

Aus dem Berufsgenossenschaftlichen Forschungsinstitut für
Arbeitsmedizin

Institut der Ruhr-Universität Bochum (BGFA)

Direktor: Prof. Dr. med. T. Brüning

Einfluss akuter Veränderungen des Atemwegsdurchmessers auf
exhalierendes Stickstoffmonoxid

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

Victor Kirschmann

aus Bochum

2004

Dekan: Prof. Dr. med. Muhr
Referent: Prof. Dr. med. Merget
Koreferent: Prof. Dr. med. Koesling

Tag der Mündlichen Prüfung: 02.11.2004

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	4
1.1	Chemisch-physikalische Grundlagen der Stickstoffmonoxidmessung	9
1.2	Unspezifischer bronchialer Provokationstest	10
2	Patienten und Methoden	11
2.1	Kollektiv	11
2.2	Fragebogen	12
2.3	Stickstoffmonoxidmessung	12
2.4	Lungenfunktionsuntersuchungen	13
2.5	Methacholin-Provokationstest	15
2.6	Prick-Test und Immunglobulin E	18
2.7	Auswertung und statistische Methoden	18
3	Ergebnisse	19
3.1	exhaliertes Stickstoffmonoxid und	19
3.1.1	Stickstoffmonoxid in der Außenluft	19
3.1.2	Obstruktive Atemwegserkrankung, Allergie und Pricktest	19
3.1.3	Alter	23
3.1.4	Kortikosteroide	23
3.1.5	Raucherstatus	24
3.1.6	Immunglobulin E	25
3.2	Stickstoffmonoxidänderung während unspezifischer Provokation	26
4	Diskussion	34
5	Zusammenfassung	44
6	Literaturverzeichnis	45
7	Danksagung	59
8	Tabellarischer Lebenslauf	60

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
arith.	arithmetisch
BHR	Bronchiale Hyperreagibilität
CD	cluster designation
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CO ₂	Kohlendioxid
EGKS	Europäische Gemeinschaft für Kohle und Stahl 1993
FAD	Flavinadenindinukleotid
FEV ₁	Forciertes expiratorische Volumen, das innerhalb einer Sekunde ausgeatmet werden kann
FEV ₁ %Soll	Forciertes expiratorische Volumen, das innerhalb einer Sekunde ausgeatmet werden kann in Prozent des Sollwertes nach EGKS
FMN	Flavinmononukleotid
FRC	Funktionelle Residualkapazität
FVC	Forcierte Vitalkapazität
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
hν ^a	elektromagnetische Strahlung
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
MCH	Methacholin
min.	Minimum
max.	Maximum
MEF	Mean effort flow
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
NADPH ₂	Nikotinamidadenindinukleotidphosphat
NANC	nichtadrenerge, nichtcholinerge Nerven
neg.	negativ
eNO	exhalierendes Stickstoffmonoxid

NO	Stickstoffmonoxid
NO ₂	Stickstoffdioxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
O ₃	Ozon
PD ₂₀ FEV	Provokationsdosis bei einem 20% Abfall des FEV ₁
pos.	positiv
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
ppt	parts per trillion
SALB	Salbutamol
sR _t	spezifische Resistance totalis
sG _{aw}	spezifische Conductance
Th	T-Helferzellen
TNF	Tumornekrosefaktor
TLC	Totale Lungenkapazität
VC	Vitalkapazität
vs.	versus

1 Einleitung

Der Nachweis von NO im Exhalat von Tieren und Menschen erfolgte erstmals 1991 [33].

NO wird durch das in drei Isoformen vorliegende Enzym NO-Synthase (NOS) gebildet [81]. NOS benötigt 3 Substrate (L-Arginin, NADPH, O₂) und 5 Kofaktoren (FAD, FMN, Tetrahydrobiopterin, Calmodulin und Hämoglobin) [59, 91]. Neben der kalziumabhängigen endothelialen (eNOS, Typ III) und der neuronalen NO-Synthase (nNOS, Typ I), wurde die kalziumunabhängige induzierbare Isoform beschrieben (iNOS, Typ II), welche bis zu einer 1000-fach höheren Menge NO produzieren kann. Unter dem Einfluss proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , IFN- γ und TNF- α wird NO von unterschiedlichen Zellen wie Epithelzellen, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten [49,70] gebildet und kann unter anderem durch Endotoxine induziert werden [34, 58]. Von denselben Zellen werden im Rahmen inflammatorischer Prozesse große Mengen Superoxidanionen (O₂⁻) produziert, welche mit NO reagieren. Als Folge dieser Reaktion entsteht Peroxynitrit (ONOO⁻), das wiederum bronchokonstriktorische und proinflammatorische Wirkung besitzt [10]. NO scheint die Antwort auf Mediatoren und Allergene am Atemtrakt zu hemmen und ist ebenso wie sein Metabolit, S-Nitroso-Glutathion ein Bronchodilatator. Es inhibiert ferner die inflammatorische Kaskade einschließlich der Leukozytenaktivierung, -mobilisierung und -adhäsion. NO in nichtzytotoxisch geringen Konzentrationen beeinflusst aber auch die Balance zwischen Th₁- und Th₂-Lymphozyten, da es eine selektiv verstärkende Wirkung auf die Freisetzung von IFN- γ hat und damit die Wirkung der Th₁-Subpopulation fördert [18]. Auf diese Weise wird das Th₂-Zytokinprofil supprimiert. Letzteres inhibiert auch eine Eosinophilie (z.B. über IL-5-Minderung) [18,81,82].

Stickstoffmonoxid (NO) wird hauptsächlich im oberen Atemtrakt gebildet [40] und soll bei akuten Entzündungsreaktionen, z. B. nach viraler [21] oder bakterieller Infektion oder Inhalation von beruflichen Allergenen [2] vermehrt synthetisiert werden. Es kann beobachtet werden, dass eNO bei unbehandelten Asthmatikern erhöht ist [44,45,30,22] und nach Kortikosteroid- oder Montelukastgabe sinkt [44,45,72]. Ähnliche Ergebnisse finden sich auch bei Untersuchungen von Kindern [52,77]. Inkonsistente eNO-Befunde finden sich

bei Bronchiektasien [47, 37]. Andere Erkrankungen mit erhöhtem eNO finden sich beim systemischem Lupus erythematodes [71], bei Leberzirrhose [80] und bei der Lungentransplantatabstoßung [76]. Vermindertes eNO ist bei zystischer Fibrose [37], Infektion mit dem humanem Immunodefizienzvirus [50] und pulmonaler Hypertonie [68] beobachtet worden. Es gibt Hinweise, dass andere Parameter wie Eosinophilie im Sputum mit eNO korrelieren [41].

Die chronische Bronchitis und das Lungenemphysem werden als chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) zusammengefasst. Die chronische Bronchitis ist klinisch definiert: man versteht darunter eine Atemwegserkrankung mit persistierendem oder immer wieder auftretendem Husten und Auswurf an den meisten Tagen von mindestens drei Monaten während mindestens zwei aufeinander folgenden Jahren. Ätiologisch sind eine Reihe von endogenen wie exogenen Faktoren bekannt. Hierzu zählen der IgA-Mangel, Zigarettenrauchexposition, Industrieabgase und Infektionen. Die chronische Bronchitis beginnt meist in der vierten Lebensdekade und bevorzugt das männliche Geschlecht. Pathogenetisch geht sie mit einer chronischen Bronchiolitis, Dyskrinie mit Störung der mukoziliaren Selbstreinigung sowie Störung des Proteasen-Antiproteasen-Gleichgewichtes einher [27].

Unter Asthma versteht man eine variable und reversible Atemwegsobstruktion infolge Entzündung und vermehrter Reagibilität der Bronchien auf Allergene, physikalisch-chemische sowie neuropsychische Reize. Das Bronchialasthma setzt oft in der Kindheit ein und ist mit Heuschnupfen, Ekzem und Neurodermitis kombiniert (Formenkreis der Atopie). Dem Asthma liegt pathogenetisch ein hyperreagibles Bronchialsystem zugrunde. Es besteht in einer β_2 -Rezeptoreninsuffizienz mit Unvermögen der Bronchodilatation, einem Schleimhautödem und einer Dyskrinie [27].

Asthma und COPD haben teil- und zeitweise gemeinsame Symptome, wobei diese beim Asthma variabler sind. Die zugrunde liegende chronische Atemwegsentszündung ist ebenso unterschiedlich: beim Asthma dominieren überwiegend eosinophile Granulozyten sowie CD4-T-Lymphozyten während bei der COPD neutrophile Granulozyten, eine erhöhte Anzahl an Makrophagen und CD8-T-Lymphozyten nachweisbar sind. Weiter ist die Atemwegsobstruktion bei Asthma weitgehend reversibel, spontan oder nach Medikation, während sie bei COPD nie ganz reversibel ist und bei Persistenz der Noxe eine weitere

Progredienz zeigt [27]. Einen Überblick über die Unterschiede gibt folgende Tabelle wieder:

Tabelle 1: Unterschiede bei COPD und Asthma

	COPD	Asthma
Alter	> 35 Jahre	< 35 Jahre
Zellen	↑ neutrophile Granulozyten ↑ Makrophagen ↑ CD8-T-Lymphozyten	↑ eosinophile Granulozyten ↑ CD4-T-Lymphozyten Mastzellaktivierung
Mediatoren	IL-8, TNF- α	IL-4, IL-5
Therapie	Glucokortikoide haben wenig oder keinen Effekt	Glucokortikoide inhibieren die Entzündung

Chronisch obstruktive Lungenerkrankungen (COPD) mit chronischer Entzündung der Bronchialschleimhaut gehen mit der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen einher. Es wird vermutet, dass eNO bei chronisch obstruktiver Bronchitis oder Emphysem erhöht ist und mit der Schwere der chronischen Bronchitis und der Atemwegsobstruktion korreliert [42, 55]. Dies lässt vermuten, dass eNO ein geeigneter nicht invasiver Parameter für die Beurteilung entzündlicher Veränderungen der unteren Atemwege ist. Außerdem könnte die eNO-Messung zur Verlaufsbeobachtung bei COPD angewandt werden.

NO hat keinen oder nur einen sehr geringen systemischen Einfluß. Die autonome Innervation der Luftwege schließt cholinerge, adrenerge, und nichtadrenerge, nichtcholinerge Nerven (NANC) ein. Stimulation des NANC-Systems führt zu Bronchodilatation [13].

NO wird meist für die durch NANC-vermittelte Bronchodilatation bei Menschen verantwortlich gemacht [11]. Am Modell des allergischen Asthma wurde ein Defizit von eNO bei bronchialer Hyperreagibilität nach Provokation mit MCH beobachtet [20].

MCH konstringiert die Atemwege über direkte Aktivierung von muskarinischen Rezeptoren der glatten Muskulatur. Histamin hingegen provoziert eine Bronchokonstriktion durch direkte und indirekte Mechanismen [87, 88, 53, 23].

Zu Beginn dieser Studie lagen nur wenige verwertbare Untersuchungen vor, die Assoziationen zwischen eNO und Lungenfunktionsparametern untersuchten.

Während einige Autoren Zusammenhänge zwischen eNO und bronchialer Hyperreagibilität sehen [35,36,39], sehen andere in eNO einen unzuverlässigen Parameter zur Quantifizierung einer BHR [51,77]. Letztere verweisen auf Studien, die belegt haben, dass die bronchiale Hyperreagibilität mit einer Remodellierung der Bronchien einhergeht und ein gewisses Unvermögen zur Bronchodilatation besteht. Ichinose et al. zeigten, dass die Entzündungsparameter (eNO und Bradykininkonzentration im Sputum) sich umgekehrt proportional zum Atemwegsdurchmesser verhalten und dass bronchiale Hyperreagibilität mit dem Atemwegsdurchmesser korreliert.

Henriksen et al. sehen den Ursprung des gebildeten eNO's in den peripheren Bronchien, der unter Zuhilfenahme der Ventilationsszintigraphie untersucht wurde. Neben einer eNO-Minderung und einer parallel dazu gemessenen Reduzierung des ausgeatmeten CO₂ nach Provokation mit MCH wird der Ursprung des eNO zumindest in den peripheren Bronchien vermutet. Der Mechanismus der NO-Abgabe ist noch nicht ganz geklärt [36].

Der klinische Stellenwert der eNO-Messung ist bisher unklar. Von Interesse ist insbesondere die Erfassung von Frühformen des Asthma bronchiale oder anderer bronchialer Atemwegserkrankungen. Die Einführung dieser Methode als ein diagnostisches Instrumentarium erfordert zunächst Vergleichsuntersuchungen mit etablierten Verfahren.

Es ist unklar, welchen Einfluss eine akute Atemwegsveränderung auf das eNO hat. Neben der NO-Bildung bzw. NO-Abgabe können auch geometrische Faktoren eNO beeinflussen. Es ist möglich, dass durch die Applikation von MCH und der daraus resultierenden bronchialen Obstruktion Änderungen der geometrischen Verhältnisse eintreten, die die eNO-Konzentration beeinflussen. Die Gabe von Salbutamol (SALB) führt zu einer Bronchodilatation. Diese akute Änderung der Atemwegsgeometrie kann ebenso im Umkehrschluss eine Änderung des eNO bedingen. Es war das Ziel, anhand der eNO-Änderung im MCH-Provokationstest und nach Bronchodilatation mit Salbutamol Rückschlüsse auf die Atemwegsgeometrie ziehen zu können.

In dieser Arbeit sollte außerdem untersucht werden, wie viel Einfluss der Methacholin-Provokationstest auf eNO hat. Es war zu ermitteln, welcher Zusammenhang zwischen eNO-Wert und sR_t bzw. FEV_1 besteht.

Es sollte die Hypothese geprüft werden, ob eNO nach Provokation mit MCH sinkt, bzw. nach SALB ansteigt.

Andere Aspekte dieser Untersuchung zielen auf die Abgrenzung pathophysiologischer Faktoren ab, die an der Aktivierung und Abgabe von NO in das Exhalat maßgeblich beteiligt sind.

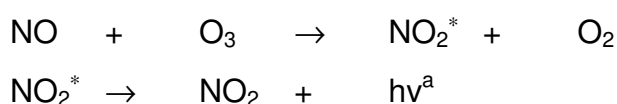
Zusätzlich sollten weitere potentielle Einflussfaktoren (wie Alter, Atopie, Raucherstatus, Kortikosteroidtherapie) beurteilt werden.

