biomathematical computer programs
BRSV	bovine respiratory syncytial virus
°C	grad Celsius
CEA	carcinoembryonic antigen
CF	cystic fibrosis (Mukoviszidose)
COB	Chronisch obstruktive Bronchitis
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
CYFRA	Cytokeratin-19-Fragment Antigen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECP	eosinophil cationic protein
EDRF	endothelium-derived relaxing faktor
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
EPX	eosinophilic protein x
FEV ₁	forced expiratory volume in one second
FILT	Forschungsgesellschaft für Lungen-und Thoraxerkrankungen mbH, 13125 Berlin
f _R	Atemfrequenz
g	Gramm
ggr.	geringgradig
hgr.	hochgradig
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HSP	heat shock proteins
IF	Interferon
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin

IOS	Impuls-Oszilloresistometrie
i v	intravenös
kg	Kilogramm
Korrelat.	Korrelation
l	Liter
LAN	local network
LT	Leukotrien
<i>m</i>	Probengewicht
mgr.	mittelgradig
min.	Minute
ml	Milliliter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
µg	Mikrogramm
n	Stichprobenumfang
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NO	Stickstoffmonoxid
o.B.	ohne Befund
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit
P _a CO ₂	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
P _a O ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
P _B	Barometerdruck
PEFR	peak expiratory flow rate
PG	Prostaglandin
PMN	polymorphonuklear leukocyte
ΔP _{pl} max	maximale interpleurale Druckdifferenz
r	Korrelationskoeffizient
R	Resistance
RIA	Radioimmunassay
r _s	Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman
RV	residual volume
s	Standardabweichung
s. S.	siehe Seite
SCC	squamous cell carcinoma antigen
SF	Streufaktor

SRS	slow reacting substance
Tab.	Tabelle
TBARS	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen
TBS	Tracheobronchialsekret
TLC	total lung capacity
TNF	Tumornekrosefaktor
TPA-M	tissue polypeptid antigen, monoklonal
TX	Thromboxan
u. a.	unter anderem
V	Atemzugvolumen
VC	vital capacity
V_E	Expirationsvolumen
$V_{\Sigma I}$	Summe der Inspirationsvolumina
$V_{\Sigma E}$	Summe der Expirationsvolumina
Vol.	Volumen
x_a	Arithmetischer Mittelwert
x_g	Geometrischer Mittelwert

1. EINLEITUNG

Die als chronisch obstruktive Bronchitis (COB) bekannte multifaktorielle Erkrankung beeinträchtigt die Leistung eines Großteils der mittelalten und älteren Pferde. Für die Diagnostik der COB stehen neben der klinischen Untersuchung die arterielle Blutgasanalyse, die Endoskopie, die Lungenfunktionsprüfung, die bronchoalveoläre Lavage (BAL) und die Lungenbiopsie zur Verfügung. Dies sind zum Teil invasive Verfahren, mit deren Hilfe bereits stattgefundenen Schädigungen der Lunge dokumentiert werden können. Keines der genannten Verfahren ist zur Frühdiagnostik der genannten Erkrankung geeignet. Gerade die Früherkennung der COB, möglichst bevor eine irreversible Schädigung des Bronchialepithels stattgefunden hat, ist von größter Wichtigkeit. Bei der Suche nach einem geeigneten Diagnostikum stößt man auf ein in der Humanmedizin bereits etabliertes Verfahren, bei welchem die Expirationsluft analysiert wird. Dabei wird die Atemluft in einem Kryostaten kondensiert und anschließend auf verschiedene relevante Parameter, die bei entzündlichen Prozessen der Lunge involviert sind, untersucht. Diese sogenannte Atemkondensat-Methode ist beim Menschen in der Erforschung entzündlicher Atemwegserkrankungen, unter anderem von Asthma, COPD und Mukoviszidose, eingesetzt worden. Die Atemkondensatgewinnung wird in vielen Lungenlaboratorien routinemäßig durchgeführt und ist nachweislich sensitiver als die Lungenfunktionsprüfung. Sie hat gegenüber herkömmlichen Untersuchungsmethoden, bei denen Material aus den tiefen Atemwegen gewonnen wird, wie dem induzierten Sputum, der BAL und der Lungenbiopsie deutliche Vorteile. Sie ist nicht invasiv und damit für den Patienten wenig belastend und beliebig oft wiederholbar.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zum einen, in einer Literaturübersicht die bereits vorhandenen Kenntnisse zur Atemkondensatgewinnung und -analytik darzustellen. Zum anderen wird geprüft, ob die Atemkondensatmethode auch beim Pferd anwendbar ist und welche Modifikationen eventuell notwendig sind.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 **DIAGNOSTISCHE ASPEKTE DER ATEMANALYTIK IM GESCHICHTLICHEN ÜBERBLICK**

Die Atemanalyse ist die Untersuchung der Atemluft auf seine qualitative und quantitative Zusammensetzung. Grundsätzlich wird unterschieden zwischen der Atemgas- und der Atemkondensatgewinnung. Die Atemgasanalyse dient beispielsweise der quantitativen Bestimmung des Sauerstoff- und Kohlendioxidgehaltes in der Expirationsluft (ROCHE 1993). Es können aber auch flüchtige organische Verbindungen und nicht flüchtige Substanzen in der Expirationsluft nachgewiesen werden (ERIKSEN 1964; PAULING et al. 1971; CONKLE et al. 1975; BALDWIN et al. 1986; GUSTAFSSON et al. 1991; MALAKAUSKAS et al. 1991; SCHEIDELER et al. 1993; Becher et al. 1995b, 1995c; HILLEBRANDT et al. 1996; HUMMEL et al. 1996; NOWAK et al. 1996; TACKE et al. 1996; CARPENTER et al. 1998; HO et al. 1998; DAULETBAEV et al. 1999; PHILLIPS et al. 1999; KHARITONOV et al. 2000).

Seit der frühen Geschichte der Medizin hat die Atemanalyse einen diagnostischen Wert. Die schriftlich niedergelegte Geschichte der Atemanalyse kann über 200 Jahre zurückverfolgt werden. Bereits 1784 analysierten LAVOSIER und LAPLACE den Atem eines Schweines und untersuchten die Analogie zwischen Atmung und Verbrennung (zitiert nach CASPARY 1978). 1874 berichtete ANSTIE über die Elimination von Alkohol über den menschlichen Atem. Anfang des 20. Jahrhunderts wurden Techniken zur Bestimmung der Zusammensetzung des Atems und der Alveolarluft entwickelt (HALDANE und PRIESTLEY 1905). Gegen Ende des 20. Jahrhunderts etablierte sich die Atemanalyse für den Nachweis von Alkohol in der Atemluft (MASON 1976). Es wurden auch Fortschritte in der Diagnostik metabolischer Erkrankungen gemacht. Das erste Mal nutzte DODDS (1920) die Atemgasanalyse zur Diagnostik gastrointestinaler Erkrankungen, indem er einen P_{CO_2} -Anstieg nach Mahlzeiten in der Atemluft nachwies und herausfand, dass dieser bei Erkrankungen im Verdauungstrakt starken Schwankungen unterworfen war (zitiert nach CASPARY 1978). Einige Atemgerüche wurden als charakteristisch für bestimmte Erkrankungen angesehen. HAYDEN (1980) katalogisierte über 20 Atemgerüche und ihre diagnostische Signifikanz. Über 200 flüchtige Komponenten wurden in durchschnittlichen Atemgasproben gesunder Menschen nachgewiesen, wobei bis 1999 insgesamt 3481 verschiedene lösliche organische Komponenten gefunden wurden (PHILLIPS et al. 1999). Die Stoffwechselwege, bei denen

diese Komponenten entstehen, sind noch nicht alle bekannt. Erhöhte Konzentrationen einiger Komponenten korrelieren mit bestimmten Erkrankungen: beispielsweise Aceton bei Diabetes, Dimethylsulfid, Mercaptan und Fettsäuren bei Leberzirrhose, Dimethyl- und Trimethylamin bei Urämie (MANOLIS 1983). Ein anderes Gebiet ist die Inhalationstoxikologie, bei der die Exposition von Menschen mit löslichen Substanzen (z.B. Trichlorethylen) über die Messung der Konzentration eben jener Substanzen oder seiner Metaboliten in der Expirationsluft überwacht werden kann (MONSTER und BOERSMA 1974; MØLHAVE und PEDERSEN 1984). Außerdem kann in der Anästhesiologie die Metabolisierung von Inhalationsanästhetika überprüft und erforscht werden (CORBETT et al. 1971). Auch nicht flüchtige Medikamente bzw. Drogen können zu löslichen, in der Atemluft nachweisbaren Verbindungen metabolisiert werden, worüber als erster CUSHNY (1910) berichtete. Die quantitative Analytik der Atemgas- und Atemkondensatproben wurde erst Ende des 20. Jahrhunderts mit der Entwicklung empfindlicher Nachweisverfahren möglich (MANOLIS 1983; WILSON 1986; SCHEIDELER et al. 1993).

2.2 ATEMKONDENSAT

2.2.1 DEFINITION VON ATEMKONDENSAT

ROTHER und BECHER (2000a) verstehen unter Atemkondensat „die bei Temperaturen zwischen 0 und -40 °C kondensierenden und sich niederschlagenden Bestandteile der Expirationsluft, welche zu 99,999% aus Wasser und zu 0,001% aus anorganischen Salzen und Oxiden, funktionalisierten Kohlenwasserstoffen und Proteinen bestehen.“

Dabei vertreten die Autoren die Theorie, dass die Zusammensetzung des Atemkondensates nach bestimmten chemischen Gesetzmäßigkeiten erfolgt.

Sie teilen die im Atemkondensat befindlichen Substanzen folgendermaßen ein:

1. Mäßig flüchtige Substanzen, deren Dampfdruck bei 37 °C ausreichend hoch ist, um in messbaren Größenordnungen zu verdampfen wie beispielsweise Wasser, Alkohol und Wasserstoffperoxid.
2. Schwerflüchtige, nicht wasserlösliche Substanzen, welche durch Addition des Wasserdampfdruckes in die Gasphase „geschleppt“ werden wie beispielsweise Leukotrien B₄ (LTB₄), Prostaglandin E₂ (PGE₂) und Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}).
3. Nichtflüchtige Substanzen im Atemkondensat, wie beispielsweise Interleukin-1β (IL-1β), Eosinophilic Protein X (EPX) und Nitrit.

SCHEIDELER et al. (1993), die sich ebenfalls mit dem Nachweis nichtflüchtiger Substanzen im Atemkondensat beschäftigten, machten sich Gedanken über die Partikelkonzentration im Aerosol und wiesen auf die Untersuchungen von FAIRCHILD (1987) hin, welcher die Partikelkonzentration des ausgeatmeten Aerosols bei normaler und forcierter Expiration und Expiration bei Gegendruck bestimmte. Unter diesen verschiedenen Bedingungen wurden bei gesunden Personen Partikelkonzentrationen zwischen 0,1 und 4 Partikeln pro cm^3 im Aerosol gemessen. Die meisten Partikel waren kleiner als $0,3 \mu\text{m}$. Laut SCHEIDELER et al. (1993) hängt die Menge des gebildeten Aerosols vor allem von der Luftgeschwindigkeit und von der Oberflächenspannung des extrazellulären Oberflächenfluids in der Lunge ab. Turbulenzen und Kanten oder Obstruktionen im Bronchialbereich erleichtern die Entstehung von Aerosolen. Die Luftgeschwindigkeit ist im Larynx am höchsten, da dies die engste Passage des Respirationssystems darstellt (SCHEIDELER et al. 1993). Die Geschwindigkeit sinkt kontinuierlich mit dem Durchmesser der luftführenden Wege, minimale Geschwindigkeiten werden in den Alveolen gemessen. Die Aerosolentstehung könnte also vor allem in den größeren Bronchien und im Larynx erwartet werden.

Der Nachweis, dass das Atemkondensat frei von Speichelverunreinigungen ist, wurde von einigen Autoren durch die Amylasebestimmung geführt (BECHER et al. 1996a, 1997a; ROTHE et al. 1997; DAULETBAEV et al. 1999; CORRADI et al. 1999). Damit sollte sichergestellt werden, dass die im Atemkondensat befindlichen Substanzen ausschließlich aus den Atemwegen stammen.

2.2.2 GRUNDSÄTZLICHES ZUM ATEMKONDENSAT

Die Stärke der Atemkondensatanalytik liegt in ihrem nicht-invasiven Zugang und somit in ihrer beliebig wiederholbaren Durchführbarkeit. Andererseits ist die relativ invasive BAL dem Atemkondensat bei der Bestimmung der Aktivität entzündlicher Lungenerkrankungen an Sensitivität überlegen und besitzt somit in der Erstdiagnostik höchste Priorität (PEETZ et al. 1997).

Eine wesentliche Schwierigkeit bei der Untersuchung des Atemkondensates besteht in den extrem niedrigen Konzentrationen aller Inhaltsstoffe im Vergleich zu üblichen anderen Probenahmeverfahren (BECHER 2000a).

Es wurde versucht, die Analytik der im Atemkondensat befindlichen Substanzen zu standardisieren, bisher jedoch ohne befriedigendes Ergebnis. Die Konzentration des gemessenen Stoffes wird meist in pg pro ml gewonnenem Atemkondensat angegeben, wie

1993 von SCHEIDELER et al. eingeführt. Die Richtigkeit wird jedoch zunehmend in Frage gestellt, da der Verdünnungsfaktor durch die Feuchtigkeit der Expirationsluft unbekannt ist. Die Atemkondensatmenge hängt stark von dem pro Zeiteinheit ventilierten Volumen ab (REINHOLD et al. 1999b, 1999c; GESSNER et al. 1999; DAULETBAEV et al. 2000), so dass als Standard die Konzentration im Atemkondensat pro ausgeatmetem Volumen in Frage kommt. Es besteht keine Korrelation der Atemkondensatmenge zu anderen Parametern der Lungenfunktion (GESSNER et al. 1999, 2000).

Es gab Bemühungen in Analogie zu der BAL (SCHWEISFURTH et al. 1990), Harnstoff und Protein als Referenzsubstanzen einzusetzen. REINHOLD et al. (2000) bewiesen jedoch im Versuch an Kälbern, dass die Harnstoffkonzentration im Atemkondensat nur bei Lungenparenchymschäden mit der Serumharnstoffkonzentration korrelierte. Bei klinisch gesunden Tieren ergaben sich keine Hinweise auf Korrelationen, so dass diese Substanz nicht zur Standardisierung geeignet ist. Die Ergebnisse decken sich mit Untersuchungen von DAULETBAEV et al. (2000) beim Menschen, welche bei gesunden Probanden im Gegensatz zu Probanden mit obstruktiven Lungenerkrankungen ebenfalls keine Korrelation der Harnstoffkonzentration im Atemkondensat zur Serumharnstoffkonzentration fanden. Die Autoren halten Harnstoff als Referenzsubstanz auch wegen der großen intraindividuellen Schwankungen im Atemkondensat (bis zu 200 % bei Mehrfachmessungen) für ungeeignet. Bezüglich des Gesamteiweißgehaltes als Referenzsubstanz sind weitere Untersuchungen erforderlich. Bisher haben lediglich REINHOLD et al. (2000) über eine Korrelation des Gesamteiweißgehaltes zur Harnstoffkonzentration im Atemkondensat berichtet. Sie sind der Meinung, dass das Gesamteiweiß wahrscheinlich ebenso ungeeignet zur Standardisierung ist wie Harnstoff, da hier auch eine Abhängigkeit von pathologischen Veränderungen in den Atemwegen selber notwendig erscheint.

Eine neue Möglichkeit der Standardisierung wurde von ROTHE (2000b) vorgetragen. Er nutzte eine Gerätekombination aus Hochdruck-Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie (LC-MSD) um Expirationsluft zu untersuchen. Dabei wird unter anderem ein UV-Spektrum der eingesetzten Probe erzielt. Der totale Gehalt an Substanzen wird durch UV-Licht mit einer Wellenlänge von 200-320 nm gemessen. Die gemessenen Spektren werden integriert und als „area under the curve“ angegeben. Es entstehen typische Spektren, wobei Raumluft deutlich anders zusammengesetzt ist als Expirationsluft. Da die „area under the curve“ bei Gesunden deutlich größer war als bei Personen mit Mukoviszidose, schlussfolgert ROTHE (2000b), dass die Integrale die Größe der ventilierten

Lungenoberfläche repräsentieren. Das Verfahren muss noch weiter getestet werden, bevor es als Standard für die Atemkondensatanalyse eingesetzt werden kann.

2.2.3 DIE GEWINNUNG VON MATERIAL ZUR ATEMANALYTIK

Die Gewinnung von Atemkondensat ist grundsätzlich mit allen Methoden, die später unter 2.2.3.1.1 beschrieben werden, möglich. Das Prinzip des Kondensierens von Expirationsluftbestandteilen wurde von etlichen Autoren angewandt. Die Expirationsluft wird durch ein Kühlsystem geleitet, welches bei den einfacheren Eiswasserkühlvorrichtungen zwischen 0 und -5 °C erreicht (BALDWIN et al. 1986; SZNAJDER et al. 1989; NOWAK et al. 1996; DEKUIZEN et al. 1996; DOHLMAN et al. 1997; ANTZAK et al. 1997; JÖBSIS et al. 1997), aber auch Temperaturen bis zu -196 °C können, meist unter Verwendung von Flüssigstickstoff-Kühlfallen, erzielt werden (ERIKSEN 1964; CONKLE et al. 1975; SCHEIDELER et al. 1993). Durch die Abkühlung kondensiert die Feuchtigkeit der Ausatemluft und setzt sich bei den einfachen, etwas höher temperierten Vorrichtungen als flüssiges Kondensat und bei den tief temperierten Vorrichtungen als Eiskristallniederschlag an den Wänden der Sammeleinrichtung ab. Das Kondensat kann nun in verschiedener Weise analysiert werden. Die flüchtigen, organischen Komponenten wurden durch Gas-Chromatographie/ Massenspektrometrie (ERIKSEN 1964; PAULING et al. 1971; CONKLE et al. 1975), Lumineszenzspektrometrie (NOWAK et al. 1996; ANTZAK et al. 1997) und die nicht flüchtigen Komponenten je nach Einzelsubstanz durch spezifische Immunoassays (ELISA oder RIA) analysiert (SCHEIDELER et al. 1993; BECHER et al. 1995b, 1995c, 1996a, 1996b, 1997a, 1997b, 1998a, 1998b; Reinhold et al. 1996, 1997a, 1997b, 1998b, 1998c, 1999a, 1999b). Proteine konnten durch Gel-Elektrophorese (PAGE) nachgewiesen werden (SCHEIDERLER et al. 1993).

2.2.3.1 Methoden zur Sammlung von Atemluft

Die Sammlung von Expirationsluft wurde ursprünglich zum Nachweis gasförmiger Substanzen entwickelt und verwendet. Inzwischen ist es auch möglich, nicht gasförmige Substanzen in der Expirationsluft nachzuweisen und quantitativ zu erfassen. Dies ist besonders von Interesse für die Diagnose pathologischer Lungenveränderungen. Zur Sammlung von Atemluft bediente man sich verschiedener Konstruktionen, die nachfolgend beschrieben werden.

Beim einfachsten Verfahren handelte es sich um Sammelbeutel, die meist aus Kunststoffen gefertigt waren und die in der Regel über ein Mundstück und ein Nichtrückatmungsventil mit gemischter Ausatemluft gefüllt wurden. Um ausschließlich Alveolarluft zu gewinnen, mussten Vorrichtungen geschaffen werden, die lediglich Luft vom Ende der Expiration sammeln. Eine dieser Sammeleinrichtungen wurde 1905 von HALDANE und PRIESTLEY beschrieben (Haldane-Priestley Röhre). Es handelte sich dabei um eine 120 cm lange Gummiröhre, in welche seitlich, nahe des Mundstücks, der Anschluss für eine Sammelspritze eingelassen war. Am Ende der Expiration wurde das Mundstück durch die Zunge des Probanden verschlossen und die in der Röhre befindliche, end-expiratorische Luft in die Spritze gezogen. Die Luft wurde vor allem zur Bestimmung von Wasserstoffkonzentrationen bei Kohlenhydrat-Malabsorption verwendet, wobei der Variationskoeffizient zwischen wiederholten Messungen bei derselben Person (innerhalb von 10 Minuten) bei 18 % lag (zusammengefasst bei WILSON 1986).

Aus der Haldane-Priestley Röhre wurden zahlreiche weitere Sammeleinrichtungen entwickelt. Beispielsweise 25 cm lange Glaspipetten, aus welchen die Atemluft für die Analyse (Gas-Chromatographie) in Spritzen aufgezogen werden musste (STEWART 1974). Sie waren für Felduntersuchungen bei der Sammlung von Alveolarluft für das Gesundheitsmonitoring am weitesten verbreitet, wobei von den Probanden die Luft einer Expiration nach 30 Sekunden Atemanhalten und 3 weiterer normaler Expirationen gesammelt wurde. Durch das Umfüllen der Luft in Spritzen und mangelnde Dichte der Pipetten traten Verluste auf, die bis zu 10% der Alveolarluft ausmachten (WILSON 1986).

Ebenfalls aus der Haldane-Priestley Röhre wurde eine Aluminium-Röhre (34 ml Volumen) entwickelt, welche mit Klappen an jedem Ende versehen war, die von dem Probennehmer nach Belieben verschlossen werden konnten, was meist nach 3 Exhalationen der Fall war (IMBRIANI 1982). Der Verlust an Atemluft in der so verschlossenen Aluminium-Röhre über 48 Stunden betrug über 20 % (WILSON 1986).

KNEEPKENS et al. (1985) ließen die Patienten, um Verluste durch Umfüllen der Luft zu vermeiden, direkt durch den Konus in die Sammelspritze (10 ml) ausatmen. Die Spritze besaß eine kleine Öffnung bei 9 ml, über welche der Kolben nach der Expiration geschoben wurde, womit die Luft in der Spritze gefangen war. Dabei war der Nachteil, dass verschieden zusammengesetzte Atemproben gewonnen wurden je nachdem ob gleichmäßig geatmet wurde und abhängig von dem Moment an dem der Konus vorgeschoben wurde. Die Methode hatte eine Präzision von 16-34 % (WILSON 1986).

ROBB und DAVIDSON (1981) benutzten eine Gesichtsmaske mit Nichtrückatmungsventil, über welche die Atemluft durch einen Dreiwegehahn in Spritzen aufgezogen wurde. Die Technik wurde als gebräuchlich in der Forschung, aber nicht geeignet für die Routinepraxis beschrieben (WILSON 1986).

Bei Patienten, die nicht aktiv bei der Sammlung mitarbeiten können, wie beispielsweise Neugeborene, wurde zur Atemluftgewinnung ein Nasopharyngealkatheter mit angeschlossener Spritze verwendet. Am Ende jeder Expiration wurde ein Volumen von 1 ml aufgezogen, bis 15 ml Sammelvolumen erreicht waren (BROADPENT 1983).

DUBOWSKI und ESSARY (1982) beschreiben die Atemluftgewinnung über versiegelte Glasampullen, die den Vorteil hatten, dass die Ampullen bis zu 15 Tage ohne Luftverluste aufbewahrt werden konnten.

PENTON berichtet 1969 über die Indium-Kapsel als weitere, allerdings technisch sehr aufwendige, Möglichkeit der Sammlung von Atemluft, bei der in bis zu 90 Tagen Aufbewahrungszeit keine Verluste der Inhaltsstoffe zu verzeichnen waren.

WRIGHT (1966) arbeitete mit zwei aneinander angeschlossenen Beuteln, um Alveolarluft zu sammeln. Einer diente zum Hineinatmen, von welchem aus bei Überdruck im selben Atemzug der andere Sammelbeutel mit end-expiratorischer Luft gefüllt wurde.

PRINCIPE (1974) verwendete zum Sammeln von Alveolarluft Vakuum-Behälter aus Metall mit einem Volumen von 320 ml. Diese waren über einen Schlauch mit einer kleinen seitlichen Öffnung, über den der Proband ausatmete, verbunden. Am Behälter befand sich ein geschlossenes Ventil. Durch Knopfdruck konnte das Ventil in der Endphase der Expiration geöffnet werden wodurch das Vakuum im Behälter gebrochen wurde. Dadurch bestand nur 1/3 der enthaltenen Luft aus Expirationsluft, was Wasserkondensation in dem Metallbehälter verhinderte. Die Methode hatte den Vorteil, dass der Behälter gut zu transportieren, unzerbrechlich und einfach zu bedienen war. Von Nachteil war der von der Reaktionsgeschwindigkeit des Untersuchers abhängige, variable Atemluftanteil, der mit dieser Methode gewonnen wurde.

GARDINER (1981) benutzte zur Sammlung von Alveolarluft über 100 ml fassende Nylonbeutel, die mit einem Mundstück mit Klappe und einem Sammelanschluss, an den eine Spritze angeschlossen war, versehen waren (Rückstoßbeutel). Sie arbeiteten wie sich selbst verschließende Haldane-Priestley Röhren, indem in einem Atemzug der Beutel gefüllt wurde, wonach sich die Klappe verschloss und der Endteil der Atemluft über den Sammelanschluss in eine Spritze aufgezogen werden konnte.

Die Methode, Sammelbeutel zur Sammlung gemischt-expiratorischer Luft einzusetzen, wurde nicht nur von JANSSON und LARSSON (1969) genutzt, welche lösliche organische Komponenten nach Sammlung der Atemluft über eine Atemmaske in Polyester-Beuteln nachwies. KROTOZYNSKI et al. (1977) nutzten einen 20 l fassenden Teflonsammelbeutel zur Atemluftgewinnung. Bei GAGE et al. (1977) erfolgte die Atemgewinnung über eine mit Ventil versehene Atemmaske mit Luftfilter am Einlass und einem 5,5 l Alubeutel am Auslass. MONSTER und BOERSMA (1975) leiteten die Luft über eine Klappe in 20 l fassende Polyvinylfluorid-Beutel (Tedlar[®]). Auch JONES (1983) verwendete 4 l fassende Tedlar[®]-Beutel mit Atemröhre, um die Atemluft zu sammeln. HOTZ (1987) wies niedermolekulare Kohlenwasserstoffe nach, indem er die Atemluft in 5-10 l Rilsan-Beuteln auffing.

Im Folgenden werden die beiden grundsätzlichen Methoden beschrieben, die dazu dienen, die Ausatemluft in ein analysefähiges Substrat zu überführen (MANOLIS 1983):

2.2.3.1.1 Die Ausfriermethode

Hierbei wird die Expirationsluft durch ein Kühlsystem geleitet, um die Kondensation der in ihr enthaltenen Substanzen zu erreichen. Dabei wird, je nach Temperatur der Kühlvorrichtung, eine Flüssigkeit oder ein Eiskristallniederschlag gewonnen.

Bei dem Sammelvorgang tragen die Probanden in der Humanmedizin immer eine Nasenklemme und atmen über ein Mundstück oder eine Atemmaske in die Kühlvorrichtung. Je nach Konstruktion dauert der Sammelvorgang bis zu 2 Stunden. Der früheste Versuch, diese Methode anzuwenden, wird von FRERICHS (1883) beschrieben. Er versuchte, Aceton im Atem von Diabetikern nachzuweisen, indem er die Patienten über eine Maske in drei miteinander verbundene Flaschen, die sich im Eiswasserbad (0 °C) befanden, atmen ließ. Nach 2 Stunden erhielt er bis zu 30 ml Kondensatflüssigkeit, in der er allerdings kein Aceton nachweisen konnte. Dieser Nachweis gelang erstmals MÜLLER (1898). Er leitete den Atem über Ventile zur Trennung von In- und Expirationsluft durch 4 jeweils 0,5 l fassende, in einer Eis-Salz Mischung gekühlte Flaschen. Diese waren halb mit destilliertem Wasser gefüllt, durch das die Ausatemluft mittels einer bis zum Boden der Flaschen reichenden Zuleitung strömen musste. Die Sammelzeit betrug 30 Minuten. In dem Kondensat gelang MÜLLER (1898) der Acetonnachweis durch Titration.

ERIKSEN (1964) leitete den Atem durch Glasflaschen, welche in flüssigem Stickstoff (-196 °C) eingetaucht waren, um Kondensat zu gewinnen.

PAULING et al. (1971) sammelten Atemproben (10-15 Exhalationen pro Probe) in rostfreien spiralförmigen Stahlrohren, gekühlt durch ein Isopropyl-Alkohol/Trockeneisbad. Danach wurde das Kondensat verdampft und im Gas-Chromatographen analysiert. Sie wiesen mit dieser Methode 250 verschiedene flüchtige organische Komponenten im menschlichen Atem nach. Der Anteil an Wasserdampf betrug über 80 mg pro Atemzug und machte somit den größten Anteil der ursprünglichen Proben aus. Dies war ein grundsätzliches Problem in der Analyse der Atemproben, da Gas-Chromatographie-Säulen, vor allem Kapillargefäß-Säulen, leicht durch Spuren von Wasser zu beschädigen sind. Daher wurde entweder ein Trockenreagens verwendet oder eine Wasser abhaltende Vorrichtung eingebaut. Diese hatten den Nachteil, dass viele im Wasserdampf gelöste Verbindungen verloren gingen (MANOLIS 1983).

CONKLE et al. (1975) verwendeten ein Kältesammelsystem mit drei Kühlfallen in Serie um zu untersuchen, ob sich bei den verschiedenen Kühltemperaturen unterschiedliche Substanzen im Atemkondensat abscheiden. Ihr Ziel war es, auf diesem Weg die optimale Kühltemperatur für die Gewinnung von Atemkondensat herauszufinden. Zuerst wurde die Expirationsluft durch ein mit Eiswasser gekühltes Behältnis (0 °C) geleitet, danach erfolgte die Kühlung durch pulverisiertes Trockeneis (-78 °C) und zuletzt durch flüssigen Stickstoff (-175 °C). Die Probanden mussten 60 Minuten durch die Vorrichtung ausatmen. In den Proben, die auf 0 °C abgekühlt wurden konnten 32 verschiedene Substanzen analysiert werden. In den tiefer gekühlten Proben wurden 69 weitere Substanzen gefunden.

Zum Wasserstoffperoxid-Nachweis ließen BALDWIN et al. (1986) ihre Patienten durch eine mit Speichelfalle ausgestattete, 90 cm lange Kunststoff-Röhre (Tygon®) mit 15 mm Innendurchmesser ausatmen, welche in einem Eiswasserbad (0 °C) gekühlt wurde. Sie erhielten innerhalb von 5 Minuten ein analysierbares Probenvolumen von 1 ml, welches in Polystyren-Behältern eingefroren wurde. SZNAJDER et al. (1989) benutzten für denselben Nachweis eine ähnliche Konstruktion, eine 200 cm lange Tygon-Röhre mit 16 mm Innendurchmesser, welche in einem Salz-Eiswasserbad eingetaucht wurde, um eine Temperatur zwischen -5 und 0 °C zu erreichen. Sie sammelten in 20 Minuten durchschnittlich 3 ml Kondensat. DOHLMAN et al. (1997) verfeinerten diese Methode, indem sie die Tygon-Röhre mit einer eisbepackten Polyvinylchlorid-Röhre ummantelten. Sie stellten die Konstruktion im 45° -Winkel auf, um Kondensatansammlungen an den Wänden der Vorrichtung zu verhindern. Die Probe wurde in einem eisgekühlten Kolben (0 °C) aufgefangen. Ähnlich bestimmten auch NOWAK et al. (1996) und ANTZAK et al. (1997) die Wasserstoffperoxid-Konzentration im Atemkondensat ihrer Patienten. Die Patienten atmeten

über ein Mundstück mit Speichelfalle für 20 Minuten in eine 230 cm lange Polypropylen-Röhre. Diese steckte in einem Polystyren-Schaum-Behälter, der mit Eis und Salz gefüllt war. Auch hier lag die erreichte Temperatur zwischen -6 und 0 °C. Nach 20 Minuten Sammelzeit wurde die 2-5 ml umfassende Probe in Eppendorf-Gefäßen bei -80 °C eingefroren. DEKUIZEN et al. (1996) verwendeten ebenfalls ein eisgekühltes Sammelsystem und fingen die Proben in sterilen Plastikröhren auf. JÖBSIS et al. (1997, 2000) benutzten zum Wasserstoffperoxid-Nachweis eine 50 cm lange, doppelwandige Glasröhre, die durch zirkulierendes Eiswasser im Gegenstromprinzip die Probe auf 0 °C abkühlte. Der Patient atmete über ein Mundstück durch ein 2-Wege-Nichtrückatmungsventil, welches gleichzeitig als Speichelfalle fungierte. Das Kondensat wurde auf Eis gesammelt und bis zur Analyse bei -20 °C eingefroren.

KIETZMANN et al. (1993) wandten bei Intensivpatienten mit Endotrachealtubus eine besondere Methode zum Wasserstoffperoxid-Nachweis an. Sie schlossen eine Bypass-Röhre (7 mm Innendurchmesser), die auf 40 °C vorgeheizt war, um Kondensation vorzubeugen, an den Tubus an und verbanden ihn mit einer Pumpe, die mit einem Gas-Flowmeter ausgestattet war und die Ausatemluft mit konstantem Flow von 1,5 l /min ansaugte. Die Luft wurde durch eine Kühlfalle geleitet, die durch eine Mixtur von Aceton und Trockeneis auf -80 °C vorgekühlt war.

SCHEIDELER et al. (1993) wollten nicht-flüchtige Makromoleküle nachweisen. Ein Teflon-Mundstück mit Vorrichtung zur Speichelsammlung wurde mit einer Kühlfalle (36 cm lang, 6 mm Durchmesser) verbunden, die mit flüssigem Stickstoff auf -196 °C gebracht wurde. 200-400 Exhalationen wurden so ausgefroren, in einen Vakuumbehälter verbracht und trockengefroren. Die Atemkondensatgewinnung und der Nachweis nicht-flüchtiger Substanzen gelang ebenfalls mit zwei in Serie geschalteten Kühlfällen (SCHEIDELER et al. 1993).

Entzündungsmediatoren in der Ausatemluft des Menschen nachzuweisen, hatte sich BECHER (1995a) zum Ziel gesetzt, als er seine „Vorrichtung zur Sammlung von ausgeatmetem Atemkondensat“ zum Patent anmeldete. Dieses als Labormuster gefertigte Gerät wurde von der Forschungsgesellschaft für Lungen- und Thoraxerkrankungen (FILT) in Berlin entwickelt. In der hier vorliegenden Studie wurde es zum ersten Mal zur Atemkondensatgewinnung beim Pferd eingesetzt.

Das Gerät besteht aus einer doppelwandigen, von Kühlflüssigkeit durchströmten röhrenförmigen Ummantelung (47 cm Länge, 12 mm Innendurchmesser), in dessen Hohlraum

ein auswechselbares Probensammelrohr aus Teflon eingeschoben wird. Die Kühlvorrichtung ist über zwei isolierte Schläuche mit einem Durchflusskühler, der durch Wärmeentzug eine Temperatur von -20 °C produziert, verbunden. Die Vorrichtung ist so konstruiert, dass das Probensammelrohr frei im Mundstück endet und Speichel im Mundstückansatz aufgefangen wird. Ein Nichtrückatmungsventil stellt sicher, dass nur die Expirationsluft in das Probensammelrohr gelangt. Nach einer Sammelzeit von 15 Minuten wird beim Menschen ein Probenvolumen von 0,5 bis 1,5 ml erreicht. Nach der Sammelzeit wird das Probensammelrohr beidseitig durch Stopfen verschlossen und bis zur Analyse bei -78 °C aufbewahrt (BECHER et al. 1997b). Der Nachfolger dieses Gerätes wurde 1998 patentiert (Eco-Screen[®] der Firma Jaeger-Toennies¹). Der Unterschied zum Labormuster besteht in der verminderten Größe und der einfacheren Handhabung des Gerätes. Die Proben werden nicht mehr in den relativ langen Teflonröhren gesammelt, sondern in kurzen röhrenförmigen Kondensatorröhrchen aus Kunststoff, die mit Teflon beschichtet sind. Der dazugehörige Durchflusskühler erreicht eine Temperatur von -36 °C und arbeitet nach dem Gegenstromprinzip wie bei dem Vorgängermodell. Jedoch wird in dem Kondensatorröhrchen selbst nur eine Temperatur von 0 °C erreicht, wodurch das Kondensat in der flüssigen Phase gesammelt wird. Dies ist der entscheidende Unterschied zum Vorgängermodell, bei dem das Kondensat bei -20 °C sofort ausgefroren wird und sich als Eiskristallniederschlag an den Wänden des Sammelrohres absetzt. Es ist noch unklar, ob es für die Analytik eine Rolle spielt, in welcher Phase die Proben gewonnen werden. Denkbar ist eine Auswirkung auf die Zerfalls- bzw. Reaktionsgeschwindigkeit von labilen Substanzen.

Ein weiteres Gerät namens Cryocond² war zwischen 1997 und 2000 auf dem Markt erhältlich. Dieses kühlte die Proben nach dem Prinzip des piezoelektrischen Effektes, wobei eine Kühlleistung bis zu -50 °C erreicht werden konnte. Die Patienten atmeten durch ein Mundstück aus. Die Atemluft wurde über eine im Durchmesser ca. 3 cm große Kühlfläche, auf der sich eine austauschbare Kondensatfolie aus Polyurethan befand, geleitet. Die Temperatur der Kühlfläche betrug bei den älteren Geräten ca. -20 °C , so dass das Kondensat in Form einer Eistablette ausgefroren wurde. Die Temperatur der Kühlfläche bei den später hergestellten Geräten betrug 0 °C . Dadurch wurde das Kondensat in der flüssigen Phase gesammelt. Die Kondensatfolie mit dem ausgefrorenen Kondensat blieb bis zur Analyse eingefroren. Das Gerät war 10 kg schwer. Von Nachteil war die kleine Kühlfläche im Gegensatz zu den beiden vorher genannten Geräten. In dem durch dieses Gerät gewonnenen

¹ Erich Jaeger GmbH, 97204 Höchberg, Deutschland

² Fa. Medium-Sensor, 12681 Berlin, Deutschland

Kondensat konnte LTB₄ (WINSEL et al. 1994) und H₂O₂ (BITTERLING et al. 2000) nachgewiesen werden. Inzwischen wird der Cryocond nicht mehr hergestellt.

Die Konstruktion des Atemkondensators beeinflusst die abgeschiedene Exhalatmenge, die Konzentrationen der Inhaltsstoffe (Harnstoff), sowie die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nachweislich, was bei Messungen verschiedener Substanzen im Atemkondensat berücksichtigt werden sollte (WINSEL et al. 1999).