1.1. Chemisch-physikalische Grundlagen der Stickstoffmonoxidmessung

Stickstoffmonoxid ($\bullet\text{N}=\text{O}$) ist ein farbloses und geruchloses Gas, welches nur sehr schlecht wasserlöslich und sehr gut in Fett löslich ist. Es bildet sich bei verschiedensten Verbrennungsvorgängen durch Oxidation von Stickstoff in Luft, z.B. in Verbrennungsmotoren, Zigarettenrauch und bei Schweißarbeiten. Stadtbewohner sind täglich der NO-Umgebungsluft in einer Konzentration von 20-200 ppb ausgesetzt, während Konzentrationen in ländlicher Umgebung gewöhnlich 2 ppb aufweisen [29]. Unverdünnter Zigarettenrauch enthält zwischen 400-1000 ppm NO [60]. Die Toxizität von inhaliertem NO zu bestimmen ist sehr schwierig, da beim Luftkontakt NO mit O_2 reagiert und ein Dimer des noch toxischeren Stickstoffdioxids (NO_2), einem rötlich-braunem Gas bildet. Inhalation von 25 parts per million (ppm) eines Gemisches aus Stickstoffoxiden kann pulmonale Irritationen auslösen.

Höhere Dosen (100 ppm) von NO führen initial zu Irritationen und erst Stunden bis Tage später zu einem hämorrhagischen Lungenödem. 200 ppm können sich letal auswirken.

Das meist angewandte Verfahren der Stickstoffmonoxidmessung ist die Chemilumineszenz-Messmethode. NO ist ein Radikal (es hat ein ungepaartes Elektron) und reagiert mit einem Überschuss an Ozon (O_3). Dabei entsteht O_2 und NO_2 mit einem angeregten Elektron (NO_2^*). NO_2^* kehrt in den Grundzustand zurück und emittiert dabei elektromagnetische Strahlung ($h\nu^a$) mit einer Wellenlänge von 660-900 nm. Das emittierte Licht ist direkt proportional zu der NO-Konzentration. Die Strahlung wird von einem Photomultiplier in elektrische Signale umgewandelt und auf einem Display sichtbar gemacht [4].



Die Chemilumineszenz hat eine hohe Sensitivität: NO kann in einer Konzentration von einem part per billion (ppb) gemessen werden. Diese Technik ist einfach in ihrer Durchführung und erlaubt Online-Messungen von eNO direkt vor Ort.

1.2 Unspezifischer bronchialer Provokationstest

Es gibt eine Vielzahl verschiedener Methoden und Auswerteverfahren zur Objektivierung der bronchialen Hyperreagibilität (BHR) [8,15], die sich in der Praxis bewährt haben, so dass eine allgemein gültige Festlegung auf ein bestimmtes Verfahren zur Zeit nicht möglich ist. Die verschiedenen Methoden (pharmakologisch, chemisch oder physikalisch) können aber nur insoweit empfohlen werden, als ihre Aussagekraft anhand von Normalkollektiven bewertbar ist. Weiter ist ein Vergleich der mit anderen Untersuchungsmethoden (z.B. Kälteprovokationstest) und Provokationssubstanzen erzielten Ergebnisse nicht ohne weiteres möglich.

Für Routineuntersuchungen im Lungenfunktionslabor sind zur Testung der unspezifischen BHR pharmakodynamische Substanzen am besten geeignet, da eine dosisgenaue Applikation möglich ist und eine Konzentrations- bzw. Dosis-Wirkungs-Beziehung abgeleitet werden kann.

In der Klinik verwendet man neben Methacholin u.a. Acetylcholin, Histamin und Carbachol, für die zur Zeit keine Zulassung vom Bundesgesundheitsamt zur bronchialen Provokationstestung vorliegen. Von besonderer Beachtung für die Standardisierung des unspezifischen bronchialen Provokationstestes ist die reproduzierbare, dosisgenaue Applikation der Provokationssubstanz und die exakte lungenfunktionsanalytische Messung.

Bei den inzwischen obsoleten einstufigen Testverfahren muss beachtet werden, dass stark Überempfindliche nicht durch zu hohe Provokationsdosen gefährdet werden. Bei niedriger Dosierung nimmt die Sensitivität der einstufigen Tests ab. Mehrstufige Provokationsteste bieten prinzipiell die Möglichkeit, eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zu erfassen und die Provokationsdosis zu berechnen, die eine definierte Reaktion auslöst. Neben der Aussage, ob ein Patient bronchial hyperreagibel ist oder nicht, kann ein quantitatives Maß für die bronchiale Reagibilität erhoben werden.

Im Bronchodilatationstest müssen reversible Obstruktionen von irreversiblen Atemwegsobstruktionen durch Bestimmung von FEV_1 und Atemwegswiderstand vor und ca. 10 Minuten nach Inhalation von Bronchospasmolytika (Beta₂-Sympathikomimetika) abgegrenzt werden. Ein positiver Bronchodilatationstest liegt vor, wenn sich FEV_1 um mindestens 20% verbessert.

2 Methodik

2.1 Kollektiv

100 Gutachtenpatienten wurden im Zeitraum zwischen Februar 1998 und April 1999 untersucht.

Alle Patienten gaben Atembeschwerden mit Verdacht auf eine berufsbedingte obstruktive Atemwegserkrankung an. Gefragt wurde nach der allgemeinen Asthmaanamnese mit pfeifendem Atemgeräusch und Kurzatmigkeit, da diese Symptome am engsten mit einer bronchialen Hyperreagibilität (BHR) korrelieren [25]. Die Zuordnung zu einer manifesten obstruktiven Ventilationsstörung erfolgte nach folgenden Kriterien: $sR_t > 1,0 \text{ kPa}\cdot\text{s}$ und/oder $FEV_1 < 80\%$ Soll in der Basismessung. Es wurde aufgrund zu geringer Fallzahl auf eine Unterscheidung zwischen Asthma und COPD verzichtet.

Zur Kontrolle wurden 13 gesunde Probanden bzw. Normalpersonen aus dem medizinischen Personal rekrutiert.

Tabelle 2: Persönliche Daten der Probanden

	<i>BHR</i> ^{*6}	<i>keine BHR</i>	<i>INSGESAMT</i>
Anzahl	44	56	100
Alter (Jahre) ^{*1}	47,6 (24/73)	51,8 (15/78)	49,6 (15/78)
Raucherstatus ^{*2}			
Nieraucher	22	35	57
Exraucher	15	14	29
Raucher	6	7	13
Steroidmedikation			
topisch	7	11	18
systemisch	3	7	10
FEV_1 (%Soll)	89 (49/117)	97 (39/124)	93,5 (39/124)
sR_t ($\text{kPa}\cdot\text{s}$)	0,9 (0,5/1,3)	0,8 (0,4/1,3)	0,8 (0,4/1,3)
NO Außenluft (ppb) ^{*3}	19 (3/91)	23 (4/101)	21 (3/101)
IgE (kU/l) ^{*4}	185 (6/1581)	138 (4/843)	160 (4/1581)
Atopie (%) ^{*5} (n=25)	31% (n=14)	19% (n=11)	25% (n=25)

^{*1} = arithmetischer MW (min/max)

^{*2} = ein fehlender Wert

^{*3} = während der Messung

^{*4} = Median

^{*5} = Atopie: Reaktion auf mind. 1 Allergen; Quaddel $> 50\%$ der Histaminkontrolle

^{*6} = Der MCH-Provokationstest wurde positiv bewertet, wenn nach Durchführung des Tests bei einer kumulativen Dosis $\leq 0,456 \text{ mg MCH}$ eine Verdoppelung der spezifischen Resistance (sR_t) und ein Anstieg auf einen Wert von $\geq 2,0 \text{ kPa}\cdot\text{s}$ erreicht wurde.

Als Ausschlußkriterium galt eine akute oder kurz zurückliegende Infektion des Respirationstraktes innerhalb der letzten drei Wochen.

100 Patienten wurden untersucht, nachdem ihr Einverständnis eingeholt wurde.

2.2 Fragebogen

Die Probanden füllten einen Fragebogen aus, in dem Atemwegsbeschwerden/Krankheiten (Hustenreiz, Auswurf, akute/chronische Bronchitis, Erkältungskrankheiten, Asthma, Fließ-/Heuschnupfen, Kiefer-/Stirnhöhlenentzündung, Lungenentzündung) erfasst wurden.

Zusätzlich wurden alle Probanden weiteren Fragen unterzogen, die hinsichtlich der Stickstoffmonoxidgenese eine Bedeutung haben. So wurde nach der aktuellen Medikation (insbesondere Kortikosteroide), dem Raucherstatus und dem Vorhandensein von Allergien gefragt.

2.3 Stickstoffmonoxidmessung

Zur Überprüfung des NO-Gehaltes in der Ausatemluft setzten wir ein Chemilumineszenz-Analysegerät (Model ECO Physics CLD780 TR, ECO Physics, Dürnten, Schweiz) ein. Die Messbreite des Gerätes für NO beträgt 100 parts per trillion (ppt) bis 500 parts per billion (ppb) mit einem Auflösungsvermögen von 100 ppt (Verzögerungszeit < 0,5 Sekunden).

Der Analysefluss für alle Messungen beträgt 40 ml/s. Das Gerät wurde täglich einmal morgens vor den Messungen mit NO-freier Luft und einem Gasgemisch von 150 ppb NO in Stickstoff (Messer Griesheim, Deutschland) kalibriert. NO-Außenluft wurde jeweils vor den Messungen aufgezeichnet. NO wurde durch einen Nebenstrom abgeleitet.

Wir benutzten die Vorschläge der European Respiratory Society Task Force „Measurement of Nitric Oxide in Exhaled Air“ [46]. Vor Messbeginn nahm der Proband eine sitzende Position ein. Nach einer gründlichen Einweisung wurden die Messungen durchgeführt:

Es wurde durch den Mund bei zugehaltener Nase bis zur TLC eingeatmet und langsam gegen einen konstanten Druck von 20 mbar (sichtbar durch einen Druckmonitor vor dem Probanden) ausgeatmet, um ein Öffnen des Gaumensegels zu vermeiden. Der Proband atmete so lange aus, bis ein Plateau von mindestens 5 Sekunden erreicht wurde. Drei gültige Messungen waren notwendig, die sich um weniger als 10 % unterschieden. Anschließend wurde der Mittelwert der Ergebnisse gebildet. Zwischen den einzelnen Messungen verbrachten die Probanden mindestens 30 Sekunden in Ruheatmung, um einer Erschöpfung entgegenzuwirken.

2.4. Lungenfunktionsuntersuchung

Die asthmatische Sofort-Reaktion äußert sich messtechnisch in einer Erhöhung des Atemwegswiderstandes (sR_t) bzw. in einer Erniedrigung der Einsekundenkapazität (FEV_1). Die Messungen der Obstruktionsparameter können entweder spirometrisch (FEV_1) oder bodyplethysmographisch (sR_t) erfolgen. Vor allem Grenzbefunde können unter Zuhilfenahme beider Methoden beträchtlich sicherer beurteilt werden [31].

Zur Erfassung und Dokumentation der provokationsbedingten Obstruktion wurden verschiedenste Lungenfunktionsparameter verwendet und empfohlen. [26,38,48]. Für bronchiale Provokationsteste werden am häufigsten folgende Positivkriterien herangezogen:

- ein Abfall der FEV_1 um $\geq 20\%$ im Vergleich zum Ausgangswert [15,75]
- ein Abfall der spezifischen Conductance (sG_{aw}) um mehr als 50% des Ausgangswertes und gleichzeitig auf einen Wert von $\leq 0,5 \text{ (kPa*s)}^{-1}$ [74,75]
- Anstieg des R_t über $0,6 \text{ kPa*s/l}$ [38]
- eine Verdoppelung der spezifischen Resistance (sR_t) und Anstieg auf einen Wert von mindestens $\geq 2,0 \text{ kPa*s}$ [48]

Wegen des geringeren apparativen Aufwands und der befriedigenden Reproduzierbarkeit wird international inzwischen FEV_1 am häufigsten als

Obstruktionsparameter eingesetzt. Als signifikante bronchokonstriktorische Reaktion eines inhalativen Provokationstestes wird dabei bevorzugt ein 20%-iger Abfall der Einsekundenkapazität (FEV_1) angesehen [75].

Im deutschen Sprachraum haben sich als Obstruktionsparameter überwiegend die bodyplethysmographischen Messwerte etabliert. Ein großer Vorteil des bodyplethysmographischen Messverfahrens ist die weitgehende Unabhängigkeit von der Mitarbeit des Probanden und das Fehlen von Spirometrieasthma.

In der vorliegenden Arbeit wurden beide Parameter (FEV_1/sR_t) verwendet.

Unter Bezugnahme auf das international beim inhalativen Provokationstest bevorzugte Positivkriterium (20%-iger FEV_1 -Abfall) haben Schlegel et al. (1995) versucht, eine Äquivalenz der Veränderungen anderer Obstruktionsparameter zu ermitteln [74]. Einem 20%-igen FEV_1 -Abfall entsprechen demnach im statistischen Mittel folgende äquivalente prozentuale Veränderungen:

Parameter	äquivalente prozentuale Veränderungen
Atemwegswiderstand R_t	195% Anstieg
spezifische Conductance sG_{aw}	44% Abfall
MEF_{75} , MEF_{50} und MEF_{25}	30% Abfall

Die Atemwegswiderstände wurden mit einem druckkonstanten Bodyplethysmographen (MasterLab, Firma Jäger, Würzburg) gemessen. Initial erfolgte zunächst die Messung der Atemwegswiderstände und im direkten Anschluß daran die Spirometrie mit Aufzeichnung der Fluß-Volumen-Kurve (ebenfalls MasterLab). Die Messungen wurden in Anlehnung nach den Vorschlägen der American Thoracic Society „Standardization of Spirometry“ durchgeführt [3].