2.2.3.1.2 Die Adsorptionsmethode

Bei der Adsorptionsmethode wird die Expirationsluft über einen adsorptionsfähigen Trägerstoff geleitet und die so gebundenen Komponenten werden durch verschiedene Verfahren (abwaschen, erhitzen) gelöst, um anschließend durch Gas-Chromatographie/Massenspektrometrie analysiert zu werden. Als Trägerstoffe kommen Askarit, Quarzgel, Aktivkohle, Magnesiumperchlorat, Kalziumchlorid und Tenax[®], ein 2,6-Diphenyl-p-phenylenoxid Polymer, in Frage. 1938 gelangen HARGER et al. der Nachweis von Kohlendioxid in der Expirationsluft von Patienten mit Kohlendioxidvergiftung durch Adsorption an Askarit. JANSSON und LARSSON wiesen 1969 lösliche organische Komponenten durch Adsorption an Aktivkohle nach. Die Alkoholanalyse wurde 1941 von JETTER et al. durch Adsorption an Magnesiumperchlorat und 1970 von BORKENSTEIN durch Adsorption an Kalziumchlorid durchgeführt. ZLATAKIS et al. (1973) etablierten die Adsorption an „Tenax[®]“. Tenax[®] adsorbiert kein Wasser, aber sogar Spuren organischer Substanzen, die später durch Erhitzen freigesetzt werden können. Sie wiesen durch Adsorption an diesen Trägerstoff Spuren gasförmiger organischer Substanzen in Gasen, Urin, Serum und Plasma nach. Später entdeckte man Tenax[®] für die Atemanalyse (GEARHART und PAYNE-BOSE 1977; KROTOZYNSKI et al. 1977, 1979). Ein weiteres in der Atemanalytik eingesetztes Adsorbens ist Quarzgel. 1969 wies JONES Alkohol durch Adsorption an Quarzgel nach. Benzen, Aceton und Trichlorethylen in der Atemluft wurden ebenfalls durch Quarzgel gebunden (GAGE et al. 1977). Auch HOTZ (1987) nutzte Quarzgel, um niedermolekulare Kohlenwasserstoffe in der Atemluft nachzuweisen.

Polyethylenschaumwaffeln geringer Dichte haben einen hohen Adsorptionskoeffizient für organische Moleküle. Wasser auf der Polyethylenwaffel aus einer Atemprobe kann durch Pumpen unter reduziertem Druck entfernt werden. Das bewirkt eine Anreicherung der organischen Komponenten um den Faktor 10⁴-10⁵ (BRYANT et al. 1974).

2.3 ANWENDUNG DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG

In den folgenden Kapiteln wird beschrieben, welche Substanzen bisher beim Menschen und beim Tier im Atemkondensat bei verschiedenen Atemwegserkrankungen nachgewiesen wurden und welche Bedeutung diese Substanzen in der Diagnostik von Atemwegserkrankungen haben.

2.3.1 ZIELE DER ATEMKONDENSATANALYTIK BEIM MENSCHEN

Die Diagnose von Krankheiten durch die Analyse des menschlichen Atems hat eine lange Tradition in der Medizin (LAVOSIER und LAPLACE 1784). Die Analytik der Atemkondensatgewinnung beschränkte sich zuerst auf den Nachweis flüchtiger Substanzen, da der Nachweis nicht-flüchtiger Makromoleküle auf Grund der geringen Konzentrationen auf hochsensible Testverfahren angewiesen war (z.B. ELISA, RIA), die erst seit Ende des letzten Jahrhunderts routinemäßig durchgeführt werden. Die Erforschung der flüchtigen Substanzen ist inzwischen weit fortgeschritten und es sind zur Zeit 3481 verschiedene flüchtige organische Substanzen in der Ausatemluft des Menschen identifiziert (PHILLIPS et al. 1999). Aus Gründen der Übersichtlichkeit soll hier lediglich auf schwer/nicht-flüchtige Substanzen sowie auf Stickstoffmonoxid und das mäßig flüchtige Wasserstoffperoxid eingegangen werden, denen eine bedeutende Rolle bei der Erforschung des Lungenstoffwechsels zukommt.

Bisher war die genaue Beurteilung endobronchialer Entzündungen, wie sie bei Asthma bronchiale, Mukoviszidose (CF) und chronisch obstruktiver Bronchitis (COPD) vorkommen, auf invasive Diagnosemöglichkeiten wie die Bronchoskopie angewiesen (BECHER et al. 1996a, 1997a). Generell war die Gewinnung nicht-flüchtiger Stoffwechselprodukte und von Entzündungsmediatoren an die bronchoalveoläre Lavage oder das induzierte Sputum gebunden (BECHER et al. 1996a, 1997a, 1997b). Diese Methoden sind aufwendig, für den Patienten belastend und nicht beliebig oft wiederholbar. Ein nicht invasives diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von Veränderungen des Lungenstoffwechsels und des Entzündungsstatus der Lunge ist die Gewinnung von Atemkondensat (BECHER et al. 1997a, 1997b). Auch die Erkennung eines Gesundheitsrisikos durch inhalative Noxen durch Erfassung des Aktivitätsstadiums entzündlicher Atemwegsveränderungen erscheint möglich, wie der Vergleich des Entzündungsmediators Leukotrien B₄ bei Friseuren mit hoher irritativer Belastung im Gegensatz zu Bürotätigen in den Atemkondensatproben zeigte (BECHER et al.

1998a). Somit könnte die Methode auch zur Prävention umwelt- und arbeitsbedingter Schädigungen des Organismus Anwendung finden.

2.3.2 BISHER BEIM MENSCHEN IM ATEMKONDENSAT BESTIMMTE PARAMETER

Nachfolgend werden die bisher beim Menschen im Atemkondensat bestimmten Substanzen vorgestellt. Eine Übersicht über die nach Kenntnis der Autorin bislang nachgewiesenen Substanzen gibt Tab. 1.

Tab. 1: Substanzen, die bisher im Atemkondensat des Menschen nachgewiesen wurden

	Substanz
Arachidonsäuremetaboliten:	Leukotrien B ₄
	Leukotriene C ₄ , D ₄ , E ₄
	Prostaglandin E ₂
	Isoprostane (z.B. 8-epi-PGF _{2α})
	Thromboxane (z.B. TXB ₂)
Proteine:	ECP/EPX
	Interleukine IL-1β, sIL-2R, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8
	TNF-α
	Tumor Marker (z.B. SCC, TPA-M, CYFRA)
Vasoaktive Peptide, Amine:	Acetylcholin
	Katecholamine
	Histamin
	Serotonin
Weitere:	DNA
	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS)
	Wasserstoffperoxid
	Nitrat/Nitrit
	Nitrotyrosin
	Harnstoff
	Chlorid

2.3.2.1 Wasserstoffperoxid

Einerseits sind reaktive Sauerstoffmetabolite (u. a. H_2O_2) unerwünschte Nebenprodukte des aeroben Stoffwechsels (FERLINZ 1994), andererseits benutzen die Phagozyten diese Produkte als wichtige bakterizide Substanzen. Alle Zellen, insbesondere auch die pulmonalen Zellen, haben gelernt, mit diesen Metaboliten zu leben, zum einen durch Minimierung ihrer Bildung, zum anderen durch Entwicklung effizienter antioxidativer Verteidigungssysteme (FERLINZ 1994). Ein Enzymkomplex (das NADPH-Oxidase-/Cytochrom- b_{554} -System) in der Plasmamembran von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) und Makrophagen bildet große Mengen Superoxidanionen, aus welchen durch spontane oder enzymatische Dismutation Wasserstoffperoxid entsteht (FERLINZ 1994). Die Enzyme Katalase und Glutathion-Peroxidase regeln die intrazelluläre H_2O_2 -Konzentration, welche bei oxidativem Stress in den Mitochondrien auf das 10-fache ansteigen kann. Im Vergleich mit den intrazellulären Radikalfänger-Mechanismen besitzen die Atemwege und der Extrazellulärraum zusammen eine sehr viel schwächere Sauerstoff-Radikalfänger Kapazität. H_2O_2 ist von allen Sauerstoff-Metaboliten am stabilsten, vermag ungehindert durch Zellmembranen zu diffundieren und kann in der Expirationsluft nachgewiesen werden (SZNAJDER et al. 1989). Es sei in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, dass ein fließender Übergang zwischen den flüchtigen und den nicht-flüchtigen Substanzen besteht, und dass es bei einigen reaktiven Substanzen im Ermessen der jeweiligen Autoren liegt, diese der einen oder anderen Gruppe zuzuordnen. Wasserstoffperoxid ist beispielsweise zwischen 37 °C (Temperatur der Atemluft beim Austritt aus der Lunge) und 0 °C (Temperatur der Luft in der Sammelkühlfalle) wegen seines niedrigen Wasserdampfdruckes flüssig, was eine Voraussetzung für das vollständige Ausfrieren in der Kühlfalle ist. ROTHE (2000a) definiert es als „mäßig flüchtig“, BALDWIN et al. (1986), SZNAJDER et al. (1989) und ANTCZAK et al. (1997) bezeichnen es als flüchtig, da es ihrer Meinung nach bei physiologischen Temperaturen (37 °C) in die Gasphase übergehen kann.

Die Wasserstoffperoxidbestimmung im Atemkondensat ist von besonderem Interesse, weil es bei verschiedenen entzündlichen Lungenerkrankungen in erhöhten Konzentrationen zu finden ist. WILLIAMS (1982) wies Wasserstoffperoxid in der Atemluft nach. Er beobachtete eine direkte Korrelation zwischen der H_2O_2 -Konzentration und dem Auftreten einer spontanen Chemolumineszenz (Ausstrahlung von sichtbarem oder ultraviolettem Licht ohne wesentliche Temperaturänderung) der Atemluft. Das akute Atemnotsyndrom der Erwachsenen (ARDS) ist der Prototyp einer akuten pulmonalen Erkrankung. Hierbei leiten in der Regel durch ein extrapulmonales Ereignis aktivierte PMN die oxidative Überlastung des Lungenparenchyms

durch die Bildung reaktiver Sauerstoffmetabolite ein. Das granulozytäre H_2O_2 vermag Endothelzellen zu zerstören, wodurch eine erhöhte pulmonalmikrovaskuläre Permeabilität mit Auftreten eines interstitiellen und intraalveolären Ödems bei ARDS zu erklären ist. Die gegenüber Gesunden bis zu 5-fach erhöhte Konzentration an H_2O_2 im Kondensat der Atemluft (s. Tab. 2) wird als Nachweis für die pathogenetische Bedeutung reaktiver Sauerstoffmetabolite beim ARDS-Patienten angesehen (BALDWIN et al. 1986; SZNAJDER et al. 1989; KIEZMANN et al. 1993). SZNAJDER et al. (1989) und KIEZMANN et al. (1993) fanden außerdem auch bei Patienten mit Lungeninfiltraten (Pneumonie, Lungenödem) annähernd so hohe Peroxidkonzentrationen wie bei den ARDS-Patienten, was durch die hierbei involvierten aktiven Phagozyten und deren erhöhte H_2O_2 -Produktion zu erklären ist (s. Tab. 2). Im Gegensatz dazu fanden BALDWIN et al. (1986) keine erhöhten H_2O_2 -Konzentrationen bei Pneumonie-Patienten. Sie stellten außerdem fest, dass eine antiinflammatorische Therapie (Glukokortikoide) keinen Einfluss auf die ausgeatmete H_2O_2 -Konzentration hatte, was jedoch von SZNAJDER et al. (1989), die einen signifikanten Abfall der H_2O_2 -Konzentration unter Kortisontherapie nachwiesen, widerlegt werden konnte. Auch bei Bronchiektasien, einer chronisch entzündlichen Lungenerkrankung, die durch irreversible Dilatation der Bronchien und meist persistierender Produktion von purulentem Sputum gekennzeichnet ist, fanden sich signifikant erhöhte Wasserstoffperoxidkonzentrationen (s. Tab. 2). Dies wird der Aktivierung inflammatorischer Zellen (v. a. PMN, aber auch Makrophagen und eosinophile Granulozyten) und dem daraus resultierenden „respiratory burst“ mit Produktion reaktiver Superoxid-Anionen zugeschrieben. Die H_2O_2 -Konzentration war durch Glukokortikoide nicht beeinflussbar, was der mangelnden Wirkung auf die bei dieser Erkrankung dominierenden PMN zugeschrieben wurde (LOUKIDES et al. 1998).

Tab. 2: Wasserstoffperoxidkonzentration im Atemkondensat bei Patienten mit ARDS, Bronchiectasien und Lungeninfiltraten

	Autor	Patienten	Kontrolle
ARDS	BALDWIN et al. (1986)	1,68 ± 0,35 µmol/l (n = 16)	0,34 ± 0,08 µmol/l (n = 27)
	SZNAJDER et al. (1989)	2,34 ± 1,15 µmol/l (n = 33)	0,99 ± 0,72 µmol/l (n = 22)
	KIETZMANN et al. (1993)	552 nmol/l (n = 7)	95 nmol/l (n = 10)
Bronchiectasien	LOUKIDES et al. (1998)	0,87 ± 0,01 µmol/l (n = 37)	0,26 ± 0,04 µmol/l (n = 25)
Lungeninfiltrate (z.B. Pneumonie)	SZNAJDER et al. (1989)	2,45 ± 1,55 µmol/l (n = 40)	0,99 ± 0,72 µmol/l (n = 22)
	KIETZMANN et al. (1993)	343 nmol/l (n = 4)	95 nmol/l (n = 10)

Asthma kann als chronische, entzündliche Bronchialerkrankung mit reversibler Atemwegsobstruktion definiert werden, welche durch Leukozyteninfiltrationen der Mukosa charakterisiert ist (HERZOG 1997). Diese Zellen (vor allem eosinophile Granulozyten, aber auch PMN) setzen Zytokine und Mediatoren frei, die den Entzündungsprozess vorantreiben und die bronchiale Erregbarkeit steigern. Neben diversen anderen Mediatoren spielen auch hier reaktive Sauerstoffradikale und nachfolgende Lipid-Peroxidation eine bedeutende Rolle bei der Entzündung und Schädigung des Bronchialepithels. Alveolarmakrophagen von Asthmatikern können größere Mengen reaktiver Sauerstoffmetaboliten produzieren als die von Gesunden (JÖBSIS et al. 1997; ANTZAK et al. 1997). Es wurden bei Asthmatikern im Atemkondensat bis zu 26-fach höhere Wasserstoffperoxidkonzentrationen als bei Gesunden gefunden (DOHLMANN et al. 1993; ANTZAK et al. 1996, 1997; JÖBSIS et al. 1997). Dabei machten DOHLMANN et al. (1993) einen Unterschied zwischen akut kranken Asthmatikern und chronisch kranken Asthmapatienten ohne akute Symptome. Sie fanden nur bei den akuten Asthmatikern erhöhte H₂O₂-Werte, was sie auf eine erhöhte Abbaurate bei chronisch erkrankten Asthmatikern zurückführten (s. Tab. 3). JÖBSIS et al. (1997) wiesen jedoch auch bei chronischen Asthmatikern, die symptomfrei waren, signifikant höhere H₂O₂-Werte nach als bei Gesunden. Die Werte der Patienten sanken unter Glukokortikoidbehandlung (s. Tab. 3).

Die chronisch obstruktive Bronchitis (COB, COPD) ist eine Atemwegserkrankung, die durch minimal reversible Atemwegsobstruktion, Hyperreagibilität der Atemwege und Hypersekretion gekennzeichnet ist (HERZOG 1997). Auch hier kann man zwischen akuten Schüben, die mit erhöhtem Einstrom von PMN und eosinophilen Granulozyten sowie T-Lymphozyten einhergehen, und der sogenannten „asymptomatischen“ chronischen Bronchitis, bei der Makrophagen und T-Lymphozyten dominieren, unterscheiden. Bei COPD-Patienten mit akutem Schub fanden sich die höchsten H_2O_2 -Werte (s. Tab. 3). Die asymptomatischen Patienten hatten 1/3 der H_2O_2 -Konzentration der akut erkrankten. Die niedrigsten Konzentrationen wurden bei den Gesunden gefunden (DEKHUIJZEN et al. 1996). NOWAK et al. (1999) fanden bei Patienten mit asymptomatischer COPD 10-fach höhere Werte als bei Gesunden (s. Tab. 3).

Reaktive Sauerstoffspezies spielen auch eine Rolle bei durch Tabakrauch induzierter COPD. Zigarettenrauch gehört zu den Faktoren, die am häufigsten für die Entwicklung einer COPD verantwortlich sind (NOWAK et al. 1999). Im Tabakrauch selbst befinden sich große Mengen freier Radikale und Oxidantien, der größere Teil wird jedoch von aktivierten Phagozyten (mononukleäre Zellen, PMN), die mehr H_2O_2 produzieren, als die von Nichtrauchern, freigesetzt (DEKHUIJZEN et al. 1996). Die H_2O_2 -Konzentrationen im Atemkondensat von Rauchern lagen 5-fach höher als bei Nichtrauchern (s. Tab. 3), wobei letztendlich noch nicht genau geklärt ist, wie der Zigarettenrauch die H_2O_2 -Produktion steigert (NOWAK et al. 1996). Jedoch unterschied sich die H_2O_2 -Produktion bei Patienten mit COPD, die rauchten, nicht von der von COPD-Ex-Rauchern oder COPD Patienten die nie geraucht hatten (NOWAK et al. 1999).

Tab. 3: Wasserstoffperoxidkonzentration im Atemkondensat bei Patienten mit Asthma, COPD und bei Rauchern

	Autor	Patienten	Kontrolle
Asthma	ANTZAK et al. (1997)	0,26 ± 0,29 nM (n = 21)	0,01 ± 0,03 nM (n = 10)
	JÖBSIS et al. (1997)	0,6 µmol (n = 66) Glucocort. Therapie: 0,45 µmol (n = 41) ohne Therapie: 0,8 µmol (n = 25)	0,15 µmol (n = 21)
	DOHLMANN et al. (1993)	0,81 ± 0,7 µmol/l (n = 35) akut erkrankt: 1,5 ± 0,5 µmol/l (n = 10) chronisch erkrankt: 0,54 ± 0,56 µmol/l (n = 25)	0,25 ± 0,27 µmol/l (n = 11)
COPD	DEKHUIJZEN et al. (1996)	akuter Schub: 0,6 ± 0,075 µM (n = 19) asymptomatisch: 0,205 ± 0,054 µM (n = 12)	0,029 ± 0,012 µM (n = 10)
	NOWAK et al. (1999)	0,48 ± 0,67 µM (n = 44)	0,05 ± 0,07 µM (n = 17)
Raucher	NOWAK et al. (1996)	Raucher: 0,24 ± 0,32 nM (n = 33)	Nichtraucher: 0,05 ± 0,11 nM (n = 27)

Die Angabe der Einheiten in Tab. 3, 4, 6 und 7 wurde in der aufgeführten Form ohne Erläuterung aus der Literatur übernommen. Es ist anzunehmen, dass M = mol pro Volumeneinheit (ml) bedeutet.

Die Mukoviszidose (CF) ist eine autosomal-rezessiv erbliche allgemeine Störung der Ausscheidung von Drüsenabsonderungen mit zystisch-fibrotischen Veränderungen u.a. an den Bronchien. Es entwickelt sich eine asthmoide Bronchitis (ROCHE 1993). Daraus folgt eine schwere chronische Atemwegsentzündung, die mit bakteriellen Infektionen der Atemwege unter massiver Beteiligung aktivierter neutrophiler Granulozyten und Makrophagen assoziiert ist (JÖBSIS et al. 2000). Diese Zellen wurden auch hier für die Bildung freier

Sauerstoffradikale verantwortlich gemacht. JÖBSIS et al. (2000) wiesen auch bei dieser Erkrankung erhöhte H_2O_2 -Werte im Atemkondensat nach ($0,28 \mu M$), die unter antibiotischer Behandlung signifikant abfielen ($0,16 \mu M$). Keinen Einfluss auf die Werte hatte eine Kortisonbehandlung, was die Autoren auf die durch Kortison nicht beeinflussbare neutrophile Entzündung zurückführten, anders als bei der eosinophilen Entzündung bei Asthma (LOUKIDES et al. 1998).

2.3.2.2 Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen

H_2O_2 und andere Oxidantien sind als extrem reaktive Substanzen in der Lage, mit Membranlipiden, Lipid-Komponenten der Bronchialflüssigkeit und mit Lipid-Mediatoren zu reagieren und deren Peroxidation zu bewirken, was sich in der Produktion Thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen (TBARS) widerspiegelt (ANTZAK et al. 1997). TBARS können als Marker lipid-oxidativer Schädigung angesehen werden und wirken selbst zytotoxisch (ANTZAK et al. 1997). Bei Asthma waren die TBARS im Atemkondensat stark erhöht (s. Tab. 4), und es bestand eine Korrelation von $r = 0,74$ zu den erhöhten H_2O_2 -Werten (ANTZAK et al. 1997). KASIELSKI et al. (1999) wiesen TBARS bei COPD-Patienten im Atemkondensat nach. Die Patienten hatten nach Behandlung mit N-Acetylcystein (NAC), welches neben mukolytischen auch antioxidative Eigenschaften besitzt, keine signifikant veränderten TBARS-Werte (s. Tab. 4). Auch NOWAK et al. (1999) untersuchten bei COPD-Patienten das Atemkondensat auf TBARS. Sie wiesen bei asymptomatischer COPD 12-fach erhöhte Werte gegenüber Gesunden nach, aber fanden keine Korrelation der TBARS-Werte zu den ebenfalls erhöhten H_2O_2 -Werten (s. Tab. 4). Es zeigte sich innerhalb der COPD-Patienten eine tendentielle Erhöhung der TBARS bei den rauchenden gegenüber den nichtrauchenden und den ehemals rauchenden Patienten.

Tab. 4: Konzentration Thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen im Atemkondensat von Patienten mit Asthma und COPD

	Autor	Patienten	Kontrolle
Asthma	ANTZAK et al. (1997)	0,073 ± 0,071 nM (n = 21)	0,004 ± 0,009 nM (n = 10)
COPD	KASIELSKI et al. (1999)	vor NAC-Behandl.: 0,41 ± 0,46 mM nach NAC-Behandl.: 0,35 ± 0,39 mM (n = 22)	vor NAC-Behandl. : 0,39 ± 0,73 mM nach NAC-Behandl.: 0,41 ± 0,45 mM (n = 22)
	NOWAK et al. (1999)	0,48 ± 0,86 µM (n = 44)	0,04 ± 0,14 µM (n = 17)

NAC: N-Acetylcystein

2.3.2.3 Stickstoffmonoxid (NO), Nitrit (NO₂⁻) und Nitrat (NO₃⁻)

Neben H₂O₂ spielt auch NO eine Rolle als Marker einer Atemwegsentzündung und des oxidativen Stresses. Entzündungszellen, aber auch Makrophagen und Epithelzellen, setzen nach Aktivierung einer induzierbaren NO-Synthetase durch Cytokine (IF γ , IL1 β , TNF α) und Endotoxine Stickstoffmonoxid (NO), ein hochreaktives Gas, frei (KHARITONOV et al. 1994). Das Gefäßendothel, Neuronen und andere Zellen (Mastzellen, Thrombozyten, PMN) besitzen eine konstitutive Ca²⁺-Calmodulin-abhängige NO-Synthetase, die aber nicht so große Mengen NO produziert, wie die induzierbare NO-Synthetase und nicht wie diese durch Kortikosteroide beeinflussbar ist (BARNES et al. 1993; KHARITONOV et al. 1994; DILLON et al. 1996). NO wird in der Lunge produziert und wurde in der Ausatemungsluft von Menschen und Tieren nachgewiesen (GUSTAFSSON et al. 1991; ALVING et al. 1993; BARNES et al. 1993; KHARITONOV et al. 1994; LUNDBERG et al. 1996; ROBBINS et al. 1996; HO et al. 1998a). In der Lunge spielt NO eine Rolle als Neurotransmitter bronchodilatatorischer Nerven, führt über die Aktivierung der Guanylyl-cyclase und dem dadurch ansteigenden cGMP zur Relaxation glatter Muskelzellen und fungiert als Vasodilatator. NO induziert in höheren Konzentrationen Hyperämie, Exsudation bis zum Lungenödem und zytotoxische Effekte und kann somit zum Gewebsuntergang führen (BARNES et al. 1993). Das NO der Ausatemluft stammt vor allem aus den oberen Atemwegen (Nase, Rachen, paranasale Sinus) mit geringer Beteiligung der unteren Atemwege (LUNDBERG et al. 1996; DILLON et al. 1996). Die nasal gemessenen NO-Werte

in der Ausatemluft waren bei Gesunden höher als die oral gemessenen (ALVING et al. 1993). Bei Asthma wurden oral erhöhte NO-Werte in der Atemluft gemessen (ALVING et al. 1993, 1996; KHARITONOV et al. 1994, 1997, 1999; ROBBINS et al. 1996; TEN HACKEN et al. 1996), wohingegen nasal bei Asthmatikern keine Erhöhung der NO-Konzentration gegenüber Gesunden (s. Tab. 5) gemessen werden konnte (ALVING et al. 1993; ROBBINS et al. 1996). Bei Mukoviszidose und bei Rauchern waren bei oraler Messung in der Expirationsluft keine erhöhten NO-Werte (s. Tab. 5) zu finden (ROBBINS et al. 1996; KHARITONOV et al. 1997, HO et al. 1998a, WOOD et al. 1999; BALINT et al. 2000b). Die niedrigen Werte, auch bei akuten Schüben der CF, werden dadurch erklärt, dass das exhalierte NO bei chronisch verschleimten Atemwegen nicht die totale NO-Produktion repräsentiert (HO et al. 1998a). Im Zigarettenrauch sind hohe Konzentrationen an NO zu finden und es wird dadurch bedingt von einer down-Regulation der NO-Synthetase ausgegangen (KHARITONOV et al. 1997). Bei COPD wurden von den meisten Autoren keine erhöhten NO-Werte gefunden (KHARITONOV et al. 1997, 1999; MONTUSCHI 1999a). BECK et al. (1999) fanden erhöhte NO-Werte bei COPD auch ohne akuten Schub (s. Tab. 5).

Tab. 5: Stickstoffmonoxidkonzentration in der Ausatemluft von Asthmatikern, Patienten mit COPD und mit CF im Vergleich zu Kontrollpersonen (ohne Angabe orale Messung)

	Autor	Patienten	Kontrolle
Asthma	ALVING et al. (1993)	orale Messung: 21-31 ppb (n = 8)	orale Messung: 9 ± 1 ppb (n = 12) nasale Messung: 23 ± 2 ppb (n = 12)
	ALVING et al. (1996)	17 ± 3 ppb (n = 14)	5 ± 1 ppb (n = 13)
	KHARITONOV et al. (1994)	283 ± 16 ppb (n = 61)	80,2 ± 4,1 ppb (n = 67)
	ROBBINS et al. (1996)	174,2 ± 27 ppb (n = 18)	Raucher: 39,6 ± 4,8 ppb (n = 36) Nichtraucher: 105,5 ± 8,4 ppb (n = 23)
COPD	BECK et al. (1999)	8,7 ppb (n = 25)	3 ppb (n = 19)
	MONTUSCHI et al. (1999)	9,1 ± 1 ppb (n = 16)	Raucher: 3,9 ± 0,5 ppb (n = 10) Nichtraucher: 6,5 ± 0,6 ppb (n = 10)
CF	HO et al. (1998a)	4,0 ppb (n = 36)	4,4 ppb (n = 22)
	BALINT et al. (2000b)	4,17 ± 0,3 ppb (n = 6)	5,2 ± 0,4 ppb (n = 10)

NO ist instabil und sehr kurzlebig. Durch Oxidation von NO entstehen die stabileren Endprodukte des NO-Metabolismus Nitrit- (NO_2^-), Nitrat- (NO_3^-) und Peroxynitrit-Ionen (ONOO^-). Dabei ist der Nachweis von Nitrit und Nitrat vor allem bei CF-Patienten von Bedeutung, denn im Gegensatz zu NO sind bei ihnen beide Konzentrationen im Atemkondensat erhöht (s. Tab. 6) und scheinen somit ein sensitiverer Marker der NO-Produktion zu sein als der NO-Nachweis selber (HO et al. 1998b; KHARITONOV et al. 2000; WOOD et al. 2000). BALINT et al. (2000b) fanden bei CF-Patienten keine erhöhten Nitrit bzw. Nitrat/Nitrit-Werte (s. Tab. 6). Bei Asthma wurden erhöhte Nitrat/Nitrit-Werte (s. Tab. 6) gefunden (HUNT 1995; PANAGOUE et al. 1999; LOUKIDES et al. 2000;

KHARITONOV et al. 2000). Außerdem wurden bei Rauchern 30 Minuten nach dem Rauchen signifikant erhöhte Nitrat/Nitrit-Werte (s. Tab. 6) gefunden (BALINT 2000a).

Tab. 6: Nitrat- und Nitritkonzentration im Atemkondensat von Patienten mit CF, mit Asthma und von Rauchern

	Autor	Patienten	Kontrolle
CF	HO et al. (1998b)	Nitrit: 2,15 μ M (n = 21)	0,36 μ M (n = 12)
	WOOD et al. (1999)	Nitrit: 4,08 \pm 1,97 μ M (n = 10)	0,3 \pm 0,2 μ M (n = 11)
	BALINT et al. (2000b)	Nitrit: 6,5 \pm 3 mM Nitrat/Nitrit: 29,7 \pm 5,8 mM (n = 6)	3,9 \pm 0,6 mM 26,3 \pm 3,5 mM (n = 10)
Asthma	HUNT et al. (1995)	Nitrit: 2,63 \pm 0,54 μ M (n = 10)	0,78 \pm 0,072 μ M (n = 15)
	PANAGOOU et al. (1999)	Nitrat/Nitrit: 4,52 \pm 3,41 mM (n = 29)	1,1 \pm 0,32 mM (n = 20)
	LOUKIDES et al. (2000)	Nitrat/Nitrit: 3,96 \pm 1 mM (n = 28)	0,64 \pm 0,2 mM (n = 15)
Raucher	BALINT et al. (2000a)	Nitrat/Nitrit: nach d. Rauchen: 29,9 \pm 7,5 mM (n = 6)	vor d. Rauchen: 20,18 \pm 3,9 mM (n = 6)

2.3.2.4 Nitrothiosole und Nitrosamine

NO kann spontan mit Thiolen wie Cystein oder Glutathion in wässrigen Medien reagieren und Nitrothiosole bilden, welche relaxierend auf glatte Muskulatur wirken (GASTON et al. 1994). Bei Rauchern wurden erhöhte Nitrothiosolwerte (s. Tab. 7) im Atemkondensat nachgewiesen (KHARITONOV et al. 2000; CORRADI et al. 2000). Aber auch bei Patienten mit sowohl beständiger CF als auch bei akuten Schüben der CF fanden sich bei KHARITONOV et al. (2000) und bei CORRADI et al. (2001) erhöhte Nitrothiosolwerte,

wohingegen BALINT et al. (2000b) dies bei Patienten mit beständiger CF nicht bestätigen konnten (s. Tab. 7). KHARITONOV et al. (2000) fanden bei Asthmatikern erhöhte Nitrothiosolwerte, die sich nach Kortikosteroidbehandlung normalisierten. Bei Patienten mit schwerem Asthma und COPD fanden CORRADI et al. (2001) ebenfalls erhöhte Nitrothiosolwerte gegenüber gesunden Kontrollpersonen (s. Tab. 7).

Aber auch die Bildung von Nitrosaminen z.B. Nitrotyrosin aus der Reaktion von Peroxynitrit mit Tyrosin ist möglich; diese sind nicht so reaktiv wie die Thiole. Erhöhte Nitrotyrosinwerte wurden bei Asthmatikern nachgewiesen (s. Tab. 7) und ihr Anstieg wurde mit der Verschlimmerung von Asthma bei Absetzen der Kortisontherapie in Verbindung gebracht. Nitrotyrosine scheinen eine Verschlimmerung des Krankheitsbildes bedingt durch die Bildung reaktiver Sauerstoff-Stickstoffverbindungen besser als NO anzuzeigen (KHARITONOV et al. 2000; HANAZAWA et al. 2000a, 2000c). Patienten mit beständiger CF zeigten ebenfalls eine Erhöhung der Nitrotyrosinwerte (s. Tab. 7), was auf die Nitrierung von Proteinen durch Myeloperoxidasen zurückzuführen sein könnte (KHARITONOV et al. 2000; BALINT et al. 2000b).

Tab. 7: Nitrothiosole und Nitrotyrosin im Atemkondensat bei Rauchern, Asthmatikern und Patienten mit CF und COPD

Nitrothiosol	Autor	Patienten	Kontrolle
CF	BALINT et al. (2000b)	1,01 ± 0,78 mM (n = 6)	0,12 ± 0,06 mM (n = 10)
	CORRADI et al. (2001)	0,35 ± 0,07 µM	0,11 ± 0,02 µM
Raucher	CORRADI et al. (2000)	Raucher: 0,46 ± 0,09 mM (n = 10)	Nichtraucher: 0,11 ± 0,02 mM (n = 10)
Asthma	CORRADI et al. (2001)	0,81 ± 0,06 µM	0,11 ± 0,02 µM
COPD	CORRADI et al. (2001)	0,24 ± 0,04 µM	0,11 ± 0,02 µM
Nitrotyrosin	Autor	Patienten	Kontrolle
CF	BALINT et al. (2000b)	31,3 ± 15,7 ng/ml (n = 6)	6 ± 0,8 ng/ml (n = 10)
Asthma	KHARITONOV et al. (2000)	14,3 ± 1,8 ng/ml (n = 9)	2,8 ± 1,1 ng/ml (n = 7)
	HANAZAWA et al. (2000c)	15,2 ± 2,5 ng/ml (n = 10)	5,9 ± 0,8 ng/ml (n = 10)

2.3.2.5 Lipidmediatoren der Lunge

Bereits 1938 konnten FELDBERG und KELLAWAY zeigen, dass aus einer mit Kobragift behandelten Lunge eine Substanz freigesetzt wird, die glatte Muskulatur zur Kontraktion bringt. Später ergab sich, dass diese als slow reacting substance (SRS) bezeichnete Verbindung zusammen mit anderen Mediatoren bei IgE – vermittelten Überempfindlichkeitsreaktionen entsteht und dass es sich bei ihr um Leukotriene, insbesondere LTA₄ und die schwefelhaltigen LTC₄, D₄ und E₄ handelt (zitiert nach LÖFFLER 1988). Lipidmediatoren werden in einer Vielzahl von biologischen Systemen gebildet. Eine wichtige Eigenschaft dieser Substanzgruppe der Eicosanoide ist ihre Eigenschaft als Lokalmediator (parakrine Wirkungsweise), was bedeutet, dass Entstehungs- und Wirkungsort sehr eng beieinander liegen, so dass nur lokale und keine systemischen Effekte erreicht werden. Die Eicosanoide beinhalten alle Metabolite, die sich von vielfach ungesättigten geradekettigen C₂₀-Fettsäuren ableiten. Im Folgenden wird auf die im Atemkondensat nachgewiesenen Leukotriene, Prostaglandine, Thromboxane und Isoprostane näher eingegangen, welchen eine entscheidende Rolle bei der Regulation inflammatorischer Abläufe in der Lunge zukommt.

2.3.2.5.1 Leukotriene

Der Begriff Leukotriene (LT) wurde von SAMUELSSON (1983) für nicht-zyklische C₂₀-Carboxylsäuren mit 1 oder 2 Sauerstoffsubstituenten und 3 konjugierten Doppelbindungen eingeführt. Sie entstehen über den 5-Lipoxygenaseweg aus Arachidonsäure. Über das instabile LTA₄ werden enzymatisch die Sulfidopeptidleukotriene (LTC₄, D₄, E₄) und LTB₄ generiert. LTC₄ wird in der pulmonalen Zirkulation zu LTD₄ und dieses wiederum zu LTE₄ metabolisiert, wohingegen LTB₄ nicht umgewandelt wird (FERLINZ 1994). Bildungsstätte der Sulfidopeptidleukotriene sind vor allem die Mastzellen der Lunge und eosinophile Granulozyten. LTB₄ wird vor allem von neutrophilen Granulozyten freigesetzt, aber auch Makrophagen, Endothel- und Epithelzellen der Lunge sind Bildungsstätte aller Leukotriene. Das bedeutet, dass alle primär inflammatorischen Zellen, ebenso wie das Lungenendothel und -epithel, nach entsprechender Stimulation potente Arachidonsäuremetaboliten freisetzen können.

Die Wirkung von **LTB₄** beruht vor allem auf seinem großen chemotaktischen Potential und ist für die Rekrutierung von Leukozyten in das interstitielle und das intraalveoläre

Kompartiment der Lunge verantwortlich, aber auch für ihre Adhärenz, Akkumulation, Aggregation und Degranulation in Geweben. Es bewirkt eine Erhöhung der vaskulären Permeabilität in Anwesenheit von Leukozyten und wirkt konstriktorisch auf glatte Muskulatur (GARCIA et al. 1987; WILLIAM et al. 1987).

WINSEL et al. (1994) wiesen als erste LTB₄ im Atemkondensat von Asthmatikern nach. Sie fanden während einer Hyposensibilisierungstherapie mit $172,9 \pm 109,6$ pg/ml die höchsten Werte, die sich signifikant von denen der gesunden Kontrollgruppe mit $84,4 \pm 83,6$ pg/ml unterschieden. Allergische Asthmatiker ($117,9 \pm 74,6$ pg/ml) hatten statistisch nicht signifikant niedrigere LTB₄-Werte als hyposensibilisierte. Dieses Ergebnis gab erste Hinweise auf die mögliche Kontrolle einer Therapie mit Hilfe der nichtinvasiven Methode der Atemkondensatanalytik. BECHER et al. (1995b) untersuchten Patienten mit Asthma in verschiedenen Schweregraden, Patienten mit COPD, mit trockenem Husten und mit saisonaler allergischer Rhinitis. Die gesunde Kontrollgruppe und die Rhinitisgruppe hatten die niedrigsten LTB₄-Werte, was als Hinweis darauf interpretiert wird, dass die gemessenen Mediatoren tatsächlich aus den unteren Atemwegen stammen. Alle Patienten mit bronchialen Erkrankungen hatten erhöhte LTB₄-Werte [Asthma (951 ± 246 pg/ml) > COPD (844 ± 245 pg/ml) > Reizhusten (670 ± 198 pg/ml) > allergische Rhinitis (321 ± 83 pg/ml) > Gesunde (282 ± 48 pg/ml)]. Bei den Asthmatikern war zudem ein signifikanter Anstieg der Werte mit zunehmendem Asthmagrad zu verzeichnen, so dass bei schwerem Asthma ein 9-fach erhöhter Wert gegenüber jenem bei leichtem Asthma nachgewiesen wurde (BECHER et al. 1995b, 1997a, 1997b). Die Autoren sehen hier einen Zusammenhang des LTB₄-Gehaltes der Atemluft mit der Atemwegsentszündung. Die Leukotrienkonzentration im Atemkondensat war nicht vergleichbar mit der Konzentration in der bronchoalveolären Lavage und es wurde keine Korrelation zum FEV₁ gefunden, was darauf hinweisen könnte, dass das FEV₁ keine enge Korrelation zu Entzündungsprozessen in den Atemwegen hat (BECHER et al. 1997a). Im Gegensatz dazu fand MONTUSCHI (2000c) bei leichten Asthmatikern ähnliche Werte ($87,7 \pm 13,7$ pg/ml) wie bei Gesunden ($72,4 \pm 10,6$ pg/ml). BLANKENBURG et al. (2000) fanden bei allergischen Asthmatikern höhere LTB₄ Ausgangswerte ($148 \pm 28,1$ pg/ml) als bei nicht allergischen Asthmatikern ($114 \pm 56,3$ pg/ml). Beide Patientengruppen zeigten nach Allergenexposition ansteigende LTB₄-Werte und normale FEV₁-Werte. Die Werte der Kontrollgruppe lagen bei $80,3 \pm 24,4$ pg/ml (BLANKENBURG et al. 2000).

Es wurde gezeigt, dass die LTB₄-Konzentration im Atemkondensat bei Probanden mit bronchialer Hyperreaktivität und allergischem Asthma nach Provokation mit Histamin nach 4-6 Stunden anstieg (von $76,6 \pm 16$ pg/ml auf $164,1 \pm 39,8$ pg/ml) und somit geeignet

erscheint, entzündliche oder allergische Reaktionen der Atemwege zu erfassen (BECHER et al. 1996a). Die Autoren untersuchten weiterhin die LTB_4 Konzentration bei Asthmatikern direkt und 5 Stunden nach Provokation mit Allergenen und fanden eine signifikante Zunahme der Leukotrienkonzentration direkt nach der Provokation von $114,4 \pm 20,1$ auf $160,7 \pm 33,1$ pg/ml und einen weiteren Anstieg auf $184,5 \pm 41,6$ pg/ml nach 5 Stunden, wohingegen das FEV_1 nach der Provokation einen leichten, aber nicht signifikanten Abfall zeigte und nach 5 Stunden wieder normale Werte aufwies. Dies wird dahingehend interpretiert, dass die Leukotrienfreisetzung nach Provokation sensitiver das Entzündungsgeschehen reflektiert als der Lungenfunktionstest (BECHER et al. 1996b). Die Untersuchung wurde von BECHER et al. (1999) insoweit ergänzt, als dass die Atemkondensatgewinnung bei Asthmatikern zusätzlich 24 Stunden nach Allergenprovokation erfolgte, wobei der LTB_4 -Wert über 24 Stunden auf einem hohen Level blieb.

Die Tatsache, dass auch bei Gesunden LTB_4 nachweisbar war, schreiben BECHER et al. (1997b) der permanenten Aktivität des bronchialen Verteidigungssystems, stimuliert durch pathogene Organismen oder inhalierte Substanzen, bzw. einer physiologischen Rolle des LTB_4 im Regelkreis des Bronchialsystems zu. Um den Einsatz dieses Parameters in der Lungendiagnostik zu etablieren, waren Untersuchungen zur intraindividuellen Variabilität der LTB_4 -Werte notwendig. BECHER et al. (1998c) wiesen bei den Leukotrienkonzentrationen eine geringe intraindividuelle, aber eine deutliche interindividuelle Variabilität nach, wobei eine eindeutige Differenzierung zwischen gesunden und kranken Individuen möglich war.

BECHER (1998a, 1998b) untersuchte die Leukotrienspiegel im Atemkondensat von Friseuren und Bürotätigen und fand bei Friseuren im Mittel um die Hälfte höhere LTB_4 -Werte (153 ± 123 pg/ml) als bei Bürotätigen (99 ± 90 pg/ml). Dies ist einer unspezifischen Stimulation von Entzündungszellen in den Atemwegen auch bei lungengesunden Friseuren durch die irritative Belastung der Atemwege zuzuschreiben, die sich auch in einer Verschlechterung der Lungenfunktionsparameter (FEV_1 , VC, R) widerspiegelte.

Bei Patienten mit CF stiegen die LTB_4 -Konzentrationen von $22,63 \pm 6,53$ pg/ml im Atemkondensat nach antibiotischer Behandlung auf $46,06 \pm 32,77$ pg/ml an (TACKE 1996). Die niedrigeren Werte vor der Behandlung werden durch die down-Regulation der Leukozytenfunktion durch *Pseudomonas aeruginosa* erklärt, welche durch die Antibiotikatherapie aufgehoben wird (BECHER et al. 2000c).

Die Untersuchung der LTB_4 Konzentration im Atemkondensat bei verschiedenen Lungenerkrankungen ergab eine Zunahme des Leukotriengehaltes in der Reihenfolge Gesund

($99,1 \pm 9,4$ pg/ml) < Exposition mit Irritantien ($153,3 \pm 13,9$ pg/ml) < Asthma ($175,9 \pm 16,2$ pg/ml) < CF ($209,2 \pm 24$ pg/ml) (BECHER 2000b).

MONTUSCHI (2000c) fand bei Patienten mit Bronchiektasien signifikant höhere LTB₄-Werte ($127,3 \pm 21,2$ pg/ml) als bei Gesunden ($72,4 \pm 10,6$ pg/ml).

Alles in allem scheint die Bestimmung von LTB₄ im Atemkondensat sinnvoll bei Verdacht auf entzündliche Veränderungen in den Atemwegen.

Auch die Sulfidopeptidleukotriene (LTC₄, LTD₄, LTE₄, LTF₄) bewirken einen Anstieg der vaskulären Permeabilität und führen somit zur erhöhten Ödembereitschaft des Bronchialepithels. Sie gehören zu den stärksten bekannten Bronchokonstriktoren (DRAZEN und AUSTEN 1987). LTC₄ ist 100-1000 mal wirksamer als Histamin und spielt bei der Entstehung von Asthmaanfällen eine entscheidende Rolle (BUSSE 1998). Außerdem führen die Sulfidopeptidleukotriene zu einer Stimulation der Mukussekretion (BUSSE 1998; DRAZEN und AUSTEN 1987). Für LTD₄/E₄ wurde in humanen Atemwegen ein Rezeptor identifiziert. Eine LTC₄-Bindungsstelle wurde beschrieben, wobei unklar ist, ob es sich um einen spezifischen Rezeptor handelt oder um eine Bindung an die Glutathion-S-Transferase (FERLINZ 1994).

Die Sulfidopeptidleukotriene wurden ebenfalls erstmals von BECHER et al. (1995c) im Atemkondensat nachgewiesen. Die Autoren wiesen LTC₄, D₄, E₄ und F₄ bei Asthmatikern vor und nach Histaminprovokation nach. Es zeigte sich ein Anstieg der Werte um 125% nach Provokation (von 345 pg/ml auf 777 pg/ml). Der Anstieg der Sulfidopeptid-Leukotrienwerte korrelierte mit dem Anstieg der Resistance und dem Abfall der Atemstromstärke. BECHER et al. (1997b) stellten fest, dass die Basalkonzentrationen von LTC₄, D₄, E₄ und F₄ (115 ± 131 pg/ml) etwa ein Drittel so hoch wie die von LTB₄ (394 ± 65 pg/ml) lagen. Bei Patienten mit bronchialer Hyperreaktivität nach einem Histaminprovokationstest war ein Anstieg der Sulfidopeptidleukotrienwerte um 100% zu verzeichnen. In einer weiteren Untersuchung wurde im Atemkondensat von Asthmatikern nach Allergenprovokation direkt nach der Provokation ebenfalls ein kurzer Anstieg von LTC₄, D₄ und E₄ gemessen, 6 und 24 Stunden nach der Provokation lagen die Werte aber wieder im Ausgangsbereich (BECHER et al. 1999). Auch HANAZAWA et al. (2000b) fanden erhöhte LTC₄, D₄ und E₄-Werte ($17,8 \pm 2,7$ pg/ml gegenüber $10,5 \pm 2,2$ pg/ml) bei Asthmatikern nach Allergenprovokation, wobei keine Korrelation der Werte zum FEV₁ gefunden wurde. Asthmatiker am Übergang von mildem zu schwerem Erkrankungsgrad zeigten beim Absetzen der Steroidbehandlung einen signifikanten Anstieg der Leukotriene C₄, D₄ und E₄ (von $1,4 \pm 0,5$ pg/ml auf $13,3 \pm 5,2$ pg/ml) und eine

starke Verschlimmerung der Symptome (HANAZAWA et al. 2000a). LTE_4 ist nur bei Asthma, nicht bei COPD erhöht (KHARITONOV et al. 2000). Die Bestimmung der Sulfidopeptidleukotriene im Atemkondensat erscheint sinnvoll zur Diagnostik bei Verdacht auf Hyperreagibilität der Atemwege.

2.3.2.5.2 Prostaglandine und Thromboxane

Als Prostaglandine (PG) werden alle Eicosanoide zusammengefasst, die über den Cyclooxygenaseweg entstanden sind (FERLINZ 1994). Aus der Arachidonsäure werden auf diesem enzymatischen Weg über die instabilen Produkte PGG_2 und PGH_2 die klassischen Prostaglandine (z.B. PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$), sowie Thromboxane (TXA_2 , TXB_2) und PGI_2 gebildet, wobei letzteres auch als Prostazyklin bezeichnet wird (FERLINZ 1994). Für die PGE_2 - und Thromboxanbildung in der Lunge kommen in erster Linie Alveolarmakrophagen, aber auch Bronchialepithelzellen in Betracht. Alveolarepithelzellen können ebenfalls große Mengen aller Prostaglandine generieren (FERLINZ 1994). Die Prostaglandine werden von membranständigen Rezeptoren gebunden und beeinflussen eine Vielzahl zellulärer Leistungen. Im Atemkondensat wurden bisher $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGE_2 und TXB_2 nachgewiesen.

$\text{PGF}_{2\alpha}$ ist der Antagonist von PGE_2 und wirkt bronchokonstriktorisch (FERLINZ 1994).

PGE_2 wirkt vaso- und bronchodilatatorisch und durch Hemmung der Lymphokin-Produktion immunmodulatorisch. Außerdem steigert es die Mukussekretion (MONTUSCHI 2000b). Die Untersuchungen des Atemkondensates von COPD- und Asthmapatienten ergab einen signifikanten Anstieg von PGE_2 und $\text{PGF}_{2\alpha}$ bei COPD-Patienten aber keine signifikante Erhöhung bei Asthma, verglichen mit Gesunden (KHARITONOV et al. 2000). MONTUSCHI (2000a) fand doppelt so hohe PGE_2 -Werte bei COPD-Patienten, die Ex-Raucher waren, als bei gesunden Nichtrauchern. CARPENTER et al. (1998) fanden bei Patienten mit ARDS und akuten Lungenschäden keine erhöhten PGE_2 -Level ($13,9 \pm 0,7$ pg/ml) im Vergleich zu Gesunden ($11,5 \pm 1$ pg/ml). Zu den gemessenen Ergebnisspannbreiten siehe auch Tab. 9, S. 39.

TXA_2 führt in der Lunge zur Vaso- und Bronchokonstriktion und stimuliert die Aggregation von Blutplättchen (FERLINZ 1994). Durch Hydrolyse entsteht daraus **TXB_2** , welches im Atemkondensat nachgewiesen werden konnte (JAEGER 2000, s. Tab. 9, S. 38).

2.3.2.5.3 Isoprostane

Isoprostane sind Prostaglandin-ähnliche, chemisch stabile Komponenten, die in vivo primär nichtenzymatisch durch die durch freie Radikale katalysierte Peroxidation der Arachidonsäure entstehen (KANG et al. 1993; CARPENTER et al. 1998; MONTUSCHI 1999b). Als hervorragende Marker des oxidativen Stresses in vivo werden die als 8-Isoprostane bezeichneten und am besten untersuchten Isoprostane 8-iso-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (8-iso-PGF $_{2\alpha}$) und 8-epi-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (8-epi-PGF $_{2\alpha}$) angesehen (MORROW et al. 1994; CARPENTER et al. 1998; MONTUSCHI 1998, 1999a, 1999b). Die Messung von Isoprostan hat folgende Vorteile gegenüber anderen quantitativen Indizes von oxidativem Streß: Ihre Konzentration in den Körperflüssigkeiten ist nicht von der Nahrungsaufnahme (Fett) abhängig (MONTUSCHI et al. 2000a). Isoprostane haben potente biologische Aktivität, die für die Pathophysiologie von Lungenerkrankungen von Bedeutung ist. Sie sind chemisch stabil, werden in vivo gebildet und die Messungen im Atemkondensat sind geeignet, oxidativen Stress in der Lunge zu reflektieren, da Isoprostane spezifisch die Lipidperoxidation anzeigen (MONTUSCHI 2000a). Die wichtigsten Effekte der 8-Isoprostane sind eine starke Bronchokonstriktion mit Atemwegsobstruktion (KANG et al. 1993; OKAZAWA et al. 1997; CARPENTER et al. 1998; MONTUSCHI 1999b), eine potente renale und pulmonale Vasokonstriktion (KANG et al. 1993; MORROW et al. 1994; CARPENTER et al. 1998; MONTUSCHI 1999b) und eine Plasmaexsudation in die Atemwege (OKAZAWA et al. 1997). Die Wirkung der 8-Isoprostane beruht höchstwahrscheinlich auf einer Bindung an Thromboxan-Rezeptoren, da die Atemwegs- und hämodynamischen Effekte durch Thromboxanrezeptorenblocker verhindert werden können (KANG et al. 1993; CARPENTER et al. 1998; MONTUSCHI 1999b).

Die Ersten, die Isoprostane im Atemkondensat nachwiesen, waren CARPENTER et al. (1998). Sie fanden heraus, dass Patienten mit ARDS und akuten Lungenschäden höhere 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ -Werte (87 ± 28 pg/ml) als gesunde Personen (7 ± 4 pg/ml) hatten, was sie auf Grund der hohen Belastung dieser Patienten mit reaktiven Sauerstoffmetaboliten erwartet hatten. Sie fanden keine aussagekräftige Korrelation der 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ -Werte im Atemkondensat mit dem Expirationsvolumen ($r = 0,44$; $p = 0,07$). MONTUSCHI et al. (1999b) fanden bei Patienten mit ARDS 8-fach höhere 8-Isoprostan-Werte als bei Gesunden. Außerdem wiesen sie einen 2-fachen Anstieg von 8-Isoprostan bei mildem und mäßigem Asthma und einen über 3-fachen Anstieg bei schwerem Asthma gegenüber Gesunden nach. Die Isoprostanwerte bei schwerem Asthma schienen unabhängig von der Steroidbehandlung zu sein, was auf die mangelnde Effektivität der Kortikosteroide beim Unterbinden des oxidativen Stresses zurückgeführt

wird. MONTUSCHI et al. (1999b) fanden bei gesunden Rauchern als Zeichen des erhöhten oxidativen Stresses einen 2-fachen Anstieg von 8-Isoprostan gegenüber gesunden Nichtrauchern. Bei Patienten mit COPD und mit stabiler CF fanden sich über 3-fach erhöhte Werte. Es wurden in keiner Gruppe Korrelationen zwischen dem forcierten expiratorischen Volumen in einer Sekunde (FEV₁) und den Isoprostanwerten gefunden.

2.3.2.6 Interleukine

Lymphokine steigern das Wachstum und die Reifung von T- und B-Lymphozyten. Eine Reihe von Lymphokinen werden als Interleukine bezeichnet. Es handelt sich um Botenstoffe, die für Induktion und Verlauf der T-Zell-vermittelten zytotoxischen Immunreaktion, sowie für die B-Zellaktivierung verantwortlich sind (ROCHE 1987). Sie wirken über eine hochaffine Bindung an Zellrezeptoren auf der Zelloberfläche, welche die Lymphokinsignale an den Zellkern übermittelt (ROITT 1995).

Als **IL-1** (Interleukin-1) werden zwei Proteine (**IL-1 α** und **IL-1 β**) bezeichnet, welche vor allem von Makrophagen und Endothelzellen nach Stimulation durch Erreger, Toxine, Immunkomplexe, Lymphokine oder anderen Noxen gebildet werden. IL-1, auch als endogenes Pyrogen bezeichnet, hat eine Vielzahl von Wirkungen. Unter anderem aktiviert es Lymphozyten, Fibroblasten und PMN, wirkt chemotaktisch, proliferativ, degranulierend, stimuliert die Lymphokinbildung und ist fieberauslösend (STÜNZI und WEISS 1990). IL-1 β wurde zuerst von SCHEIDERLER et al. (1993) im Atemkondensat nachgewiesen, welche einen hohen Wert (368 pg/ml) im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (21-135 pg/ml) bei einem Patienten mit diffuser Pneumonie und chronischem Emphysem fanden. PEETZ et al. (1997) konnten ebenfalls IL-1 β im Atemkondensat von Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen nachweisen (9,38 \pm 4,6 pg/ml). GAREY et al. (2000) fanden keinen Anstieg der IL-1-Konzentration bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern.

IL-2 stellt das erste entdeckte Lymphokin mit der Eigenschaft eines T-Zell-Wachstumsfaktors dar. Es wird von T-Zellen und NK-Zellen gebildet und wirkt auf Lymphozyten und Monozyten proliferativ und aktivierend (ROITT 1995). Der Nachweis von IL-2 gelang weder im Atemkondensat noch in der bronchoalveolären Lavage von Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen (PEETZ et al. 1997). SCHEIDELER et al. (1993) wiesen ein lösliches IL-2-Leichtketten-Rezeptorprotein (**sIL-2R**) nach, was besonders im Atemkondensat eines Pneumoniepatienten in hoher Konzentration (2,159 U/ml gegenüber 0-235 U/ml in der Kontrollgruppe) vorhanden war.

IL-4 aktiviert B-Zellen und Makrophagen und stimuliert das Zellwachstum.

IL-5 wird zur Differenzierung und Aktivierung von B-Lymphozyten und Eosinophilen Granulozyten von T-Zellen gebildet und ist für die parasitär bedingte Eosinophilie verantwortlich (ROITT 1995). IL-4 und IL-5 wurden zwar im Atemkondensat nachgewiesen (JAEGER 2000), es sind aber bisher nach Wissen der Autorin darüber keine Studien veröffentlicht worden.

IL-6 ist ein Phosphoglykoprotein und wird besonders von Makrophagen, aber auch von Fibroblasten, Endothelzellen und Lymphozyten produziert. Es regt die Differenzierung und die Proteinsynthese von Lymphozyten, Thrombozyten und Hepatozyten an (ROITT 1995). SCHEIDELER et al. (1993) gelang es nicht, IL-6 im Atemkondensat nachzuweisen, der Nachweis gelang jedoch PEETZ et al. (1997) im Atemkondensat von Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen ($2,02 \pm 1,06$ pg/ml). Auch BECHER et al. (1997a) wiesen IL-6 im Atemkondensat nach.

IL-8 gehört zu den Lymphokinen mit niedrigem Molekulargewicht und wird von Makrophagen und Endothelzellen produziert. Es ist an Entzündung und Zellmigration beteiligt und ist ein wirksamer Inducer der Neutrophilen- und T-Zell Chemotaxis (ROITT 1995). Der Nachweis von IL-8 gelang BECHER et al. (1997a) in Pilotuntersuchungen (s. Tab. 9). Bei stabilen CF-Patienten wurden im Vergleich mit Gesunden erhöhte IL-8-Werte im Atemkondensat gefunden, welche bei akuten Schüben weiter anstiegen und unter Antibiotikatherapie abfielen (KHARITONOV et al. 2000).

2.3.2.7 Tumornekrosefaktor α

TNF α ist ein für Tumorzellen cytotoxisches Polypeptid, welches besonders von aktivierten Makrophagen freigesetzt wird und in vielem gleichartige Wirkung wie IL-1 besitzt. Es schädigt die Gefäße von Tumoren und koordiniert die Funktion der Zytokine bei Entzündungs- und Immunprozessen. Es wird auch als Kachektin bezeichnet, da es die Aufnahme und Speicherung von Triglyceriden durch das Fettgewebe verhindert (STÜNZI und WEISS 1990). Erhöhte TNF α -Konzentrationen (117 pg/ml gegenüber 4-22 pg/ml) wurden von SCHEIDELER et al. (1993) bei einem Patient mit Bronchialkarzinom gefunden. GAREY et al. (2000) fanden im Atemkondensat von Rauchern keine unterschiedliche TNF α -Konzentration, verglichen mit Nichtrauchern.

2.3.2.8 Eosinophilenproteine

Die Granula der eosinophilen Granulozyten enthalten ein basisches Hauptprotein **ECP** (Eosinophil Cationic Protein) und ein weiteres Protein **EPX** (Eosinophilic Protein X), welche auch in geringen Konzentrationen zytotoxisch wirken und Erreger abtöten und zerstören können. Die Untersuchung von ECP und EPX im Atemkondensat bei Patienten mit CF und chronischer Pseudomonasinfektion zeigte nach Antibiotikatherapie einen signifikanten Abfall (s. Tab. 8) der ECP und EPX-Werte (im Gegensatz zu LTB₄, welches anstieg), womit die Möglichkeit zum Einsatz der Atemkondensatgewinnung bei der Therapiekontrolle besteht (TACKE et al. 1996). Bei Probanden mit bronchialer Hyperreaktivität sowie allergischem Asthma stiegen die Konzentrationen beider Proteine sofort nach Provokation mit Histamin/Allergen signifikant an (s. Tab. 8), um im Gegensatz zu LTB₄ nach 4-6 Stunden wieder im Bereich des Ausgangswertes zu sein (BECHER et al. 1997c; ROTHE et al. 1997). Zusätzlich fand sich in einer weiteren Studie (BECHER 1999) ein Maximalwert des EPX nach 24 Stunden (verspätete Antwort). Dagegen ergab sich bei asthmakranken Kindern mit verschiedenen Stadien der Erkrankung gegenüber gesunden Kindern, keine Erhöhung der Werte (s. Tab. 8) und keine Korrelation der EPC-Konzentrationen zum Schweregrad der Erkrankung (SEVERIEN et al. 1999).

Tab. 8: ECP und EPX-Konzentrationen im Atemkondensat bei Patienten mit Mukoviszidose (CF) und Asthma

	Autor	EPC	EPX
CF	TACKE et al. (1996)	vor Antibiotika Therap.: 11,65 ± 24,56 µg/ml nach Antibiotika Therap.: 0,81 ± 1,02 µg/ml (n = 8)	vor Antibiotika Therap.: 15,57 ± 26,81 µg/ml nach Antibiotika Therap.: 3,13 ± 3,54 µg/ml (n = 8)
Asthma, bronchiale Hyperreaktivität	BECHER et al. (1997c)	vor Provokation: 0,24 ± 0,24 ng/ml nach Provokation: 1,16 ± 0,24 ng/ml (n = 9)	vor Provokation: 1,67 ± 0,49 ng/ml nach Provokation: 3,49 ± 1,75 ng/ml (n = 9)
Asthma	SEVERIEN et al. (1999)	Kontrolle: (n = 28) 0,7 ± 0,11 mg/l schwache Symptome: (n = 49) 0,65 ± 0,26 mg/l starke Symptome: (n = 31) 0,7 ± 0,18 mg/l	

2.3.2.9 Biogene Amine und Milchsäure

Histamin, freigesetzt von Mastzellen und basophilen Granulozyten, ist ein lang bekannter Bronchokonstriktor (FERLINZ 1994). Die Histaminwirkung auf bronchiale glatte Muskelzellen erfolgt über Aktivierung von H₁-Rezeptoren. Neben einer Bronchokonstriktion tragen ein histamininduziertes Schleimhautödem und eine histamininduzierte Sekretzunahme wesentlich zur Atemwegsverengung bei (FERLINZ 1994).

Serotonin, vornehmlich von Thrombozyten, aber auch von Mastzellen freigesetzt, wirkt bronchokonstriktorisch. Darüber hinaus begünstigt es vermutlich die cholinerge Neurotransmission (FERLINZ 1994). Bereits 1991 wurde in Russland von MALAKAUSKAS et al. die Atemluft von Gesunden und chronischen Bronchitikern auf Histamin und Serotonin untersucht. Sie waren die Ersten, die diese biogenen Amine in der Atemluft des Menschen nachwiesen. Sie entdeckten, dass die Konzentration der beiden biogenen Amine in der Atemluft abhängig von der Form der chronischen Bronchitis, der Aktivität der bronchialen Entzündung und dem Grad bronchialer Obstruktion und respiratorischer Insuffizienz war. Auch FEDOSEEV et al. (1992) wiesen in Russland Histamin und Serotonin im

Atemkondensat von Asthmatikern und anderen Patienten nach und verglichen die Konzentrationen mit denen in der BAL und im Tracheobronchialsekret. Sie fanden vergleichbare Werte bei allen drei Methoden und bezeichneten die Atemkondensatanalyse als adäquate Methode mit hohem informativem Wert bei der Erforschung der biochemischen Zusammensetzung des Inhaltes der Atemwege. GONCHAROVA et al. (1996) fanden bei Patienten mit akuter Bronchitis hohe Serotonin- und Milchsäurekonzentrationen im Kondensat der Ausatemluft. JELENINA et al. (1996) untersuchten unter anderem die Konzentrationen an Histamin, Serotonin, Adrenalin, Noradrenalin und Milchsäure im Atemkondensat von CF-Patienten im Vergleich zu Gesunden. Sie fanden bei den CF-Patienten erhöhte Werte aller biogenen Amine, wobei die Patienten mit einer chronischen *Pseudomonas aeruginosa*-Infektion die höchsten Serotonin-, Histamin- und Milchsäurelevel neben einem 3-fachen Anstieg der Noradrenalin-Konzentration gegenüber Gesunden aufwiesen.

2.3.2.10 DNA

HILLEBRANDT et al. (1996) isolierten als erste DNA pathogener Mikroorganismen im Atemkondensat von 5 Freiwilligen mittels PCR. Sie wiesen 10-40 ng DNA/ml Atemkondensat nach. Der Nachweis war an nachfolgenden Probennahmen innerhalb von 14 Tagen reproduzierbar. Die üblichen Methoden, DNA aus den unteren Atemwegen zu gewinnen (mittels BAL oder induziertem Sputum) wiesen ein höheres Risiko der Probenkontamination auf (HILLEBRANDT et al. 1996). GESSNER (1998) gelang bei Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom die Isolation von DNA und er versuchte darin eine Mutation des K-ras-Gens nachzuweisen. Das K-ras-Proto-Onkogen wird durch Mutation aktiviert und führt zu einer autonomen Stimulation von Wachstum und Differenzierung. In den aufgearbeiteten Atemkondensatproben ließ sich bei einem von neun Patienten eine Mutation im Codon 12 des K-ras-Gens nachweisen. Dies offeriert eine neue Möglichkeit für ein nicht-invasives Screening bei Risikopatienten zur frühzeitigen Erkennung von Lungenkarzinomen (GESSNER 1998).

HUELS et al. (2000) gelang es nicht, bakterielle DNA im Atemkondensat von Patienten mit Mukoviszidose in mittel- bis hochgradiger bronchialer Manifestation nachzuweisen. Auch VOGELBERG und LEUPOLD (2000) versuchten in 36 Atemkondensatproben von CF-Patienten vergeblich DNA von *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* und *Burkholderia cepacia* nachzuweisen.

2.3.2.11 D-Dimer

Bei Entzündungsprozessen der Lunge wird Fibrin im Alveolarraum und im Interstitium gefunden. D-Dimer ist ein Fibrinabbauprodukt und die Konzentration in der BAL ist bei verschiedenen interstitiellen Lungenerkrankungen erhöht (HUMMEL et al. 1996). Diese Autoren wiesen D-Dimer auch im Atemkondensat von Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen nach. Sie fanden in einem Fall bei einem Patienten mit interstitieller Fibrose einen erhöhten D-Dimer-Spiegel. PEETZ et al. (1997) versuchten ebenfalls bei Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen D-Dimer im Atemkondensat nachzuweisen, was ihnen jedoch nur in der BAL gelang.

2.3.2.12 Heat-shock-protein, Tumormarker und α 1-saures-Glycoprotein

Im Atemkondensat ist der Nachweis von „heat-shock-proteins“ (**HSP**) und von verschiedenen kleinmolekularen Tumor-Markern (**TPA-M**, **CEA**, **CYFRA**, **SCC**) möglich (BECHER et al. 1996c; JAEGER 1999, 2000). HSP wurden von BECHER in eigenen Pilotuntersuchungen nachgewiesen (BECHER et al. 1997a). NEVZOROVA et al. (2000) wiesen das Akutphaseprotein α 1-saures-Glykoprotein (**α 1-AGP**), dessen Bildung unter dem Einfluss von IL-1 und IL-6 steht, im Atemkondensat von Asthmatikern in verschiedenen Stadien (asymptomatisches, schwaches, ausbrechendes Asthma) nach. Es bestand eine Abhängigkeit der IL-1 und IL-6-Werte im Blutserum zum α 1-AGP-Gehalt im Atemkondensat ($r = 0,65$, $p < 0,05$), was die Rolle der Interleukine bei dessen Bildung während Entzündungsprozessen untermauert.

2.3.2.13 Harnstoff

Die Harnstoffkonzentration wurde von verschiedenen Autoren auf Grund ihrer möglichen Anwendung als Referenzsubstanz zur Standardisierung der Konzentration bisher nachgewiesener Substanzen im Atemkondensat bestimmt (DAULETBAEV et al. 1999, 2000; Reinhold et al. 2000). Bei Untersuchungen von Lungengesunden und Patienten mit obstruktiven Lungenerkrankungen wurde festgestellt, dass bei den Lungengesunden kein Zusammenhang zwischen der Harnstoffkonzentration in Blut und Atemkondensat bestand, wohingegen bei Lungenkranken ein signifikanter Zusammenhang der beiden Parameter zueinander nachgewiesen wurde, was eventuell mit der veränderten Atemwegspereabilität bei Lungenerkrankungen zu erklären ist (DAULETBAEV et al. 2000). Außerdem fanden sich

erhebliche intraindividuelle Schwankungen der Harnstoffkonzentrationen im Atemkondensat, was diese Substanz ungeeignet als Bezugsgröße zur Standardisierung der Atemkondensatmessungen macht (DAULETBAEV et al. 2000).

Tab. 9: Bislang (Stand: Nov. 99) im FILT nachgewiesene Substanzen im Atemkondensat des Menschen mit Ergebnis-Spannbreite (mit freundlicher Genehmigung der FILT) s. auch JAEGER (2000)

Substanz	Ergebnisse
Leukotrien B ₄	< 15 - 7520 pg/ml
Leukotrien C ₄ , D ₄ , E ₄	< 1 - 284 pg/ml
Prostaglandin E ₂	< 5 - < 1000 pg/ml
H ₂ O ₂	< 0,05 - 1,25 µmol/l
EPX	< 1 - 80,5 ng/ml
Thromboxan B ₂	< 0,7 - 12,2 pg/ml
Interleukin 8	< 16 - 931 pg/ml
ECP	< 1 - 70,8 pg/ml
Nitrit	< 0,1 - 26,5 µmol/l
Chlorid	0,2 - 14 µg/l
Harnstoff	< 10 µg/l
Amylase	< 0,1 % Speichel

2.3.3 ANWENDUNG DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG BEIM TIER

Zur Analyse immunologischer Parameter oder Entzündungsmediatoren der Atemwege musste das entsprechende Untersuchungsmaterial bisher durch invasive Methoden wie BAL, TBS, oder Lungenbiopsien gewonnen werden. Die Atemkondensatgewinnung könnte auch beim Tier eine nicht-invasive Alternative für die Diagnostik und Verlaufskontrolle entzündlicher Veränderungen der Lunge darstellen. Die Anwendung am Tier wurde bisher ausschließlich von einer Arbeitsgruppe um REINHOLD vorgenommen. Die ersten Untersuchungen zur Atemkondensatgewinnung wurden 1996 veröffentlicht. Inzwischen wurde Atemkondensat bei Kälbern (REINHOLD et al. 1996, 1997a, 1997b, 1998a, 1998b, 1998c, 1999a, 1999b, 2000) und bei Schweinen gewonnen (REINHOLD et al. 2000). Die Atemkondensatgewinnung konzentrierte sich zunächst vor allem auf das Kalb, da es ein ähnliches Atemzugvolumen wie der Mensch ($V = 0,25 - 1,3 \text{ l}$) besitzt. Somit konnte das für den Menschen konstruierte Atemkondensatgerät ohne größere technische Veränderungen verwendet werden. Zur Gewinnung von Atemkondensat atmeten die Kälber über eine speziell angepasste, luftdicht abgeschlossene Atemmaske mit einem Zweiwegeventil, welches die Trennung von In- und Expirationsluft gewährleistete (REINHOLD et al. 1999c). Die Ausatemluft wurde selektiv 20-30 Minuten in ein von Kühlflüssigkeit (-15 °C bis -20 °C) umspültes Sammelrohr geleitet und ausgefroren wie von BECHER et al. (1997a, 1997b) beschrieben. In neuerer Zeit verwendeten REINHOLD et al. (2000) das Gerät Eco-Screen der Firma Jaeger Toennies³ unter Verwendung tierartspezifischer Atemmasken. Sie sammelten sowohl Atemkondensat beim Kalb als auch beim Schwein. Nach Abschluss einer jeden Atemkondensatgewinnung wurde das Sammelrohr sofort beidseitig verschlossen und bis zu Analyse der Probe bei -80 °C aufbewahrt (REINHOLD et al. 1999b, 1999c).

Eine wichtige Frage bei der Probennahme beim Kalb war, durch welche Parameter die Probenmenge beeinflusst wird. Dazu untersuchten REINHOLD et al. (1999a, 1999b, 1999c) die Einflüsse des Atemmusters (Atemfrequenz, Atemzugvolumen, Atemminutenvolumen), der Körpertemperatur und des Körpergewichtes auf die Atemkondensatmenge unter konstanten Umgebungsbedingungen. Aus den Studien ging hervor, dass die zu gewinnende Menge hauptsächlich von dem pro Zeiteinheit ventilierten Volumen (Atemminutenvolumen) abhing. Die Atemkondensatmenge war außerdem stark vom Atemzugvolumen und von der Körpermasse abhängig. Eine Korrelation zur Körpertemperatur ($r = -0,35$; $p < 0,01$) fand sich in einer Studie mit 62 Tieren (REINHOLD et al. 1999a). Die Korrelation wurde jedoch in

³ Erich Jaeger GmbH, 97204 Höchberg, Deutschland

weiteren Studien mit 43 bzw. 49 Tieren nicht bestätigt (REINHOLD et al. 1999b, 1999c). Die Abhängigkeit der Atemkondensatmenge von der Atemfrequenz ($r = 0,41$; $p < 0,01$) konnte in einer Untersuchung mit 43 Tieren zwar festgestellt werden (REINHOLD et al. 1999b), aber bei nachfolgenden Untersuchungen mit mehr Tieren ($n = 62$; $n = 49$) konnte sich die Korrelation zur Atemfrequenz jedoch nicht bestätigen (REINHOLD et al. 1999a, 1999c). Die Atemfrequenz ist ein sehr variabler Parameter, welcher nicht nur bei respiratorischen Erkrankungen, sondern auch bei Beunruhigung der Tiere ansteigt. Auffällig war, dass bei älteren Tieren mehr Atemkondensat als bei jüngeren gewonnen werden konnte (REINHOLD 1999c).

2.3.4 BISHER BEIM TIER IM ATEMKONDENSAT BESTIMMTE PARAMETER

Die im Atemkondensat von Kälbern bestimmten Parameter beschränkten sich bisher auf die Analyse von LTB_4 (REINHOLD et al. 1996, 1997a, 1997b, 1998b, 1998c, 1999a, 1999b) und Harnstoff (REINHOLD et al. 2000). Beim Schwein wurden bisher nur die Harnstoff- und Gesamteiweißkonzentration im Atemkondensat untersucht (REINHOLD et al. 2000).

2.3.4.1 Leukotrien B_4

Bei klinisch gesunden Kälbern wurde Atemkondensat gewonnen und die bronchiale Reaktivität mittels eines Provokationstestes (aerosolisierte Karbachol-Lösung in mehreren Konzentrationsstufen) über den Anstieg der Resistance bestimmt (REINHOLD et al. 1999b). Es ergaben sich bei klinisch gesunden Kälbern ($n = 35$) LTB_4 -Konzentrationen von 116 ± 55 pg/ml (REINHOLD et al. 1999a, 1999b). Diese Befunde stimmen mit publizierten Daten aus der Humanmedizin überein, wonach in Atemkondensaten gesunder Menschen ebenfalls LTB_4 -Konzentrationen unter 230 pg/ml Atemkondensat gemessen wurden (BECHER et al. 1995b, 1997b, 1998a, 1998b). Die Tiere wurden anschließend mit Bovinem Respiratory Syncytial Virus (BRSV) experimentell infiziert. Diese Virusinfektion tritt vorwiegend bei Kälbern unter 6 Monaten auf und führt zu Fieber, Rhinitis und Bronchopneumonie (ROLLE und MAYR 1984). Bei der Hälfte der Tiere war ein Anstieg der LTB_4 -Konzentration auf 400% des Ausgangswertes festzustellen. Die LTB_4 -Konzentration blieb über 6 Wochen (Atemkondensatgewinnung einmal wöchentlich) gleichbleibend hoch (REINHOLD et al. 1996, 1997a, 1997b, 1998c, 1999b). Die bronchiale Hyperreaktivität wurde nach der Atemkondensatgewinnung mittels Karbacholprovokation getestet, und es ergab sich schon 24

Stunden nach der Infektion eine signifikante Erhöhung der Hyperreaktivität (REINHOLD et al. 1994), welche mit der ansteigenden LTB₄-Konzentration korrelierte (REINHOLD et al. 1996, 1997a, 1997b, 1998b, 1998c, 1999b). Es wurden auch Infektionsversuche mit *Pasteurella multocida* durchgeführt, einem bakteriellen Erreger, der eine wichtige Rolle bei der enzootischen Bronchopneumonie der Rinder spielt (ROLLE und MAYR 1984). 3 Tage nach der Infektion stieg der LTB₄-Gehalt im Atemkondensat auf 180% des Ausgangswertes. Die Lungenfunktionsanalyse mittels Impuls-Oszilloresistometrie (IOS) ergab post infectionem zwar einen Anstieg der Resistance und der Atemfrequenz sowie einen Abfall der Atemzugvolumina, es bestand aber lediglich eine Korrelation der LTB₄-Werte zur Reactance (REINHOLD et al. 1997, 1998b, 1998c, 1999b, 1999c). Die Reactance stellt eine errechnete Kenngröße des IOS-Gerätes dar und repräsentiert die induktiven (Trägheit innerhalb des respiratorischen Systems) und die kapazitiven (Compliance) Widerstände (REINHOLD 1997c).