Qualität und Aussagekraft der Untersuchung hängen entscheidend von der Anleitung und Mitarbeit des Patienten ab. Der Ablauf der Untersuchung wurde deshalb zunächst dem Patienten eingehend erklärt. Die Untersuchung wurde in sitzender und entspannter Position durchgeführt. Die Nase wurde mit einer federnden Nasenklemme verschlossen und auf guten Sitz und Dichtigkeit wurde geachtet. Nach Aufforderung atmete der Patient ruhig und gleichmäßig bis zur Einstellung der Atemmittellage und Gewöhnung an die Apparatur. Nach

einem Probeatemmanöver atmete der Patient aus der Atemruhelage heraus nach Aufforderung langsam und entspannt maximal aus. Es folgte nun eine langsame Inspiration zur Ermittlung der inspiratorischen Vitalkapazität (VC). Nach einer kurzen Phase des Atemanhaltens, in der aus messtechnischen Gründen eine Umschaltung des Zeitvorschubes erfolgt, beendete eine maximal forcierte, vollständige Expiration zur Ermittlung der FEV₁ und der Flussgeschwindigkeiten die Messung. Es erfolgten mindestens drei Versuche, wobei die zwei besten VC- und FEV₁-Werte sich nicht um mehr als 5% (0,1l) voneinander unterscheiden durften. Bei größeren Abweichungen wurden die Messungen bis zu acht Versuchen wiederholt. Die Patientenmitarbeit wurde mitbewertet.

2.5 Methacholin-Provokationstest

Wichtig für die Reproduzierbarkeit ist unter anderem die Konstanz des Tröpfchenspektrums. Üblicherweise wird das Aerosol aus einer Stammlösung mit bekannter Konzentration generiert und entweder direkt aus dem Vernebler oder aus einem Reservoirbeutel inhaliert.

Methacholin wurde mittels der Reservoirmethode [8] während langsamer tiefer Atemzüge über ein Mundstück verabreicht. Der Vernebler besteht aus einer Düse mit nachgeschalteter Prallfläche, wo größere Partikel abgeschieden werden. Die Vernebelung ergibt ein Partikelspektrum, bei dem 86% der vernebelten Tröpfchen kleiner als 2 µm und 99% kleiner als 5 µm vorliegen. Für die inhalative Anwendung sind Teilchengrößen mit einem mittleren aerodynamischen Massendurchmesser von 0,5 bis 10 µm interessant, da sie in den oberen Atemwegen nicht wesentlich abgefiltert werden und noch genügend Provokations-Substanzmenge transportieren. Tröpfchen, welche einen kleineren Durchmesser als 0,3 µm haben, werden zu einem großen Teil wieder exhalieret. Es ist davon auszugehen, dass während eines langsamen Inspirationsmanövers vom Residualvolumen bis zur inspiratorischen Totalkapazität und bei einem aerodynamischen medianen Massendurchmesser der Tröpfchen zwischen 2-5 µm eine intrabronchiale Deposition zwischen 30 und 60% erreicht wird. Das günstigste Tröpfchenspektrum für eine optimale

bronchiale Deposition wird durch Düsenvernebler erreicht [54]. Sämtliche Methacholin-Provokationen erfolgten mit dem Düsenvernebler Pari-Provokationstest® II der Firma Medanz, Starnberg.

Die Methacholinlösung wurde zweimal täglich erneuert, um zu verhindern, dass durch Verdunstung die Konzentration unkontrolliert ansteigt. Es wurde eine Menge von ca. 0,085 ml Provokationslösung pro Minute vernebelt. Dieses Aerosol wurde in einen Beutel mit bis zu 10 Liter Fassungsvermögen geleitet. Danach wartete man 1 Minute, so dass große Partikel absedimentieren konnten. Dann wurde über einen Dreiwegehahn der Luftweg zu dem Mundstück freigegeben.

Die ausgeatmete Luft leitete man über ein expiratorisches Ventil durch einen wirksamen Atemluftfilter ab, so dass kein MCH in die Umgebung gelangte. Vor der Provokation und ca. 2 Minuten nach letzter Teststufe erfolgten bodyplethysmographische und spirometrische Lungenfunktionsmessungen. MCH wurde nach einem 4-Stufen-Schema folgendermaßen verabreicht:

Tabelle 3: Provokationsschema mit MCH

Teststufe	1	2	3	4
Einzeldosis* [mg]	0,03	0,061	0,122	0,243
Kumulative Dosis [mg]	0,03	0,091	0,213	0,456

* Die Dosis ist hierbei mit der Dosis am Mund des Probanden definiert

Der MCH-Provokationstest wurde positiv bewertet, wenn nach Durchführung des Tests bei einer kumulativen Dosis $\leq 0,456$ mg MCH eine Verdoppelung der spezifischen Resistance (sR_t) und ein Anstieg auf einen Wert von $\geq 2,0$ kPa*s erreicht wurde.

Nach positiver Reaktion erfolgte eine Bronchodilatation mit 0,2 mg Salbutamol (Epaq®).

O'Connor et al. schlagen für die Betrachtung größerer Kollektive und für epidemiologische Studien die Berechnung der Steigung der Dosis-Wirkungs Kurve vor und definieren diese wie folgt [62]:

$$\text{dose-response slope} = D_{\max} / \Delta R$$

$D_{\max}$ ist die maximal verabreichte Dosis der Provokationssubstanz und ΔR die Änderung des Obstruktionsmaßes über den gesamten Test, also $R_{\max} - R_0$.

Im dose-response slope wird die bronchiale Antwort auf eine Provokation (z.B. Anstieg des sR_t) gegen die verabreichte Menge der Provokationssubstanz in einer linearen Skala aufgetragen. Der Quotient aus Dosis und erzielter Wirkung drückt das Ausmaß der bronchialen Reagibilität aus.

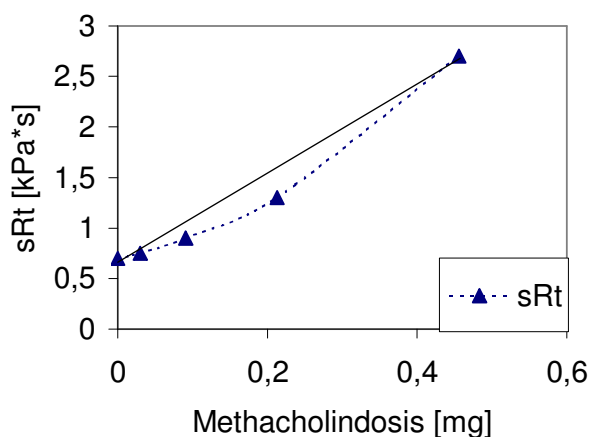


Abbildung 1: dose-response slope ist die Anstiegsteilheit einer Geraden von der basalen Messung bis zum Punkt der maximalen Reaktion. Diese Gerade kennzeichnet die sogenannte bronchiale Reagibilität auch bei denjenigen, welche die Schwellenreaktion bzw. die Schwellendosis nicht erreichen.

O'Connor et al. wiesen nach, dass der Verlauf des dose-response slope eng mit der MCH-Dosis korreliert, welche einen 20%-igen Abfall der Einsekundenkapazität (FEV_1) verursacht.

2.6 Prick-Test und Immunglobulin E

Für den Nachweis einer Sensibilisierung gegenüber Umweltallergenen vom Sofort-Typ mittels Pricktest wurden die Allergenextrakte der Firma Alk-Scherax, Arzneimittel GmbH, Hamburg eingesetzt. Pricktestreaktionen wurden am Unterarm der Probanden gemessen. Histaminhydrochlorid (1 mg/ml) und Kochsalzlösung wurden als Positiv- und Negativkontrolle eingesetzt. Die Quaddel wurde nach 20 min in den beiden größten senkrecht zueinander stehenden Quaddeldurchmesser gemessen. Die Ergebnisse wurden im Verhältnis der Histaminkontrolle bewertet. Ein Test wurde positiv gewertet, wenn die Quaddel mindestens 50% der Histaminkontrolle entsprach.

Es folgte eine quantitative Bestimmung des Gesamt IgE im Serum in kU/l durch die Pharmacia AutoCAP Analyse (Pharmacia, Freiburg, Deutschland).

2.7 Auswertung und statistische Methoden

Die statistischen Berechnungen wurden mit dem StatXact Statistikpaket (Version 4, Cytel Software Corp., Cambridge, Massachusetts, USA) durchgeführt. Ein p-Wert $\leq 0,05$ wurde als statistisch signifikant erachtet. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney- und Korrelationen innerhalb einer Gruppe mit dem Spearman-Rang Korrelations-Test durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Exhaliertes Stickstoffmonoxid und

3.1.1 Außenluft

Bei allen Messungen erfolgte die Aufzeichnung der NO-Außenluftkonzentration. Der Median der NO-Konzentration in der Außenluft betrug 12,2 ppb [min 2,8/max 101]. Wie in Abb. 2 besteht eine schwache Korrelation zwischen eNO und NO-Außenluftkonzentration ($r=0,25$; $p=0,04$).

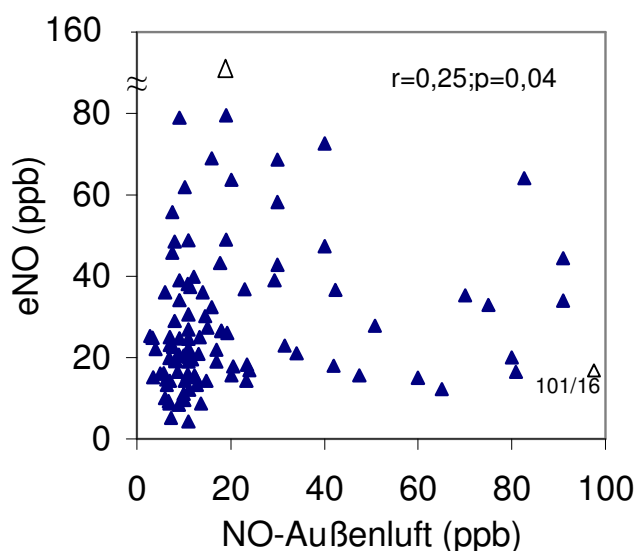


Abbildung 2: Datenverteilung und Korrelation von eNO und NO-Außenluftkonzentration (n=100). Schwache Korrelation zwischen eNO und NO-Außenluftkonzentration.

3.1.2 Obstruktive Atemwegserkrankung, Allergie und Pricktest

Von den 100 mit MCH provozierten Patienten wurden 74 einem Pricktest (Standard) unterzogen. Zwischen positivem und negativem Testbefund gibt es keine Korrelation, allerdings zeigen die Testpositiven eine höhere Variabilität, sind aber im Mittel gegenüber den Testnegativen nicht verschieden (Median: 25,3 [75%/25%-Quartil: 55,8/15,6] vs. 24,9 ppb [75%/25%-Quartil: 35,3/16,2]; Abb. 3).

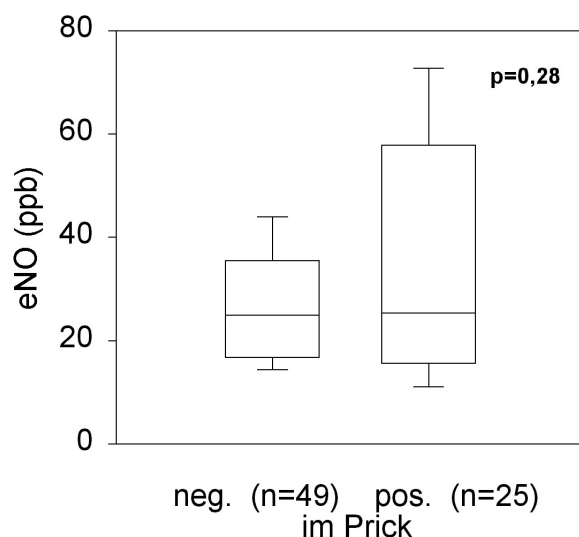


Abbildung 3: Boxplot des eNO bei 74 Patienten im Pricktest (Standard).

Dargestellt sind Median, Interquartilbereich mit oberer 90%-Perzentile und unterer 10%-Perzentile ohne Ausreißer.

Auch bei Betrachtung der Anzahl positiver Befunde im Pricktest pro Person gibt es keine Assoziation zwischen eNO und multiplen Sensibilisierungen ($r=0,04$; $p=0,42$; Abb. 4).

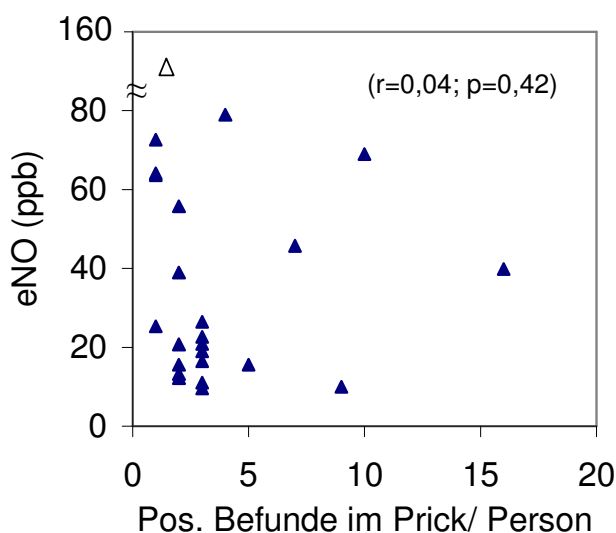


Abbildung 4: Datenverteilung und Korrelation von eNO und der Anzahl positiver Befunde im Pricktest pro Person. Es gibt keine Assoziation zwischen eNO und multiplen Sensibilisierungen. Gezeigt sind die Daten aller Patienten, die im Pricktest positiv gewertet wurden ($n=25$).

Die unterschiedlichen eNO-Konzentrationen zwischen Patienten mit einer manifesten obstruktiven Ventilationsstörung und Normalpersonen sind in Abb. 5 wiedergegeben. Es wurde aufgrund zu geringer Fallzahl auf eine Unterscheidung zwischen Asthma und COPD verzichtet. Patienten mit einer

obstruktiven Ventilationsstörung haben deutlich höhere eNO-Werte, welche auch eine höhere Variabilität als Normalpersonen zeigen. Der Median liegt bei den bronchial Obstruktiven um 24,2% höher gegenüber den Werten der Normalpersonen (Median: 23,6 [75%/25%-Quartil: 42/14,5] vs. 17,9 ppb [75%/25%-Quartil: 18,7/14]).