Weiter überprüfte REINHOLD (1999b, 1999c) die intraindividuelle Variabilität der Leukotrienwerte durch Gewinnung von Atemkondensat und Messung der LTB₄-Konzentration an zwei aufeinanderfolgenden Tagen bei 13 Kälbern. Es ergab sich eine Schwankung von im Mittel 12% zwischen den Werten.

2.3.4.2 Harnstoff und Gesamteiweiß

Außer LTB₄ wurden bisher noch Harnstoff- und Gesamteiweißgehalt im Atemkondensat von Kälbern und Schweinen bestimmt, um ihre Eignung als Referenzsubstanzen zur Standardisierung der Konzentration bisher nachgewiesener Substanzen im Atemkondensat zu testen und um nach Speziesabhängigkeiten der Harnstoffkonzentration in der BAL und im Atemkondensat zu forschen (REINHOLD et al. 2000). Die Harnstoffkonzentrationen im Atemkondensat und der BAL lagen unter physiologischen Bedingungen speziesunabhängig bei < 10 µg/ml. Es ergaben sich bei gesunden Schweinen innerhalb der Atemkondensatproben signifikante Zusammenhänge zwischen der Harnstoff- und der Proteinkonzentration (REINHOLD et al. 2000).

Beim Vergleich der Harnstoffwerte zwischen Atemkondensat, BAL und Serum bei gesunden Kälbern ergaben sich keine Korrelationen der Konzentrationen zwischen den einzelnen Untersuchungsmedien. Eine Endotoxininfusion beeinflusste die Harnstoffwerte im Atemkondensat der Kälber nicht. Eine bakterielle Infektion (*Mannheimia haemolytica*) jedoch führte zur Erhöhung der Harnstoffwerte in Blut und Atemkondensat verbunden mit einer

Korrelation der Werte in beiden Medien ($r = 0,45$; $p < 0,05$). Aufgrund dieser Ergebnisse kann Harnstoff nicht als geeignete Bezugsgröße für andere Inhaltsstoffe im Atemkondensat angesehen werden. Bezüglich des Gesamteiweißgehaltes als Referenzsubstanz sind noch weitere Untersuchungen notwendig.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 MATERIAL UND METHODEN

3.1.1 UNTERSUCHUNGSPLAN

In der Humanmedizin sind etliche Methoden zur Sammlung von Expirationsluft beschrieben (s. 2.2.3.1, S. 6). Diese Methoden sind bis auf die Methode der Atemkondensatgewinnung ungeeignet zur Anwendung beim Pferd. Um zu überprüfen, ob die auf S. 9 (2.2.3.1.1) beschriebene Methode der Atemkondensatgewinnung auch beim Pferd anwendbar ist, ob eine ausreichende Menge Atemkondensat gewonnen werden kann und welche Modifikationen im Vergleich mit der Humanmedizin notwendig sind, wurden 70 Pferde des Patientengutes und 2 Klinikpferde der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik, Professur für Innere Krankheiten der Pferde, der Justus-Liebig-Universität Gießen untersucht.

Die Pferde des Patientengutes wurden zur eingehenden Untersuchung des Respirationstraktes mit der Verdachtsdiagnose chronisch obstruktive Bronchitis (COB) auf Grund von Anamnese, erster klinischer Untersuchung und Kontrollblutbild stationär aufgenommen. Am Tag nach der stationären Aufnahme erfolgte vormittags die spezielle klinische Untersuchung der Patienten mit Durchführung einer arteriellen Blutgasanalyse, einer Lungenfunktionsprüfung, der diagnostischen Gewinnung von Atemkondensat mit gleichzeitiger Bestimmung des Durchflussexpirationsvolumens und einer Tracheobronchoskopie nach Belastung. Diese Reihenfolge wurde zur Kontrolle eventuell verursachter Schäden bei der Atemkondensatgewinnung gewählt. Anschließend erfolgte die Bestimmung der Atemkondensatmenge.

3.1.2 PATIENTENGUT

Die Untersuchungen der insgesamt 72 Pferde (52 Warmblüter, 15 Ponys, 3 Vollblüter, 2 Kaltblüter) fanden im Zeitraum von November 1998 bis Mai 2000 statt. Es handelte sich um 25 Stuten, 7 Hengste und 40 Wallache. Das Alter betrug im Mittel 12 Jahre, die Spannbreite lag zwischen 2 und 29 Jahren. Das Körpergewicht lag im Mittel bei 528 kg, bei einer Spannbreite von 233 bis 730 kg.

Weitere Angaben zu den einzelnen Patienten befinden sich im tabellarischen Anhang (S.-5-, Tab. I).

3.1.3 PATIENTENEVALUATION

In den nächsten Punkten erfolgt die Beschreibung der einzelnen Untersuchungsverfahren, welche zur Evaluation des Patientengutes, inklusive der Ermittlung des Schweregrades der Erkrankung, herangezogen wurden.

3.1.3.1 Klinische Untersuchung

Bei der speziellen klinischen Untersuchung wurden Schwerpunkte bei der Untersuchung des Herz-Kreislaufsystems und des Atmungsapparates gesetzt. Von besonderer Bedeutung war hierbei die Feststellung des Atemtyps und der Atemfrequenz, das Vorliegen einer inspiratorischen und/oder expiratorischen Dyspnoe, spontaner oder auslösbarer Husten, Nasenausfluss, der Perkussionsbefund der Lunge und der Auskultationsbefund von Lunge und Trachea sowohl in Ruhe als auch nach 10-minütiger Belastung (5 min. Trab, 5 min. Galopp) des Patienten an der Longe. Bei Pferden mit starker Ruhedyspnoe wurde wegen der Gefahr einer Hypoxieverstärkung und/oder irreversibler Komplikationen von der Belastung abgesehen. Stark widersetzliche Pferde wurden ebenfalls nicht belastet.

Nicht in die vorliegende Arbeit einbezogen wurden Pferde mit erhöhter Körpertemperatur oder anderen Anzeichen einer akuten Erkrankung eines Organsystems (Kontrollblutbild).

3.1.3.2 Arterielle Blutgasanalyse

Die Entnahme von arteriellem Blut erfolgte am unbelasteten Pferd aus der rechten A. carotis communis handbreit über dem Buggelenk am Hals-Brust-Übergang in der Drosselrinne, wie mehrfach beschrieben (MEISTER et al. 1976; ROSE und ROSSDALE 1981; KLEIN und DEEGEN 1986). Das Blut wurde in heparinisierten Glaskapillaren aufgefangen und innerhalb von 10 Minuten, nach Eingabe der aktuellen Rektaltemperatur des Patienten, in einem AVL 995-Hb Blutgasanalysator¹ gemessen. Das Gerät gibt den Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck bei der eingegebenen Körpertemperatur an, sowie den aktuellen atmosphärischen Druck, den Hämoglobingehalt, den pH-Wert und den Basenüberschuß. Die alveolo-arterielle Sauerstoffdifferenz (A-aDO₂) wurde nach folgender Formel berechnet (TISI 1985):

¹AVL Biomedical Instruments, Graz, Österreich

$$A-aDO_2 = (P_B - 47 \text{ mmHg}) \times 0,2095 - P_aCO_2 - P_aO_2$$

P_B = aktueller Barometerdruck

47 mm Hg = Wasserdampfpartialdruck bei 37°C

0,2095 = prozentualer Anteil des Sauerstoffs in der Luft

P_aCO_2 = gemessener arterieller Kohlendioxidpartialdruck

P_aO_2 = gemessener arterieller Sauerstoffpartialdruck

Es wurden pro Patient 3 Kapillaren gemessen und die Ergebnisse arithmetisch gemittelt.

3.1.3.3 Tracheobronchoskopie

Die Tracheobronchoskopie wurde bei 65 Pferden direkt nach der Belastung und bei 7 Pferden ohne Belastung im Zwangsstand durchgeführt. Alle Pferde wurden mit Detomidin² (10 µg/kg Körpergewicht iv) sediert, falls die Sedation nicht schon bei stark widersetzlichen Pferden (n = 8) für die vorangehende Atemkondensatgewinnung (s. Punkt 3.1.4) notwendig geworden war. Diese Untersuchung wurde nach der Atemkondensatgewinnung durchgeführt, um eine Kontrolle über eventuell verursachte Schleimhautläsionen zu haben. Zur Bronchoskopie wurde ein 2,50 m langes, flexibles Fiberskop³ mit einem Durchmesser von 13 mm verwendet. Es erfolgte die Beurteilung der Nasengänge, des Pharynx und des Larynx auf das Vorliegen von Schleimhautrötungen oder -schwellungen und Sekretansammlungen. Die Trachea sowie die Hauptbronchien und die Bifurkation wurden ebenfalls auf Schleimhautschwellung oder Rötung und das Vorhandensein von Sekret untersucht. Die Sekretmenge und -konsistenz wurden jeweils nach einer Skala, wie sie DICKMANN (1987) vorgeschlagen hat, von 0-5 bewertet und die vergebenen Punkte addiert (s. Tab. 10).

² Domosedan®, Pfizer GmbH, 76139 Karlsruhe, Deutschland

³ Firma Wolf, 75438 Knittlingen, Deutschland

Tab. 10: Endoskopie-Score nach DICKMANN (1987)

Sekretmenge	Sekretviskosität
0 = keine Sekretansammlungen keine Sekretflocken	0 = Schleimhaut feucht, nur geringe Mengen wässrigen Sekretes aspirierbar
1 = keine Sekretansammlungen einzelne Sekretflocken	1 = Schleimhaut feucht, einzelne feine Sekretflocken in wässrigem Sekret, leicht aspirierbar
2 = flache ventrale Sekretansammlung einzelne größere Sekretflocken	2 = Schleimhaut feucht, seromucöses Sekret ventral gelegen, homogen, leicht aspirierbar
3 = deutliche ventrale Sekretansammlung reichlich Sekretflocken	3 = Schleimhaut feucht, seromucöses Sekret mit einzelnen konsistenteren Sekret- flocken, ventral gelegen, leicht aspirierbar
4 = durchgehende ventrale Sekretstraße Sekretseebildung	4 = Schleimhaut feucht/pappig, mucöses bis mucopurulenten Sekret, einige dorsale Schleimflocken, deutlich erschwerte Aspiration
5 = mehr als ein Viertel des Tracheallumens füllende(r) Sekretstraße(-see)	5 = Schleimhaut pappig/trocken, mucöses bis purulenten Sekret, reichlich dorsale Schleimflocken, teilweise spinnenweben- artige Schleimformationen, erschwerte Aspiration (kaum noch möglich)

3.1.3.4 Lungenfunktionsprüfung

Zur Durchführung der Lungenfunktionsanalyse und der Atemkondensatgewinnung wurden die Pferde in den klinikeigenen Zwangsstand verbracht und von zwei Hilfspersonen fixiert. Alle Messungen fanden vormittags zwischen 8 und 11 Uhr statt. Für die Lungenfunktionsprüfung wurden die Pferde nicht sediert. Eine Ösophagusballonsonde, wie von KREIME (1981) beschrieben, diente zur Ermittlung des Interpleuraldruckes. Sie wurde nach vorheriger Abmessung über den ventralen Nasengang in den Mediastinalteil der Speiseröhre eingeführt und anschließend mit Klebeband am Halfter befestigt. Stark wehrhaften Pferden wurde für diesen Vorgang eine Oberlippenbremse angelegt. Anschließend wurde ein Dichtring über die Nase des Pferdes gezogen und die Atemmaske⁴ aufgesetzt, welche mit einem Genickriemen am Pferd fixiert wurde. Nach einer Adaptationsphase von 5 Minuten wurde die Ösophagussonde über einen Druckumformer mit der Registriereinheit⁵ verbunden und über einen Dreiwege-

⁴ Firma Kegel, 49838 Lengerich, Deutschland

⁵ PPG Hellige Servomed, EK 512 P Firma Hellige, 79100 Freiburg, Deutschland

hahn mit 3 ml Luft aufgeblasen. An der Registriereinheit wurde der Interpleuraldruck-Messbereich gewählt. Es konnten die Messbereiche 10, 20, 40 und 100 mm Hg ausgewählt werden. Außerdem wurden der Nullabgleich und die im Gerät integrierte Kalibrierung vorgenommen. Danach erfolgte das Aufsetzen des auf Körpertemperatur vorgeheizten Staudruckrohres⁶ nach FLEISCH (1925) Nr. 5 mit einem Durchmesser von 6 cm auf die Atemmaske. In der Registriereinheit wird aus den im Pneumotachographen entstehenden Luftdruckdifferenzen die Atemstromstärke bestimmt und durch Integration das Atemzugvolumen errechnet. Synchron wurden Barogramm, Spirogramm und Pneumotachogramm mit einem Vorschub von 25 mm/s auf Millimeterpapier⁷ aufgezeichnet. Es wurde solange gemessen, bis mindestens 5 gleichmäßige aufeinanderfolgende Atemzüge aufgezeichnet waren. Aus den synchron aufgezeichneten Kurven wurden anhand einer graphischen Auswertung die Werte für die Resistance, die Compliance, das Atemzugvolumen, das Atemminutenvolumen, die Atemfrequenz, die Atemstromstärke und den maximalen interpleuralen Druckunterschied ermittelt (SASSE 1973). Die jeweiligen Werte von 5 Atemzügen wurden gemittelt. Von besonderem Interesse für die im Rahmen dieser Arbeit erfolgte Auswertung waren die Werte für das Atemzugvolumen, die Atemstromstärke und das Atemminutenvolumen.

3.1.3.5 Patientenklassifizierung

Wie in Tab. 11 angegeben, wurden die Befunde der oben genannten Untersuchungen nach dem Score-System nach OHNESORGE et al. (1998) zusammengefasst. Dabei wurde der Score geringfügig modifiziert, da in den eigenen Untersuchungen keine zytologische Untersuchung des Tracheobronchialsekretes erfolgte. Demzufolge war die höchste Punktzahl, die ein hochgradig erkranktes Pferd erreichen konnte, 13 Punkte und nicht wie bei OHNESORGE et al. (1998) beschrieben, 14 Punkte.

Zudem wurde folgendes Schema auf die grobsinnliche Bewertung des Tracheobronchialsekretes (letzter Punkt in Tab. 11) angewendet: Wie bereits in Tab. 10 angegeben, wurden Sekretmenge und -viskosität nach DICKMANN (1987) gewichtet. Eine Gesamtpunktzahl von 5-6 Punkten entsprach 1 Punkt im Score nach OHNESORGE et al. (1998). Eine Gesamtpunktzahl im Endoskopie-Score von > 6 Punkten wurde im Gesamtscore nach OHNESORGE et al. mit 2 Punkten gewichtet. Die in gewissem Maß subjektive Bewertung der Ruhedyspnoe,

⁶ Metabo, 1066 Espalinges, Schweiz

⁷ Marquette Hellige Medical Systems Hellige No. 22614501, Schweiz

der Auskultation, der Perkussion und der Endoskopie erfolgte in allen Fällen durch die Autorin. Anhand des so modifizierten Scores nach OHNESORGE et al. (1998) erfolgte eine Zuordnung der Patienten, wie in Tab. 12 angegeben, zu den 4 Gruppen: Ohne besonderen Befund, geringgradige, mittelgradige und hochgradige COB.

Tab. 11: Score-System nach OHNESORGE et al. 1998 (leicht modifiziert)

Untersuchungsparameter	Ergebnis	Score
Husten	vorberichtlich, spontan oder auslösbar	1
Ruhedyspnoe	verstärkt abdominal Nüsterblähen und/oder Dampfrinne	1 3
Auskultation	Rasseln und Giemen	2
Perkussion des Lungenfeldes	> eine handbreit erweitert > zwei handbreit erweitert	1 2
A-aDO ₂	7 bis 14 mmHg > 14 mmHg	1 2
Bifurcatio tracheae	deutlich verdickt	1
Tracheobronchialsekret a) Menge b) Viskosität	a) deutlich vermehrt b) mäßig viskös a) hochgradig vermehrt b) zähviskös	1 2

Tab. 12: Einteilung des Grades der Erkrankung nach dem Score-System von OHNESORGE et al. 1998 (leicht modifiziert)

Gruppe	Score	Grad der Erkrankung
1	0 - 1	ohne besonderen Befund
2	2 - 3	geringgradige COB
3	4 - 6	mittelgradige COB
4	7 - 13	hochgradige COB

3.1.4 ATEMKONDENSATGEWINNUNG

Die Gewinnung des Atemkondensates erfolgte nach der Lungenfunktionsprüfung, ebenfalls im Zwangsstand. Die Umgebungsbedingungen wurden während der Messungen von Februar 1999 bis Mai 2000 mittels eines Haarhygrometers mit integriertem Thermometer registriert. Die Raumtemperatur lag zwischen 14 und 21 °C, die Luftfeuchtigkeit zwischen 30 und 68 %.

3.1.4.1 Gerätebeschreibung

In der vorgestellten Studie wurde ein in der Forschungsgesellschaft für Lungen- und Thoraxerkrankungen mbH (FILT, Berlin) für die Humanmedizin entwickeltes und als Labormuster gefertigtes Atemkondensatgerät verwendet (s. Abb. 1). Das Verfahren und die Vorrichtung zum Sammeln von ausgeatmetem Atemkondensat wurde 1995 zum Patent angemeldet (Patentanmeldung Nr. 19505504.7). Das Gerät wurde der Autorin zur Anwendung beim Pferd vom Erfinder zur Verfügung gestellt. Es handelt es sich um eine Vorrichtung zur Sammlung nicht-gasförmiger Bestandteile der Ausatemluft. Sie besteht aus einer doppelwandigen, von Kühlflüssigkeit durchströmten Röhre von 47 cm Länge und etwas über 12 mm Innendurchmesser, mit einer zusätzlichen, außen angebrachten Wärmeisolationsschicht. In den zylindrischen Hohlraum der Kühlvorrichtung wird ein auswechselbares Probensammelrohr aus Teflon mit einer Länge von 57 cm, einem Außendurchmesser von 12 mm und einem Innendurchmesser von 10 mm eingeschoben (s. Abb. 3). Im Patent vorgesehen ist der Anschluß des Teflonrohres über ein Mundstück. Das Teflonrohr endet frei im Mundstück, so dass Speichel nicht in das Sammelrohr gelangen kann.

Für die Anwendung am Pferd wurde wegen des im Vergleich zum Menschen großen Expirationsvolumens und der darauf ausgelegten Geräteleistung über eine Trachealsonde ein Teil des Expirationsvolumens abgezweigt und durch das Probensammelrohr geleitet. Ein Nicht-rückatmungsventil auf dem vom Pferd entfernten Ende des aus dem Kühlaggregat herausragenden Sammelrohres bewirkte, dass nur die Expirationsluft durch das Sammelrohr gelangte. Die Kühlvorrichtung war über zwei isolierte Schläuche mit einem 46 cm x 38,5 cm x 22 cm großen Kühlgerät der Firma Haake⁸ verbunden. Durch diesen Kühlkreislauf wurde die Ausatemluft auf -20 °C abgekühlt, wobei Aerosole, Wasserdampf und andere nicht-gasförmige Bestandteile als Atemkondensat an der inneren Wandung des Sammelrohres

⁸ Gebr. Haake GmbH, 76227 Karlsruhe, Deutschland

abgeschieden wurden. Um die Kühltemperatur zu erreichen, mußte das Gerät ca. 1,5 Stunden vor Gebrauch eingeschaltet werden.

3.1.4.2 Gewinnung am Pferd

Bei sehr unruhigen oder widersetzlichen Pferden wurde eine Sedation mit Detedomidin⁹ (10 µg/kg Körpergewicht iv) durchgeführt. Die Pferde wurden von zwei Helfern fixiert und wenn notwendig wurde eine Oberlippenbremse angelegt. Eine nasenschlundsondenähnliche Kunststoffsonde (s. Abb. 3), deren Länge 170 cm, Außendurchmesser 15 mm und Innendurchmesser 11 mm betrug, wurde nach vorheriger Abmessung am Pferd über den ventralen Nasengang und den Rachen in die Trachea bis kurz vor die Bifurcation eingeführt und anschließend mit Klebeband am Halfter befestigt (schematische Darstellung in Abb. 4). Die Sonde lag sicher in der Trachea, wenn beim Schieben kein Widerstand zu verspüren war und bei Aspiration durch die einführende Person kein Unterdruck erzeugt werden konnte, so dass ein Mitatmen über die Sonde möglich war. Das rostrale Ende der Trachealsonde wurde mittels eines Adapters auf das auswechselbare Probensammelrohr aus Teflon locker aufgesteckt, um die Verbindung beispielsweise bei plötzlichem Kopfschütteln oder Hustenstößen schnell lösen zu können (s. Abb. 2). Die Sammelperiode betrug 10 Minuten. Das Probensammelrohr wurde nach dem Ausfrierungsvorgang sofort mittels Stopfen beidseitig verschlossen, gekennzeichnet und im Tiefkühlschrank bei -80 °C aufbewahrt.

⁹ Domosedan®, Pfizer GmbH, 76139 Karlsruhe, Deutschland

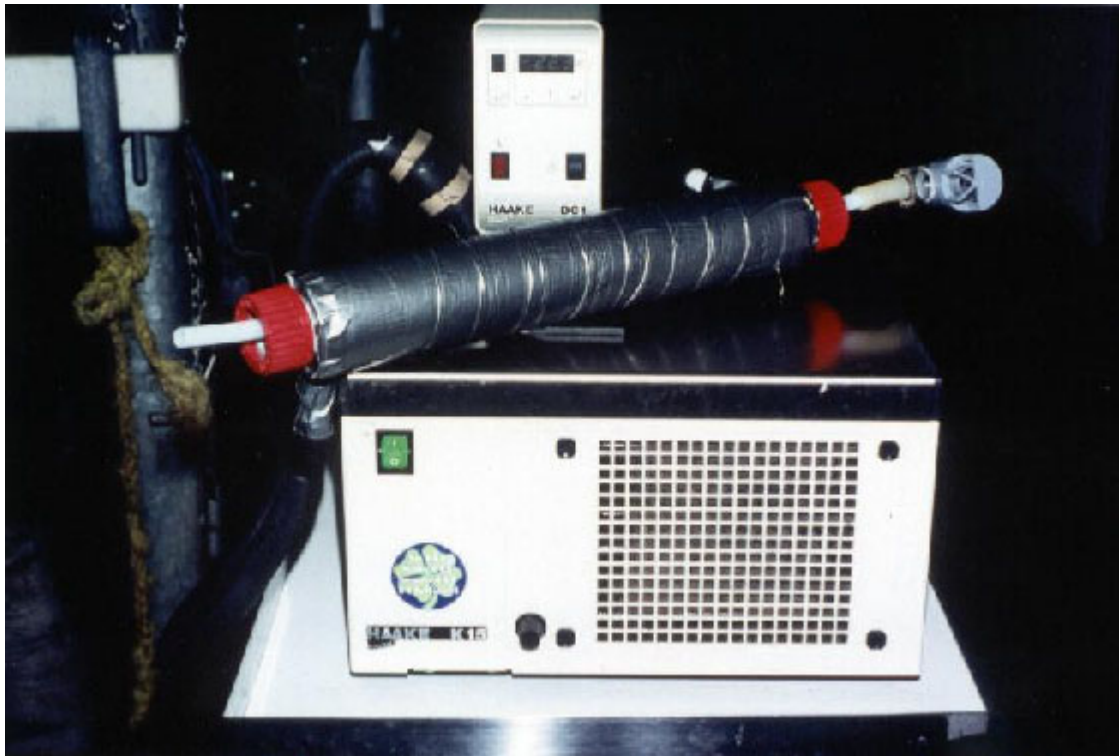


Abb. 1: Als Labormuster gefertigtes Atemkondensatgerät der FILT in Berlin



Abb. 2: Anwendung der Atemkondensatgewinnung am Pferd

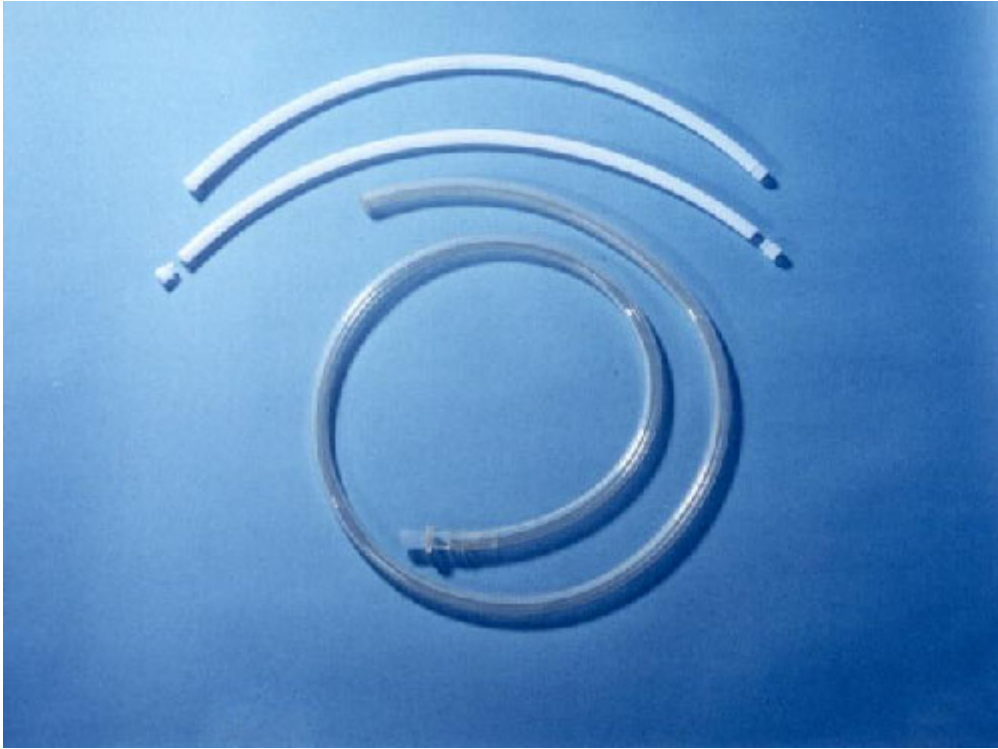


Abb. 3: Probensammelrohre aus Teflon, beidseitig verschließbar und Kunststoffsonde zur Gewinnung von Atemkondensat beim Pferd

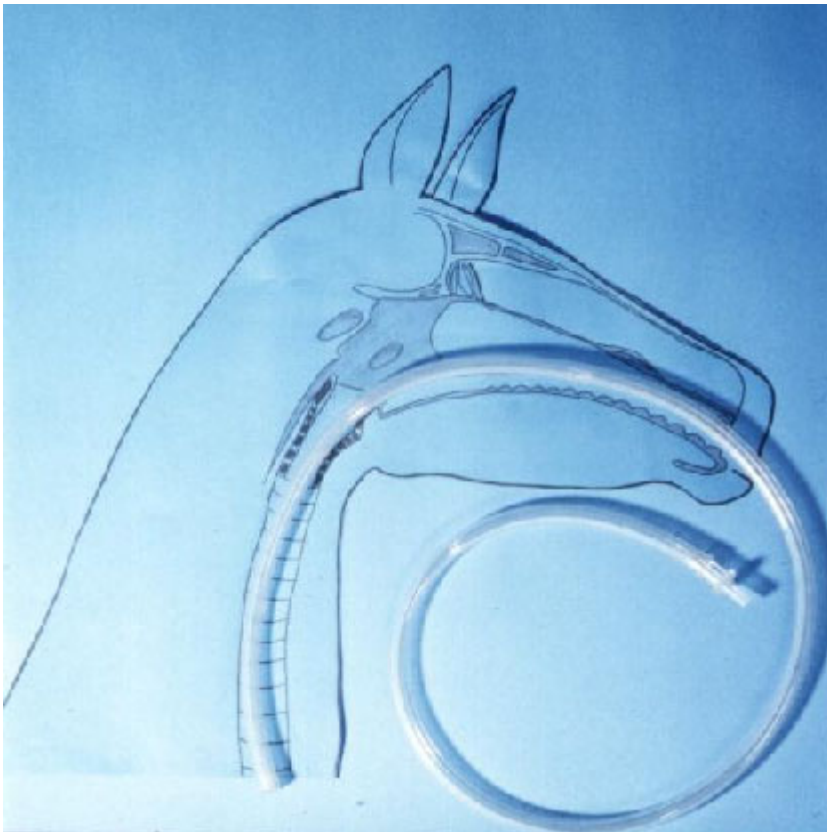


Abb. 4: Lage der Kunststoffsonde während der Atemkondensatgewinnung

3.1.4.3 Bestimmung der Atemkondensatmenge

Bei 37 Pferden wurden die Proben bei Raumtemperatur aufgetaut und anschließend in sterilen, vorher abgewogenen Serumröhrchen aufgefangen. Durch nochmaliges Wiegen der Serumröhrchen mit der darin befindlichen Probenflüssigkeit und anschließender Subtraktion der Leerwerte wurde das Probengewicht ermittelt. Die Wägungen erfolgten mittels einer Waage (AE 160) der Firma Mettler¹⁰ mit einem Wägebereich von bis zu 10^{-4} g. Die Anzeige erfolgte über ein 5-stelliges digitales Display, die Waagschale befand sich in einem verschließbaren Glasgehäuse zum Schutz vor Luftzug während der Wägungen. Das Probenvolumen wurde nach der Formel

$$V \text{ [ml]} = \frac{m \text{ [g]}}{\rho \text{ [g/cm}^3\text{]}}$$

berechnet.

$$m = \text{Probengewicht}$$

$$\rho = 0,998 \text{ g/cm}^3 \text{ (Dichte von Wasser bei } 20^\circ \text{ C)}$$

Anschließend wurden die Proben sofort wieder bei -80° C eingefroren.

Weitere 31 Proben wurden auf Trockeneis (-80° C) zu weiterführenden Untersuchungen in die FILT versendet. Dort erfolgte ebenfalls das Auftauen der Proben bei Raumtemperatur und die Bestimmung der Probenmenge durch Wiegen auf einer Laborwaage der Firma Sartorius¹¹ mit einem Wägebereich von bis zu 10^{-4} g. Das Probenvolumen wurde wie oben ausgeführt errechnet.

Bei 4 Pferden war es nicht möglich Atemkondensat zu gewinnen. Die Ursache dafür wird auf S. 65 (3.2.2.2) erläutert.

3.1.4.4 Bestimmung des Durchflussexpirationsvolumens

Die Bestimmung des Teils der Ausatemluft, der das Sammelrohr passiert (Durchflussexpirationsvolumen), wurde bei 30 der insgesamt 72 untersuchten Pferde durchgeführt. Hierzu wurde vor das Nichtrückatmungsventil ein kleines Staudruckrohr¹² nach FLEISCH (1925)

¹⁰ Mettler, 72458 Albstadt, Deutschland

¹¹ Sartorius, 37079 Göttingen, Deutschland

¹² Gould Godart, Holland

(1925) Nr.1 mit einem Durchmesser von 1,8 cm eingebaut. Der Atemstrom wurde zu einem Pneumotachographen der Firma Gould¹³ geführt, welcher im Regelbetrieb das Atemzugvolumen (V) und die Summe der Inspirationsvolumina ($V_{\Sigma I}$) misst. Durch Auswechseln der Anschlüsse wurde der Strömungsverlauf umgekehrt und somit die Summe der Expirationsvolumina

($V_{\Sigma E}$) gemessen und kontinuierlich mittels eines Zweikanalschreibers (ebenfalls Gould) mit einer Geschwindigkeit von 25 mm/min aufgezeichnet. Vor jeder Messung wurde das Gerät nach Herstellerangabe neu kalibriert. Die Aufzeichnung erfolgte während der gesamten Probensammelzeit (10 min).

Es ergab sich ein Kurvenverlauf wie beispielhaft in Abbildung 5 zu erkennen. Die obere Graphik zeigt ein Spirogramm, die untere Graphik zeigt die Aufzeichnung der Summe der Expirationsvolumina. Es sind mehrere parallele Kurven zu sehen, da der Schreiber nach Erreichen des oberen Randes des Millimeterpapiers automatisch auf die Ausgangsposition zurücksprang. Daher war eine graphische Auswertung durch Ausmessen von V_E und Addition der Werte über den Probensammelzeitraum (ΣV_E) notwendig. Bei den gewählten Einstellungen entsprach 1 Liter = 3,2 mm +/- 0,2 mm. Das gesamte innerhalb des Messzeitraumes von 10 Minuten durch das Gerät ausgeatmete Volumen konnte somit nach folgender Formel berechnet werden:

$$V_{\Sigma E} [l] = \frac{\Sigma V_E}{3,2}$$

¹³ Gould Medical BV, Bilthoven, Holland

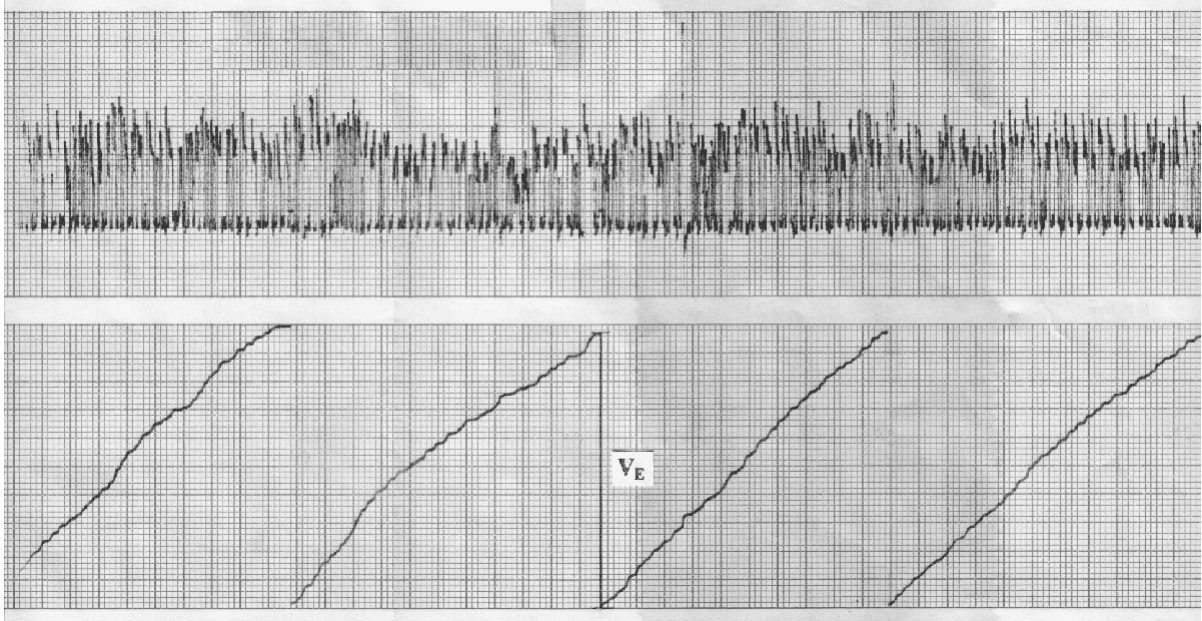


Abb. 5: Ausschnitt aus der graphischen Aufzeichnung des durch das Atemkondensatgerät geleiteten Teils des Expirationsvolumens

3.1.4.5 Untersuchungen zur Wiederholbarkeit der Atemkondensatgewinnung

Es wurden 4 Messungen mit einem Abstand von je 3 Tagen an zwei klinikeigenen Pferden durchgeführt. Es handelt sich um einen zum Zeitpunkt der Untersuchung 7 Jahre alten Kaltblut-Kryptorchiden und einen 17 Jahre alten Warmblutwallach. Die erste Probennahme fand jeweils auch Eingang in die Studie der Atemkondensatgewinnung.

Vor der ersten und nach der letzten Atemkondensatgewinnung erfolgte jeweils eine endoskopische Kontrolle der Trachea mit Videoaufzeichnung. Zur Tracheoskopie wurde ein 2,50 m langes flexibles Fiberskop¹⁴ mit einem Durchmesser von 13 mm verwendet. Dabei wurde vor allem bei der Abschlussendoskopie auf das Vorliegen von Schwellungen, Läsionen und Rötungen der Trachealschleimhaut, bedingt durch die wiederholte Anwendung der Trachealsonde, geachtet.

Die Atemkondensatgewinnung erfolgte im Zwangsstand nach der Methodik, wie sie unter Punkt 3.1.4.2., S. 52 beschrieben ist.

¹⁴ Firma Wolf, 75438 Knittlingen, Deutschland

Die Pferde wurden vor jeder Messung mit Detomidin¹⁵ (10 µg/kg Körpergewicht iv) sediert. Die Messungen wurden stets vormittags bei einer Umgebungstemperatur zwischen 14 und 16°C und einer Luftfeuchtigkeit zwischen 36 und 48 %, gemessen mittels eines Haarhygrometers mit integriertem Thermometer, durchgeführt.

¹⁵ Domosedan®, Pfizer GmbH, 76139 Karlsruhe, Deutschland

3.1.5 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die Datenhaltung und die Datenauswertung, sowie die Erstellung der graphischen Abbildungen im Rahmen der Ergebnispräsentation, erfolgte auf den Rechnern im lokalen Rechnernetzwerk (LAN) der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwendung des Statistikprogrammpaketes BMDP/Dynamic, Release 7,0 (DIXON 1993) durchgeführt. Die graphischen Darstellungen und Tabellen wurden mit Hilfe der Programme Excel[®] (Version 7,0) und Word[®] (Version 9,0) der Firma Microsoft (USA) erstellt. Zur Beschreibung der Daten wurden arithmetische Mittelwerte (\bar{x}_a), Standardabweichungen (s) und Stichprobenumfänge (n) berechnet und tabellarisch wiedergegeben. Bei rechtsschiefer Verteilung positiver quantitativer Merkmale wurde eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt und die Datenbeschreibung mit Hilfe von geometrischen Mittelwerten (\bar{x}_g) und Streufaktoren (SF) vorgenommen. Zur statistischen Prüfung des Gruppeneinflusses auf Signifikanz wurde bei den angenähert normalverteilten Merkmalen eine einfaktorische Varianzanalyse mit dem Programm BMDP7D durchgeführt. Die Untersuchung der Zusammenhänge erfolgte bei den quantitativen Merkmalen mit Hilfe von Korrelationsanalysen mit dem Programm BMDP6D unter Angabe des Korrelationskoeffizienten (r) und dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (r_s). Bei der Benennung von Signifikanzen wurden folgende Bezeichnungen verwendet:

$p \leq 0,001$ hoch signifikant (***)

$p \leq 0,01$ signifikant (**)

$p \leq 0,05$ schwach signifikant (*)

$p > 0,05$ nicht signifikant (n.s.)

3.2 ERGEBNISSE

3.2.1 ERGEBNISSE DER KLINISCHEN UNTERSUCHUNGEN EINSCHLIESSLICH PATIENTENKLASSIFIZIERUNG

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Patientenklassifizierung nach dem leicht modifizierten Score-System nach OHNESORGE et al. (1998) aufgeführt.

Insgesamt wurden 72 Pferde untersucht. Es handelte sich um 8 Pferde ohne besonderen Befund (0-1 Punkt), 24 geringgradig (2-3 Punkte), 23 mittelgradig (4-6 Punkte) und 17 hochgradig (7-13 Punkte) an COB erkrankte Pferde. Bei einem Pferd konnte auf Grund starker Abwehr kein arterielles Blut für die Blutgasanalyse gewonnen werden. Bei diesem erfolgte die Gruppeneinteilung allein nach dem Endoskopiebefund und der klinischen Untersuchung, zumal die Ergebnisse der Blutgasanalyse in diesem Fall nichts an der Gruppenzugehörigkeit (Gruppe der mittelgradig erkrankten Pferde) geändert hätten. Dieses Pferd ist nicht in Tab. 13 aufgenommen worden.

Die endgültige Einteilung in Erkrankungsgruppen erfolgte durch Addition der Teilpunkte, die für die Befunde der klinischen Untersuchung, der Blutgasanalyse und der Tracheobronchoskopie gegeben wurden. Der folgenden Tabelle können die Gruppenmittelwerte mit Standardabweichungen entnommen werden.

Tab. 13: Einteilung in Erkrankungsgruppen nach dem Gesamtscoresystem
(arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)

Erkrankungsgrad	Gesamtscore
o.b.B. (n = 8)	0,6 ± 0,5
ggr. (n =24)	2,6 ± 0,5
mgr. (n = 22)	4,8 ± 0,8
hgr. (n =17)	8,8 ± 1,9

Die Durchführung einer Lungenfunktionsanalyse war bei 67 Pferden möglich. 5 Pferde widersetzten sich der diagnostischen Maßnahme. Auf eine Sedation wurde auf Grund der dadurch beeinflussbaren Meßwerte verzichtet (DEWES et al. 1974). Die Ergebnisse aller Untersuchungen befinden sich im Einzelnen im tabellarischen Anhang (8.3.) S. -5- bis -17-.

3.2.1.1 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

Die Ergebnisse der klinischen Untersuchung gingen wie auf S. 50, Tab. 11 beschrieben in das Score-System nach OHNESORGE et al. (1998) ein.

In Tab. 14 wird die Verteilung der klinischen Symptome in den einzelnen Erkrankungsgruppen aufgeführt. Dabei ist, wie zu erwarten, mit zunehmendem Erkrankungsgrad eine Häufung der Befunde zu finden.

Tab. 14: Ausprägung und Verteilung der klinischen Symptome je nach Erkrankungsgrad
(Anzahl der Patienten)

Erkrankungsgrad Punktzahl	Husten	Ruhedyspnoe		Auskultation	Perkussion	
	1	1	3	2	1	2
o.b.B. (n = 8)	2	1	0	0	0	0
ggr. (n = 24)	17	12	0	1	0	0
mgr. (n = 23)	23	15	0	2	2	0
hgr. (n = 17)	17	11	5	14	3	2

3.2.1.2 Ergebnisse der arteriellen Blutgasanalyse

Wie in Tab. 15 aufgeführt, unterscheiden sich die Mittelwerte des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes (P_aO_2) in den vier Gruppen deutlich voneinander. Während die Werte bei den Tieren ohne besonderen Befund und den geringgradig erkrankten Tieren im Referenzbereich von 100 ± 5 mm Hg (SASSE 1971; DEEGEN 1983) liegen, ergibt sich für die mittelgradig erkrankten Tiere mit 89,6 mm Hg ein Abfall unter die Norm und bei den hochgradig erkrankten Tieren ein deutlicher Abfall auf 80,6 mm Hg. Dies war zu erwarten, da die Befunde des P_aO_2 indirekt über die A-aDO₂ in die Bewertung nach dem Score-System (OHNESORGE et al. 1998) einfließen. Zur vollständigen Beurteilung des Erkrankungsgrades sind neben der A-aDO₂ auch der P_aO_2 und der P_aCO_2 von Bedeutung, weswegen diese hier zusätzlich aufgeführt werden.

Die Mittelwerte des Kohlendioxidpartialdruckes (P_aCO_2) liegen bei allen Gruppen im Referenzbereich von 40 ± 5 mm Hg (SASSE 1971). Die Mittelwerte der alveolo-arteriellen

Sauerstoffdifferenz ($A-aDO_2$) liegen bei den Pferden ohne besonderen Befund und den geringgradig erkrankten Pferden im Referenzbereich von $5,4 \pm 5,1$ mm Hg (KLEIN und DEEGEN, 1986) und sind bei den mittel- und hochgradig erkrankten Pferden mit 13,9 bzw. 22,9 mm Hg deutlich erhöht. Wie die Werte der Alveolo-arteriellen Sauerstoffdifferenz in die Gesamtbeurteilung eingehen ist auf S. 50, Tab. 11 beschrieben.

Tab. 15: Arterielle Blutgaspartialdrücke je nach Erkrankungsgrad aufgeteilt
(arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)

Erkrankungsgrad	P_aO_2 (mm Hg)	P_aCO_2 (mm Hg)	$A-aDO_2$ (mm Hg)
o.b.B. (n = 8)	$99,9 \pm 3,3$	$45,1 \pm 1,7$	$3,9 \pm 4,2$
ggr. (n = 24)	$96,3 \pm 6,8$	$46,2 \pm 3,2$	$5,8 \pm 6,1$
mgr. (n = 22)	$89,6 \pm 10,6$	$44,9 \pm 2,7$	$13,9 \pm 10,4$
hgr. (n = 17)	$80,9 \pm 10,6$	$45,6 \pm 3,8$	$22,9 \pm 9,9$

3.2.1.3 Ergebnisse der Tracheobronchoskopie

Die Bewertung der Endoskopiebefunde erfolgte nach dem Endoskopie-Score nach DICKMANN (1987), wie auf S. 48, Tab. 10 beschrieben. Die arithmetischen Mittelwerte der erhaltenen Gesamtpunktzahlen werden im Folgenden tabellarisch nach Erkrankungsgrad geordnet aufgeführt.

Tab. 16: Endoskopiebefunde je nach Erkrankungsgrad aufgeteilt
(arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)

Erkrankungsgrad	Endoskopiescore (Gesamtpunktzahlen)
o.b.B. (n = 8)	$2,3 \pm 1,7$
ggr. (n = 24)	$4,6 \pm 1,9$
mgr. (n = 23)	$6,9 \pm 1,4$
hgr. (n = 17)	$7,1 \pm 1,7$

Die Ergebnisse der Endoskopiebefunde gingen wie auf S. 49 (3.1.3.5) beschrieben auch in die Gesamtwertung (Score-System nach OHNESORGE et al. 1998) ein. In diesem Gesamtscore werden zusätzlich die Pferde mit hochgradiger Schleimhautschwellung (ggr. COB: n = 1, mgr. COB: n = 2, hgr. COB: n = 9), mit einem Punkt berücksichtigt. Da die Endoskopiebefunde zur Einteilung in die Erkrankungsgruppen herangezogen wurden, sind die Befunde so zu erwarten gewesen.

3.2.1.4 Ergebnisse der für die Studie relevanten Lungenfunktions-Parameter

Auf die Probenmenge könnten, neben dem Durchflussextirationsvolumen, dessen Ergebnisse unter Punkt 3.2.2.6 (S. 69) besprochen werden, folgende Parameter einen Einfluss besitzen: das Atemzugvolumen und das Atemminutenvolumen, aber auch die Atemstromstärke und die Atemfrequenz sind bei der Atemkondensatgewinnung mittels Sonde auf einen Zusammenhang zur Probenmenge zu prüfen. In Tab. 17 werden die Werte der genannten Parameter in den einzelnen Erkrankungsgruppen aufgeführt. Dargestellt sind die Ergebnisse von den 63 Pferden, bei denen die Atemkondensatgewinnung und die Lungenfunktionsanalyse möglich war. Die Lungenfunktionsparameter waren nicht für die Einteilung in Erkrankungsgruppen verantwortlich.

Tab. 17: Ausgewählte Lungenfunktionsparameter in den einzelnen Erkrankungsgruppen
(arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)

Erkrankungsgrad	V (l)	AMV (l)	Ast.(l/min)	f _R (/min)
o.b.B. (n = 7)	7,5 ± 2,1	136 ± 33,0	450 ± 220	19,5 ± 8,2
ggr. (n = 23)	7,1 ± 2,7	106 ± 31,4	312 ± 104	17,1 ± 7,2
mgr. (n = 19)	6,6 ± 1,7	122 ± 30,0	447 ± 139	19,2 ± 4,7
hgr. (n = 14)	5,7 ± 1,7	125 ± 26,4	477 ± 187	23,8 ± 12,0

V = Atemzugvolumen (l), AMV = Atemminutenvolumen (l), Ast. = Atemstromstärke (l/min)
f_R = Atemfrequenz (/min), o.b.B. = ohne besonderen Befund

Auffallend ist ein leichter Abfall der Atemzugvolumina mit zunehmendem Erkrankungsgrad und eine Erhöhung der Atemfrequenz in der Gruppe der hochgradig erkrankten Pferde bis auf etwa 24 Atemzüge/min. Die Ergebnisse der Atemstromstärke und des Atemminutenvolumens zeigen keine deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen. Der höchste Mittelwert ist zwar bei der Atemstromstärke mit 477 l/min bei den hochgradig erkrankten Pferden zu finden, jedoch liegt er nur knapp über dem Wert der gesunden Pferde mit 450 l/min, bei denen zusätzlich die größte Standardabweichung von 220 l/min zu finden ist. Der höchste Mittelwert beim Atemminutenvolumen ist mit 136 l in der Gruppe der gesunden Pferde zu finden. Innerhalb der erkrankten Pferde zeigt sich eine leichte Tendenz zur Erhöhung der Werte mit zunehmendem Erkrankungsgrad.

3.2.2 ERGEBNISSE ZUR ATEMKONDENSATGEWINNUNG

Nachfolgend werden die Ergebnisse aller Parameter, die im Zusammenhang mit der Atemkondensatgewinnung stehen, aufgeführt. Dabei wird zunächst auf die Erfahrungen im Umgang mit dem zur Verfügung stehenden Atemkondensatgerät eingegangen sowie auf die Akzeptanz bei den Patienten und letztendlich auf die direkt mit der Probennahme einhergehenden Daten.

3.2.2.1 Handling des Atemkondensatgerätes

Das von der FILT zur Verfügung gestellte und als Labormuster gefertigte Atemkondensatgerät war im Gegensatz zu den neueren Geräten (Eco-Screen[®], Firma Jaeger-Toennies¹) recht groß und schwer, so dass es nur mit Hilfe eines Rollwagens ohne große Mühe transportiert werden konnte. Von Nachteil war auch die Abkühldauer von ca. 1,5 Stunden bis das Gerät die volle Kühlleistung von -20 °C erreicht hatte. Spontane Messungen waren somit nicht möglich.

Der vom Kühlgerät verursachte Geräuschpegel war nicht sehr hoch. Es war nur ein leises Summen zu hören, an welches sich die Pferde schnell gewöhnt hatten, was von Vorteil für die 10- minütige Messperiode war.

Während der Messung war darauf zu achten, dass das Nischrückatmungsventil einwandfrei arbeitete und dass bei Hustenstößen die Verbindung zum Sammelrohr durch Abziehen der Sonde kurz unterbrochen wurde, damit kein Sekret in das Probensammelrohr gelangen

¹ Erich Jaeger GmbH, 97204 Höchberg, Deutschland

konnte. Außerdem musste ebenfalls zur Vermeidung von Sekretkontaminationen das Sammelrohr leicht angehoben werden, so dass der pferdeferne Pol höher lag.

Der personelle Aufwand war nicht größer als zur Durchführung einer Lungenfunktionsuntersuchung. Eine Person musste das Pferd fixieren, bei widersetzlichen Pferden war noch eine zweite Person erforderlich, und eine weitere Person musste das Kühlrohr halten und die Probennahme überwachen.

In der überwiegenden Zahl der Probennahmen (94 %) konnte Atemkondensat gewonnen werden. Ein Teflonrohr war nicht ausreichend verschlossen worden, so dass beim Auftauen die Kondensatflüssigkeit austrat. Das Handling der recht langen (57 cm) Probenröhren war etwas umständlich. Beim Versand der entsprechend großen Behältnisse, die mit Trockeneis gekühlt werden mussten, ergaben sich hohe Versandkosten.

3.2.2.2 Akzeptanz der Untersuchung

Von insgesamt 72 untersuchten Pferden konnte bei 68 Pferden (94 %) Atemkondensat gewonnen werden. Bei 3 Ponys gelang es auch unter endoskopischer Kontrolle nicht, die Sonde in die Trachea einzuführen, da der Rachenraum zu kurz für die vorgebogene Sonde war. Bei einem Großpferd wurden die Versuche, die Sonde einzuführen, auf Grund von Nasenbluten abgebrochen. Die Ergebnisse der Lungenfunktionsuntersuchung, der arteriellen Blutgasanalyse, der Körpertemperatur und des Körpergewichtes der Ponys, bei denen keine Atemkondensatgewinnung möglich war, sind im Anhang S.-15-, Tab. V gesondert aufgeführt. Hier ergaben sich außer dem niedrigeren Körpergewicht ($x_a = 353$ kg) keine Auffälligkeiten im Vergleich zu den restlichen Pferden ($x_a = 527$ kg). Bei 7 Pferden (10,3 %) erfolgte auf Grund starker Unruhe oder Hustens die Atemkondensatgewinnung nach Sedation mit Detomidin² (10 µg/kg Körpergewicht iv). Bei Pferden mit starkem Hustenreiz nach dem Einführen der Sonde wurde vor der Probennahme abgewartet, ob sich die Pferde an die Sonde gewöhnen und von selbst aufhören zu husten. Falls dies nicht der Fall war, konnte der Husten in allen Fällen durch die Sedation soweit unterdrückt werden, dass eine reibungslose Probennahme möglich war. Eine Lokalanästhesie war für die Probennahme nicht erforderlich. In der überwiegenden Zahl der Probennahmen (89,7 %) tolerierten die Pferde die Sonde gut und blieben während der 10-minütigen Sammelperiode ruhig.

² Domosedan®, Pfizer GmbH, 76139 Karlsruhe, Deutschland

3.2.2.3 Atemkondensatmenge

Die Ergebnisse der Atemkondensatmenge sind statistisch normalverteilt, so dass arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Werte berechnet werden.

Es wurden nur 67 Mengenbestimmungen durchgeführt, da eine Probe beim Auftauen ausgelaufen ist.

Mittelwert und Standardabweichung der verbleibenden Probenvolumina ($n = 67$) liegen bei $0,83 \pm 0,45$ ml/10 min. Die Spannbreite der ermittelten Werte liegt zwischen $0,03 - 2,3$ ml/10 min.

Zusätzlich erfolgte eine Aufspaltung in Erkrankungsgruppen, um eventuelle Zusammenhänge zwischen Atemkondensatmenge und Erkrankungsgrad darzustellen (Abb. 6). Rechnerisch wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse zum Mittelwertvergleich der Atemkondensatmenge zwischen den Gruppen durchgeführt. Hierbei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Werte zwischen den Gruppen ($p = 0,246$). Außerdem erfolgte die Berechnung des Rang-Korrelationskoeffizienten nach Spearman zur Überprüfung einer möglichen Korrelation zwischen der Atemkondensatmenge und dem Krankheitsgrad. Hierbei ergab sich mit $r_s = 0,11$ und $p = 0,361$, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen Atemkondensatmenge und Grad der Erkrankung besteht. Dies wird auch in Abb. 6 veranschaulicht, in der eine graphische Darstellung der mittleren Atemkondensatmengen im Gruppenvergleich erfolgt.

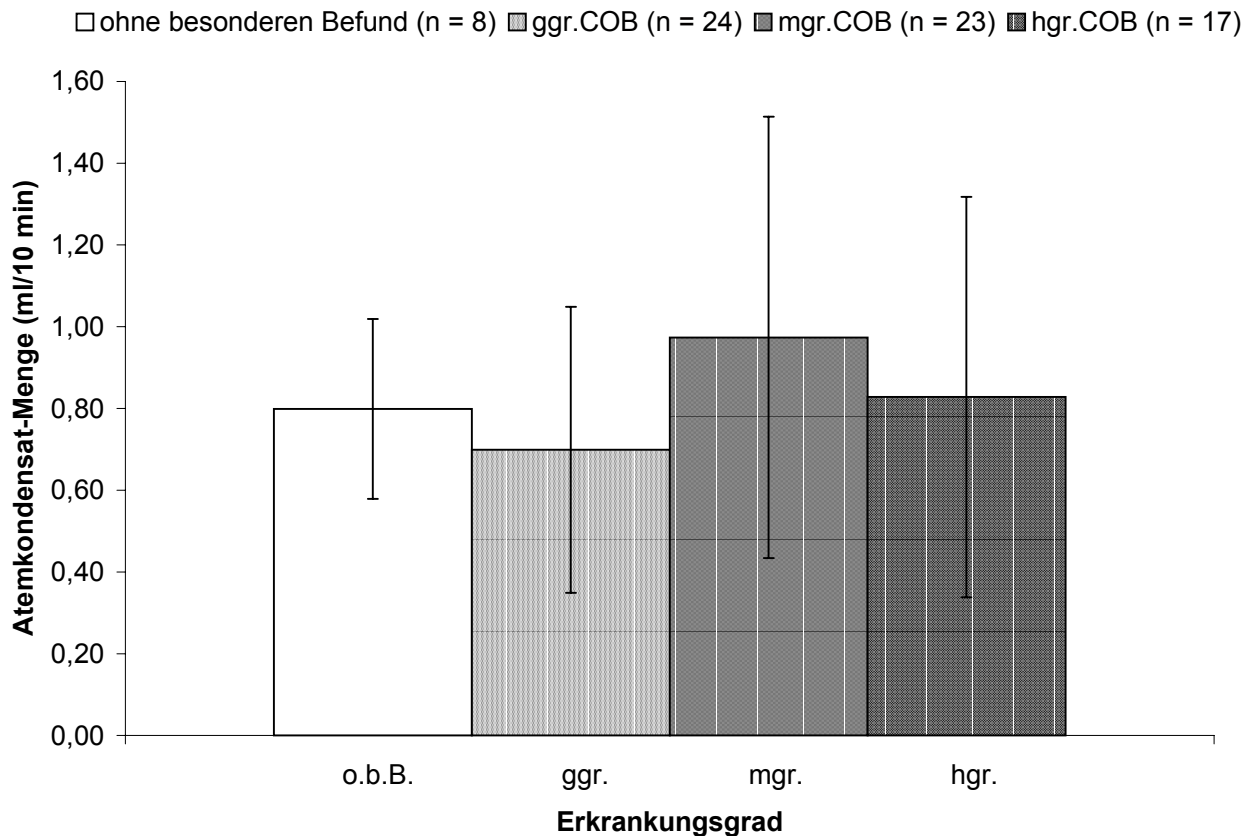


Abb. 6: Atemkondensatmenge (ml/10 min) aufgeteilt nach Erkrankungsgruppen, Darstellung arithmetischer Mittelwerte mit Standardabweichungen

3.2.2.4 Verhältnis der Atemkondensatmenge zur Atemstromstärke

Die Atemkondensatmenge wird in ihrem Verhältnis zur Atemstromstärke in Abb. 7 graphisch dargestellt. Bei der Korrelationsanalyse ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,37$ ($n = 62$). Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Atemkondensatmenge und der Atemstromstärke ($p \leq 0,01$).

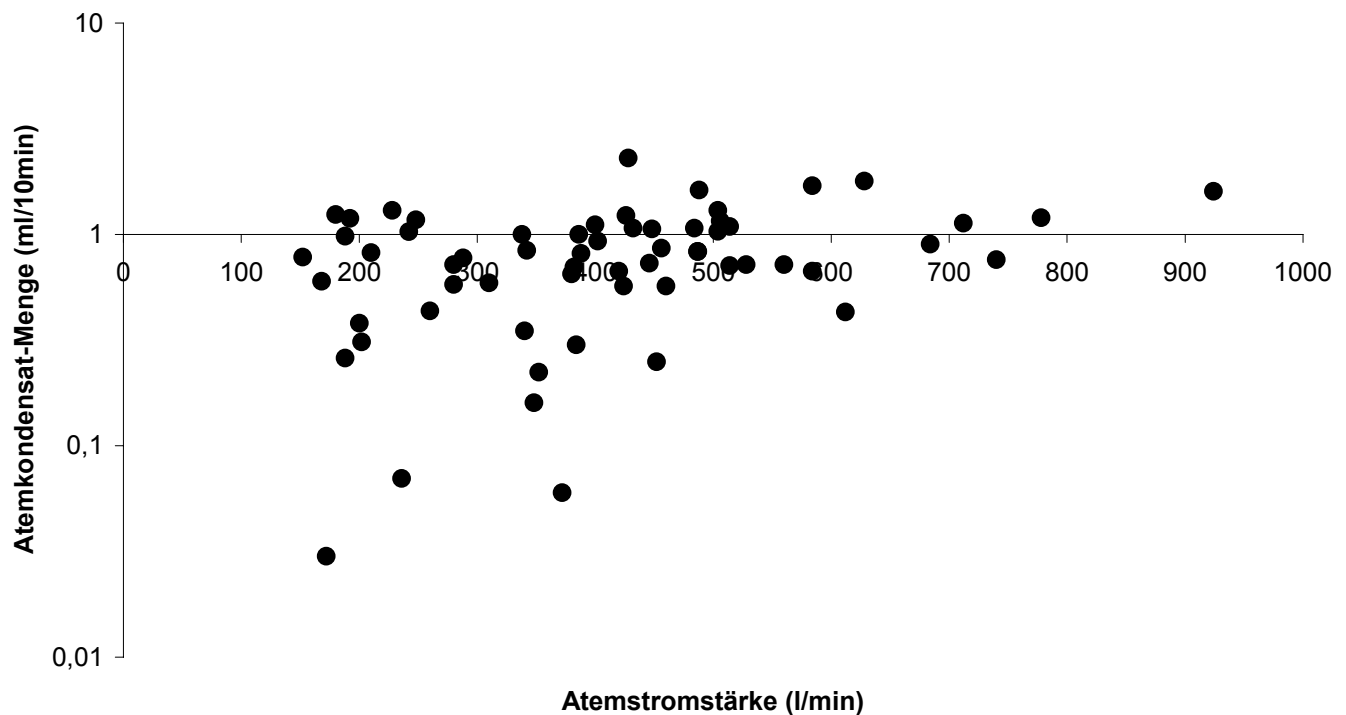


Abb. 7: Verhältnis der Atemkondensatmenge zur Atemstromstärke

3.2.2.5 Einfluss weiterer Parameter auf die Atemkondensatmenge

Mit Hilfe von Korrelationsanalysen wurde der Einfluss von sämtlichen weiteren Parametern der Lungenfunktion (Atemzugvolumen, Atemminutenvolumen, Atemfrequenz, Resistance, Compliance, maximale interpleurale Druckdifferenz) und der Blutgasanalyse (P_aO_2 , P_aCO_2 , $A-aDO_2$) sowie der Einfluss der Körpertemperatur, des Körpergewichtes, und der Umgebungsbedingungen (Luftfeuchtigkeit, Raumtemperatur) auf die Atemkondensatmenge überprüft. Die Ergebnisse befinden sich im Anhang auf S. -16-, Tab. VI. Außer der bereits erwähnten Korrelation der Atemkondensatmenge zur Atemstromstärke $r = 0,37$ (bei $p \leq 0,01$) findet sich noch eine schwach signifikante Korrelation ($p \leq 0,05$) der Atemkondensatmenge zur Atemfrequenz ($r = 0,24$). Ansonsten waren keine weiteren Signifikanzen festzustellen.

3.2.2.6 Durchflussextirationsvolumina

Bei 30 Pferden (2 ohne besonderen Befund, 14 geringgradige, 8 mittelgradige, 6 hochgradige COB) wurde während der Atemkondensatgewinnung durch Einbau eines Staudruckrohres (FLEISCH Nr. 1) vor dem Nichtrückatmungsventil zusätzlich eine Messung der Durchflussextirationsvolumina (der durch das Gerät geleitete Teil der Expirationsluft) durchgeführt, da direkte Zusammenhänge zur Atemkondensatmenge vermutet wurden (s. S. 72 Abb. 9). Es ergibt sich bei den Durchflussextirationsvolumina eine rechtsschiefe Verteilung der Werte, so dass die Daten vor der statistischen Auswertung logarithmiert werden mussten. Daher erfolgt die Angabe geometrischer Mittelwerte (x_g) und Streufaktoren (SF). Es ergibt sich für das Durchflussextirationsvolumen ein Mittelwert von $41,7 \pm 2 \text{ l/10 min.}$ Messperiode. Die Spannbreite der ermittelten Werte liegt zwischen $8,75 - 140 \text{ l/10 min.}$ In Abb. 8 erfolgt die graphische Darstellung der Mittelwerte der Ergebnisse der Durchflussextirationsvolumina nach Erkrankungsgruppen aufgeteilt. Die einfaktorielle Varianzanalyse der Logarithmen der Durchflussextirationsvolumina zum Mittelwertvergleich der Gruppen untereinander ergibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Erkrankungsgruppen ($p = 0,9$) s. Abb. 8. Die Berechnung des Rang-Korrelationskoeffizienten nach Spearman ($r_s = 0,1$) ergibt keine Korrelation zwischen Durchflussextirationsvolumen und Erkrankungsgrad ($p = 0,6$).

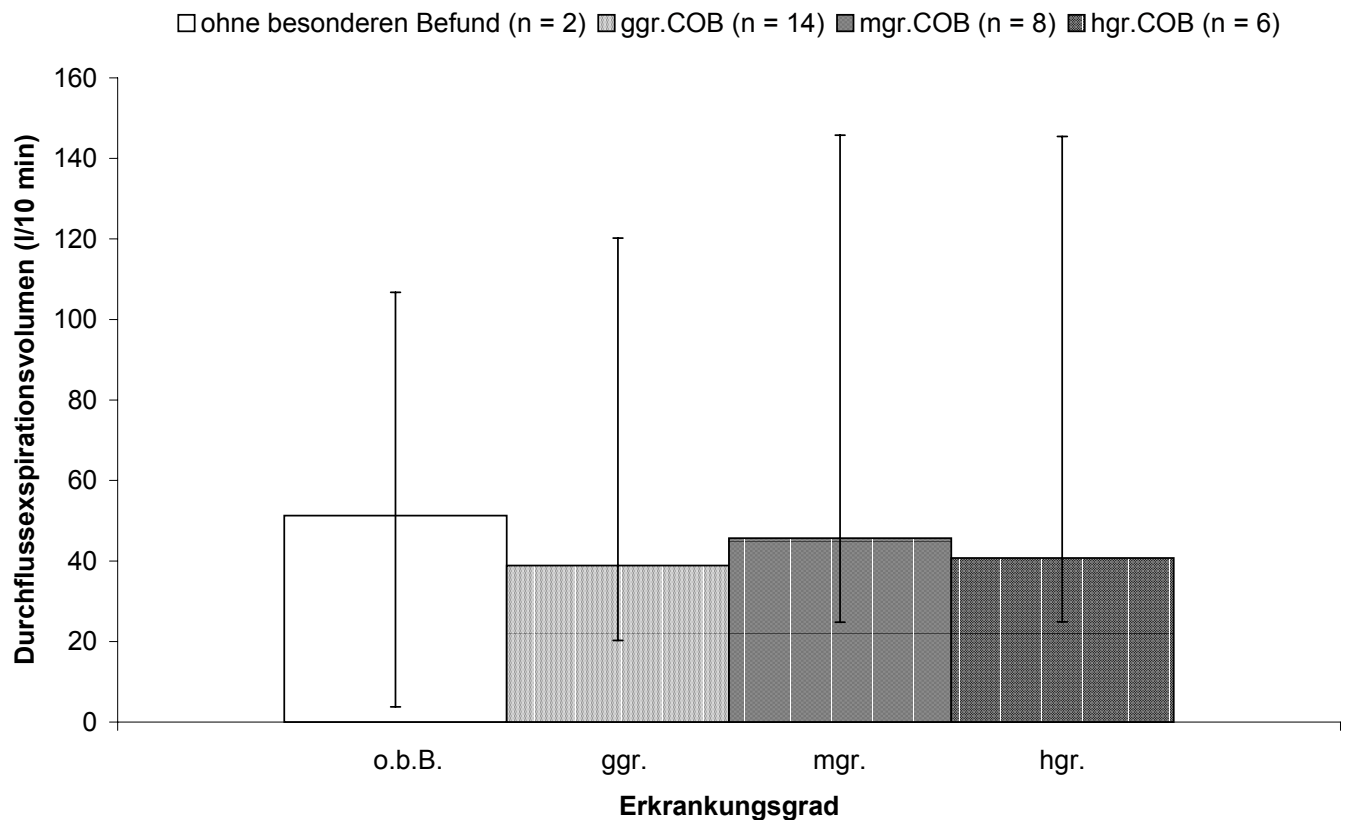


Abb. 8: Durchflussexpirationsvolumina aufgeteilt nach Erkrankungsgruppen, Darstellung geometrischer Mittelwerte mit Streufaktoren

Es wurde zusätzlich der prozentuale Anteil des Durchflussexpirationsvolumens am gesamten, in 10 Minuten Sammelzeit ausgeatmeten Volumen (Atemminutenvolumen mal 10) berechnet.

Hierbei ergibt sich ebenfalls eine rechtsschiefe Verteilung der Werte mit einer Spannweite von 1,0 – 10,6 % Anteil des Durchflussexpirationsvolumens am Gesamtexpirationsvolumen. Bei der Berechnung des geometrischen Mittelwertes mit zugehörigem Streufaktor erhält man einen Wert von $3,6 \% \pm 2 \%$.

Es ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil des Durchflussexpirationsvolumens am Gesamtvolumen und sämtlichen Parametern der Lungenfunktion (s. 3.2.2.5, S. 68) sowie der Blutgasanalyse, der Körpertemperatur und dem Körpergewicht.

Es besteht jedoch eine schwach signifikante Korrelation ($p \leq 0,05$) zur Atemkondensatmenge mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,38$ ($n = 29$).

3.2.2.6.1 Verhältnis der Durchflussextirationsvolumina zur Atemkondensatmenge

Die Prüfung von Durchflussextirationsvolumen und Atemkondensatmenge auf signifikante Zusammenhänge ergibt einen Korrelationskoeffizient von $r = 0,49$. Dieser Zusammenhang zwischen Atemkondensatmenge und Durchflussextirationsvolumen ist statistisch signifikant ($p = 0,007$).

Bei der Berechnung der Korrelationen für die einzelnen Erkrankungsgruppen ergibt sich für die geringgradig erkrankten Pferde ($n = 13$) eine signifikante Korrelation ($p \leq 0,01$) zwischen Durchflussextirationsvolumen und Atemkondensatmenge mit einem Korrelationskoeffizient von $r = 0,64$, die mittelgradig erkrankten Pferde ($n = 8$) weisen mit einem Korrelationskoeffizient von $r = -0,19$ und $p > 0,05$ keine signifikante Korrelation der beiden Parameter zueinander auf und die hochgradig erkrankten Pferde ($n = 6$) weisen mit $r = 0,92$ und $p \leq 0,01$ eine signifikante Korrelation zwischen Durchflussextirationsvolumen und Atemkondensatmenge auf.

Es ist auffallend, dass in der Gruppe der mittelgradig erkrankten Tiere keine signifikante Korrelation der beiden Parameter zueinander besteht, wohingegen in der Gruppe der gering- und hochgradig erkrankten Tiere eine signifikante Korrelation des Durchflussextirationsvolumens zur Atemkondensatmenge besteht. Die beste Korrelation weisen die hochgradig erkrankten Pferde mit $r = 0,92$ auf. In Abb. 9 erfolgt die graphische Darstellung der Zusammenhänge zwischen Durchflussextirationsvolumen und Atemkondensatmenge. Auffällig sind 3 außerhalb der Punktwolke liegende Datenpunkte, welche als Dreiecke dargestellt werden. Die drei Ausreißer gehören alle zur Gruppe der mittelgradig erkrankten Pferde, was den niedrigen Korrelationskoeffizient in dieser Gruppe erklärt. Weiterhin ist die Atemkondensatmenge bei den mittelgradig erkrankten Pferden am größten (s. Abb. 6, S. 67), was auch eine Begründung für den niedrigen Korrelationskoeffizient in dieser Gruppe sein kann.

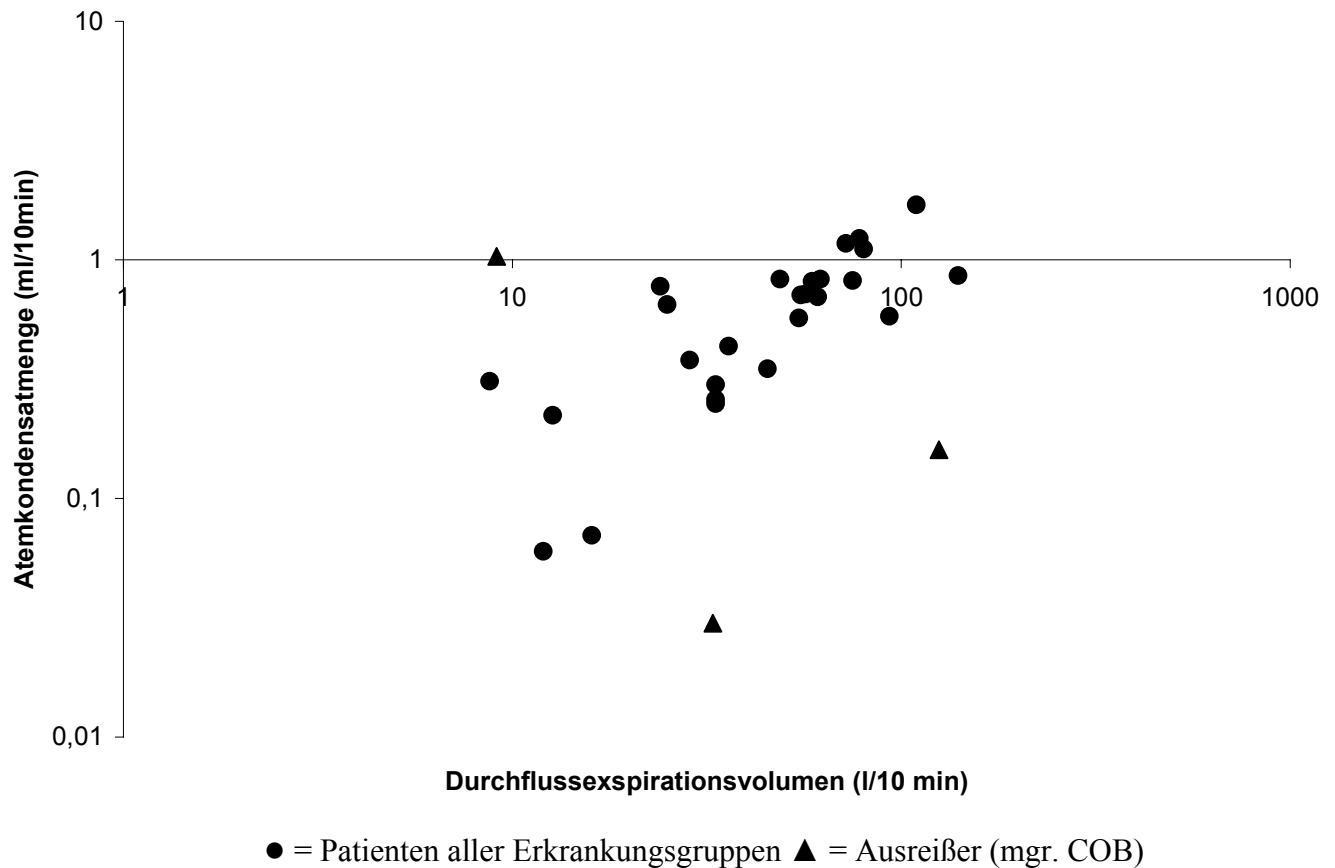


Abb. 9: Verhältnis der Durchflussexpirationsvolumina zur Atemkondensatmenge

3.2.2.6.2 Einfluss weiterer Parameter auf das Durchflussexpirationsvolumen

Die Korrelationen zwischen den Parametern der Lungenfunktion (Atemzugvolumen, Atemminutenvolumen, Atemfrequenz, Resistance, Compliance, maximale interpleurale Druckdifferenz), der Blutgasanalyse (P_aO_2 , P_aCO_2 , $A-aDO_2$), der Körpertemperatur, des Körpergewichtes und der Umgebungsbedingungen (Luftfeuchtigkeit, Raumtemperatur) zum Durchflussexpirationsvolumen wurden berechnet (s. Anhang S. -17-, Tab. VII). Es ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge.

3.2.3 ERGEBNISSE ZUR WIEDERHOLBARKEIT DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG

Die Atemkondensatgewinnung wurde, wie unter 3.1.4.5 (S. 57) beschrieben, wiederholt bei den beiden Klinikpferden durchgeführt. Die Pferde wurden sediert, um Husten während der

Gewinnung zu unterbinden und eine gleichmäßige, ruhige Atmung zu gewährleisten. Beide Pferde akzeptierten daher auch bei wiederholter Anwendung das Einführen der Sonde ohne Widerstand, es war lediglich ein Helfer notwendig, um die Pferde zu fixieren. Die 10-minütige Sammelperiode wurde von beiden Pferden immer ohne Unruhe oder sonstige Anzeichen des Unwohlseins abgewartet. Auch nach den Sammelperioden verhielten sich die Pferde unauffällig.

Die Eingangsendoskopie ergab bei beiden Pferden den Befund einer intakten Schleimhaut in Trachea und Hauptbronchien, frei von Rötungen oder Schwellungen. Die Sekretmenge und -viskosität wurden nach dem Endoskopie-Score von Dickmann (S. 48, Tab. 10) bewertet. Die Ergebnisse sind in Tab. 18 auf S. 74 unter „Endoskopie 1“ aufgeführt.