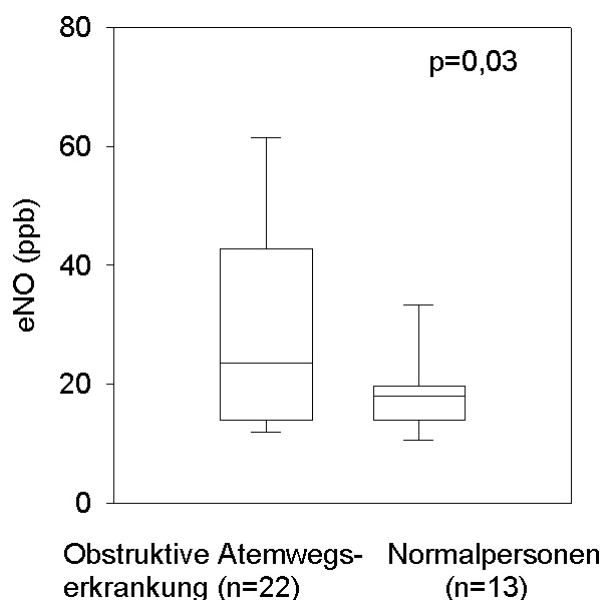


Abbildung 5: Boxplot des eNO bei obstruktiver Atemwegserkrankung und Normalpersonen im Vergleich. Bronchial obstruktive Probanden haben höheres eNO als Normalpersonen. Dargestellt sind Median, Interquartilbereich mit oberer 90%-Perzentile und unterer 10%-Perzentile ohne Ausreißer. Normalpersonen wurden aus dem medizinischen Personal rekrutiert.

Keinen signifikanten Unterschied gibt es bei Patienten mit und ohne BHR, bei denen man eine Sensibilisierung (d.h. im Pricktest ≥ 1 Reaktion) feststellen konnte zu denen ohne Sensibilisierung (Median: 38,9 [75%/25%-Quartil: 55,8/19,1] vs. 26,6 ppb [75%/25%-Quartil: 42,6/19] sowie 21,4 [75%/25%-Quartil: 30,3/14,3] vs. 20 ppb [75%/25%-Quartil: 27,8/16,1]; Abb. 6 und 7). Es imponiert ein deutlicher Unterschied zwischen den Probanden mit Sensibilisierung und den Normalpersonen ($p < 0,01$) in beiden Gruppen: dabei haben die bronchial Hyperreagiblen mit Sensibilisierungen gegenüber den Normalpersonen ein um das zweifache erhöhtes eNO (BHR positiv: 38,9 [75%/25%-Quartil: 35,8/19,1] vs. 17,9 ppb [75%/25%-Quartil: 18,7/14]; BHR negativ: 20 [75%/25%-Quartil: 27,8/16,1] vs. 17,9 ppb [75%/25%-Quartil: 18,7/14]). Es besteht eine Assoziation bei den nichtsensibilisierten Probanden mit BHR und den Normalpersonen (26,6 [75%/25%-Quartil: 42,6/19] vs. 17,9

ppb [75%/25%-Quartil: 18,7/14]), hingegen nur eine schwache Assoziation bei denen ohne BHR ($p < 0,05$) (20 [75%/25%-Quartil: 27,8/16,1] vs. 17,9 ppb [75%/25%-Quartil: 18,7/14]). Normalpersonen wurden aus dem medizinischen Personal rekrutiert.

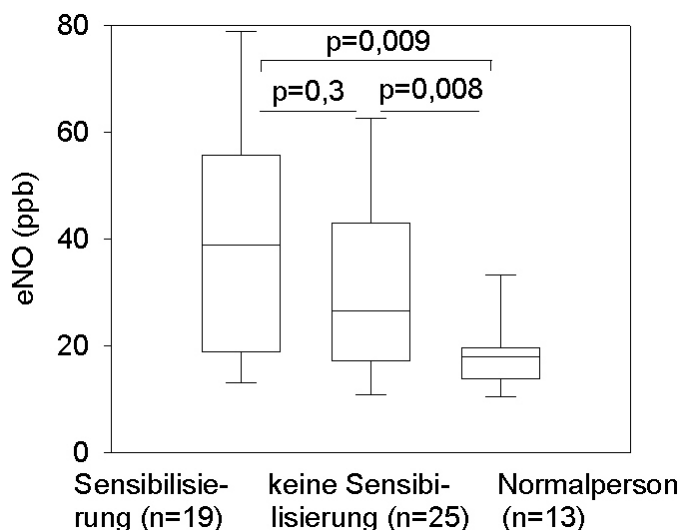


Abbildung 6: Boxplot des eNO unter Berücksichtigung von Sensibilisierung (d.h. im Pricktest ≥ 1 Reaktion) und BHR. Keinen signifikanten Unterschied gibt es bei Patienten mit BHR, bei denen man eine Sensibilisierung feststellen konnte zu denen ohne Sensibilisierung. Bronchial hyperreagible Probanden mit und ohne Sensibilisierung haben erhöhtes eNO gegenüber Normalpersonen.

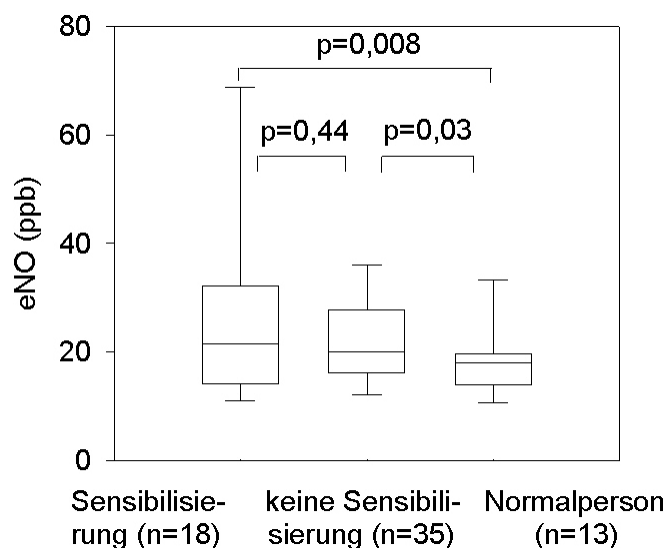


Abbildung 7: Boxplot des eNO unter Berücksichtigung von Sensibilisierung (d.h. im Pricktest ≥ 1 Reaktion) ohne BHR. Keinen signifikanten Unterschied gibt es bei Patienten ohne BHR, bei denen man eine Sensibilisierung feststellen konnte zu denen ohne Sensibilisierung. Nicht bronchial hyperreagible Probanden mit und ohne Sensibilisierung haben erhöhtes eNO gegenüber Normalpersonen.

3.1.3 Alter

Zwischen eNO und dem Alter besteht kein Zusammenhang ($r=0,09$; $p=0,35$; Abb. 8).

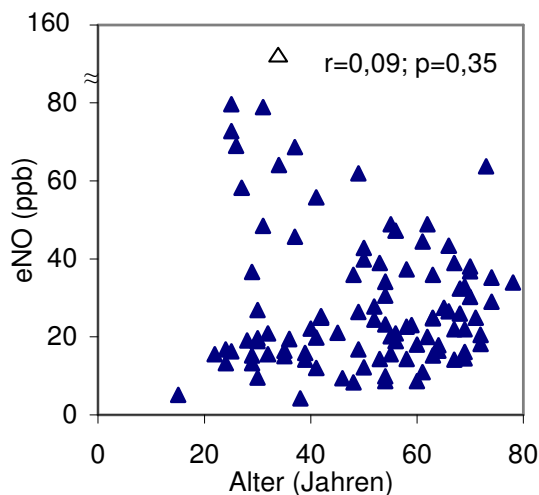


Abbildung 8: Datenverteilung und Korrelation von eNO und Alter (n=100).
Es ist kein Zusammenhang zwischen eNO und dem Alter ersichtlich.

3.1.4 Kortikosteroide

Es gibt keine Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne Kortikosteroid-medikation (21,9 [75%/25%-Quartil: 35,7/15,9] vs. 23,0 ppb [75%/25%-Quartil: 36,8/16,1]; Abb. 9). Patienten, denen Kortikosteroide verabreicht wurden, bekamen diese lokal und/oder systemisch.

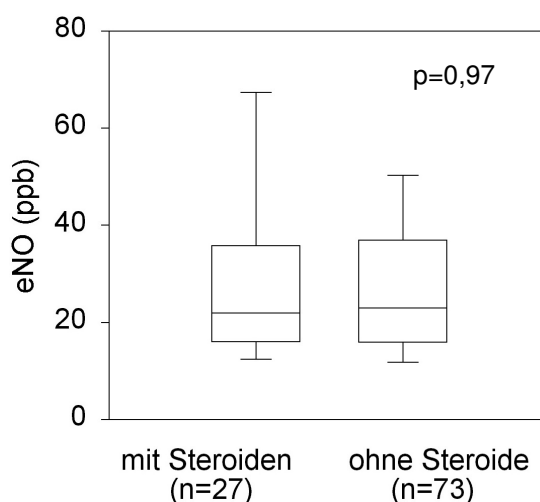


Abbildung 9: Boxplot des eNO bei Probanden mit und ohne Steroidmedikation.
Dargestellt sind Median, Interquartilbereich mit oberer 90%-Perzentile und unterer 10%-Perzentile ohne Ausreißer.

3.1.5 Raucherstatus

Raucher haben keine niedrigeren eNO-Werte als Nichtraucher (19,8 [75%/25%-Quartil: 36,5/13,3] vs. 22,8 ppb [75%/25%-Quartil: 37,4/16,3]; Abb. 10).

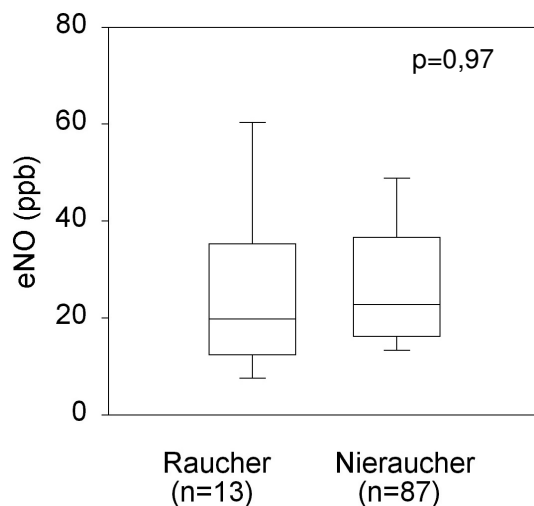


Abbildung 10: Boxplot des eNO bei Rauchern und Nichtrauchern. Raucher hatten kein niedrigeres eNO als nicht Nichtraucher. Dargestellt sind Median, Interquartilbereich mit oberer 90%-Perzentile und unterer 10%-Perzentile ohne Ausreißer.

Auch scheint die Höhe des eNO's unabhängig von der Menge an lebenslang gerauchten Zigaretten zu sein (Abb. 10). Packyears werden wie folgt berechnet: (Anzahl Zigaretten/Tag/20 x Jahre) für alle Raucher.

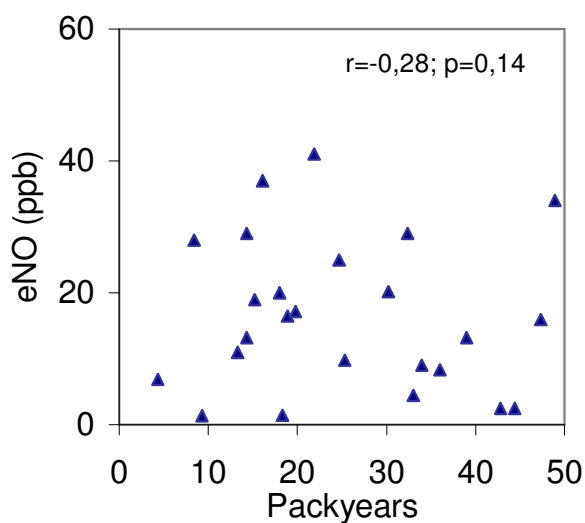


Abbildung 11: Datenverteilung und Korrelation von eNO und Packyears (n=25). Keine Korrelation zwischen eNO und Packyears.

3.1.6 Immunglobulin E

Zwischen eNO und gesamt IgE im Serum besteht keine Korrelation.

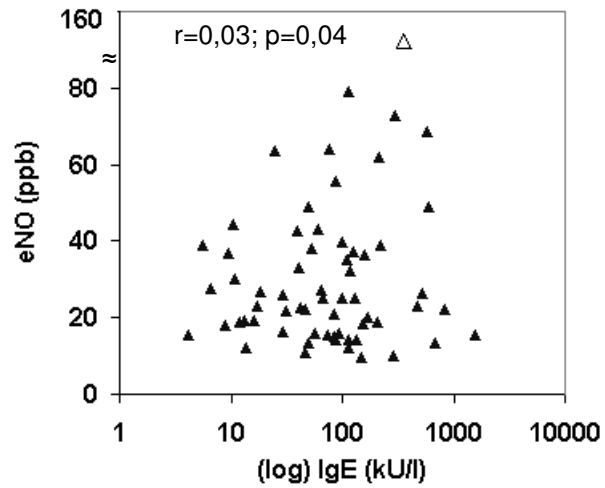


Abbildung 12 : Datenverteilung und Korrelation von gesamt IgE im Serum und eNO (n=64). Die Konzentration von gesamt IgE im Serum ist logarithmisch dargestellt.

3.2 Stickstoffmonoxidänderung während unspezifischer Provokation

Die bronchial Hyperreagiblen zeigen höhere Werte vor dem Test (29,9 [75%/25%-Quartil: 46/19] vs. 20,5 ppb [75%/25%-Quartil: 28,4/15,7]), nach Provokation mit MCH (24,4 [75%/25%-Quartil: 40,3/15] vs. 18,7 ppb [75%/25%-Quartil: 25,8/12,7]) und nach Bronchodilatation als die Nichthyperreagiblen (27 [75%/25%-Quartil: 43,9/15,7] vs. 18,2 ppb [75%/25%-Quartil: 26,8/12,9]; Abb. 13).

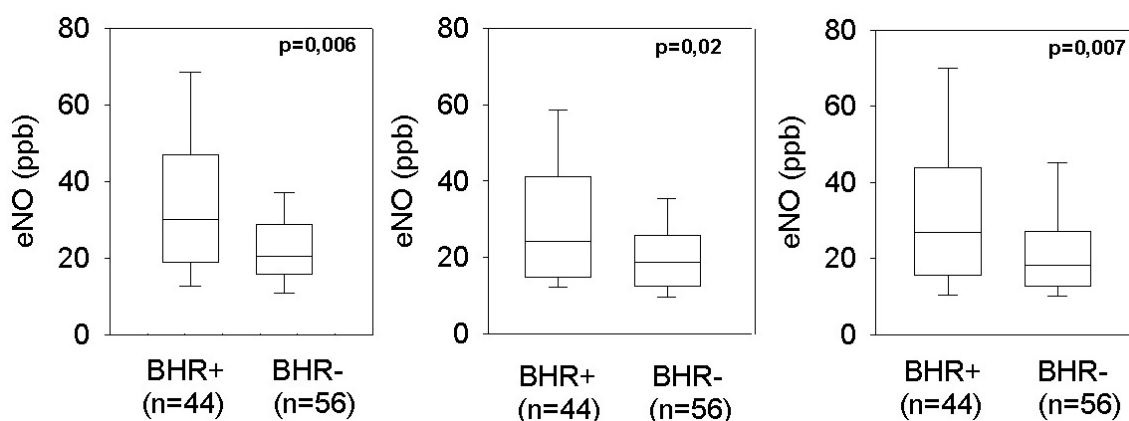


Abbildung 13: eNO vor MCH (a), nach MCH (b) und nach SALB (c) im Vergleich. Bronchial Hyperreagible haben höhere Ausgangswerte als die Nichthyperreagiblen. Die bronchial Hyperreagiblen zeigen höhere Werte vor dem Test, nach Provokation mit MCH und nach SALB als die Nichthyperreagiblen. Dargestellt sind Median, Interquartilbereich mit oberer 90%-Perzentile und unterer 10%-Perzentile ohne Ausreißer.

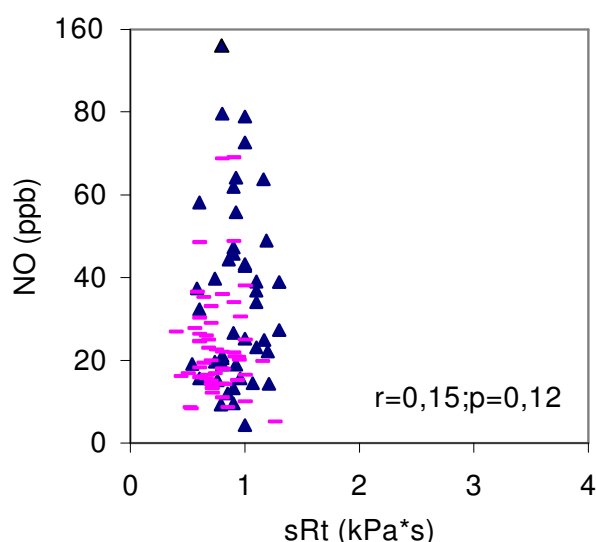


Abbildung 14a: Datenverteilung und Korrelation von eNO und sR_t vor MCH-Provokation. Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, ▲ = BHR positiv.

Bei Betrachtung des Obstruktionsparameters sR_t und eNO vor MCH kann keine Assoziation gefunden werden ($r=0,15$; $p=0,15$; Abb. 14a). Auch bei der Korrelation von eNO und sR_t nach MCH sowie nach SALB kann keine Assoziation beobachtet werden ($r=0,15$; $p=0,12$; Abb. 14b und $r=0,18$; $p=0,08$; Abb. 14c).

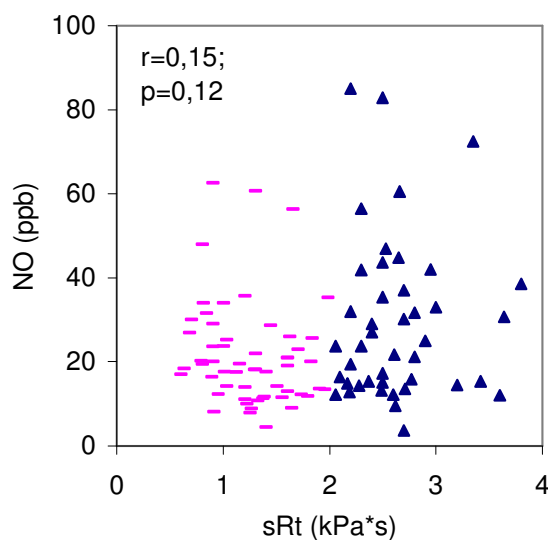


Abbildung 14b: Datenverteilung und Korrelation von eNO und sR_t nach MCH.

Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar.
Strich = BHR negativ, $\blacktriangle$ = BHR positiv.

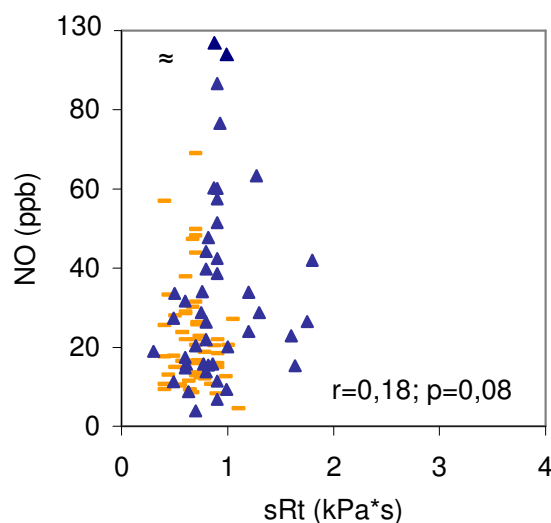


Abbildung 14c: Datenverteilung und Korrelation von eNO und sR_t nach Bronchodilatation

Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar.
Strich = BHR negativ, $\blacktriangle$ = BHR positiv.

Hingegen zeigt sich, dass die bronchial Hyperreagiblen nach Provokation mit MCH größere eNO-Differenzen gegenüber den Nichthyperreagiblen aufweisen. Es imponiert niedrigeres eNO nach Applikation von MCH bei den bronchial Hyperreagiblen als im Vergleich zu den Nichthyperreagiblen. Der Grad des eNO-Abfalls hängt mit der Stärke der Obstruktion (sR_t) zusammen (Abb. 15a). Im Vergleich zur Basismessung treten nach Bronchodilatation keine statistisch signifikanten NO-Veränderungen auf (Abb. 15b).

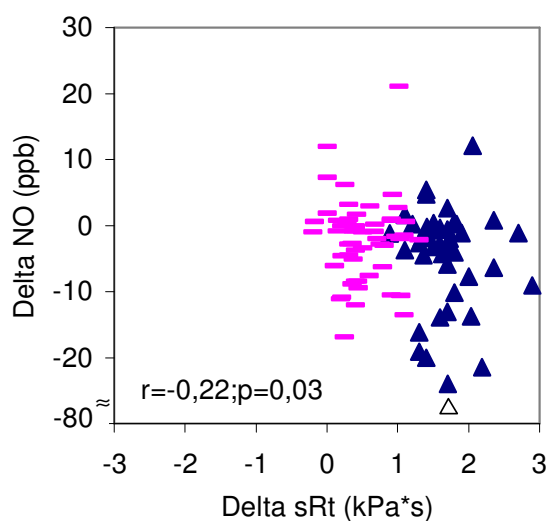


Abbildung 15a: Datenverteilung und Korrelation von Delta eNO und Delta sR_t von MCH/Basis. Je stärker die Obstruktion, um so größer ist der NO-Abfall. Bei den bronchial Hyperreagiblen sind stärkere Differenzen zu sehen. Strich = BHR negativ, $\blacktriangle$ = BHR positiv, Delta sR_t = Differenz des sR_t vor und nach Provokation mit MCH, Delta NO = Differenz des NO vor und nach Provokation mit MCH.

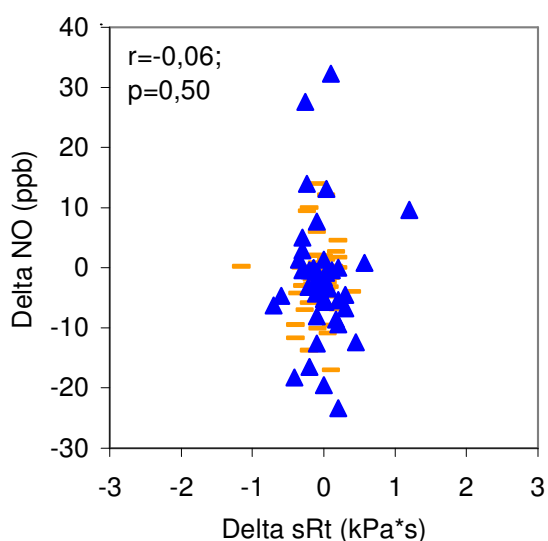


Abbildung 15b: Datenverteilung und Korrelation von Delta eNO und Delta sR_t von SALB/Basis. Es ist kein Zusammenhang zwischen beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, $\blacktriangle$ = BHR positiv, Delta sR_t = Differenz des sR_t vor Provokation mit MCH und nach Bronchodilatation, Delta NO = Differenz des NO vor Provokation mit MCH und nach SALB.

Bei den bronchial Hyperreagiblen lässt sich im Vergleich zu den Nichthyperreagiblen eine größere NO-Steigerung nach Bronchodilatation feststellen (Abb. 15c). Es zeigt sich höheres eNO nach Applikation von SALB bei den bronchial Hyperreagiblen. Der Grad der eNO-Erhöhung hängt mit der Stärke der Bronchodilatation zusammen.

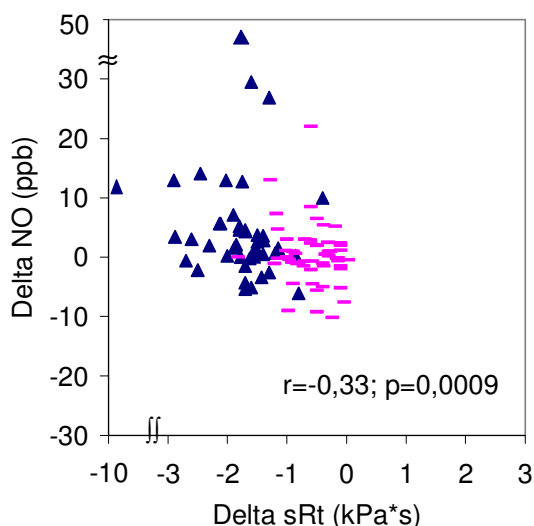


Abbildung 15c: Datenverteilung und Korrelation von Delta eNO und Delta sR_t von SALB/MCH. Bronchial Hyperreagible haben nach SALB eine größere eNO-Steigerung als Nichthyperreagible. Strich = BHR negativ, ▲ = BHR positiv, Delta sR_t = Differenz des sR_t nach Provokation mit MCH und nach Bronchodilatation, Delta NO = Differenz des NO nach Provokation mit MCH und nach SALB.

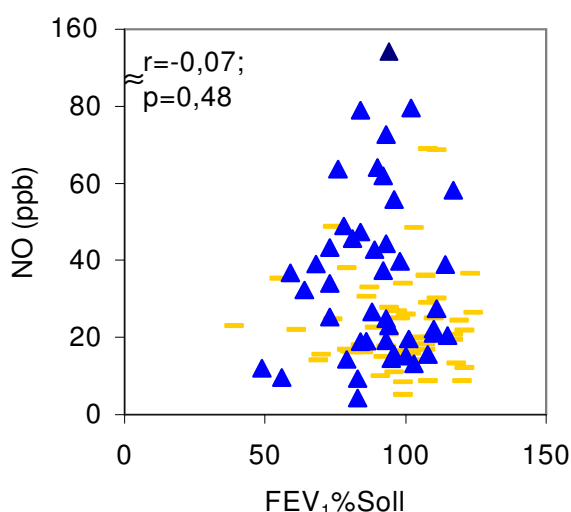


Abbildung 16a: Datenverteilung und Korrelation von eNO und FEV₁% Soll vor MCH. Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, ▲ = BHR positiv.

Bei dem Obstruktionsparameter FEV_1 lassen sich keine Assoziationen zwischen eNO vor Provokation (Abb. 16a), nach MCH und nach SALB erkennen (Abb. 16b und c).

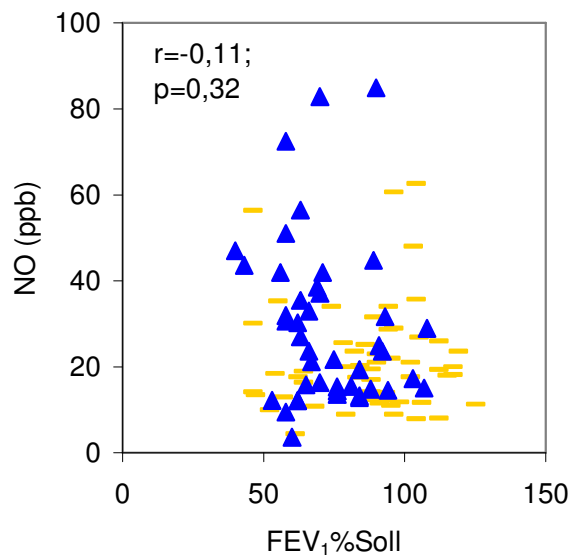


Abbildung 16b: Datenverteilung und Korrelation von eNO und $FEV_1\% \text{ Soll}$ nach MCH. Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, $\blacktriangle$ = BHR positiv.

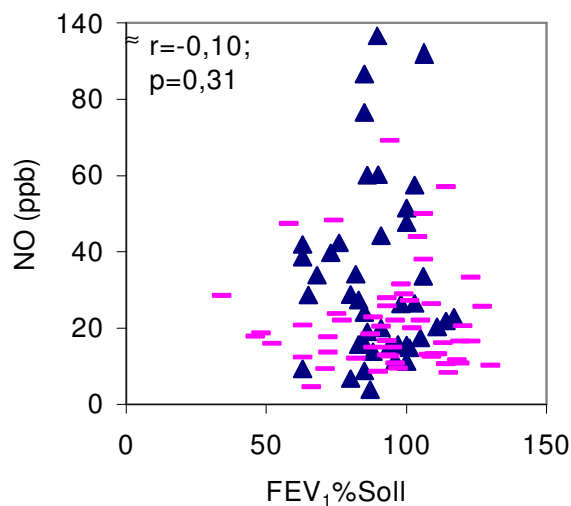


Abbildung 16c: Datenverteilung und Korrelation von eNO und $FEV_1\% \text{ Soll}$ nach SALB. Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, $\blacktriangle$ = BHR positiv.

Es ist kein Zusammenhang zwischen Delta eNO und Delta FEV₁%Soll von MCH/Basis (Abb. 17a), und SALB/Basis zu erkennen (Abb. 17b).