Die Abschlussendoskopie, nach insgesamt 4 Messungen im Abstand von je 3 Tagen, ergab bei beiden Pferden auf Höhe der 110 cm - Markierung des Endoskopes, welche genau mit der Position des Sondenendes übereinstimmte, eine leichte, fleckige Rötung der ventralen Trachealschleimhaut. Die Befunde der Sekretmenge und -viskosität sind unter „Endoskopie 2“ in Tab. 18 auf S. 74 aufgeführt. Bei Pferd 1 ergab sich eine Verminderung der Score-Punkte, bei Pferd 2 eine Erhöhung. Die Sekretproduktion in den Atemwegen des Pferdes variiert erfahrungsgemäß immer geringfügig, so dass die wechselnden Befunde nicht außergewöhnlich sind.

Die Mittelwerte der Atemfrequenz nach der Sedation mit bereits intratracheal placierter Sonde sind ebenfalls in Tab. 18 aufgeführt. Die Werte liegen zwischen 14 und 10 Atemzüge/min, wobei Pferd 1 den höheren Mittelwert aufweist. Der zeitliche Verlauf der Atemfrequenzen an den sedierten Pferden mit Sonde ist in Abb. 10 graphisch dargestellt. Hier wird ebenfalls deutlich, dass Pferd 1 in der überwiegenden Zahl der Messungen die höheren Atemfrequenzen hat.

Die Werte der jeweils erhaltenen Probenmengen sind normalverteilt, es werden für jedes Pferd die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen in Tab. 18 angegeben. Bei beiden Pferden wurde im Mittel dieselbe Probenmenge von 1,1 ml/10 min gesammelt (die Standardabweichung lag jeweils bei 0,4 und 0,5 ml/10 min). Die Spannbreite der Werte liegt bei Pferd 1 zwischen 0,66 – 1,65 ml/10 min und bei Pferd 2 zwischen 0,5 – 1,7 ml/10 min. In Abb. 11 sind die Probenvolumina beider Pferde über den Messzeitraum graphisch dargestellt. Es fallen hier durchaus individuell verschiedene Mengen an den 4 verschiedenen Sammeltagen auf.

Es wurde der intraindividuelle Variabilitätskoeffizient der Probenmenge für beide Tiere berechnet und gemittelt. Es ergab sich eine Variation von 40 % zwischen den Messwerten.

Die Mittelwerte der Körperinnentemperatur, die jeweils vor den Probennahmen gemessen wurde, mit zugehörigen Standardabweichungen sind ebenfalls für beide Pferde in Tab. 18 aufgeführt. Hier ergeben sich keine Auffälligkeiten. Die Messungen von Luftfeuchtigkeit und Raumtemperatur erfolgte jeweils kurz vor den Probennahmen. Die Ergebnisse der Mittelwerte beider Parameter befinden sich ebenfalls in Tab. 18. Die Raumtemperatur lag im Mittel bei 15 ± 1 °C mit einer Spannbreite zwischen 14 und 17 °C. Die Luftfeuchtigkeit lag im Mittel bei $44 \pm 5,5$ % mit einer Spannbreite zwischen 36 und 50 %.

Tab. 18: Ergebnisse der untersuchten Parameter während der vier wiederholt vorgenommenen Atemkondensatgewinnungen

Parameter	Pferd 1	Pferd 2
Atemfrequenz sediert (Atemzüge/min)	$14 \pm 2,31$	$10 \pm 2,31$
Probenmenge (ml/10 min)	$1,1 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,5$
Körpertemperatur (°C)	$37,1 \pm 0,095$	$37,4 \pm 0,2$
Luftfeuchtigkeit (%)	$44,5 \pm 6,2$	$44 \pm 5,7$
Raumtemperatur (°C)	$15,3 \pm 1,3$	$15,3 \pm 1,3$
Endoskopie 1 (1. Tag) (Score n. Dickmann)	5	0
Endoskopie 2 (13. Tag) (Score n. Dickmann)	2	2

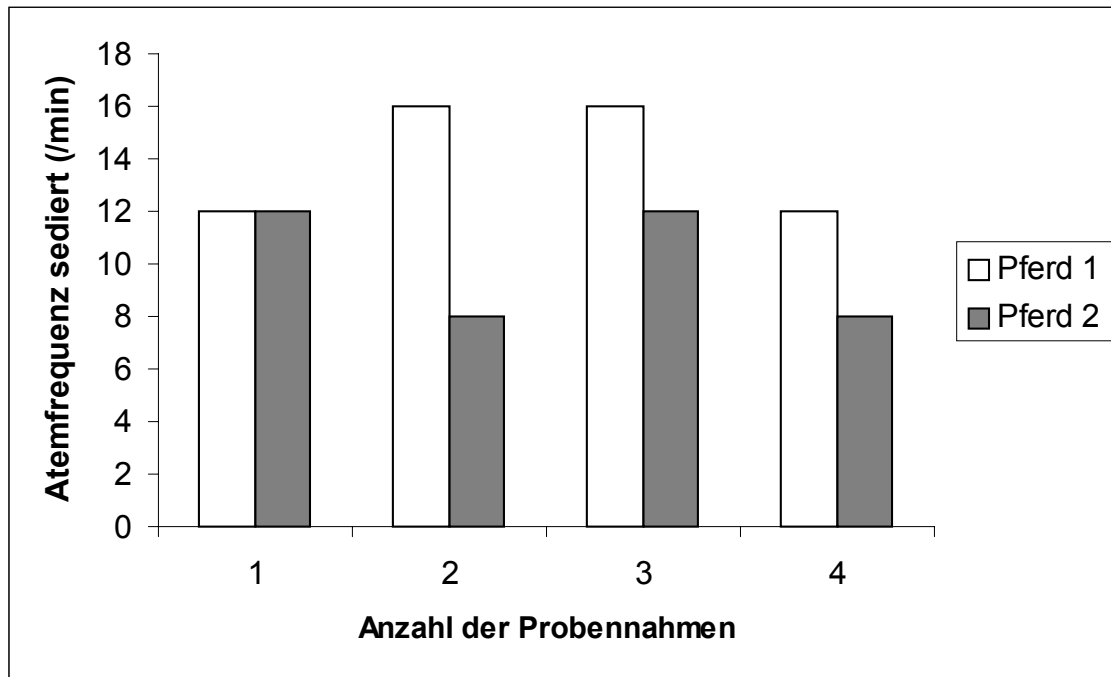


Abb. 10: Entwicklung der Atemfrequenzen der beiden sedierten Pferde mit bereits platzierter Trachealsonde im zeitlichen Verlauf direkt vor der Atemkondensatgewinnung

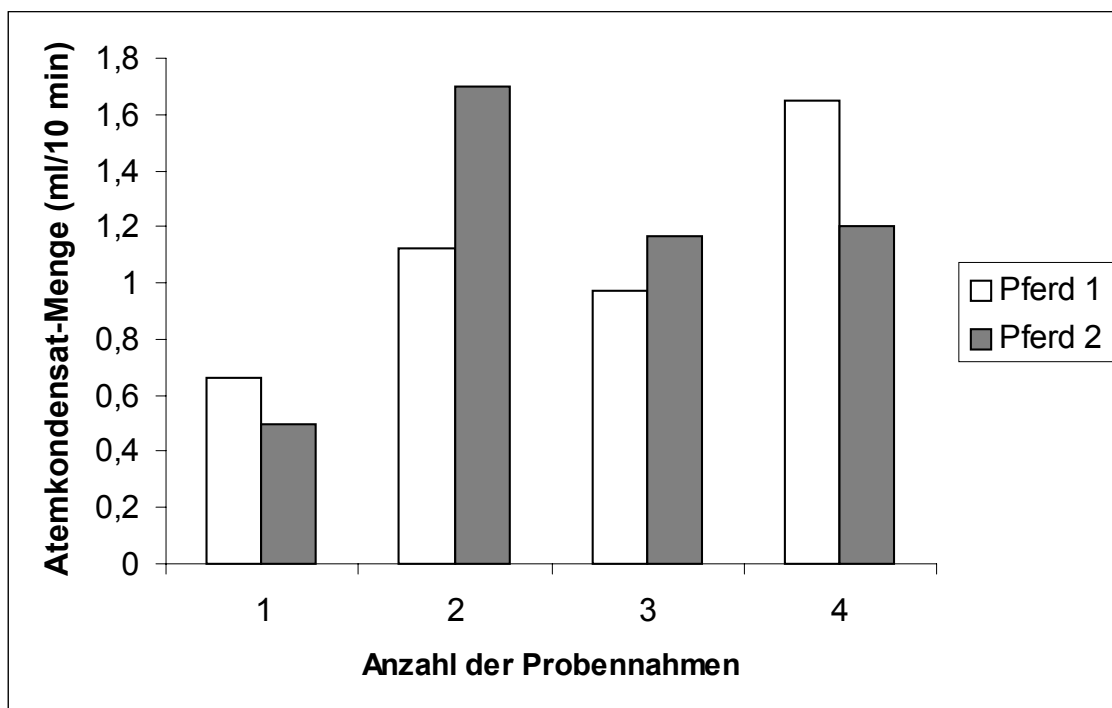


Abb. 11: Gewonnene Atemkondensatmenge der beiden Pferde während der wiederholten Atemkondensatgewinnung

4. DISKUSSION

4.1 DISKUSSION DER METHODIK

4.1.1 PATIENTENGUT UND PATIENTENEVALUATION

Bei den untersuchten Tieren handelte es sich um Pferde des Patientengutes der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik, Professur für Innere Krankheiten der Pferde der Justus-Liebig-Universität Gießen sowie zwei klinikseigene Pferde. Die Pferde des Patientengutes wurden mit der Verdachtsdiagnose chronisch obstruktive Bronchitis (COB) zwischen November 1998 und Mai 2000 stationär aufgenommen. Sie wurden anhand ihrer klinischen Symptome und weiterführender Untersuchungen in die Gruppen ohne besonderen Befund, geringgradig, mittelgradig und hochgradig an COB erkrankt eingeteilt. Dabei wurde zur Gruppeneinteilung das leicht modifizierte Score-System nach OHNESORGE et al. (1998) herangezogen, in welchem, neben klinischen Aspekten (Husten, Dyspnoe, Auskultation, Perkussion), auch die Tracheobronchoskopiebefunde (Sekretmenge/-viskosität, aber nicht mikroskopische Beurteilung) und die arterielle Blutgasanalyse berücksichtigt werden. Dieses Score-System wurde gewählt, da es auf Grund der Einbeziehung der wichtigsten klinischen und labordiagnostischen Parameter die Bewertung des Schweregrades einer chronischen Lungenerkrankung beim Pferd optimiert. ROTINSULU (1995) und SCHÜTZ (1999) nutzten zur Bewertung des Schweregrades der COB selbstentwickelte Scores, die sich im Wesentlichen mit den Bewertungskriterien im Score von OHNESORGE et al. (1998) decken. Bei allen Autoren fließen sowohl vorberichtliche Aspekte wie Husten und Leistungsabfall, als auch klinische Befunde wie Ruhedyspnoe, Auskultationsbefunde, Tracheobronchoskopiebefunde (Sekretmenge/-viskosität) und arterielle Blutgaswerte in die Bewertung ein. Die Perkussionsbefunde und die mikroskopische Beurteilung des Tracheobronchialsekretes (Anteil an Makrophagen und neutrophilen Granulozyten) werden bei ROTINSULU (1995) und SCHÜTZ (1999) nicht für die Patientenklassifizierung herangezogen. In der vorliegenden Arbeit orientierte sich die Bewertung im Wesentlichen an dem Score System von OHNESORGE et al. (1998) mit Ausnahme der mikroskopischen Beurteilung des Tracheobronchialsekretes. Diese wurde nicht in die Bewertung aufgenommen, da die restlichen, zuvor genannten Untersuchungen als ausreichend für die Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung angesehen wurden. Das Problem bei der Anwendung des Scores nach OHNESORGE et al. (1998) liegt darin, dass die Bewertung der

Ruhedyspnoe, der Auskultations-, Perkussions- sowie der Endoskopiebefunde (Sekretmenge/-viskosität, Schleimhautschwellung) in einem gewissen Grad der Subjektivität des Untersuchers unterliegt. In der hier vorliegenden Untersuchung wurde die Bewertung in allen Fällen von der Autorin durchgeführt. Da bei den genannten Untersuchungen bisher keine objektiven Messgrößen erhoben werden können, ist die Bewertung anhand von Score-Punkten bislang die einzige Möglichkeit, die Parameter in eine Beurteilung einfließen zu lassen. Aber auch bei der Bewertung nach einem Score-System ist es möglich, dass Pferde mit Atemwegserkrankungen (z. B. interstitielle Pneumonie) nicht erkannt werden, wie am Beispiel des Patienten Nr. 4 (Tab. IIIa, S. -9-, Tab. IVa, S. -12-) deutlich wird. Dieses Pferd hat offensichtlich eine Atemwegserkrankung ($P_aO_2 = 93,4$ mm Hg, $\Delta P_{p1max} = 11,56$ cm H₂O, $R = 0,0122$ cm H₂O/l/min). Da der Patient jedoch endoskopisch und klinisch ohne Befund war, wurde er in der Gesamtbewertung mit 1 Scorepunkt, der sich aus der erhöhten A-aDO₂ ergab, „zu gut“ bewertet. Dies wäre nicht so, wenn in das Scoresystem zusätzlich die Lungenfunktionsparameter einfließen würden.

Die durchgeführte objektive Lungenfunktionsprüfung erfolgte nach einem seit Jahren in der Abteilung für Innere Krankheiten der Pferde der Universität Gießen etablierten und routinemäßig durchgeführten Verfahren. Ihre Methodik wird daher hier nicht weiter diskutiert.

4.1.2 ATEMKONDENSATGEWINNUNG

Die Atemkondensatgewinnung stellt ein diagnostisches Verfahren dar um vor allem nicht-flüchtige Substanzen und Mediatoren aus den tiefen Atemwegen mittels einer nicht invasiven Methodik zu gewinnen. Dabei wird die Atemluft durch die Kühlvorrichtung eines Atemkondensatgerätes geleitet und durch Abkühlung auf -20 bis -40 °C zur Kondensation gebracht. In dem so gewonnenen Atemkondensat können beim Menschen bisher eine Vielzahl an Substanzen analysiert werden, s. Literaturübersicht (2.3.2, S. 16). Beim Tier wurde das Verfahren bisher beim Kalb und beim Schwein angewendet, wobei vor allem die Bestimmung des Entzündungsmediators LTB₄ im Atemkondensat eine große Rolle spielte, s. Literaturübersicht (2.3.4, S. 42). Nach Wissen der Autorin wurde die Atemkondensatgewinnung in der vorliegenden Studie erstmals am Pferd angewendet.

4.1.2.1 Einsatz des Atemkondensatgerätes und Anwendung am Pferd

Das hier für die Messung am Pferd verwendete Atemkondensatgerät ist ursprünglich ein für die Anwendung am Menschen konzipiertes Labormuster. Es wurde beim Menschen über ein Mundstück mit Speichelfalle betrieben und musste für die Anwendung am Pferd modifiziert werden. Das Originalgerät besitzt nur eine begrenzte Ausfrierkapazität für ein Atemzugvolumen von ca. 0,5 l. Bei extrem höheren Atemzugvolumina, wie sie bei einem Pferd von etwa 500 kg Körpergewicht mit ca. 6 l in Ruhe-Atmung zu erwarten ist, ist die vollständige Kondensation der Atemluftbestandteile nicht gewährleistet. Daher konnte die Atemkondensatgewinnung nicht wie beim Kalb, welches ähnlich hohe Atemzugvolumina wie der Mensch aufweist, über eine Atemmaske erfolgen. Die Pferde hätten gegen einen zu hohen Widerstand atmen müssen, da das gesamte In- und Expirationsvolumen den Engpass des lediglich 10 mm im Durchmesser betragenden Teflonsammelrohres passieren müsste. Eine einfache Möglichkeit, den Engpass zu umgehen und dem Pferd ein unverändertes Weiteratmen während der Atemkondensatgewinnung zu gewährleisten, bestand darin, lediglich einen Teil der Ausatemluft durch das Gerät zu leiten. Dies wurde mit einer intratracheal platzierten Kunststoffsonde, die mit einem Außendurchmesser von 15 mm wesentlich kleiner als der Trachealdurchmesser war, gelöst. Die Pferde waren mit in der Trachea liegender Sonde in der Lage, normal weiterzuatmen, auch wenn sie sich erst an den Fremdkörper in der Nase gewöhnen mussten und bei manchen Pferden anfänglich ein leichter Hustenreiz bestand. Eine Lokalanästhesie war für die Probennahme in keinem Fall erforderlich. Das Platzieren der Sonde in der Trachea war vergleichbar mit dem Schieben einer Nasenschlundsonde. Die Pferde versuchten zwar meistens, die Sonde abzuschlucken, dem konnte jedoch durch Anheben des Kopfes bis etwa die Stromlinie waagrecht zum Boden erreicht war entgegengewirkt werden. Die Platzierung der Sonde nahm im Durchschnitt nicht länger als 1 Minute in Anspruch. Mit der nachfolgenden Sammelperiode von 10 Minuten ergibt sich ein geringer Zeitaufwand für das beschriebene Verfahren.

Der Vorteil der bei Mensch und Kalb vollständig nichtinvasiv betriebenen Atemkondensatgewinnung ist mit dem Einsatz der Trachealsonde nicht mehr gegeben. Da jedoch nur 10,3% der Pferde für die Probennahme sediert werden mussten, was bei diesen Pferden auch zur Durchführung einer Endoskopie unumgänglich war, und da keine Flüssigkeit in die Atemwege instilliert wird, ist das Verfahren schonender als beispielsweise die bronchoalveoläre Lavage (BECHER 1997a, 1997b). Außerdem hat die Methode den Vorteil, dass das gewonnene Kondensat sicher aus den tiefen Atemwegen stammt. Dies ist für

die Diagnostik außerordentlich wertvoll, da bei der Gewinnung über eine Maske (Kalb, Schwein) keine Differenzierung zwischen Mediatoren aus den oberen und Mediatoren aus den tiefen Atemwegen erfolgen kann. Beispielsweise Stickstoffmonoxid, welches beim Mensch im Atemkondensat gemessen wurde, stammte nachweislich vor allem aus den oberen Atemwegen (LUNDBERG et al. 1996; DILLON et al. 1996).

Die Atemkondensatgewinnung mittels Atemmaske beim Pferd hätte man durch Abzweigen eines Teiles der Ausatemluft aus der Atemmaske lösen können. Die einzige Möglichkeit, einen Teil des Atemstromes durch das Gerät zu leiten besteht darin, eine atemsynchrone Pumpe, die jeweils ein definiertes kleines Volumen (z. B. 0,5 l) absaugt, an die Atemmaske anzuschließen. Dieser Möglichkeit wurde auf Grund des damit verbundenen technischen Aufwandes und des Lärmes, der durch die Pumpe verursacht wird und die Pferde eventuell in ihrem normalen Atemrhythmus einschränken würde, nicht nachgegangen.

Mögliche Fehlerquellen bei der Atemkondensatgewinnung nach der hier angewandten Methode liegen

a) bei der Trachealsonde, die immer in sich leicht gebogen war und deren Ende sich möglicherweise in der Trachea ventral so an die Schleimhaut legen konnte, dass sich der Strömungsverlauf der Expirationsluft auch bei normalen Atemstromstärken stark ändern konnte. Somit ist möglicherweise nicht immer soviel Luft durch die Sonde gelangt, wie bei einer direkt in den Expirationsluftstrom ragenden Sondenöffnung. Im Mittel gingen $3,6 \% \pm 2 \%$ der Ausatemluft durch die Trachealsonde. Der relativ große Streufaktor könnte durch die unterschiedliche Biegung der Trachealsonde in der Trachea erklärt werden. Dies wurde versucht zu verhindern, indem während der Probennahme auf eine gestreckte Kopf-Hals-Haltung geachtet wurde, da ein starkes Abwinkeln des Halses die Verbiegung der Sonde nicht nur im Rachenraum, sondern auch an dem in der Trachea befindlichen Ende, fördern könnte. Dieser Nachteil ließe sich zwar durch die Anwendung einer stabileren Sonde beheben, was allerdings die Verletzungsgefahr der Schleimhäute im Nasen-Rachenraum und der Trachea erheblich steigern würde.

b) Das Atemminutenvolumen wurde nicht gleichzeitig mit der Atemkondensatgewinnung aufgezeichnet, da die Werte bei der Lungenfunktionsprüfung, die direkt vorher durchgeführt wurde, gemessen wurden.

c) Es besteht die Möglichkeit, dass bei Pferden mit viel Sekret in der Trachea das Lumen der Sonde derartig verlegt wird, dass wesentlich weniger Ausatemluft die Sonde passieren kann und damit die Kühlvorrichtung erreicht. Tatsächlich wurden bei einigen Pferden Sekretreste in der Sonde beobachtet. Das wäre eine weitere Möglichkeit, weshalb es zu dem relativ

großen Streufaktor im prozentualen Anteil der die Sonde passierenden Atemluft kommt. Dies ist ebenfalls ein nicht zu vermeidender Nachteil der Sondenanwendung, da ein größeres Kaliber der Sonde, durch welches die Lumenverlegung durch Schleim nicht so ins Gewicht fallen würde, ebenfalls beim Schieben und Plazieren der Sonde Probleme bereiten würde, oder sogar ein Schieben durch den ventralen Nasengang unmöglich machen würde. Die Verunreinigung der Proben durch Sputum wurde durch Anheben der Sammelvorrichtung, so dass kein Sekret in das Sammelröhrchen laufen konnte, und durch kurzes Abkoppeln der Trachealsonde vom Probensammelrohr bei Hustenstößen verhindert. Außerdem sollte versucht werden, durch vorheriges Abmessen die Sonde in den mittleren Halsbereich der Trachea zu plazieren, um ein Eintauchen in einen möglicherweise vorhandenen Sekretsee kurz vor der Bifurcatio zu vermeiden.

d) Es ist nicht nachgewiesen worden, ob und wieviel Expirationsluft schon vor Erreichen der Sammeleinrichtung in der Sonde kondensiert. Falls dies der Fall wäre, hätte man bei allen Pferden denselben Kondensationsverlust, was immerhin die Proben untereinander vergleichbar machen würde. Ein Vergleich mit Proben, die mittels Atemmaske gewonnen wurden, erscheint dann allerdings nicht sinnvoll. Fazit ist, dass vor allem das außerhalb des Pferdes befindliche Stück der Sonde möglichst kurz sein sollte, da die in der Luft enthaltenen Substanzen durch den Temperaturgradienten zwischen Körpertemperatur und Raumtemperatur schon kondensieren könnten. Um diesen Effekt auszuschalten, besteht die Möglichkeit, das Sondenende durch eine Heizvorrichtung auf Körpertemperatur zu bringen. Ob und wie sich die Anwendung einer Kunststoffsonde zur Atemkondensatgewinnung auf die Analytik auswirkt ist noch nicht bekannt. Dies müsste in einer weiteren Studie durch einen Vergleich der Atemkondensate, die per Sonde gewonnen wurden, mit jenen, die über eine Atemmaske gewonnen wurden, geklärt werden. Hier bleibt allerdings die Ausschaltung einer Kontamination der Atemluft mit Substanzen, die aus den oberen Atemwegen stammen, ein Problem.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass in der Regel beim Pferd die Atemkondensatgewinnung problemlos möglich ist.

4.1.2.2 Bestimmung der Atemkondensatmenge

31 Atemkondensatproben wurden auf Trockeneis an die FILT verschickt, wo sie für die Mengenbestimmung aufgetaut wurden. 37 Proben wurden durch die Autorin selbst aufgetaut. Die Mengenbestimmung erfolgte in beiden Fällen mittels Auswiegen auf Laborwaagen mit identischer Genauigkeit des Wägebereiches. Deshalb ist mit keiner Beeinflussung der Ergebnisse durch die unterschiedlichen Untersuchungsstätten zu rechnen.

4.1.2.3 Bestimmung des Durchflussexpirationsvolumens

Bei 30 Pferden wurde das Durchflussexpirationsvolumen durch Einbau eines Staudruckrohres (Nr. 1) nach FLEISCH vor das Nischrückatmungsventil am lungenfernen Ende des Sammelrohres bestimmt. Das Gerät wurde vor jeder Messung nach Herstellerangabe neu kalibriert und zeichnete kontinuierlich die Summe der Expirationsvolumina im gewählten Zeitraum von 10 Minuten auf. Das Gerät arbeitete ebenso genau und verlässlich wie das zur Lungenfunktionsprüfung benutzte.

4.1.2.4 Wiederholbarkeit der Anwendung

Da im Rahmen eines neuen Diagnoseverfahrens auch die wiederholte Anwendung der Methode über einen längeren Zeitraum untersucht werden muss, wurden wiederholte Messungen an zwei Klinikspferden durchgeführt. Es wurden 4 Messungen durchgeführt. Der Abstand von 3 Tagen zwischen den jeweiligen Messungen wurde gewählt, um übermäßige mögliche mechanische Schädigungen durch die Sonde auszuschließen und um einen längeren Zeitraum mit den Messungen abzudecken, was für die intraindividuellen Vergleiche von Bedeutung ist. Dabei war von besonderem Interesse, ob eventuelle Beeinträchtigungen der Pferde durch die Trachealsonde stattfinden und ob Reizungen, die möglicherweise auch im Nasen-Rachenraum zu erwarten wären, auftreten. Zur genauen Dokumentation wurde eine Videoaufzeichnung der Tracheobronchoskopie beider Pferde vor der ersten und nach der letzten Atemkondensatgewinnung angefertigt.

4.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

4.2.1 AKZEPTANZ

Die Tatsache, dass von insgesamt 72 untersuchten Pferden bei 68 Pferden Atemkondensat gewonnen werden konnte, was 94 % erfolgreich durchgeführte Probennahmen ausmacht, spricht für die hohe Akzeptanz dieser Methode. Die 4 Pferde, bei denen die Atemkondensatgewinnung nicht durchführbar war, widersetzten sich nicht der Methode an sich. Ein Pferd blutete stark aus der Nase, da durch Anstoßen der Sonde gegen die Concha medialis eine Blutung ausgelöst wurde. Die Blutung kam ohne weitere therapeutische Maßnahmen nach einigen Minuten zum Stillstand. Von diesem Pferd wurde jedoch zur Schonung kein Atemkondensat mehr gewonnen, auch wenn dies nach Sistieren der Blutung sicherlich möglich gewesen wäre. Ähnliche Probleme können auch beim Einführen der Nasenschlundsonde zur Magensondierung entstehen und sind je nach anatomischen Gegebenheiten manchmal nicht zu vermeiden. Bei den 3 weiteren Tieren, bei denen die Atemkondensatgewinnung nicht durchgeführt werden konnte, handelte es sich um Ponys. Bei keinem dieser 3 Ponys ließ sich die Sonde in die Trachea einführen. Bei endoskopischer Kontrolle stellte sich heraus, dass der Nasen-Rachenraum so kurz war, dass auch die manuell vorgebogene Sonde dorsal gegen das Rachendach in der Gegend des Recessus pharyngeus stieß. Sicherlich wäre bei diesen Ponys die Verwendung einer flexibleren Sonde mit kleinerem Durchmesser erfolgreich gewesen. Es waren bei den Tieren äußerlich keine Auffälligkeiten zu entdecken, die eventuell von vornherein einen Hinweis auf die Schwierigkeiten beim Sonde Schieben gegeben hätten. Bei 12 anderen Ponys gelang das Einführen der Sonde ohne Probleme. Das ist die Mehrzahl der untersuchten Ponys, wengleich man mit Problemen gerade bei Tieren mit kurzem Nasen-Rachenraum zu rechnen hat. Von den insgesamt 68 erfolgreich durchgeführten Atemkondensatentnahmen, erfolgten 7 unter Sedation, was 10,3 % ausmacht. Die Pferde mussten entweder wegen starker Unruhe oder wegen übermäßigem Hustenreiz durch den mechanischen Reiz der Sonde auf der Trachealschleimhaut, zur Vermeidung panikartiger Atemnot, sediert werden. Bei den sedierten Pferden gelang dann die Atemkondensatgewinnung ohne Probleme. Insgesamt kann man also von einer sehr guten Akzeptanz der Atemkondensatgewinnung mittels Trachealsonde ausgehen. Als nicht-invasives Verfahren wäre einer Atemkondensatgewinnung mittels Atemmaske der Vorzug zu geben, da hierbei keinerlei Manipulationen im Nasen-Rachenbereich vorzunehmen wären. Andererseits wird auch das Aufsetzen einer

abgedichteten Atemmaske, wie wir es von der Inhalationstherapie und von Lungenfunktionsmessungen kennen, nicht von allen Pferden ohne Sedation toleriert. Bei der Verwendung einer Maske könnte der Einfluss der oberen Atemwege so groß werden, dass eventuelle Veränderungen in den kleineren Atemwegen die Zusammensetzung des Atemkondensates kaum ändern.

4.2.2 ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN ATEMKONDENSATMENGE, ATEMSTROMSTÄRKE UND DURCHFLUSSEXSPIRATIONSVOLUMEN

Die Atemkondensatmenge wies in der vorliegenden Untersuchung eine recht hohe Spannbreite der Werte auf (0,03 – 2,3 ml/10 min). REINHOLD et al. (1999c) hatten bei einer Sammelzeit von 30 Minuten über eine Atemmaske bei Kälbern ebenfalls eine recht hohe Spannbreite der Werte von 0,1 – 9,1 ml/30 min. Um diesem Phänomen auf den Grund zu gehen, wurden bei einem Teil der Pferde die Volumina der die Sammelvorrichtung passierenden Luft (Durchflussexpirationsvolumina) aufgezeichnet. In der Humanmedizin (GESSNER et al. 1999; DAULETBAEV et al. 2000), aber auch in der Veterinärmedizin (REINHOLD et al. 1999a, 1999b, 1999c) wurden eindeutige Zusammenhänge zwischen der Atemkondensatmenge und dem pro Zeiteinheit ventilierten Volumen nachgewiesen. GESSNER et al. (1999) fanden beim Menschen einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Expirationsvolumen (V_E) und der Atemkondensatmenge. REINHOLD et al. (1999a, 1999b, 1999c) wiesen beim Kalb einen Zusammenhang zum Atemminutenvolumen und zum Atemzugvolumen sowie zur Körpermasse nach. Da verwundert es nicht, dass in den Untersuchungen von REINHOLD et al. (1999b) bei älteren Tieren mehr Atemkondensat gewonnen wurde als bei jüngeren.

Die Korrelation der Atemkondensatmenge zur Körpermasse konnte in den hier vorliegenden Untersuchungen beim Pferd nicht bestätigt werden. Die Pferde wogen zwischen 233 und 730 kg und es wäre eine Auswirkung der entsprechend variablen Lungenkapazität auf die Atemkondensatmenge zu erwarten gewesen.

GESSNER et al. (2000) fanden beim Menschen ebenfalls keine Korrelation der Atemkondensatmenge zum Körpergewicht.

Es ergab sich beim Pferd keine Korrelation der Atemkondensatmenge zum Atemminutenvolumen oder zum Atemzugvolumen. Diese fehlenden Korrelationen mit der Atemkondensatmenge sind möglicherweise der Verwendung der Trachealsonde zur Atemkondensatgewinnung zuzuschreiben. Anders als bei der Verwendung von Atemmasken

(Kalb, Schwein) oder Mundstücken (Mensch) wird mit der Trachealsonde nicht das gesamte Expirationsvolumen ausgefroren. Bei den vorliegenden Untersuchungen sollte deshalb die Beziehung zum Durchflussexpirationsvolumen ausschlaggebend sein, da dies dem Anteil der Luft entspricht, welcher direkt Kontakt zur Kühlvorrichtung hatte. Das Durchflussexpirationsvolumen wies in der Studie am Pferd eine signifikante Korrelation ($p = 0,007$) von $r = 0,49$ zur Atemkondensatmenge auf. Dabei waren weder das Durchflussexpirationsvolumen noch die Atemkondensatmenge vom Erkrankungsgrad abhängig. Auffällig war, dass bei der Aufspaltung in Erkrankungsgruppen die hochgradig erkrankten Pferde ($n = 6$) die beste Korrelation zwischen Durchflussexpirationsvolumen und Atemkondensatmenge aufwiesen ($r = 0,92$), gefolgt von den geringgradig erkrankten ($n = 13$) mit $r = 0,64$. Die mittelgradig erkrankten Pferde ($n = 8$) wiesen dagegen keine signifikante Korrelation der beiden Parameter zueinander auf ($r = -0,19$). Dies könnte damit erklärt werden, dass sich in der Gruppe der mittelgradig erkrankten Pferde drei Ausreißer befanden, die in Abb. 9 auf S. 72 besonders hervorgehoben werden. Bei den „Ausreißern“ handelte es sich zum Einen um 2 Pferde, die trotz Durchflussexpirationsvolumina von 32,8 bzw. 125 l/10 min extrem wenig Atemkondensat produzierten (0,03 bzw. 0,16 ml/10 min). Bei diesen Pferden wäre eventuell durch eine Änderung der Sondenplatzierung eine höhere Probenmenge zu gewinnen gewesen. Zum Anderen handelte es sich um ein Pferd, welches bei niedrigem Durchflussexpirationsvolumen (9,11 l/10 min) eine hohe Produktion an Atemkondensat (1,03 ml/10 min) aufwies. Da stets streng darauf geachtet wurde, dass die Proben nicht durch Trachealsekret verunreinigt wurden, kann dieses Ergebnis nur durch Kondensationsvorgänge in der Trachealsonde auf Grund der Abkühlung der Atemluft auf Raumtemperatur erklärt werden.

Beim Menschen wurde keine Korrelation der Atemkondensatmenge zu weiteren Parametern der Lungenfunktion (TLC, RV, VC) nachgewiesen (GESSNER et al. 1999, 2000). Beim Kalb wurde hierüber nach Kenntnis der Autorin bislang keine Untersuchung veröffentlicht. Beim Pferd ergaben sich zwischen der Atemkondensatmenge und den in dieser Arbeit gemessenen Parametern der Lungenfunktion (Atemzugvolumen, Atemminutenvolumen, Resistance, Compliance, maximale interpleurale Druckdifferenz) ebenfalls keine signifikanten Zusammenhänge. Es bestand jedoch ein signifikanter Zusammenhang zwischen Atemkondensatmenge und Atemstromstärke ($p \leq 0,01$), wobei aber der Korrelationskoeffizient mit $r = 0,37$ recht niedrig und damit nicht sehr aussagekräftig ist. Die Korrelation zur Atemstromstärke könnte mit der Verwendung der Sonde im Zusammenhang stehen, da bei höheren Atemstromstärken besser der zusätzliche Totraum, der durch die Sonde

entsteht, belüftet wird und somit mehr Luft im Sammelrohr ankommt. Dies deckt sich mit den Überlegungen von SCHEIDELER et al. (1993), die vermuteten, dass die Menge des gebildeten Aerosols vor allem von der Luftgeschwindigkeit abhängt.

Eine schwach signifikante Korrelation besteht zwischen Atemkondensatmenge und Atemfrequenz ($p \leq 0,05$), ebenfalls mit einem nicht sehr aussagekräftigen Korrelationskoeffizienten ($r = 0,38$). REINHOLD et al. (1999b) fanden in einer Studie an 43 Kälbern eine signifikante Korrelation der Atemkondensatmenge zur Atemfrequenz ($r = 0,41$), was sich jedoch bei der Fortsetzung der Untersuchung mit mehr Tieren ($n = 49$) nicht bestätigte (REINHOLD et al. 1999c).

Der Einfluss der Körpertemperatur auf die gebildete Kondensatmenge wurde von REINHOLD et al. (1999a, 1999b, 1999c) in mehreren Untersuchungen überprüft. Hierbei ergab sich in der ersten Untersuchung ein signifikanter Zusammenhang der gebildeten Atemkondensatmenge zur Körpertemperatur (REINHOLD 1999a). In darauffolgenden Studien konnte sich dieser Zusammenhang jedoch nicht bestätigen (REINHOLD 1999b, 1999c). Ein Einfluss der Körpertemperatur und somit des Temperaturgradienten zwischen der Expirationsluft und der Kühltemperatur des Sammelsystems auf die gebildete Atemkondensatmenge ist somit nicht ausgeschlossen.

Bei den Untersuchungen bezüglich eines Zusammenhanges zwischen gebildeter Atemkondensatmenge und Körpertemperatur, konnte beim Pferd keine Korrelation der Parameter zueinander festgestellt werden.

Zusammenfassend entsprechen die vorliegenden Ergebnisse beim Pferd weitestgehend denen beim Menschen und beim Kalb.

4.2.3 WIEDERHOLBARKEIT DER ANWENDUNG

Die Wiederholbarkeit der Anwendung der Atemkondensatgewinnung wurde an zwei klinisch unauffälligen, klinikeigenen Pferden geprüft. Vor der wiederholten Gewinnung von Atemkondensat wurde endoskopisch abgesichert, dass der Nasen-Rachenraum und die Trachea keine besonderen Befunde aufwiesen. Dies wurde mittels einer Videoaufzeichnung dokumentiert. Um zusätzliche Reizungen durch das Endoskop zu vermeiden, wurde lediglich sofort nach der letzten der 4 Atemkondensatgewinnungen, die im Abstand von je 3 Tagen durchgeführt wurden, eine Kontrollendoskopie, ebenfalls durch Videoaufzeichnung dokumentiert, durchgeführt. Dabei ergab sich bei beiden Pferden eine geringgradige ventrale Schleimhautrötung in der Trachea, die höchstwahrscheinlich vom Sondenende stammte.

Diese Vermutung wurde durch die genaue Abmessung der Position der Rötung, welche bei beiden Pferden exakt mit der Länge des im Pferd befindlichen Teils der Sonde übereinstimmte, erhärtet. Da sonst keine Rötungen oder gar Entzündungen zu beobachten waren und mit einer schnellen Abheilung der geröteten Stellen zu rechnen war, kann die Methode, die Atemkondensatgewinnung mittels Sonde wiederholt durchzuführen, als gering invasiv und ohne besondere Beeinträchtigungen für die Pferde bewertet werden.

Die bei der Untersuchung gewonnene Atemkondensatmenge wurde auf ihre intraindividuelle Variabilität untersucht. Die intraindividuelle Variabilität der Atemkondensatmenge lag mit durchschnittlich 40 % Variation zwischen den Messungen relativ hoch, besonders im Vergleich zu den Messungen beim Kalb mit 12 %. Bei den Kälbern wurden jedoch lediglich 2 Messungen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, was eine mögliche Erklärung für die differierenden Werte ist (REINHOLD et al. 1999b). Ansonsten könnte die unterschiedliche Methodik für die differierenden Ergebnisse verantwortlich sein.