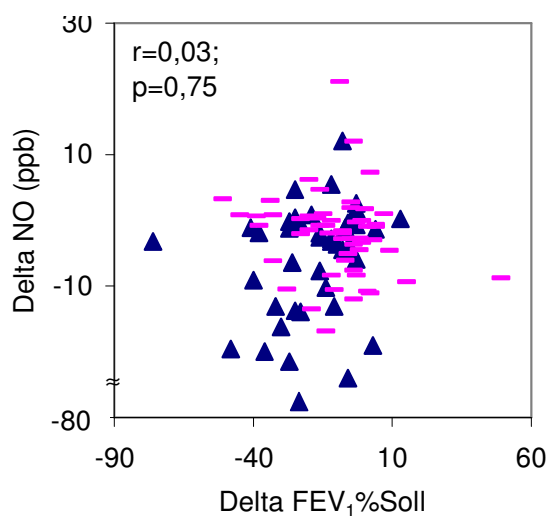


Abbildung 17a: Datenverteilung und Korrelation von Delta eNO und Delta FEV₁%Soll MCH/Basis. Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, ▲ = BHR positiv, Delta FEV₁ = Differenz des FEV₁ vor und nach Provokation mit MCH, Delta NO = Differenz des NO vor und nach Provokation mit MCH.

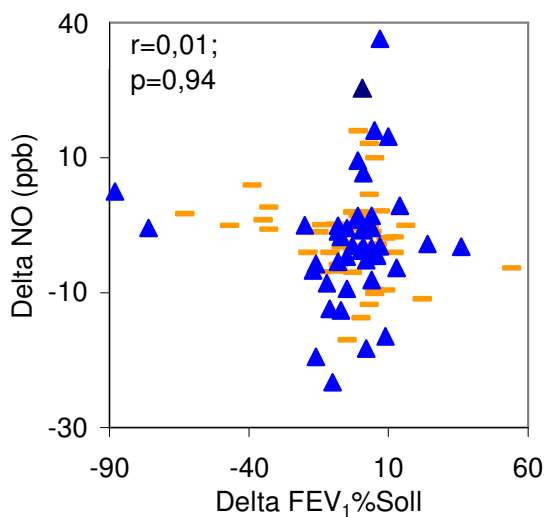


Abbildung 17b: Datenverteilung und Korrelation von Delta eNO und Delta FEV₁%Soll SALB/Basis rechts. Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, ▲ = BHR positiv, Delta FEV₁ = Differenz des FEV₁ vor Provokation mit MCH und nach SALB, Delta NO = Differenz des NO vor Provokation mit MCH und nach SALB.

Es ist keine Assoziation bei Delta eNO und Delta FEV₁%Soll von SALB/MCH zu beobachten ($p=0,87$).

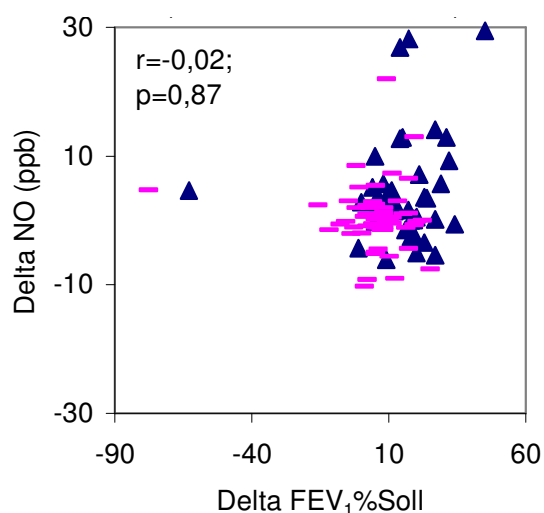


Abbildung 17c: Datenverteilung und Korrelation von Delta eNO und Delta FEV₁%Soll von SALB/MCH. Es ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern erkennbar. Strich = BHR negativ, ▲ = BHR positiv, Delta FEV₁ = Differenz des FEV₁ nach Provokation mit MCH und nach Bronchodilatation, Delta NO= Differenz des NO nach Provokation mit MCH und nach SALB.

Bei Betrachtung der dose-response slope fällt auf, dass nach Provokation mit MCH der Abfall des eNO's mit der bronchialen Reagibilität schwach korreliert (Abb. 18a). Die dose-response slope nach SALB bzw. von SALB/Basis zeigt keine statistisch signifikanten Änderungen (Abb.18 b, c).

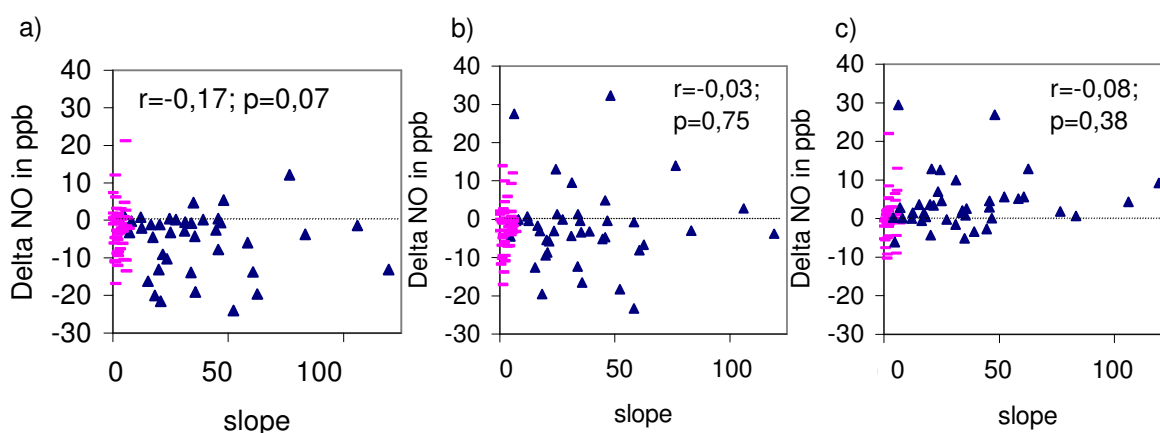


Abbildung 18: Datenverteilung und Korrelation von dose-response slope und Delta NO (MCH/Basis) (a), Delta NO (SALB/Basis) (b) und Delta NO (SALB/MCH) (c). Strich = BHR negativ, ▲ = BHR positiv

Bronchial Hyperreagible haben um bis zu 30% höhere eNO-Ausgangswerte gegenüber den Nichthyperreagiblen (Median: 29,9 [75%/25%-Quartil: 46/19] vs. 20,5 ppb [75%/25%-Quartil: 28,4/15,7]). Zudem zeigen sie nach MCH einen Abfall von circa 18,4% (Median: von 29,9 [75%/25%-Quartil: 46/19] auf 24,4 ppb [75%/25%-Quartil: 40,3/15])(Abb. 19a). Nach Bronchodilatation erhöht sich eNO um 10,7% auf 27 ppb [75%/25%-Quartil: 43,9/15,7]).

Bei den Nichthyperreagiblen ist eine mäßige eNO-Erniedrigung von circa 8,8% (Abb. 19 b) nach MCH zu finden (Median: von 20,5 [75%/25%-Quartil: 28,4/15,7] auf 18,7 ppb [75%/25%-Quartil: 25,8/12,7]). Keine signifikanten Veränderungen zeigen sich nach SALB bei den Nichthyperreagiblen (Median: 18,2 [75%/25%-Quartil: 26,8/12,9]).

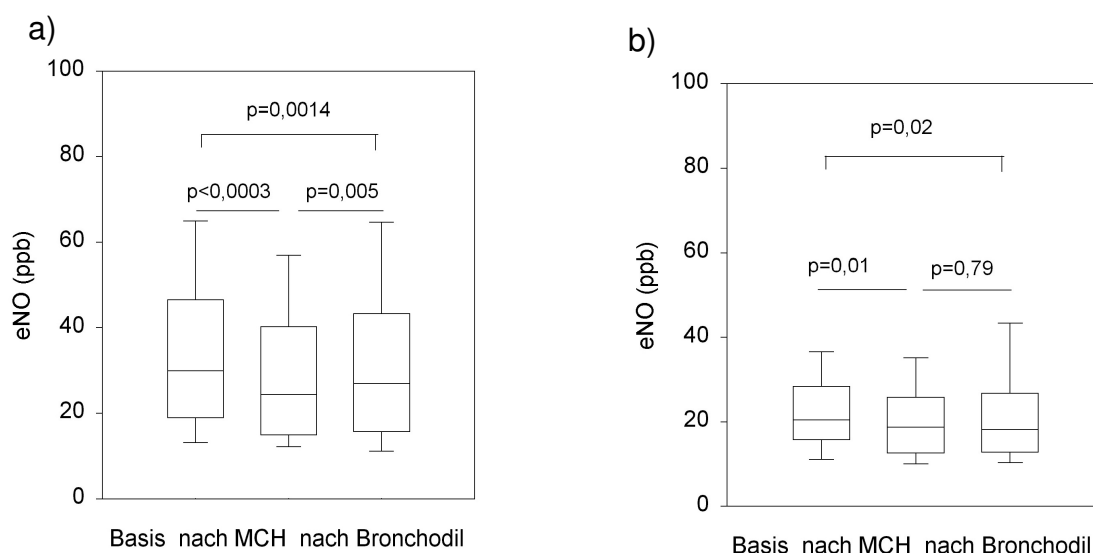


Abbildung 19a+b: eNO nach MCH und SALB bei den bronchial Hyperreagiblen links (n=44) und bei den Nichthyperreagiblen rechts (n=56). Die bronchial Hyperreagiblen haben nach MCH einen größeren eNO-Abfall als die Nichthyperreagiblen. Nach SALB ist eine eNO-Erhöhung bei den bronchial Hyperreagiblen zu verzeichnen. Bei den Nichthyperreagiblen gibt es keine statistisch signifikanten Veränderungen nach SALB.

4 Diskussion

Es war bisher unklar, welchen Einfluss akute Atemwegsveränderungen auf das eNO haben. Es ist möglich, dass geometrische Faktoren, die durch Obstruktion oder Dilatation der Atemwege bedingt sind, eNO beeinflussen. Es wurde in dieser Studie geprüft, ob eine durch MCH bedingte Obstruktion bzw. eine durch SALB bedingte Bronchodilatation, Einfluss auf eNO hat. In dieser Arbeit wurde ferner untersucht, welchen Aussagewert die unspezifische inhalative Provokationstestung auf die eNO-Messung hat, d.h. inwieweit eNO nach Provokation mit MCH sinkt, bzw. nach SALB ansteigt. Es war das Ziel, anhand von bekannten Parametern der Atemwegsgeometrie Rückschlüsse auf die eNO-Konzentration zu erhalten.

Betrachtet wurden Faktoren, von denen vermutet wird, dass sie maßgeblich einen Einfluss auf das eNO haben bzw. dass sie an der Aktivierung und Abgabe von eNO maßgeblich beteiligt sind.

4.1.1 Außenluft

Einige Autoren vermuten einen Zusammenhang zwischen exhalierter Atemluft und NO-Außenluftkonzentration. Therminarias et al. [84] sehen ab 20 ppb Außenluftkonzentration einen linearen Zusammenhang zwischen Außenluft und eNO, während Corradi et al. [16] einen Zusammenhang ab 35 ppb vermuten. Deykin et al. [22] fanden erst bei Konzentrationen oberhalb von 40 ppb in der Umgebungsluft einen Zusammenhang. Allerdings muss hinzugefügt werden, dass diese Arbeitsgruppe nur 3 Probanden untersuchte.

Die Arbeitsgruppe von Piacentini et al. [65] hingegen erhielt ganz andere Ergebnisse, die bei ihrer Studie keinen Zusammenhang zwischen NO in der Außen- und Ausatemluft sah.

In unserer Studie stieg die NO-Außenluftkonzentration in 17 Fällen über 30 ppb. Es ließ sich kein Unterschied zwischen der Gruppe mit einer NO-Außenluft von größer 30 ppb gegenüber der Gruppe mit einer NO-Außenluftkonzentration von kleiner 30 ppb feststellen. Insgesamt sahen wir eine allenfalls geringe Assoziation zwischen exhalierter Ausatemluft und NO-Außenluft. Die NO-

Außenluft wies über den gesamten Test eines einzelnen Patienten einen stabilen Wert auf. Daher ist anzunehmen, dass es bei den eNO-Messungen und damit auch bei den Berechnungen der NO-Differenzen im MCH-Test keine relevanten Verschiebungen bzw. Einflüsse gegeben hat.

4.1.2 Obstruktive Atemwegserkrankung, Allergie und Pricktest

Asthmatiker hatten, wie andere Autoren schon berichteten [22, 30, 34, 44, 45, 77], gegenüber Normalpersonen erhöhte basale eNO-Werte. In dieser Untersuchung fiel auf, dass Patienten mit manifester obstruktiver Ventilationsstörung unter Ruhebedingungen mehr NO exhalierten als Normalpersonen. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit denen, die Ludviksdottir et al. [51] beschrieben. Zu berücksichtigen ist hier, dass in dieser Studie aufgrund zu geringer Fallzahl keine Unterscheidung zwischen Asthmatikern und Patienten mit COPD getroffen wurde.

eNO könnte möglicherweise als sensitiver Marker zur Detektion und zur Verlaufsbeobachtung einer chronisch obstruktiven Bronchitis genutzt werden. Es kann mit Sicherheit die anderen etablierten Untersuchungsmethoden nicht ersetzen, aber eine Ergänzung erscheint hier sinnvoll.

Keinen Einfluss scheint die Koexistenz von Sensibilisierungen gegenüber Umweltallergenen zu haben. Es zeigt sich, dass das Vorliegen von Sensibilisierungen in Kombination mit bronchialer Hyperreagibilität kein höheres eNO bedingt als in der Vergleichsgruppe ohne Sensibilisierungen. Eine mögliche Erklärung wäre hier die heterogene Auswahl des Patientengutes. Dies zeigt sich im Vergleich zu den Normalpersonen. Ein höheres eNO bei Vorliegen von Sensibilisierung in Kombination mit bronchialer Hyperreagibilität wäre durch folgenden Sachverhalt denkbar:

Bei allergischer Rhinitis kann die Provokation mit dem Allergen zu Mastzelldegeneration und Freisetzung von proinflammatorische Mediatoren wie Histamin, Tryptase, Prostaglandin D₂, Plättchenaktivierungsfaktor und Leukotrienen führen [19]. Diese Mediatoren wirken lokal auf benachbarte Zellen, Nerven und Gefäße, die charakteristische Zeichen und Symptome hervorrufen: Schleimhautentzündung, Niesen, Juckreiz, Rhinorrhoe und

Dyspnoe. Plasmaexsudation ist ebenso ein Zeichen einer Sofortreaktion. Bei Asthma sind die Entzündungsreaktionen der Bronchialschleimhaut ähnlich, die ebenso zu charakteristischen Symptomen führen: Husten, Sekretion, Dyspnoe und Brustschmerzen.

Die oben genannten Symptome zählt man allgemein zu der Früh- bzw. Sofortreaktion.

Asthmapatienten zeigen typische Symptome ihrer Erkrankung, die in einer progressiven bronchialen Obstruktion resultieren kann.

Während der Spätreaktion besteht ein Zustrom von proinflammatorischen Zellen (basophile und neutrophile Granulozyten, Lymphozyten, Makrophagen und insbesondere eosinophile Granulozyten). Es kommt zu einer Freisetzung von sekundären Entzündungsmediatoren wie das eosinophile kationische Protein (ECP) und Zytokine [19, 64].

Dies führt zu einer erhöhten Reaktion gegenüber dem Allergen, aber auch gegenüber unspezifischen Reizen (z.B. kalte Luft).

Bei diesem Zustand reichen geringe Mengen des Allergens oder eines unspezifischen Reizes aus, um eine Reaktion im Sinne einer Frühreaktion wie oben beschrieben auszulösen. Zytokine spielen eine besondere Rolle, da sie die Ausschüttung und Aktivierung der Eosinophilen steuern.

Man vermutet, dass die Eosinophilen und ihre Produkte mitverantwortlich für die Hyperreagibilität sind, die insbesondere nach Spätreaktionen gesteigert ist [86]. Es ist denkbar, dass die Erhöhung des eNO's der bronchialen Obstruktion entgegenwirkt.

Tang und Mitarbeiter [72, 83] konnten bei Atopikern mit Asthma eine höhere Anzahl an Zellen wie z.B. eosinophile Granulozyten und Makrophagen, die wiederum IL-5 produzierende T-Zellen stimulieren, in der bronchoalveolären Lavage darstellen als bei Nichtatopikern. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Mitsunobu und Mitarbeiter [57], die einen prozentual höheren Anteil an basophilen Zellen ausmachten und bei Atopikern größere Mengen an Histamin aus bronchoalveolären Zellen feststellten.

In dieser Untersuchung wiesen Atopiker im Vergleich zu Nichtatopikern im Mittel keine eNO-Unterschiede auf, dennoch zeigten sie eine höhere Variabilität. Eine mögliche Antwort bietet folgende Erklärung, die sich auf histopathologische Untersuchungen bei Entzündung der Bronchialschleimhaut

bei atopischen Patienten ohne Asthma [24] stützt: eNO könnte bei subklinischer Entzündung und Induktion der iNOS durch Zytokine mit leicht erhöhten Werten einhergehen.

Franklin und Mitarbeiter [28] beschrieben eine Abhängigkeit des eNO's von einem positivem Pricktest und der Anzahl von Hautreaktionen, bei der sich sogar bei zwei und mehr Hautreaktionen die eNO-Konzentration verdoppelte. Als potentielle Ursachen werden von Franklin 1) unabhängige Effekte der Atopie auf die eNO-Produktion, 2) Verbindungen zwischen Atopie und Mutationen, verantwortlich für erhöhte NO-Produktion und 3) Mutationen der NO-Synthetase (Gene liegen auf dem Chromosom 17 [61]), die in Atopie resultieren, diskutiert [28]. Schließlich bleibt ungeklärt, ob ein Zusammenhang zwischen Atopie und einer Genmutation besteht. Falls dies der Fall sein sollte, ist unklar durch welche Mechanismen es verursacht wird.

4.1.3 Alter

Es gab keine Assoziation zwischen dem Alter des Patienten und dem eNO. Dies deckt sich mit den Ergebnissen wie sie auch Wildhaber et al. [89] beschrieben hat. eNO scheint somit kein Parameter zu sein, an dem Hinweise auf ein Alterungsprozess abzulesen sind.

4.1.4 Kortikosteroide

Es wird eine Minderung des eNO's durch Induktionshemmung der iNOS in Epithel- und Entzündungszellen durch Glucokortikoide vermutet [7]. Es könnte von einem direkten Effekt des Transkriptionsfaktors abhängen, wie z.B. des nuclear faktor- kappa B (NF- κ B), welcher eine Erhöhung der Transkription der iNOS Gene ermöglicht, oder durch Synthesehemmung der proinflammatorischen Zytokine, wie Interleukin-1 β und Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α), die selbst wiederum die iNOS induzieren [1, 92]. Die Reduzierung einer inhalierten Steroiddosis führt zu einer Erhöhung von proinflammatorischen

Zytokinen und hat möglicherweise einen direkten Effekt auf eine Induktion von Transkriptionsfaktoren, welche die iNOS stimulieren.

Im Gegensatz zu Barnes et al. [7] und Kharitonov et al. [44], die vermindertes eNO bei Einnahme von Kortikosteroiden fanden, ergaben sich bei diesen Untersuchungen keine Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne Kortikosteroidmedikation. Eine mögliche Ursache könnte in der Tatsache liegen, dass die Behandlung mit Kortikosteroiden der Patienten „insuffizient“ war, so dass sich eNO-Werte wiederfinden lassen, die sich von Patienten ohne Medikation nicht unterscheiden lassen. Eine andere Möglichkeit stellt die Selektion des ausgewählten Patientengutes dar, wobei nur Patienten mit Verdacht auf eine berufsbedingte obstruktive Atemwegserkrankung ausgewählt wurden. Schließlich sind keine direkt vergleichenden Untersuchungen mit Messungen vor und nach Kortikosteroidgabe durchgeführt worden.

Dieses kann letztlich nur experimentell ermittelt werden, da Selektionseffekte nicht auszuschließen waren. Da kein experimentelles Design gewählt wurde und nur 28 Probanden eine Medikation erhalten haben, kann hier nur eine eingeschränkte Beurteilung erfolgen, um einen Einfluss von Kortikosteroiden auf eNO zu evaluieren.

4.1.5 Raucherstatus

In dieser Studie konnten keine niedrigeren eNO-Werte bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern festgestellt werden. Hierbei fällt die größere Streuung bei den Rauchern auf. Dies mag ebenso durch die geringe Fallzahl (n=13 Raucher) wie auch an der Selektion des Patientengutes begründet sein. Auf multivariate Analyse wurde aufgrund zu geringer Fallzahl verzichtet.

Viele Untersucher stellten reduzierte eNO-Konzentrationen im unteren Respirationstrakt bei Rauchern fest. Verglichen mit Nichtrauchern, hatten Raucher verminderte eNO-Konzentrationen [43, 69, 73].

Zigarettenrauch enthält hohe Konzentrationen an NO (75-1000 ppm) [12, 60], welches möglicherweise direkt die Stickstoffmonoxidsynthese durch negative Rückkopplung hemmt [14, 32, 67]. Das Enzym NO-Synthase katalysiert die Umwandlung von L-Arginin zu NO [6].

Es zeigte sich keine Assoziation zwischen der Anzahl gerauchter Zigaretten (Packyears) insgesamt und der Konzentration an eNO.

Robbins et al. untersuchten 14 Raucher, nachdem sie 1 Woche lang keine Zigaretten mehr konsumiert hatten [69]. Man stellte bei ihnen höhere eNO-Konzentrationen gegenüber dem Basiswert fest. Nach 8 Wochen Zigarettenabstinenz wurde diese Gruppe erneut gemessen und die Konzentrationen an eNO stiegen weiter an, waren aber dennoch unter denen der nichtrauchenden Kontrollgruppe. In der Interpretation der Daten muss neben dem Zigarettenkonsum auch der Zeitpunkt der letzten Zigarette berücksichtigt werden.

Von den 13 untersuchten Rauchern unserer Studie lag der Konsum der letzten Zigarette zwischen zwei und 12 Stunden vor der NO-Messung zurück.

Auf eine Einschränkung hinsichtlich der Ergebnisbewertung sei hier hingewiesen, da keine Vergleichsmessung vor und nach Zigarettenkonsum durchgeführt wurde und das Studiendesign bezüglich dieser Teilbetrachtung nicht optimal war.

4.1.6 Immunglobulin E

In dieser Studie konnte kein Zusammenhang zwischen gesamt IgE im Serum und eNO festgestellt werden.

Gesamt IgE und spezifisches IgE werden für die Diagnose einer allergischen Erkrankung wie Asthma benutzt [85]. Atopie ist ein wichtiger Risikofaktor für allergische Erkrankungen und Asthma. Doch sind die Zusammenhänge zwischen Atopie und allergischen Symptomen noch nicht ganz geklärt [5]. Kein Zusammenhang scheint zwischen dem IgE und dem eNO zu bestehen. Da IgE an der Oberfläche von Mastzellen über hochaffine Rezeptoren gebunden sind und diese wie Dahl et al. beschrieben, maßgeblich bei der Entstehung einer Entzündung beteiligt sind [19] und bei Asthma erhöht beobachtet wurde, hätte man einen Zusammenhang vermuten können. Entsprechende Untersuchungen sind bisher nicht durchgeführt worden und bedürfen einer weiteren Abklärung.

4.2 Unspezifischer Provokationstest

Garnier et al. stellten fest, dass weder eine Methacholin induzierte Bronchokonstriktion noch eine mit Salbutamol induzierte Bronchodilatation eine signifikante Änderung im Sinne einer „Frühreaktion“ des eNO's hervorruft [30]. Ähnliche Ergebnisse erhielten Silvestri et al. [77] und Ludviksdottir et al. [51], die keinen Zusammenhang zwischen eNO und den Lungenfunktionsparametern (FVC, FEV₁%Soll und sR_t) nach MCH und Bronchodilatation sahen. Piacentini et al. untersuchten 51 asthmatische Kinder und stellten einen Abfall von eNO nach MCH fest [66]. Ein Zusammenhang mit FEV₁ konnte nicht festgestellt werden. Diese Arbeitsgruppe vermutet, dass NO in den minderbelüfteten Bronchien durch die Obstruktion zurückgehalten wird. Ähnliche Ergebnisse von Silvestri et al.: sie untersuchten 32 asthmatische Kinder mit einer Atopie ohne Nachweis eines Zusammenhanges von eNO zu den oben genannten Parametern. Dabei konnte jedoch ein schwacher Abfall des eNO's nach Provokation mit MCH festgestellt werden. Aufgrund der fehlenden Beziehung zu den Lungenfunktionsparametern wurde die eNO-Minderung durch die Rückdiffusion des NO's in das Kapillarbett der Bronchiolen begründet. Unterstützt wird diese These durch die Beobachtung, dass Hämoglobin eine hohe Bindungsaffinität zu NO besitzt [78]. Ludviksdottir et al. fanden keine Assoziationen zwischen Lungenfunktionsparametern, Peak-flow Messung, einem Symptomenscore und dem eNO bei 40 Patienten mit Asthma. Aus deren Sicht hängt dies unmittelbar mit den Gegebenheiten zusammen, dass morphologische und funktionelle Studien belegt haben, dass eine bronchiale Hyperreagibilität mit einer Remodellierung der Bronchien einhergeht [90] und ein gewisses Unvermögen zur Bronchodilatation besteht [79]. Ein Nachteil der Studie von Ludviksdottir et al. ist, dass die Durchführung der eNO-Messung noch nicht standardisiert war und eine Kontamination aus Anteilen der Nase nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

Eine andere Erklärung bieten Henriksen et al. [36], die eine Minderung des eNO's nach Provokation mit MCH als Hinweis für den immer noch unbekannten Ursprung der NO-Synthese ansehen, und vermuten, dass durch die Minderventilation der kleineren Bronchien nach Provokation mit MCH auch weniger NO in die großen Bronchien gelangt, vorausgesetzt, das NO wird in

den peripheren Bronchien gebildet. Diese Vermutung stützt sich auf Beobachtungen, die durch eine Ventilationsszintigraphie während der Provokationstestung mit MCH erzielt wurden [63]. Unterstützt wird diese These durch die gleichzeitige Messung von CO_2 und eNO, in der neben dem NO-Abfall auch eine Reduzierung der CO_2 -Konzentration festzustellen war [36], so dass diese Autorengruppe zumindest davon ausgeht, dass das gemessene eNO aus dem unteren Atemtrakt stammt und in den peripheren Bronchien gebildet wird.

Nach unserer Ansicht trägt wahrscheinlich ein anderer Wirkmechanismus zur Erklärung des Stickstoffmonoxidabfalls nach Provokation mit MCH bei:

Die NO-Abgabe wird bestimmt durch den Diffusionsgradienten zwischen der NO-Konzentration in der Mukosa und der Konzentration im Lumen einerseits und andererseits durch die Oberfläche der Mukusschicht, die als Penetrationsbarriere zwischen der Mukosa und der Luft in dem Lumen besteht.

Nach Provokation kann man bei den Hyperreagiblen in dieser Studie eine Bronchokonstriktion beobachten. Dadurch wird der Bronchusdurchmesser kleiner und die Dicke der Mukusschicht wird größer. Daraus resultiert eine kleinere Gesamtoberfläche der Mukosa, was zur Folge hat, dass jetzt das NO eine längere Zeit zur Penetration bzw. Diffusion durch die Mukosa benötigt. Zudem muß hinzugefügt werden, dass die Mukusoberfläche kleiner geworden ist, die zum Übertritt zur Verfügung steht. Nach Gabe eines Bronchospasmolytikums (Epaq[®]) kann eine Erhöhung der NO-Konzentration, die aber kleiner als der Ausgangswert ist, beobachtet werden.

Durch das β_2 -Sympathomimetikum wird die Bronchialmuskulatur relaxiert, und der Lumenquerschnitt erweitert sich. Dadurch vergrößert sich die Mukusoberfläche und steht vermehrt zum Übertritt zur Verfügung. Durch die Muskelrelaxation der Bronchien wird die Dicke der Mukusschicht kleiner und die Diffusion wird erleichtert.

Eine ähnliche Erklärung haben auch Ichinose et al. [39], die bronchiale geometrische Faktoren (bedingt durch Entzündung mit Erhöhung der Eosinophilen und Bradykininen) verantwortlich für den Mechanismus der bronchialen Hyperreagibilität sehen. Dabei verhält sich eNO umgekehrt proportional zu FEV_1 . In unserer Studie verhält sich Delta eNO umgekehrt

proportional zu Delta sR_t , d.h. je größer die Obstruktion, um so kleiner wird die eNO-Konzentration.

Bei der Interpretation der Ergebnisse dieser Studie fällt auch auf, dass die Nichthyperreagiblen einen mäßigen aber dennoch signifikanten eNO-Abfall nach MCH von circa 8,8% aufweisen. Da aber 19 Patienten der Testnegativen eine Verdoppelung, teilweise sogar eine Verdreifachung ihrer sR_t -Werte verzeichneten, könnte dieses Ergebnis aufgrund von Missklassifikation zu erklären sein, warum auch die Testnegativen nach Provokation eine Minderung des eNO's zeigten.