4.2.4 VORSCHLÄGE ZUR OPTIMIERUNG DER ATEMKONDENSATGEWINNUNG BEIM PFERD

Grundsätzlich eröffnet die im Rahmen dieser Studie erarbeitete Methode zur Gewinnung von Atemkondensat beim Pferd die Möglichkeit eines minimal invasiven diagnostischen Verfahrens, mit dessen Hilfe aus der Lunge und aus den tiefen Atemwegen stammende nichtgasförmige Substanzen in Zukunft qualitativ und quantitativ untersucht werden könnten. Im Hinblick auf die spätere Analytik der Proben hat die Trachealsonde den entscheidenden Vorteil, dass keine Kontamination der ausgefrorenen Luft durch die oberen Atemwege erfolgen kann und die gemessenen Parameter sicher ausschließlich aus den tiefen Atemwegen/Alveolen stammen. Bei Verwendung der Trachealsonde ist darauf zu achten, dass das aus der Nüster des Pferdes herausragende Ende der Sonde nicht unnötig lang ist und dass der Sondenverlauf während der Probennahme möglichst gerade ist.

Um den Einfluss methodisch bedingter Variabilitätsfaktoren auf die Gewinnung von Atemkondensat möglichst gering zu halten, sollten die Umgebungsbedingungen (Raumtemperatur, Luftfeuchtigkeit) und die Ausfrieretemperatur des Sammelsystems weitgehend standardisiert sein.

Unter den individuellen Einflussfaktoren haben das Durchflussexpirationsvolumen und die Atemstromstärke den größten Einfluss auf die pro Zeiteinheit zu gewinnende Probenmenge

an Atemkondensat. Deshalb sollte routinemäßig ein Pneumotachograph bei der Atemkondensatgewinnung angeschlossen werden.

Es besteht die Möglichkeit, ein Gerät mit einer größeren Ausfrierkapazität zu entwickeln, um die Atemkondensatgewinnung mittels Atemmaske zu ermöglichen. Dies hätte den Vorteil der geringeren Invasivität und der Vermeidung der Fehler, die durch Anwendung der Sonde möglich sind (Kondensationen, Sekretansammlungen, unüberprüfbarer Verlauf der Sonde in der Trachea des Pferdes). Der entscheidende Nachteil dieser Methode ist jedoch die Gewinnung „gemischter“ expiratorischer Luft.

4.3 SCHLUSSFOLGERUNGEN

- Mit der hier beschriebenen Methode ist eine Atemkondensatgewinnung beim Pferd möglich.
- Diese Methode der Atemkondensatgewinnung ist wiederholbar.
- Eine Standardisierung bezugnehmend auf das Durchflussexpirationsvolumen scheint sinnvoll.
- Zur Beurteilung des diagnostischen Wertes des Verfahrens und zum Vergleich mit einer eventuellen „Maskenmethode“ bedarf es noch weiterer Studien.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Entwicklung einer Methodik, mit der beim Pferd Ausatemluft kondensiert werden kann. Um bei Pferden, die obligate Nasenatmer sind, Atemkondensat ohne Kontamination durch die oberen Atemwege gewinnen zu können, wurde eine Kunststoffsonde über den ventralen Nasengang und den Larynx in die Trachea geschoben. Auf Grund des Innendurchmessers von 11 mm wurde somit ein Bruchteil der Atemluft (Ruhe-Atemminutenvolumen beim Pferd ca. 800 l/10 min, Durchflussexpirationsvolumen ca. 40 l/10 min) durch die Trachealsonde geleitet. An diese angekoppelt wurde ein Teflonsammelrohr, dass in einer doppelwandigen Kühlvorrichtung¹ steckte. Ein Nichtrückatmungsventil am lungenfernen Ende des Sammelrohres bewirkte, dass nur Expirationsluft durch das Teflonsammelrohr gelangen konnte. Bei 30 Pferden wurde zusätzlich vor das Ventil ein Staudruckrohr² (FLEISCH Nr. 1) geschaltet, so dass mittels eines Pneumotachographen³ das Volumen der expirierten Luft, die das Sammelrohr passierte (das sogenannte Durchflussexpirationsvolumen) aufgezeichnet werden konnte. Ausatemluft wurde über jeweils 10 min. gewonnen, wobei in der Kühlvorrichtung -20 °C herrschten. Bei 68 von 72 Pferden konnte die Atemkondensatgewinnung so durchgeführt werden. Bei 4 Pferden gelang die Atemkondensatgewinnung nicht. Davon hatten 3 Ponys einen zu kurzen Nasen-Rachenraum, was ein Verschieben der vorgebogenen Sonde in die Trachea unmöglich machte. Bei einem Pferd wurde der Versuch Atemkondensat zu gewinnen abgebrochen, da die Sonde Nasenbluten auslöste. Bei 89,7 % der Pferde konnte die Sonde ohne Sedation vorgeschoben werden. Die wiederholte Anwendung der Methode (4 mal im Abstand von je 3 Tagen) ergab lediglich geringgradige Rötungen der Trachealschleimhaut, so dass keine Beeinträchtigungen bei einer wiederholten Probennahme zu erwarten sind.

Die gewonnene Atemkondensatmenge wurde nach Auftauen und Überführen in Probengefäße durch Wiegen bestimmt. Die Probenmenge wurde hauptsächlich von der Atemstromstärke und vom Durchflussexpirationsvolumen beeinflusst. Fazit ist, dass die Gewinnung von Atemkondensat beim Pferd mittels einer Trachealsonde routinemäßig erfolgen kann. Die Sonde reduziert zum einen das Ausatemvolumen, so dass Atemluft mittels eines für das Atemvolumen des Menschen konzipierten Gerätes ausgefroren werden kann und vermeidet zum anderen eine Kontamination der Ausatemluft durch die oberen Atemwege.

¹ Labormuster der Forschungsgesellschaft für Lungen- und Thoraxerkrankungen, 13125 Berlin, Deutschland

² Firma Fleisch, 1,8 cm Durchmesser, Gould Godart, Niederlande

³ Gould Medical BV, Bilthoven, Niederlande

6. SUMMARY

The aim of the study was to develop a method to collect breath condensate in horses. To collect breath condensate without contamination from the upper airways in horses, which are obligate nose-breathers, a plastic tube was placed in the trachea by passing it through the ventral nasal ductus and larynx. Because of its internal diameter of 11 mm, only a small part of the exhaled air passed the tracheal tube (ventilation of a calm horse ca. 800 l/10 min, volume passing the tube ca. 40 l/10 min). The end of the tube was fixed on a teflon collecting tube, which was placed in a double sided cooling device¹. A non-rebreathing valve on the end of the collecting tube guaranteed, that only expired air reached the collecting tube. In 30 horses, a pneumotachographic head² (FLEISCH Nr.1) was placed in between the teflon tube and the non-rebreathing valve to register with a pneumotachograph³ the expiratory volume, which really passed the tube. The expiratory air was collected for 10 minutes. The temperature of the cooling device was -20 °C. The collection of breath condensate was performed successfully in 68 of 72 horses. In 4 horses it was not possible to collect condensate. 1 horse got epistaxis due to inadvertent placement of the tube in the middle nasal meatus. In 3 ponies the nasopharynx was too short, resulting in stopping of the tube in the recessus pharyngeus. In 89,7 % of the horses it was possible to place the tube in the trachea without sedation.

After recurrent application of this method (4 times in 3 days), only a mild redness of the tracheal mucosa was seen. It was concluded that recurrent sampling of breath condensate is possible with just minor mucosal irritations.

The volume of the collected condensate was determined after thawing, weighing and passing it into sampling tubes. The breath condensate volume was mainly influenced by the respiratory flow and the expiratory volume passing the tube. The results of the study show, that the sampling of breath condensate by a tracheal tube is possible routinely in horses. The tube on the one hand reduces the expiratory volume, so that it becomes possible to collect breath condensate with a device which was constructed to freeze the smaller human expiratory volume. On the other hand by using a tracheal tube, a contamination of the exhaled air from the upper airways is avoided.

¹ prototype of Forschungsgesellschaft für Lungen- und Thoraxerkrankungen, 13125 Berlin, Germany

² Fa. Fleisch, 1,8 cm diameter, Gould Godart, Netherlands

³ Gould Medical BV, Bilthoven, Netherlands

7. LITERATURVERZEICHNIS

- Alving, K., Weitzberg, E., Lundberg, J.M. (1993)
Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics
Eur.Resp.J. 6, 1368-1370
- Alving, K., Peterson, C.G.B., Lundberg, J.O.N., Nordvall, S.L. (1996)
Measurement of exhaled nitric oxide and urine eosinophil protein X in asthmatic children treated with inhalation steroids
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 242s
- Anstie, F.E. (1874)
Final experiments on the elimination of alcohol from the body
Practitioner 13, 15-28
- Antczak, A., Nowak, D., Krol, M., Pietras, T., Shariati, B., Bialasiewicz, P. (1996)
Content of H₂O₂ and TBA-reactive products in expired breath condensate of asthmatic patients
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 447s
- Antczak, A., Nowak, D., Shariati, B., Krol, M., Piasecka, G., Kurmanowska, Z. (1997)
Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired breathe condensate of asthmatic patients
Eur.Resp.J. 10, 1235-1241
- Antczak, A., Krol, M., Nowak, D. (1999)
Novel method for hydrogen peroxide determination in expired air condensate
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 73s
- Baldwin, S., Grum, C.M., Boxer, L.A., Simon, R.H., Ketai, L.H., Devall, L.J. (1986)
Oxidant activity in expired breath of patients with adult respiratory distress syndrome
Lancet 1, 11-14
- Balint, B., Donnelly, L.E., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2000a)
The effect of smoking on nitrogen oxides of exhaled breath condensate
ALA/ATS, International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Balint, B., Donnelly, L.E., Hanazawa, T., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2000b)
Nitric oxide metabolites in exhaled breath condensate and exhaled monoxides in cystic fibrosis patients
ALA/ATS International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Barnes, P.J. and Belvisi, M.G. (1993)
Nitric oxide and lung disease
Thorax 48, 1034-1043
- Becher, G., Winsel, K., Neubauer, G., Stresemann, E. (1995a)
Patentschrift: Verfahren und Vorrichtung zum Sammeln von ausgeatmetem Atemkondensat: (19505504.7)

- Becher, G., Winsel, K., Beck, E., Stresemann, E. (1995b)
Leukotriene B₄ in breathing condensate of patients with bronchopulmonary diseases and of normal patients
Applied Cardiopulmonary Pathophysiology 5, 215-219
- Becher, G., Beck, E., Winsel, K. (1995c)
Leukotriene C₄, D₄, E₄, F₄ in the breathing condensate of asthmatics in relation to bronchial challenge test
J.Resp.crit.care.Med. 151:4, A679
- Becher, G., Schütte, W., Beck, E., Neubauer, G., Öhlmann, K., Rothe, M., Stresemann, E. (1996a)
Die Erfassung von Entzündungsmediatoren aus dem Atemkondensat bei inhalativen Provokationstesten, eine nichtinvasive Methode
APPA, 6.Jahrestagung, 8.-11.10.96, Schneeberg/Aue
- Becher, G., Schütte, W., Öhlmann, K., Rothe, M., Beck, E., Neubauer, G., Stresemann, E. (1996b)
Leukotrienes in breathing condensate released during bronchial challenge test with allergen
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 417s
- Becher, G., Stresemann, E., Schütte, W., Rothe, M., Beck, E., Neubauer, G., Lichey, J., Hillebrandt, T. (1996c)
The breathing condensate is a non invasive diagnostic tool for airway diseases by measuring non-volatile substances
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 74s
- Becher, G., Beck, E., Rothe, M., Neubauer, G., Stresemann, E. (1997a)
Sammlung von nichtgasförmigen Bestandteilen der Ausatemluft durch Ausfrieren
Medizintechnik 117, 89-95
- Becher, G., Winsel, K., Beck, E., Neubauer, G., Stresemann, E. (1997b)
Das Atemkondensat als Methode zur nichtinvasiven Erfassung von Entzündungsmediatoren aus den unteren Atemwegen
Pneumologie 51, 456-459
- Becher, G., Schütte, W., Beck, E., Stresemann, E., Neubauer, G., Hummel, St., Lichey, J. (1997c)
Eosinophilic proteins ECP and EPX in breathing condensate during bronchial challenge test in allergic asthmatics
ALA/ATS, International Conference, 16.-21.5.1997, San Francisco
- Becher, G., Rothe, M., Stresemann, E., Beck, E., Falck, K. (1998a)
Bestimmung von Entzündungsparametern im Atemkondensat zur Früherkennung von Inhalationsschäden
Schriftenreihe d.Bundesanst.f.Arbeitsschutz u.Arbeitsmed.Wirtschaftsverl.
- Becher, G., Schliemann, S., Beck, E., Rothe, M., Falck, K., Stresemann, E. (1998b)
Detection of LTB₄ a mediator of non-specific inflammation in breathing condensate of healthy volunteers during occupational irritative exposition
The european respiratory journal 12, Suppl.28, 337s

- Becher, G., Rothe, M., Beck, E., Stresemann, E., Schütte, W., Reinhold, P. (1998c)
Erste klinische Erfahrungen mit der nichtinvasiven Messung von
Entzündungsparametern im Atemkondensat - ein Ansatz für eine biochemische
Lungenfunktionsdiagnostik
Pneumologie 52, S9,V36
- Becher, G., Rothe, M., Beck, E., Stresemann, E. (1999)
Measurement of eicosanoids and an eosinophilic marker in breath condensate after
specific bronchial challenge test with allergen in asthmatics
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30
- Becher, G. (2000a)
Diagnostik im Atemkondensat
36.Tagung der Gesellschaft für Lungen- u.Atmungsforschung e.V., 6.-9.12.2000,
Bochum
- Becher, G., Rothe, M., Beck, E., Stresemann, E. (2000b)
Non-volatile substances in exhaled air breath condensate for non invasive staging of
airway inflammation
ALA/ATS International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Becher, G., Rothe, M., Beck, E., Tacke, A., Kragl, U., Georgi, G. (2000 c)
Clinical relevance of parameters from exhaled breath condensate
ERS International Conference, 30.8.-3.9.2000, Florenz
- Beck, E., Becher, G., Rothe, M., Heinze, R., Bodner, A. (1999)
NO and hydrogen peroxide in exhaled air in patients with COPD and healthy controls
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 462s
- Bitterling, C., Hartmann, W.D., Petro, W., Winsel, K. (2000)
H₂O₂ im Atemkondensat - was ist zu beachten?
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- Blankenburg, T., Schädlich, S., Schütte, W. (2000)
Exhaled breath condensate as a sensitive diagnostic aid in asthma bronchiale
ERS International Conference, 30.8.-3.9.2000, Florenz
- Borkenstein R.F. (1970)
Breath sampling, storing, and processing apparatus and method
(U.S.Patent 3,522,009)
- Broadbent, R., Robb, T.A., Davidson, G.P. (1983)
Reproducibility of expired breath hydrogen levels in the neonate: A comparison of
two methods for sample collection
Clin.Chim.Acta 127, 337-342
- Bryant, P.J., Weddle, O.H., Gutshall, P.L. (1974)
Mass spectrometry applied to human breath analysis
Jpn.J.Appl.Phys. Suppl.2, 159-161
- Busse, W.W. (1998)
Leukotrienes and inflammation
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 157, S210-S213

- Carpenter, C.T., Price, P.V., Christman, B.W. (1998)
Exhaled breath condensate isoprostanes are elevated in patients with acute lung injury or ARDS
Chest 114, 1653-1659
- Caspary, W.F. (1978)
Breath tests
Clin.Gastroenterology 7, 351-374
- Conkle, J.P., Camp, B.J., Welch, B.E. (1975)
Trace composition of human respiratory breath
Arch.Environ.Health 30, 290-295
- Corbett, T.H. and Ball, G.L. (1971)
Chronic exposure to metoxyflurane. A possible occupation hazard to anesthesiologists
Anesthesiology 34, 532-537
- Corradi, M., Majori, M., Caminati, A., Saggi, S., Cuomo, A., Pesci, A. (1999)
There is no salivary contamination in exhaled breath condensate
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 209s
- Corradi, M., Kharitonov, S.A., Donnelly, L.E., Montuschi, P., Pesci, A., Barnes, P.J. (2000)
Elevated levels of nitrothiosols in breath condensate of healthy smokers
ALA/ATS International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Corradi, M.; Montuschi, P., Donnelly, L.E., Pesci, A., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2001)
Increased nitrothiosols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases
Am.J.Respir.Crit.Care.Med. 163 (4), 854-858
- Cushny, A.R. (1910)
On the exhalation of drugs by the lungs
J.Physiol. 40, 17
- Dauletbaev, N., Diegel, H., Berkefeld, M., Oremek, G., Loitsch, S.M., Wagner, T.O.F., Bargon, J. (1999)
Monitoring the salivary contamination of breath condensate by measuring alpha amylase and urea
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 166s
- Dauletbaev, N., Diegel, H., Rickmann, J., Oremek, G., Hirche, T., Wagner, T.O.F., Bargon, J. (2000)
Unterschiedliche Verhältnisse zwischen Harnstoff im Atemkondensat und Blut bei Lungengesunden und Patienten mit obstruktiven Lungenerkrankungen
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- Deegen, E. (1983)
Beurteilung von Blutgasparametern des arteriellen Blutes bei Pferden mit respiratorischen und metabolischen Störungen
Colleg.Vet., 128-132

- Dekhuijzen, P.N.R., Aben, K.K.H., Dekker, I., Aarts, J., Wielders, P.L., van Herwaarden, C.L.A., Bast, A. (1996)
Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 154, 813-816
- Dewes, L.M., Murali, B.N., Jones, E.W. (1974)
Measurement of lung compliance and airway resistance in horses
Veterinary Anaesthesiology 1, 4-9
- Dickmann, M.P. (1987)
Zur Wirksamkeit von Ambroxolhydrochlorid (Mucovent) bei lungenkranken Pferden. Klinische, funktionelle und zytologische Untersuchungen
Tierärztl.Hochschule Hannover, Diss.Med.Vet.
- Dillon, W.C., Hampl, V.H., Shultz, P.H., Rubins, J.B., Archer, S.L. (1996)
Origins of breath nitric oxide in humans
Chest 110, 930-938
- Dodds, E.C. (1920)
Variations in alveolar carbon dioxide pressure in relation to meals
J.Physiol. 54, 342-348
- Dohlmann, A.W., Black, H.R., Royall, J.A. (1993)
Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma
Am.Rev.Resp.Dis. 148, 955-960
- Drazen, J.M. and Austen, K.F. (1987)
Leukotrienes and airway responses
Am.Rev.Resp.Dis. 136, 985-998
- Dubowski, K.M. (1974)
Breath analysis as a technique in clinical chemistry
Clin.Chem. 20, 966-972
- Dubowski, K.M. and Essary, N.A. (1982)
Alcohol analysis of stored whole-breath samples by automated gas chromatography
J.Anal.Toxicol. 6, 217-221
- Eriksen, S.P. (1964)
Studying the composition of human breath
New.Sci. 381, 608-611
- Fairchild, C.L. and Stampfer, J.F. (1987)
Summary report: particle concentration in exhaled breath
Am.Ind.Hyg.Assoc.J. 48, 948-949
- Fedoseev, G.B., Emelianov, A.V., Malakauskas, K.K., Goncharova, V.A., Emanuel, V.L., Kakliugin, A.P. (1992)
Use of the expired air condensate in the study of biochemistry of bronchial contents in patients with bronchial asthma
Klin.med.Mosk. 70 (3-4), 27-28

- Ferlinz, R. (1994)
Pneumologie in Praxis und Klinik
Georg Thieme Verlag
- Fleisch, A. (1925)
Der Pneumotachograph; ein Apparat zur Geschwindigkeitsmessung der Atemluft
Pflüger Arch.Ges.Physiol. 209, 713-719
- Frerichs, F.T. (1883)
Über den plötzlichen Tod und über das Coma bei Diabetes (diabetische Intoxication)
Z.Klin.Med. 6, (Quoted in ref.40):p. 1-53
- Gage, J.C., Lagesson, V., Tunek, A. (1977)
A method for the determination of low concentrations of organic vapours in air and inhaled breath
Ann.Occup.Hyg. 20, 127-134
- Gardiner, A.J., Tarlow, M.J., Sutherland, I.T., Sammons, H.G. (1981)
Collection of breath for hydrogen estimation
Arch.Dis.Child 56, 125-127
- Garcia, J.G.N., Noonan, T.C., Jubiz, W., Malik, A.B. (1987)
Leukotrienes and the pulmonary microcirculation
Am.Rev.Respir.Dis. 136, 161-169
- Garey, K.W., Neuhauser, M.M., Radice, A.L., Robbins, R.A., Danziger, L.H., Rubinstein, I. (2000)
Protein, Nitrate/Nitrite and cytokine concentrations in exhaled breath condensate of young smokers
ALA/ATS International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Gaston, B., Drazen, J.M., Loscalzo, J., Stamler, J. (1994)
The biology of nitrogen oxides in the airways
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 149, 538-551
- Gearhart, H.L., Pierce, S.K., Payne Bose, D. (1977)
A sampling technique for organic components in human breath
J.Chromatogr.Sci. 15, 480-484
- Gessner, Ch. (1998)
Nachweis von Mutationen des K-ras-Gens im Atemkondensat von Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) als mögliche nicht-invasive Screeningmethode
Pneumologie 52, 426-427
- Gessner, Ch., Seyfarth, H.J., Schauer, J., Wirtz, H. (1999)
Dependence of breath condensate volume on total respired volume
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 208s
- Gessner, Ch., Kuhn, H., Pankau, H., Seyfarth, H.J., Winkler, J., Schauer, J., Wirtz, H. (2000)
Factors influencing breath condensate collection-standards for collection
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin

- Goncharova, V.A., Borisenco, L.V., Dotsenco, E.K., Pokhaznikova, M.A. (1996)
Kallikrein-kinin indices and biological composition of exhaled condensate in acute
bronchitis patients with varying disease course
Klin.med.Mosk. 74:7, 46-48
- Gustafsson, L.E., Leone, A.M., Persson, M.G., Wiklund, N.P., Moncada, S. (1991)
Endogeneous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and
humans
Biochem.Biophys.Res.Comm. 181, 852-857
- Haldane, J.F. and Priestley, J.G. (1905)
The regulation of lung ventilation
J.Physiol. 32, 225-266
- Hanazawa, T., Kharitonov, S.A., Oldfield, W., Kay, A.B., Barnes, P.J. (2000a)
Nitrotyrosine and cysteinyl leukotrienes (LTC₄/D₄/E₄:cys-LTs) in breath condensates
are increased after withdrawal of steroid treatment in patients with asthma
ALA/ATS International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Hanazawa, T., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2000b)
Levels of cysteinyl leukotrienes are increased in exhaled breath condensates in
asthmatic patients during late phase reaction after allergen challenge
ALA/ATS International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Hanazawa, T., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2000c)
Levels of nitrotyrosine in breath condensates are elevated in asthmatic patients and
decreased after steroid treatment
ERS International Conference, 30.8.-3.9.2000, Florenz
- Harger R.N., Lamb E.B., Hulpieu H.R. (1938)
A rapid chemical test for intoxication employing breath
J.Amer.Med.Ass. 110, 779
- Hayden, G.F. (1980)
Olfactory diagnosis in medicine
Postgrad.Med. 67, 110-115
- Herzog, H. (1997)
Asthma, chronische Bronchitis und Emphysem: Eine Typologie der obstruktiven
Atemerkrankungen
Atemw. - Lungenkkh. Jahrgang 23, 2/1997, 67-72
- Hillebrand, T., Bendzko, P., Beck, E., Becher, G., Rothe, M., Neubauer, G., Norpoth, K.,
Stresemann, E. (1996)
Isolation of DNA from breathing condensate
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 153, A181
- Ho, L.P., Innes, J.A., Greening, A.P. (1998a)
Exhaled nitric oxide is not elevated in the inflammatory airways diseases of cystic
fibrosis and bronchiectasis
Eur.Resp.J. 12, 1290-1294

- Ho, L.P., Innes, J.A., Greening, A.P. (1998b)
Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide
Thorax 53, 680-684
- Hotz, P., Hoet, P., Lauwerys, R., Buchet J.-P. (1987)
Development of a method to monitor low molecular mass hydrocarbons in exhaled breath of man: preliminary evaluation of its interest for detecting a lipidperoxidation process in vivo
Clin.Chim.Acta 162, 303-310
- Huels, G., Bittner-Dersch, P., Gärtner, U., Schüler, D., Sziegoleit, A., Lindemann, H. (2000)
No bacterial contamination in exhaled breath condensates of patients with cystic fibrosis
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- Hummel, S., Beck, E., Brachmann, I., Renner, H., Reutgen, H., Becher, G., Lichey, J. (1996)
D-Dimer levels in BAL and exhalation of patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), sarcoidosis and exogen allergic alveolitis (EAA)
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 153:4, A315
- Hunt, J., Byrns, R.E., Ignarro, L.J., Gaston, B. (1995)
Condensed expirate nitrite as a home marker for acute asthma
Lancet 346, 1235-1236
- Imbriani, M., Ghittori, S., Pezzagno, G., Capodaglio, E. (1982)
Valuazione di un nuovo campionatore di aria alveolare
G.Ital.Med.Lav. 4, 271-278
- Jaeger Toennies (1999)
Atemkondensat gewinnen mit dem Eco Screen
Jaeger Info 1/1999, 17-18
- Jaeger Toennies (2000)
Master screen paed, baby body and IOS
Jaeger Info 1st Edition, July 2000, 18
- Jansson B.O. and Larsson B.T. (1969)
Analysis of organic compounds in human breath by gas chromatography-mass-spectrometry
J.Lab.Clin.Med. 74, 961-966
- Jelenina, L., Goncharova, V.A., Docenco, E., Vishniakova, T., Guembitskaia, T. (1996)
The importance of biogenic amines in the pathogenesis of cystic fibrosis (CF)
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 181s
- Jetter W.W., Moore M., Forrester G.C. (1941)
Studies in alkohol. 4. A new method for the determination of breath alkohol
Amer.J.Clin.Pathol. 11, 75

- Jones, A.W., Mardh, G., Anggard, E. (1983)
Determination of endogenous ethanol in blood and breath by gas chromatography and mass spectrometry
Pharmacol.Biochem.Behav. 18, 267-272
- Jones, T.P. (1969)
Breath alcohol analysis with the "Alcolyser ASC" (Alcohol sample collector)
Proceedings of 5th international conference on alcohol and traffic safety, Freiburg, Germany, p. II.41-II.46
- Jöbsis, Q., Raatgeep, H.C., Hermans, P.W.M., de Jongste, J.C. (1996)
Exhaled air hydrogen peroxide is not increased in asthmatic children
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 224s
- Jöbsis, Q., Raatgeep, H.C., Hermans, P.W.M., de Jongste, J.C. (1997)
Hydrogen peroxide in exhaled air is increased in stable asthmatic children
Eur.Resp.J. 10, 519-521
- Jöbsis, Q., Schellekens, S.L., Kroesbergen, A., Hop, W.C.J., de Jongste, J.C. (1999)
Sampling of exhaled nitric oxide in children: end-expiratory plateau, balloon and tidal breathing methods compared
Eur.Resp.J. 13, 1406-1410
- Jöbsis, Q., Raatgeep, H.C., Schellekens, S.L., Kroesbergen, A., Hop, W.C.J., de Jongste, J.C. (2000)
Hydrogen peroxide and nitric oxide in exhaled air of children with cystic fibrosis during antibiotic treatment
Eur.Resp.J. 16, 95-100
- Kang, H.K., Morrow, J.D., Roberts, L.J., Newman, J.H., Banerjee, M. (1993)
Airway and vascular effects of 8-epi-prostaglandin F_{2α} in isolated perfused rat lung
J.Appl.Physiol. 74, 460-465
- Kasielski, M., Antzak, A., Krol, M., Nowak, D. (1999)
Long term treatment with N-Acetylcysteine (NAC) suppresses H₂O₂ exhalation in subjects with COPD
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 253s
- Kharitonov, S.A., Yates, D., Robbins, R.A., Logan-Sinclair, R., Shinebourne, E.A., Barnes, P.J. (1994)
Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients
Lancet 343, 133-135
- Kharitonov, S.A., Alving, K., Barnes, P.J. (1997)
Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations
Eur.Resp.J. 10, 1683-1693
- Kharitonov, S.A. and Barnes, P.J. (1999)
Exhaled breath profile of inflammatory and oxidative markers in chest clinic
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 378s

- Kharitonov, S.A., Montuschi, P., Hanazawa, T., Barnes, P.J. (2000)
Breath condensate: rich source of exhaled markers and mediators. Methodical issues and standardisation of measurements
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- Kietzmann, D., Kahl, R., Müller, M., Burchardi, H., Kettler, D. (1999)
Hydrogen peroxide in expired breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS
Intensive Care Medicine 19, 78-81
- Klein, H.J. und Deegen, E. (1986)
Beurteilung von Blutgasparametern des arteriellen Blutes von Pferden unter besonderer Berücksichtigung der alveolo-arteriellen Sauerstoffdifferenz
Pferdeheilk. 6, 331-336
- Kneepkens, C.M.F., Vonk, R.J., Bijleveld, C.M.A., Fernandez, J. (1985)
The daytime breath hydrogen profile: Technical aspects and normal pattern
Clin.Chim.Acta 147, 205-213
- Kreime, U. (1981)
Intraindividuellem Wirksamkeitsvergleich von Atrovent und Ventipulmin bei Pferden mit chronisch obstruktiver Bronchitis
Tierärztl.Hochschule Hannover, Diss. Med. Vet.
- Krotoszynski, B.K., Bruneau, G.M., O'Neill, H. (1979)
Measurement of chemical inhalation exposure in urban population in the presence of endogeneous effluents
J.Anal.Toxicol. 3, 225-234
- Krotoszynski, B.K., Gabriel, D., O'Neill, H. (1977)
Characterisation of human expired air: A promising investigative and diagnostic technique
J.Chromatogr.Sci. 15, 239-244
- Loukides, S., Horvath, I., Wodehouse, T., Cole, P.J., Barnes, P.J. (1998)
Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 158, 991-994
- Loukides, S., Ganas, K., Papatheodorou, G., Zervas, E., Panagou, P., Kalogeropoulos, N.
Total Nitrate-Nitrite Levels in expired breath condensate of patients with asthma
ALA/ATS International Conference, 5. - 10.5.2000, Toronto
- Löffler und Petrides (1988)
Physiologische Chemie
4. Aufl. 1988, Springer Verlag
- Lundberg, J.O.N., Weitzberg, E., Lundberg, J.M., Alving, K. (1996)
Nitric oxide in exhaled air
Eur.Resp.J. 9, 2671-2680
- Malakauskas, K.K., Goncharova, V.A., Aleksandrova, N.I. (1991)
The level of biogenic amines in bronchi of patients with COB
Klin.med.Mosk. 69 (5), 60-63

- Manolis, A. (1983)
The diagnostic potential of breath analysis
Clin.Chem. 29, 5-15
- Mason, M.F. and Dubowski, K.M. (1976)
Breath-alkohol analysis: Uses, methods and some forensic problems – Review and opinion
J.Forensic.Sci. 21, 9-41
- Meister, U., Gerber, H., Tschudi, P. (1976)
Die arterielle Blutgasanalyse in der Diagnostik und Überwachung chronisch lungenkranker Pferde
Schweiz.Arch.Tierheilk. 118, 99-104
- Molhave, L. and Pedersen, O.F. (1984)
Measurements of alveolar concentrations of toluene
Int.Arch.Occup.Environ.Health 54, 65-71
- Monster, A.C. and Boersma, G. (1975)
Simultaneous determination of trichlorethylene and metabolites in blood and exhaled air by gas chromatography
Int.Arch.Occup.Environ. Health 35, 155-163
- Montuschi, P., Ciabattoni, G., Paredi, P., du Bois, R.M., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (1998)
8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 158, 1524-1527
- Montuschi, P., Ciabattoni, G., Collins, J.V., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (1999a)
Non invasive biomarkers of oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 15s
- Montuschi, P. (1999b)
Isoprostanes and other exhaled markers in respiratory diseases
Eur.Resp.Rev. 9:68, 249-253
- Montuschi, P., Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2000a)
Breath condensate eicosanoids as markers of airway inflammation
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- Montuschi, P., Kharitonov, S.A., Carpagnano, E., Culpitt, S., Russel, R., Collins, J.V., Barnes, P.J. (2000b)
Exhaled prostaglandin E₂: A new biomarker of airway inflammation in COPD
ALA/ATS International Conference, 5.-10.5.2000, Toronto
- Montuschi, P. and Barnes, P.J. (2000c)
Eicosanoids in breath condensate: new non invasive biomarkers of airway inflammation
ERS International Conference, 30.8.-3.9.2000, Florenz
- Morrow, J.D., Minton, T.A., Badr, K., Roberts, L.J. (1994)
Evidence that the F₂-isoprostane, 8-epi-prostaglandin F_{2α}, is formed in vivo
Biochimica et Biophysica Acta 1210, 244-248

- Müller, J. (1898)
Über die Ausscheidungsstätten des Acetons und die Bestimmung desselben in der Athemluft und den Hautausdunstungen des Menschen
Arch.Exp.Pathol.Pharmacol. 40, (Quoted in ref.40) 351-362
- Nevzorova, V.A., Maystrovskaya, Y.V., Kochetkova, Y.A., Sourovenco, T.N., Maystrovskiy, K.V., Lukyanov, P.A. (2000)
The contents of α 1-acid glycoprotein (α 1-AGP) in expired air condensate (EAC) and interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) in the blood serum of the patients with bronchial asthma (BA)
ERS International Conference, 30.8.-3.9.2000, Florenz
- Nowak, D., Antzak, A., Krol, M., Pietras, T., Shariati, B., Bialasiewicz, P., Jeczowski, K., Kula, P. (1996)
Increased content of hydrogen peroxide in expired breath of cigarette smokers
Eur.Resp.J. 9, 652-657
- Nowak, D., Kasielski, M., Antzak, A., Pietras, T., Bialasiewicz, P. (1999)
Increased content of thiobarbituric acid-reactive substances and hydrogen peroxide in the expired breath condensate of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease: no significant effect of cigarette smoking
Resp.Med. 93 (6), 389-396
- Ohnesorge, Trötschel und Deegen (1998)
Bestimmung von Totraum und expiratorischem Mischvolumen zur Diagnostik chronischer Lungenerkrankungen beim Pferd
Pferdeheilkunde 14 (6), 450-455
- Okazawa, A., Kawikova, I., Cui, Z.-H., Skoogh, B.-E., Lötvall, J. (1997)
8-epi-PGF₂ α induces airflow obstruction and airway plasma exudation in vivo
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 155, 436-441
- Panagou, P., Papatheodorou, G., Loukides, S., Tsipra, S., Tsintiris, K., Kalogeropoulos, N. (1999)
Breath condensate total nitrate-nitrite levels in patients with asthma
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 468s
- Pauling, J., Robinson, A.B., Teranishi, R., Cary, P. (1971)
Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 68, 2374-2376
- Peetz, Ch., Brachmann, I., Beck, E., Becher, G., Hummel, St. (1997)
Methodenvergleich von bronchoalveolärer Lavage (BAL) und Atemkondensat (AKO) in der Aktivitätsdiagnostik von interstitiellen Lungenerkrankungen
Pneumologie 51, 1000
- Penton J.R. and Forrester M.R. (1969)
A gas chromatographic breath analysis system with provisions for storage and delayed analysis of samples
Proceedings of 5th international conference on alcohol and traffic safety, Freiburg, Germany, pp II.79-II.83

- Phillips, M., Herrera, J., Krishnan, S., Zain, M., Greenberg, J., Cataneo, R.N. (1999)
Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans
J.Chromatogr.B 729, 75-88
- Principe, A.H. (1974)
The vacu-sampler: A new device for the encapsulation of breath and other gaseous samples
J.Police.Sci.Adm. 2, 404-413
- Reinhold, P., Otto, P., Köhler, H., Streckert, H.-J., Phillipou, S., Werchau, H. (1994)
Changes in airway responsiveness after experimental infection with bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in calves
Eur.Resp.J. 7, Suppl.18, 481s
- Reinhold, P., Becher, G., Elschner, M., Rothe, M. (1996)
Relationship between an increase of LTB4 in exhalation and the degree of airway responsiveness in clinically healthy and BRSV-infected animals
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 417s
- Reinhold, P., Becher, G., Elschner, M., Rothe, M. (1997a)
Beziehungen zwischen bronchialer Reaktivität und der LTB4 Konzentration im Atemkondensat nach RSV-Infektion im Tiermodell
Pneumologie 51, 190, P135
- Reinhold, P., Becher, G., Elschner, M., Schimmel, D., Rothe, M. (1997b)
The condensate of exhalation is a useful medium to study mediators of inflammation released by the lung
Proceedings of the 15th Veterinary Respiratory Symposium, 24.-25.10.97, Liege, A679
- Reinhold, P. (1997c)
Atmungsmechanik beim Tier, 2.Mitteilung: Die forcierte Oszilloresistometrie-Übersichtsarbeit
Berl.MüncH.Tierärztl.Wochenschr. 110, 257-266
- Reinhold, P., Langenberg, A., Födisch, G. (1998a)
Die Gewinnung von Atemkondensat - Einfluß des Atemmusters auf die Probenmenge
90. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 1.-2.10.1998, Bad Honnef
- Reinhold, P., Becher, G., Schimmel, D., Rothe, M. (1998b)
Korrelationen zwischen LTB4 im Atemkondensat und Lungenfunktion nach bakterieller respiratorischer Infektion (Tiermodell)
Pneumologie 52, P179
- Reinhold, P., Becher, G., Elschner, M., Schimmel, D., Rothe, M. (1998c)
Die nicht-invasive Messung von Entzündungsmediatoren der Lunge aus der Ausatemungsluft
DVG, 13.Tagung der Fachgruppe Physiologie und Biochemie, 16.-18.3.1998, Zürich
- Reinhold, P., Langenberg, A., Födisch, G. (1999a)
Einfluß von ventilatorischen Kenngrößen und Körpertemperatur auf die Gewinnung von Atemkondensatproben
40. Kongreß der Dt. Ges. für Pneumologie, 17.-20.3.99, Bad Reichenhall

- Reinhold, P., Becher, G., Rothe, M. (1999b)
Das Atemkondensat - ein nichtinvasiv zu gewinnendes Medium zum Nachweis von Entzündungsmediatoren der Lunge
DVG, 23. Kongreß, 13.-16.4.99, Bad Nauheim, 143-150
- Reinhold, P., Langenberg, A., Becher, G., Rothe, M. (1999c)
Das Atemkondensat - ein nichtinvasiv zu gewinnendes Medium zum Nachweis von Entzündungsmediatoren der Lunge
Berl.Münc.h.Tierärztl.Wochenschr. 112, 254-259
- Reinhold, P., Langenberg, A., Becher, G., Rothe, M., Seifert, J., Großmann, E., Schimmel, D., Seidler, T., Krüger, M. (2000)
Harnstoff und Gesamteiweiß im Atemkondensat - Korrelationen zur bronchoalveolären Lavageflüssigkeit und zum Serum (Tiermodelle)
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- Robb, T.A. and Davidson, G.P. (1981)
Advances in breath hydrogen quantitation in paediatrics: Sample collection and normalisation to constant oxygen and nitrogen levels
Clin.Chim.Acta 111, 281-285
- Robbins, R.A., Floreani, A.A., von Essen, S.G., Sisson, J.H., Hill, G.E., Rubinstein, I., Townley, R.G. (1996)
Measurement of exhaled nitric oxide by three different techniques
Am.J.Resp.Crit.Care.med. 153, 1631-1635
- Roche Lexikon Medizin (1993)
3. Auflage, Urban und Schwarzenberg
- Roitt, I.M., Brostoff, J. und Male, D.K. (1995)
Kurzes Lehrbuch der Immunologie
3. Aufl. 1995, Thieme Verlag
- Rolle, M. und Mayr, A. (1984)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler
5. Auflage, Ferdinand Enke Verlag
- Rose, R.J. and Rossdale, P.D. (1981)
Techniques and clinical application of arterial blood collection in the horse
Equine vet.J. 13, 70-73
- Rothe, M., Becher, G., Schütte, W., Beck, E., Neubauer, G., Öhlmann, K., Stresemann, E. (1997)
Erfassung von Entzündungsparametern aus dem Atemkondensat
Pneumologie 51, 191
- Rothe, M. und Becher, G. (2000a)
Schwerflüchtige Substanzen im Atemkondensat - Wie und Warum?
Deutsche Gesellschaft für Pneumologie, 1.-4.3.2000, Hamburg

- Rothe, M. und Becher, G. (2000b)
Analyse von Atemkondensaten mittels LC-MSD, der neue Standard: 94.Tagung der
Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- Rotinsulu, F.D. (1995)
Nachweis der Wirksamkeit der peroralen Überwässerungstherapie bei Pferden mit
chronisch-obstruktiver Bronchitis (COB)
Diss. Med. Vet., Gießen
- Samuelsson, B. (1983)
Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation
Science 220, 568
- Sasse, H.H.L. (1971)
Some pulmonary function tests in horses
Diss. Med. Vet., Utrecht
- Sasse, H.H.L. (1973)
Lungenfunktionsprüfungen beim Pferd
Tierärztl.Praxis 1, 49-59
- Scheideler, L., Manke, H.G., Schwulera, U., Inacker, O., Hämmerle, H. (1993)
Detection of nonvolatile macromolecules in breath a possible diagnostic tool?
Am.Rev.Resp.Dis. 148, 778-784
- Schütz, M. (1999)
Vergleich der Fütterung von Heu und einer Grasanwelksilage (HorseHage®)
hinsichtlich der Staubfreisetzung sowie des Krankheitsverlaufs von Pferden mit
chronisch obstruktiver Bronchitis (COB)
Diss. Med. Vet., Gießen
- Schweisfurth, H., Breuer, J., Westerdick, M. (1990)
Bronchoalveoläre Lavage
München Deisenhofen: Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle
- Severien, C., Artlich, A., Graf, A., Purschl, S., Jonas, S., Becher, G. (1999)
Eosinophil cationic protein in breathing condensate of asthmatic and healthy children
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 34s
- Stewart, R.D. (1974)
The use of breath analysis in clinical toxicology
WJ Hayes, ed. Essay in toxicology. Academic Press, New York 121-147
- Stünzi, H. und Weiss, E. (1990)
Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin
8. Aufl. 1980, Paul Parey Verlag
- Sznajder, J.I., Fraiman, A.D.Ph., Hall, J.B., Sanders, W., Schmidt, G., Crawford, G., Nahum,
A., Factor, P., Wood, L.D.H. (1989)
Increased hydrogen peroxide in the expired breath of patients with acute hypoxemic
respiratory failure
Chest 96, 606-612

- Tacke, A., Becher, G., Kragl, U., Georgi, G. (1996)
Der Einfluß einer antibiotischen Therapie auf Entzündungsparameter im
Atemkondensat bei Patienten mit Mucoviscidose (CF)
APPA, 6. Jahrestagung, 8.-11.10.96, Schneeberg/Aue
- ten Hacken, N.H.T., Meijer, R.J., Kerstjens, H.A.M., van der Mark, Th.W., Postma, D.S.
(1996)
Expired nitric oxide in stable asthmatic patients does not relate to parameters of
disease severity
Eur.Resp.J. 9, Suppl.23, 416s
- Tisi, G.M. (1985)
Klinische Lungenphysiologie
In: Pneumologische Notfälle, Hrsg.: K.M. Moser, R.G. Spragg, Enke Verlag
- Vogelberg, C. und Leupold, W.
Pseudomonas aeruginosa, Stenotrophomonas maltophilia and Burkholderia cepacia
can not be detected by PCR from the breath condensate of patients with cystic fibrosis
94. Tagung der Sektion Pathophysiologie der Atmung, 6.-7.10.2000, Berlin
- William, R., Henderson, J.R. (1987)
Eicosanoids and lung inflammation
Am.Rev.Respir.Dis. 135, 1176-1185
- Williams, M.D., Leigh, J.S., Chance, B. (1982)
Hydrogen peroxide in human breath and its probable role in spontaneous breath
luminescence
Ann.NY.Acad.Sci. 386, 478-483
- Wilson, H.K. (1986)
Breath-analysis - physiological basis and sampling techniques
Scand.J.Work Environ. health 12, 174-192
- Winsel, K., Becher, G., Beck, E. (1994)
Inflammatory mediators in the breathing condensate of allergic asthmatics
J.Resp.Crit.Care.Med. 149, A332
- Winsel, K., Geggel, K., Thies, P., Adler, F. (1999)
Abscheidung von Exhalat mit Atemkondensatoren
40. Kongreß der Dt. Ges. für Pneumologie, 17.-20.3.99, Bad Reichenhall
- Wood, F.T., Ho, L.P., Innes, J.A., Greening, A.P. (1999)
Exhaled breath condensate nitrite levels are elevated during infective exacerbations in
cystic fibrosis and fall in response to treatment
Eur.Resp.J. 14, Suppl.30, 25s
- Wright, B.M. (1966)
A versatile exhaled air sampler
J.Physiol.(London) 184, 66-67

Zlatkis, A., Lichtenstein, H.A., Tishbee, A. (1973)
Concentration and analysis of trace volatile organics in gases and biological fluids
with a new solid absorbent
Chromatographia 6, 67-70

8. ANHANG

8.1 TABELLENVERZEICHNIS

8.1.1 TABELLEN IM TEXT

	Seite
Tab. 1: Substanzen, die bisher im Atemkondensat des Menschen nachgewiesen wurden	16
Tab. 2: Wasserstoffperoxidkonzentration im Atemkondensat bei Patienten mit ARDS, Bronchiektasien und Lungeninfiltraten	19
Tab. 3: Wasserstoffperoxidkonzentration im Atemkondensat bei Patienten mit Asthma, COPD und bei Rauchern	21
Tab. 4: Konzentration Thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen im Atemkondensat von Patienten mit Asthma und COPD	23
Tab. 5: Stickstoffmonoxidkonzentration in der Ausatemluft von Asthmatikern, Patienten mit COPD und CF im Vergleich zu Kontrollpersonen (ohne Angabe orale Messung)	25
Tab. 6: Nitrat- und Nitritkonzentration im Atemkondensat von Patienten mit CF, mit Asthma und von Rauchern	26
Tab. 7: Nitrothiosole und Nitrotyrosin im Atemkondensat bei Rauchern, Asthmatikern und Patienten mit CF und COPD	27
Tab. 8: ECP und EPX-Konzentrationen im Atemkondensat bei Patienten mit Mukoviszidose (CF) und Asthma	37
Tab. 9: Bislang (Stand: Nov. 99) im FILT nachgewiesene Substanzen im Atemkondensat des Menschen mit Ergebnis-Spannbreite (mit freundlicher Genehmigung der FILT) s. auch JAEGER (2000)	40
Tab. 10: Endoskopie-Score nach DICKMANN (1987)	48
Tab. 11: Score-System nach OHNESORGE et al. 1998 (leicht modifiziert)	50
Tab. 12: Einteilung des Grades der Erkrankung auf Grund des Score-Systems nach OHNESORGE et al. 1998 (leicht modifiziert)	50
Tab. 13: Einteilung in Erkrankungsgruppen nach dem Gesamtscoresystem (arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)	60
Tab. 14: Ausprägung und Verteilung der klinischen Symptome je nach Erkrankungsgrad (Anzahl der Patienten)	61

Tab. 15: Arterielle Blutgasdrücke je nach Erkrankungsgrad aufgeteilt (arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)	62
Tab. 16: Endoskopiebefunde je nach Erkrankungsgrad aufgeteilt (arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)	62
Tab. 17: Ausgewählte Lungenfunktionsparameter in den einzelnen Erkrankungsgruppen (arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen)	63
Tab. 18: Ergebnisse der untersuchten Parameter während den vier wiederholt vorgenommenen Atemkondensatgewinnungen	74

8.1.2 TABELLEN IM ANHANG

Tab. I: Übersicht über das Patientengut	-5-
Tab. IIa: Atemkondensatmenge, Durchflussextirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussextirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der Pferde ohne besonderen Befund	-7-
Tab. IIb: Atemkondensatmenge, Durchflussextirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussextirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der geringgradig erkrankten Pferde	-7-
Tab. IIc: Atemkondensatmenge, Durchflussextirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussextirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der mittelgradig erkrankten Pferde	-8-
Tab. IId: Atemkondensatmenge, Durchflussextirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussextirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der hochgradig erkrankten Pferde	-9-
Tab. IIIa: Blutgasanalyse: P_aO_2 , P_aCO_2 , A-aDO ₂ der Pferde ohne besonderen Befund und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)	-9-
Tab. IIIb: Blutgasanalyse: P_aO_2 , P_aCO_2 , A-aDO ₂ der geringgradig erkrankten Pferde und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)	-10-
Tab. IIIc: Blutgasanalyse: P_aO_2 , P_aCO_2 , A-aDO ₂ der mittelgradig erkrankten Pferde und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)	-11-

Tab. III d:	Blutgasanalyse: P_{aO_2} , P_{aCO_2} , $A-aDO_2$ der hochgradig erkrankten Pferde und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)	-11-
Tab. IV a:	Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz (ΔP_{plmax}), Gesamtscore (Punkte) der Pferde ohne besonderen Befund	-12-
Tab. IV b:	Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz (ΔP_{plmax}), Gesamtscore (Punkte) der geringgradig erkrankten Pferde	-12-
Tab. IV c:	Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz (ΔP_{plmax}), Gesamtscore (Punkte) der mittelgradig erkrankten Pferde	-13-
Tab. IV d:	Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz (ΔP_{plmax}), Gesamtscore (Punkte) der hochgradig erkrankten Pferde	-14-
Tab. V:	Ergebnisse der Lungenfunktionsuntersuchung, der arteriellen Blutgasanalyse, der Körpertemperatur und des Körpergewichtes der Pferde, bei denen keine Atemkondensatgewinnung möglich war	-15-
Tab. VI:	Einfluss verschiedener interner und externer Parameter auf die Atemkondensatmenge	-16-
Tab. VII:	Einfluss verschiedener interner und externer Parameter auf das Durchflussextirationsvolumen	-17-

8.2 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1:	Als Labormuster gefertigtes Atemkondensatgerät der FILT in Berlin	53
Abb. 2:	Anwendung der Atemkondensatgewinnung am Pferd	53
Abb. 3:	Probensammelrohre aus Teflon, beidseitig verschließbar und Kunststoffsonde zur Gewinnung von Atemkondensat beim Pferd	54
Abb. 4:	Lage der Kunststoffsonde während der Atemkondensatgewinnung	54

Abb. 5: Ausschnitt aus der graphischen Aufzeichnung des durch das Atemkondensatgerät geleiteten Teils des Expirationsvolumens	57
Abb. 6: Atemkondensatmenge (ml/10 min) aufgeteilt nach Erkrankungsgruppen Darstellung arithmetischer Mittelwerte mit Standardabweichungen	67
Abb. 7: Verhältnis der Atemkondensatmenge zur Atemstromstärke	68
Abb. 8: Durchflussexpirationsvolumina aufgeteilt nach Erkrankungsgruppen Darstellung geometrischer Mittelwerte mit Streufaktoren	70
Abb. 9: Verhältnisse der Durchflussexpirationsvolumina zur Atemkondensatmenge	72
Abb. 10: Entwicklung der Atemfrequenzen der beiden sedierten Pferde mit bereits platzierter Trachealsonde im zeitlichen Verlauf direkt vor der Atemkondensatgewinnung	75
Abb. 11: Gewonnene Atemkondensatmenge der beiden Pferde während der wiederholten Atemkondensatgewinnung	75

8.3 TABELLARISCHER ANHANG

Tab. I: Übersicht über das Patientengut

ohne besonderen Befund:

Pferd Nr.	Rasse:	Geschlecht:	Alter:
1	Kaltblut	Kryptorchide	7 Jahre
2	Warmblut	Wallach	17 Jahre
3	Warmblut	Hengst	5,5 Jahre
4	Warmblut	Stute	14 Jahre
5	Warmblut	Wallach	18 Jahre
6	Warmblut	Stute	16 Jahre
7	Warmblut	Wallach	2,5 Jahre
8	Warmblut	Hengst	3 Jahre

geringgradige COB:

Pferd Nr.	Rasse:	Geschlecht:	Alter:
9	Warmblut	Wallach	8 Jahre
10	Pony	Wallach	9 Jahre
11	Pony	Wallach	13 Jahre
12	Warmblut	Stute	8 Jahre
13	Warmblut	Wallach	16 Jahre
14	Warmblut	Wallach	17 Jahre
15	Warmblut	Wallach	9 Jahre
16	Pony	Wallach	8 Jahre
17	Warmblut	Wallach	13 Jahre
18	Warmblut	Wallach	7 Jahre
19	Warmblut	Stute	9 Jahre
20	Warmblut	Wallach	6 Jahre
21	Warmblut	Wallach	14 Jahre
22	Pony	Wallach	11 Jahre
23	Vollblut	Wallach	12 Jahre
24	Pony	Wallach	11 Jahre
25	Vollblut	Wallach	6 Jahre
26	Warmblut	Hengst	10 Jahre
27	Warmblut	Wallach	3 Jahre
28	Warmblut	Wallach	16 Jahre
29	Warmblut	Stute	11 Jahre
30	Warmblut	Stute	12 Jahre
31	Pony	Wallach	14 Jahre
32	Warmblut	Stute	7 Jahre

mittelgradige COB:

Pferd Nr.	Rasse:	Geschlecht:	Alter:
33	Warmblut	Stute	18 Jahre
34	Pony	Wallach	16 Jahre
35	Warmblut	Stute	6 Jahre
36	Warmblut	Wallach	9 Jahre
37	Warmblut	Stute	8 Jahre
38	Warmblut	Hengst	17 Jahre
39	Warmblut	Stute	18 Jahre
40	Warmblut	Stute	12 Jahre
41	Warmblut	Wallach	9 Jahre
42	Warmblut	Stute	14 Jahre
43	Kaltblut	Stute	11 Jahre
44	Warmblut	Wallach	13 Jahre
45	Warmblut	Wallach	13 Jahre
46	Warmblut	Stute	11 Jahre
47	Warmblut	Wallach	9 Jahre
48	Pony	Wallach	11 Jahre
49	Warmblut	Wallach	14 Jahre
50	Warmblut	Wallach	5 Jahre
51	Warmblut	Wallach	10 Jahre
52	Warmblut	Stute	6 Jahre
53	Warmblut	Stute	19 Jahre
54	Pony	Wallach	16 Jahre
55	Pony	Wallach	2 Jahre

hochgradige COB:

Pferd Nr.	Rasse:	Geschlecht:	Alter:
56	Warmblut	Stute	8 Jahre
57	Warmblut	Stute	18 Jahre
58	Pony	Wallach	15 Jahre
59	Warmblut	Hengst	17 Jahre
60	Pony	Wallach	29 Jahre
61	Warmblut	Wallach	10 Jahre
62	Warmblut	Stute	17 Jahre
63	Warmblut	Stute	12 Jahre
64	Warmblut	Wallach	10 Jahre
65	Pony	Stute	18 Jahre
66	Warmblut	Hengst	11 Jahre
67	Pony	Stute	4 Jahre
68	Warmblut	Stute	17 Jahre
69	Warmblut	Wallach	9 Jahre
70	Vollblut	Wallach	11 Jahre
71	Warmblut	Wallach	23 Jahre
72	Pony	Stute	11 Jahre

Tab. IIa: Atemkondensatmenge, Durchflussexpirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussexpirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der Pferde ohne besonderen Befund

Pferd Nr.	Atemkond. Menge (ml/10 min)	Durchflussexpir. Vol. (l/10 min)	% v.Vges.	Atemfreq. (/min)	Körperinnentemp. (°C)	Körpergewicht (kg)	Endosk. Befund (Scorep.)
1	0,72			20	37,9	730	4
2	0,59			16	37,2	637	5
3	0,98			16	37,8	460	2
4	1,20			34	37,6	620	1
5	0,60			12	37,0	645	3
6	0,90			30	37,9	532	1
7	0,57	54,50	4,5	12	37,6	500	0
8	0,83	48,75	3,8	16	37,8	482	2

Tab. IIb: Atemkondensatmenge, Durchflussexpirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussexpirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der geringgradig erkrankten Pferde

Pferd Nr.	Atemkond. Menge (ml/10 min)	Durchflussexpir. Vol. (l/10 min)	% v.Vges.	Atemfreq. (/min)	Körperinnentemp. (°C)	Körpergewicht (kg)	Endosk. Befund (Scorep.)
9	0,26	33,33	1,52	12	37,9	660	6
10	0,44	36,00	1,56	16	37,5	412	0
11	1,11	80,00	1,90	28	37,0	345	5
12		56,70	1,75	22	37,5	556	6
13	0,35	45,30	1,66	14	37,8	575	8
14	0,65	25,00	1,40	16	37,5	550	6
15	0,31	8,75	0,94	10	37,8	539	7
16	0,58	93,32	1,89	14	37,6	498	5
17	0,30	33,33	1,52	14	37,3	570	3
18	0,78	24,00	1,38	10	37,1	515	6
19	0,82	75,00	1,88	8	37,7	570	5
20	0,38	28,57	1,46	10	37,6	545	5
21	0,86	140,00	2,15	16	37,8	420	4
22	0,07	16,00	1,20	24	37,5	335	2
23	1,30			16	37,6	418	6
24	0,31			20	37,5	350	4
25	0,84			18	37,8	430	6
26	0,78			8	37,7	596	4
27	1,24			18	37,8	526	2
28	1,14			16	37,0	620	4
29	1,16			16	37,6	625	6
30	1,00			27	37,3	560	5
31	0,73			40	37,3	395	4
32	0,67			18	37,1	425	1

Tab. IIc: Atemkondensatmenge, Durchflussexpirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussexpirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der mittelgradig erkrankten Pferde

Pferd Nr.	Atemkond. Menge (ml/10 min)	Durchfluss- exspir.Vol. (l/10 min)	% v.Vges.	Atemfreq. (/min)	Körper- innentemp. (°C)	Körper- gewicht (kg)	Endosk. Befund (Scorep.)
33	0,67			26	37,3	561	2
34	1,34			22	37,8	362	8
35	1,19			10	37,7	595	8
36	0,93			18	37,6	658	8
37	1,09			22	37,0	560	6
38	2,30			18	37,8	665	7
39	1,79			16	37,2	607	8
40	0,57			16	37,4	550	8
41	1,06			24	37,8	540	7
42	0,45			16	37,7	658	6
43	1,13			24	37,7	710	8
44	1,30			24	38,0	560	6
45	1,62			20	37,2	650	7
46	0,72	56,80	3,84	24	37,5	525	7
47	0,81	59,00	4,96	24	37,4	451	7
48	1,17	72,00	8,00	16	37,0	374	8
49	0,03	32,80	3,10	8	37,2	500	6
50	0,83	62,00	3,99	18	37,8	640	8
51	0,25	33,33	2,57	20	37,5	556	6
52	0,16	125,00	10,56	20	37,7	570	6
53	1,03	9,11	0,55	18	37,6	535	7
54				17	37,3	233	8
55				16	38,2	477	6

Tab. IId: Atemkondensatmenge, Durchflussexpirationsvolumina, prozentualer Anteil des Durchflussexpirationsvolumens am Gesamtvolumen (% v.Vges.), Atemfrequenz, Körpertemperatur, Körpergewicht und Endoskopiebefunde (Scorepunkte) der hochgradig erkrankten Pferde

Pferd Nr.	Atemkond. Menge (ml/10 min)	Durchflussexspir. Vol. (l/10 min)	% v.Vges.	Atemfreq. (/min)	Körpertemp. (°C)	Körpergewicht (kg)	Endosk. Befund (Scorep.)
56	0,70	61,00	1,79	16	38,1	644	8
57	0,22	12,70	1,10	14	37,3	557	8
58	1,23	78,00	1,83	22	37,3	410	8
59	1,70	109,33	2,04	26	37,6	400	8
60	0,06	12,00	1,08	24	37,8	375	7
61	0,71	55,20	1,74	28	37,7	430	7
62	0,11			16	38,4	463	9
63	1,07			22	37,2	500	8
64	0,72			16	37,3	590	2
65	1,03			17	37,5	500	7
66	1,00			22	38,1	525	7
67	0,43			46	37,1	406	6
68	0,76			18	38,2	518	9
69	1,07			14	37,2	562	6
70	1,60			56	37,9	455	5
71				18	37,4	547	7
72				22	37,4	350	9

Tab. IIIa: Blutgasanalyse: P_aO_2 , P_aCO_2 , A-a DO_2 der Pferde ohne besonderen Befund und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)

Pferd Nr.	P_aO_2 (mm Hg)	P_aCO_2 (mm Hg)	A-a DO_2 (mm Hg)	RT (°C)	Lf (%)
1	101,7	44,4	1,7		
2	103,8	46,9	-3,4		
3	100,5	43,5	5,1		
4	93,4	44,0	10,8		
5	96,9	46,6	5,8		
6	101,3	44,0	3,8		
7	101,9	47,7	1,1	15	48
8	99,5	43,5	5,9	14	42

Tab. IIIb: Blutgasanalyse: P_aO_2 , P_aCO_2 , A-a DO_2 der geringgradig erkrankten Pferde und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)

Pferd Nr.	P_aO_2 (mm Hg)	P_aCO_2 (mm Hg)	A-aDO_2 (mm Hg)	RT (°C)	Lf (%)
9	96,4	50,7	1,12	18	55
10	79,1	47,1	22,04	17	51
11	100,0	42,8	7,15	17	47
12	106,2	41,3	0,92		
13	95,3	47,3	7,15	17	50
14	103,4	41,1	4,70	20	48
15	93,3	51,7	4,04	18	58
16	101,9	46,8	-0,93	16	48
17	91,2	48,8	11,76	14	36
18	91,1	46,8	8,34	17	35
19	92,1	45,3	9,34	15	60
20	93,6	49,9	2,94	16	50
21	88,5	44,33	13,90	16	50
22	87,3	47,3	9,99	15	46
23	96,2	51,3	0,20	17	40
24	97,0	40,0	11,26		
25	90,3	45,7	11,90	17	51
26	98,2	47,1	-0,39	15	40
27	108,8	49,1	-6,90		
28	98,3	45,9	5,50		
29	106,7	42,4	1,20		
30	97,4	45,4	7,40		
31	99,3	44,1	2,60		
32	99,4	47,3	2,90		

Tab. IIIc: Blutgasanalyse: P_aO_2 , P_aCO_2 , A-a DO_2 der mittelgradig erkrankten Pferde und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)

Pferd Nr.	P_aO_2 (mm Hg)	P_aCO_2 (mm Hg)	A-a DO_2 (mm Hg)	RT (°C)	Lf (%)
33	89,6	42,1	17,10		
34	99,1	41,4	7,73	21	59
35	69,4	42,6	35,70	15	32
36	82,9	46,6	16,78	15	40
37	66,2	45,8	37,2		
38	101,7	48,1	0,70		
39	93,3	44,6	12,80		
40	95,3	42,1	12,50		
41	113,5	44,1	-8,60		
42	90,5	42,8	16,00		
43	105,3	42,7	1,30		
44	80,2	45,5	19,80		
45	92,2	46,5	10,80		
46	91,4	43,9	14,90	20	68
47	89,9	51,4	5,26	18	30
48	90,6	43,3	12,88	17	59
49	86,3	46,0	17,35	16	60
50	90,5	49,7	9,00	18	56
51	88,3	43,9	13,05	17	35
52	84,8	42,6	19,34	16	60
53	78,2	43,3	24,77	18	65
54					
55	92,8	47,9	8,60		

Tab. IIIId: Blutgasanalyse: P_aO_2 , P_aCO_2 , A-a DO_2 der hochgradig erkrankten Pferde und Umgebungsbedingungen: Raumtemperatur (RT), Luftfeuchtigkeit (Lf)

Pferd Nr.	P_aO_2 (mm Hg)	P_aCO_2 (mm Hg)	A-a DO_2 (mm Hg)	RT (°C)	Lf (%)
56	73,1	47,7	28,18	15	57
57	92,5	42,8	14,47	17	54
58	68,6	48,3	32,26	19	58
59	85,9	46,5	16,14	15	40
60	64,8	52,0	31,99	18	58
61	64,6	47,2	36,28	21	56
62	63,0	43,2	44,15	19	60
63	82,0	42,6	23,80	16	48
64	86,7	45,6	18,20	15	30
65	98,9	44,2	7,75	14	46
66	79,6	48,2	19,70	16	65
67	81,1	36,9	31,00		
68	92,1	39,5	19,10		
69	83,7	46,6	20,40		
70	85,7	46,9	16,00		
71	89,6	50,5	8,44		
72	82,6	47,0	20,93		

Tab. IVa: Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz ($\Delta P_{pl\ max}$), Gesamtscore (Punkte) der Pferde ohne besonderen Befund

Pferd Nr.	V (l)	AMV (l/min)	Ast. (l/min)	R (cmH ₂ O/l/min)	C (l/cmH ₂ O)	$\Delta P_{pl\ max}$ (cmH ₂ O)	Ges.Score
1	7,28	145,60	528	0,0100	5,74	8,54	0
2	6,24	99,84	310	0,0058	6,27	4,19	1
3	6,32	101,12	188	0,0042	3,02	4,60	1
4	5,92	201,28	778	0,0122	3,50	11,56	1
5	11,20	134,40	168	0,0093	5,40	5,84	0
6	5,12	153,60	684	0,0026	1,06	6,40	1
7	10,08	120,96	460	0,0097	9,60	6,80	0
8	8,00	128,00	490	0,0041	8,79	3,08	1

Tab. IVb: Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz ($\Delta P_{pl\ max}$), Gesamtscore (Punkte) der geringgradig erkrankten Pferde

Pferd Nr.	V (l)	AMV (l/min)	Ast. (l/min)	R (cmH ₂ O/l/min)	C (l/cmH ₂ O)	$\Delta P_{pl\ max}$ (cmH ₂ O)	Ges.Score
9	6,40	76,80	188	0,0060	3,55	3,6	3
10	5,80	92,80	260				3
11	5,28	147,84	400	0,0093	4,69	6,26	3
12	7,44	163,68	368	0,0100	1,49	9,57	2
13	9,36	131,04	340	0,0082	19,36	4,30	3
14	7,20	115,20	380	0,0172	1,09	12,16	3
15	8,72	87,20	202	0,0213	6,47	6,90	3
16	9,20	128,80	280	0,0140	4,32	9,29	3
17	8,72	122,08	384	0,0095	5,54	8,54	3
18	11,68	116,80	288	0,0052	10,02	4,67	2
19	9,40	75,20	210	0,0280	3,95	10,81	3
20	9,04	90,40	200	0,0130	5,56	5,22	3
21	10,4	166,40	456	0,0090	4,38	8,05	3
22	5,84	93,44	236	0,0130	2,23	6,53	3
23	6,32	101,12	228	0,0057	6,15	3,10	2
24							2
25	6,00	108,00	342	0,0063	2,04	5,09	3
26	11,12	88,96	152	0,0087	3,80	7,07	2
27	1,72	30,96	180	0,0290	0,25	11,64	2
28							2
29	6,08	97,28	506	0,0087	3,88	6,96	2
30	2,96	79,92	386	0,0066	8,87	3,25	3
31	3,28	131,20	446	0,0037	4,04	2,70	2
32	4,96	89,30	420	0,0094	3,02	7,56	2

Tab. IVc: Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz ($\Delta P_{p,max}$), Gesamtscore (Punkte) der mittelgradig erkrankten Pferde

Pferd Nr.	V (l)	AMV (l/min)	Ast. (l/min)	R (cmH ₂ O/l/ min)	C (l/cmH ₂ O)	$\Delta P_{p,max}$ (cmH ₂ O)	Ges.Score
33	4,20	109,20	584	0,0100	3,13	9,36	4
34							5
35	8,56	85,60	192	0,0097	2,87	7,10	5
36	7,84	141,12	402	0,0031	3,32	4,19	6
37	7,44	163,68	514	0,0120	1,34	11,53	5
38	5,12	92,16	428	0,0038	3,04	5,80	4
39	9,50	152,00	628	0,0130	1,76	14,30	4
40	5,92	94,70	424	0,0120	1,34	7,47	5
41	4,00	96,00	448	0,0099	2,63	9,55	4
42							4
43	6,78	162,80	712	0,0085	3,40	9,90	4
44	5,12	122,88	504	0,0210	4,03	14,30	6
45	5,36	107,20	488	0,0061	2,65	5,60	4
46	6,16	147,84	560	0,0290	0,47	25,35	6
47	4,96	119,04	388	0,0136	2,04	7,23	5
48	5,60	89,60	248	0,0300	1,12	14,80	5
49	8,80	70,40	172	0,0140	9,47	3,25	4
50	8,64	155,52	487	0,0039	9,20	4,32	5
51	6,48	129,60	452	0,0014	7,42	2,30	5
52	5,92	118,40	348	0,0080	4,11	5,06	5
53	9,20	165,60	504				6
54	4,48	76,16	206	0,0400	2,88	15,00	3-5
55	5,76	92,16	326	0,0320	6,04	13,22	4

Tab. IVd: Lungenfunktionsanalyse: Atemzugvolumen (V), Atemminutenvolumen (AMV), Atemstromstärke (Ast.), Resistance (R), Compliance (C), maximale interpleurale Druckdifferenz ($\Delta P_{p,max}$), Gesamtscore (Punkte) der hochgradig erkrankten Pferde

Pferd Nr.	V (l)	AMV (l/min)	Ast. (l/min)	R (cmH₂O/l/ min)	C (l/cmH₂O)	$\Delta P_{p,max}$ (cmH₂O)	Ges.Score
56	6,32	101,12	382	0,0045	5,54	6,85	11
57	8,16	114,24	352	0,0197	3,03	14,36	8
58	5,28	116,16	426	0,0510	1,56	27,30	10
59	6,00	156,00	584	0,0020	6,7	2,78	8
60	4,32	103,68	372	0,0468	0,81	21,92	12
61	4,96	138,88	514	0,0100	4,73	6,69	10
62							8
63	5,52	121,44	432	0,0160	0,92	14,12	7
64	6,56	104,96	280	0,0090	3,9	6,17	7
65	7,70	131,47	242	0,0094	3,8	5,17	7
66	3,84	84,48	338	0,0213	1,04	10,04	7
67	3,20	147,20	612	0,0100	0,81	8,46	9
68	7,50	135,00	740	0,0230	12,5	25,24	12
69	7,44	104,16	484	0,0051	2,45	5,70	8
70	3,30	184,8	924	0,0100	1,35	12,84	12
71	6,00	108,00	438	0,0200	0,02	12,70	7
72	4,72	103,84	284	0,0300	0,03	14,09	7

Tab. V: Ergebnisse der Lungenfunktionsuntersuchung, der arteriellen Blutgasanalyse, der Körpertemperatur und des Körpergewichtes der Ponys, bei denen keine Atemkondensatgewinnung möglich war

Parameter	Einheit	Mittelwert s / SF	Minimum x_{\min}	Maximum x_{\max}
Atemzugvolumen (n = 3)	l	$x_a = 4,99$ $s = 0,68$	4,48	5,76
Atemminutenvolumen (n = 3)	l	$x_a = 90,72$ $s = 13,9$	76,16	103,84
Atemfrequenz (n = 3)	min ⁻¹	$x_a = 18,33$ $s = 3,21$	16	22
Resistance (n = 3)	cm H ₂ O/l/min	$x_g = 0,03$ SF = 1,17	0,02	0,04
Compliance (n = 3)	l/cm H ₂ O	$x_g = 2,45$ SF = 2,7	0,84	6,04
Max.Interpl.Druck (n = 3)	cm H ₂ O	$x_g = 14,08$ SF = 1,07	12,7	15
Atemstromstärke (n = 3)	l/min	$x_a = 272$ $s = 60,89$	206	326
P_aO₂ (n = 2)	mm Hg	$x_a = 87,69$ $s = 7,23$	82,57	92,8
P_aCO₂ (n = 2)	mm Hg	$x_a = 47,47$ $s = 0,66$	47	47,93
A-aDO₂ (n = 2)	mm Hg	$x_a = 14,77$ $s = 8,72$	8,6	20,93
Rektaltemperatur (n = 3)	°C	$x_a = 37,63$ $s = 0,49$	37,3	38,2
Körpergewicht (n = 3)	Kg	$x_a = 353,33$ $s = 122,03$	233	477

Tab. VI: Einfluss verschiedener interner und externer Parameter auf die Atemkondensatmenge

Parameter	Einheit	Mittelwert s / SF	Minimum x_{\min}	Maximum x_{\max}	Korrelat. (r)
Atemzugvol. (n = 63)	l	$x_a = 6,71$ $s = 2,17$	1,72	11,68	-0,221 n.s.
Atemmin.vol. (n = 63)	l	$x_a = 118,83$ $s = 31,08$	30,96	201,28	0,204 n.s.
Atemfrequenz (n = 68)	min^{-1}	$x_a = 19,53$ $s = 8,23$	8	56	0,238 *
Resistance (n = 61)	cm H ₂ O/l/min	$x_g = 0,0095$ SF = 2,04	0,0014	0,0468	-0,138 n.s.
Compliance (n = 61)	l/cm H ₂ O	$x_g = 3,16$ SF = 2,29	0,252	19,36	-0,202 n.s.
Max.Interpl.Druck (n = 60)	cm H ₂ O	$x_g = 7,08$ SF = 1,74	2,3	25,35	0,187 n.s.
Atemstromstärke (n = 63)	l/min	$x_a = 406,66$ $s = 164,5$	152	778	0,369 **
pO₂ (n = 68)	mm Hg	$x_a = 91,05$ $s = 11,5$	63	113,5	0,154 n.s.
pCO₂ (n = 68)	mm Hg	$x_a = 45,5$ $s = 3,05$	36,9	52	-0,016 n.s.
AaDO₂ (n = 68)	mm Hg	$x_a = 12,13$ $s = 11,08$	-8,6	44,15	-0,128 n.s.
Rektaltemperatur (n = 68)	°C	$x_a = 37,55$ $s = 0,32$	37	38,4	-0,042 n.s.
Körpergewicht (n = 68)	Kg	$x_a = 526,51$ $s = 95,12$	335	730	0,119 n.s.
Luftfeuchtigkeit (n = 40)	%	$x_a = 49,78$ $s = 10,1$	30	68	-0,154 n.s.
Raumtemperatur (n = 40)	°C	$x_a = 16,76$ $s = 1,85$	14	21	-0,003 n.s.

Tab. VII: Einfluss verschiedener interner und externer Parameter auf das Durchflussexpirationsvolumen

Parameter	Korrelationskoeffizient (r)
Atemzugvolumen (n = 30)	-0,108 n.s.
Atemminutenvolumen (n = 30)	0,298 n.s.
Atemfrequenz (n = 30)	0,225 n.s.
Resistance (n = 28)	-0,225 n.s.
Compliance (n = 28)	0,067 n.s.
Max.Interpl.Druck (n = 27)	0,054 n.s.
Atemstromstärke (n = 30)	0,278 n.s.
P_aO₂ (n = 30)	0,113 n.s.
P_aCO₂ (n = 30)	-0,226 n.s.
A-aDO₂ (n = 30)	-0,043 n.s.
Rektaltemperatur (n = 30)	0,013 n.s.
Körpergewicht (n = 30)	-0,09 n.s.
Luftfeuchtigkeit (n = 30)	-0,083 n.s.
Raumtemperatur (n = 30)	-0,177 n.s.

Danksagung

Ich danke an dieser Stelle meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. H.H.L. Sasse für die Überlassung des Themas, die gewährte freundliche Hilfe und Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit und für die lehrreiche Zeit in seiner Klinik, anfangs als Famulantin und später als Doktorandin, an die ich immer mit Freude zurückdenken werde.

Mein Dank gilt weiterhin Frau Dr. Kerstin Fey, die mit ihrer fachlichen Unterstützung, ihrer Hilfsbereitschaft und ihrem Ideenreichtum maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Bei den Mitarbeitern der FILT in Berlin, besonders bei Herrn Dr. G. Becher möchte ich mich für die Bereitstellung des Gerätes, ohne welches die Studie nicht möglich gewesen wäre, die fachkundigen Ratschläge und die wertvollen Anregungen bedanken.

Auch Frau Dr. Petra Reinhold vom Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin in Jena möchte ich für den Erfahrungsaustausch und die praxisrelevanten Ratschläge danken.

Ebenfalls meinen Dank möchte ich Herrn Dr. Failing aus der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung für die freundliche Unterstützung bei allen statistischen Fragen aussprechen.

Außerdem gilt mein Dank dem gesamten Team der inneren Abteilung für Pferde der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik, das ganz wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, denen die Arbeit gewidmet ist, und ohne deren Unterstützung mein Studium und die Erstellung dieser Dissertation nie möglich gewesen wäre.

Gießen im Herbst 2001

Sandra Schack