Eine neue Hypothese stellen Meurs et al. [56] auf, die eine Potenzierung der Methacholin-induzierten bronchialen Obstruktion durch die endogenen Arginase-Aktivität sehen, die die NO-Synthese mutmaßlich durch kompetitive Konkurrenz der L-Arginase hemmt. Hintergrund hierbei ist die Erhöhung der Arginase-Aktivität durch Prostaglandin E_2 und TH_2 -Lymphozyten abhängigen Zytokine, die wichtige Mediatoren der allergischen Entzündung der Atemwege darstellen [17].

Der zelluläre Ursprung sowie der Übertritt des in der exhalieren Ausatemluft gemessenen NO's ist bis dato ungeklärt. 1998 zu Beginn dieser Studie lagen noch keine Studien vor, die eNO mit MCH nach Provokation bei Menschen untersuchten. Inzwischen gibt es widersprüchliche Studien, die einerseits keine Veränderung mit MCH sehen, andererseits wird von anderen Autoren wie auch in dieser Studie von einer Minderung des eNO's nach Provokation ausgegangen. Eine wichtige Erkenntnis dieser Studie ist, dass eine NO-Abnahme nach Provokation mit MCH festgestellt werden konnte. Dabei ist festzuhalten, dass die Größe der eNO-Minderung mit der Stärke der Obstruktion zusammenhängt. Wichtig ist auch der unmittelbare Zusammenhang zwischen der exhalieren Konzentration an NO und der Steigung der MCH-Dosiswirkungskurve bei Patienten mit obstruktiven Atemwegserkrankungen: so kann gesagt werden, dass eNO oder die Mechanismen, die zu erniedrigtem eNO führen, in Korrelation mit der Atemwegsgeometrie stehen.

Das Design dieser Studie war nicht in allen Teilbereichen optimal. Kofaktoren wie Zigarettenrauch und Steroidmedikation waren nicht experimentell gewählt, sondern vorher gegeben. Für die Detektion von Einflussfaktoren, die eine Rolle in der Bildung sowie Abgabe von NO haben, sollte besser eine separate

Betrachtung mit entsprechendem Studienprotokoll von eNO vor Kortikoidmedikation bzw. vor Zigarettenkonsum sowie nach Kortikoidmedikation/Zigarettenkonsum erfolgen.

Wie bei jedem neuen Verfahren muss vor Einführung dieser Methode als ein diagnostisches Instrumentarium die Vergleichsuntersuchung mit bereits etablierten Methoden gefordert werden.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass eNO in dieser Studie nach Provokation mit MCH erniedrigt und nach Bronchodilatation mit Salbutamol erhöht ist. Die Atemwegsgeometrie hat einen Einfluss auf das eNO und muss bei der Interpretation von eNO berücksichtigt werden.

5 Zusammenfassung

In der Literatur sind verschiedene Einflussfaktoren auf die Stickstoffmonoxid-Konzentration in der Ausatemluft (eNO) beschrieben. Es kann beobachtet werden, dass eNO bei unbehandelten Asthmatikern erhöht und unter Kortikosteroidmedikation oder bei Rauchern erniedrigt ist. Es ist bislang unklar, welchen Einfluss eine akute Veränderung der Atemwegsgeometrie auf das eNO hat. Es war das Ziel dieser Studie, Einflussfaktoren auf eNO zu definieren und insbesondere die Bedeutung einer akuten Veränderung der Atemwegsgeometrie nach Applikation bronchokonstriktorischer bzw. – dilatatorischer Stimuli quantitativ zu beschreiben.

Es wurden insgesamt 100 Gutachtenpatienten mit Verdacht auf eine berufsbedingte obstruktive Atemwegserkrankung untersucht. Als Ausschlusskriterium galt eine Infektion des Respirationstraktes innerhalb der letzten drei Wochen. Zur Messung von eNO wurde ein Chemilumineszenz-Analysegerät eingesetzt. Es wurde eNO mit den Obstruktionsparametern spezifischer Atemwegswiderstand (sRt) und Einsekundenkapazität (FEV₁) assoziiert.

Alter, Atopie, gesamt-IgE-Konzentration im Serum sowie Steroidmedikation und Raucherstatus hatten keinen Einfluss auf eNO. Dagegen fand sich eine geringe Assoziation zwischen eNO und NO-Außenluftkonzentrationen ($p < 0,04$). Patienten mit manifester obstruktiver Ventilationsstörung zeigten ein erhöhtes eNO. Die Untersuchungen ergaben unter den bronchial Hyperreagiblen im Vergleich zu den Nichthyperreagiblen ein signifikant erhöhtes eNO unter Ruhebedingungen. In dieser Gruppe zeigte sich auch eine signifikante eNO-Abnahme nach Methacholinprovokation (Median: von 29,9 [25%/75%-Quartil: 19/46] auf 24,4 ppb [25%/75%-Quartil: 15/40,3]) sowie ein eNO-Anstieg nach Salbutamolmedikation (Median: von 24,4 ppb [25%/75%-Quartil: 15/40,3] auf 27 ppb [25%/75%-Quartil: 15,7/43,9]). Es zeigte sich eine Assoziation zwischen sRt und eNO ($p = 0,03$).

Diese Studie bestätigt, dass bronchial Hyperreagible ein erhöhtes eNO haben. Die Assoziation von eNO mit den atemmechanischen Parametern zeigt, dass eine akute Veränderung der Atemwegsgeometrie einen Einfluss auf eNO hat und bei der Interpretation von eNO berücksichtigt werden muss.

6 Literatur

1. Adcock IM, Brown CR, Kwon OJ, Barnes PJ (1994):
Oxidative stress induces NF- κ B DNA binding and inducible NOS mRNA in human epithelial cells.
Biochem Biophys Res Commun 199, 1518-1524
2. Adisesh L, Kharitonov S, Yates D, Snashell D, Newman-Taylor A, Barnes P (1998):
Exhaled and nasal nitric oxide is increased in laboratory animal allergy.
Clin Exp Allergy 28, 876-880
3. American Thoracic Society (1995):
Standardization of Spirometry.
Am J Respir Crit Care Med 152, 1107-1136
4. Archer S (1993):
Measurement of nitric oxide in biological models.
FASEB J 7, 349-360
5. Arshad SH, Karmaus W, Matthews S, Mealy B, Dean T, Frischer T (2001):
Association of allergy-related symptoms with sensitisation to common allergens in an adult European population.
J Investig Allergol Clin Immunol 11, 94-102
6. Assreuy J, Cunha FQ, Liew FY, Moncada S (1993):
Feedback inhibition of nitric oxide synthase by nitric oxide.
Br J Pharmacol 108, 833-837
7. Barnes PJ, Belvisi MG (1993):
Nitric oxide and lung disease.
Thorax 48, 1034-1043

8. Baur X, Marek W, Ammon J, Czuppon AB, Marczynski B (1994):
Respiratory and other hazards of isocyanates.
Int Arch Occup Environ Health 66, 141-152

9. Belvisi MG, CD Stretton, Barnes PJ (1992):
Nitric oxide is the endogenous neurotransmitter of bronchodilator nerves in
human airways.
Eur J Pharmacol 210, 221-222

10. Beckman SJ (2001):
•OONO: rebounding from nitric oxide
Circ Res 89, 295-297

11. Belvisi MG, Stretton CD, Miura M, Verleden GM, Tadjkarimi S, Yacoub MH
and Barnes PJ (1992): Inhibiting NANC nerves in human tracheal smooth
muscle: a quest for the neurotransmitter.
J Appl Physiol 73, 2505-2510

12. Borland C, Higenbottam T (1987):
Nitric oxide yields of contemporary UK, US, and French cigarettes.
Int J Epidemiol 16, 31-34

13. Brown RH, Zerhouni EA, Hirshman CA (1994):
Reversal of bronchoconstriction by inhaled nitric oxide: histamine versus
methacholine.
Am J Respir Crit Care Med 150, 233-237

14. Buga GM, Griscavage JM, Rogers NE, Ignarro LJ (1993):
Negative feedback regulation of endothelial cell function by nitric oxide.
Circ Res 73, 808-812

15. Cockcroft DW, Murdock KY, Mink JT (1983):
Determination of histamine PC20: Comparison of linear and logarithmic interpolation
Chest 84, 505-506

16. Corradi M, Pelizzoni A, Majori M, Cuomo A, Munari E, Pesci A (1998):
Influence of atmospheric nitric oxide concentration on the measurement of nitric oxide in exhaled air.
Thorax, 53, 673-676

17. Corraliza IM, Soler G, Eichmann K, Modolell M (1995):
Arginase induction by suppressors of nitric oxide synthesis (IL-4, IL-10 and PGE₂) in murine bone-marrow-derived macrophages.
Biochem Biophys Res Commun 206, 667-673

18. Corinti S, Pastore S, Mascia F, Girolomoni G (2003):
Regulatory role of nitric oxide on monocyte-derived dendritic cell functions.
J Interferon Cytokine Res 23, 423-431

19. Dahl R, Mygind N (1998):
Mechanisms of airflow limitation in the nose und lungs.
Clin Exp Allergy 28, 17-25

20. De Boer J, May F, Pouw H, Zaagsma J, Meurs H (1996):
Effects of Endogenous Superoxide Anion and Nitric Oxide on Cholinergic Constriction of Normal and Hyperreactive Guinea Pig Airways.
Am J Respir Crit Care Med 158, 1784-1789

21. De Gouw HWFM, K Grünberg, R Schot, ACM Kroes, EC Dick, PJ Sterk (1998): Relationship between exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness following experimental rhinovirus infection in asthmatic subjects.
Eur Respir J 11, 126-132

22. Deykin A, Halpern O, Massaro A, Jeffrey MD, Israel E (1998):
Expired nitric oxide after bronchoprovocation and repeated spirometry in patients with asthma.
Am J Respir Crit Care Med 157, 769-775
23. Dixon M, Jackson DM, Richards IM (1979):
The effects of histamine, acetylcholine and 5-hydroxytryptamine on the lung mechanics and irritant receptors in the dog.
J Physiol 287, 393-403
24. Djukanovic R, Lai CKW, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ (1992):
Bronchial mucosal manifestations of atopy: a comparison of markers of inflammation between atopic asthmatics, atopic non-asthmatics and healthy controls.
Eur Respir J 5, 538-544
25. Enarson DA, Sverre V, Schulzer M, Dybunico, Cgan-Yeung M (1987):
Asthma, asthmalike symptoms, chronic bronchitis and the degree of bronchial hyperresponsiveness in epidemiologic surveys.
Am Rev Respir Dis 136, 613-617
26. Eiser NM (1987):
Bronchial provocation tests.
In (Hrsg) Nadel JA, Pauwels R, Snashall PD: Bronchial hyperresponsiveness.
Blackwell Oxford 173-254
27. GOLD scientific committee:
Global initiative for chronic obstructive lung disease. (Zugriff vom 25.8.2003)
<http://www.goldcopd.com/>
28. Franklin PJ, Taplin R, Stick SM (1999):
A community study of exhaled nitric oxide in healthy children.
Am J Respir Crit Care Med 159, 69-73

29. Freeman G et al. (1978):

Identification of nitric oxide (NO) in human blood.

Arch Environ Health 33, 19-23

30. Garnier P, Fajac I, Dessanges JF, Dall'Ava-Santucci J, Lockhart A, Dinh-Xuan (1996):

Exhaled nitric oxide during acute changes of airways calibre in asthma.

Eur Respir J 9, 1134-1138

31. Goldstein MF, Pacana SM, Dvorin DJ, Dunsky EH (1994):

Retrospective analyses of methacholine inhalation challenges.

Chest 105, 1082-1088

32. Griscavage JM; Rogers NE, Sherman MP, Ignarro LJ (1993):

Inducible nitric oxide synthase from a rat alveolar macrophage cell line is inhibited by nitric oxide.

J Immunol 151, 6329-6337

33. Gustaffson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S (1991):

Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans.

Biochem Biophys Res Commun 181, 852-857

34. Hamid Q, DR Springall, V Riveros-Moreno, P Chanez, P Howarth, A

Redington, J Bousquet, P Godard, S Holgate, JM Pidak (1993):

Induction of nitric oxide synthase in asthma.

Lancet 342, 1510-1513

35. Henriksen AH, Lingaas-Holmen T, Sue-Chu M, Bjermer L (2000):

Combined use of exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness in characterizing asthma in a large population survey.

Eur Respir J 15, 849-855

36. Henriksen AH, Sue-Chu M, Langaas HT, Langhammer A, Bjermer L (1999):
Exhaled and nasal NO levels in allergic rhinitis: relation to sensitization, pollen
season and bronchial hyperresponsiveness.
Eur Respir J 13, 301-306
37. Ho LP, Innes JA, Greening AP (1998):
Exhaled nitric oxide is not elevated in the inflammatory airways diseases of
cystic fibrosis and bronchiectasis.
Eur Respir J 12, 1290-1294
38. Hoffarth HP, Reier W, Reichel G, Ulmer WT (1991):
Der inhalative 1-Konzentrationstest zur Überprüfung der bronchialen
Reagibilität
Pneumologie 45, 690-694
39. Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H, Endoh N, Miura M, Mashito Y,
Shirato K (2000):
Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of
airway inflammation and airway caliber.
Eur Respir J 15, 248-253
40. Imada M, Iwamoto J, Nonaka S, Kobayashi Y, Unno T (1996):
Measurement of nitric oxide in human nasal airway.
Eur Respir J 9, 556-559
41. Jatakanon A, Lim , Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ (1998):
Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine
responsiveness in patients with mild asthma.
Thorax 53, 91-95
42. Kanazawa H, Shoji S, Yoshikawa T, Hirata K, Yoshikawa J (1998):
Increased production of endogenous nitric oxide in patients with bronchial
asthma and chronic obstructive pulmonary disease.
Clinical Exp Allergy 28, 1244-1250

43. Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D (1995):
Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide.
Am J Respir Crit Care Med 152, 609-612
44. Kharitonov S, Yates DH, Barnes PJ (1996):
Inhaled Glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic subjects.
Am J Respir Crit Care Med 153, 454-457
45. Kharitonov S, Yates DH, Chung KF, Barnes PJ (1996):
Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. Eur Respir J 9, 196-201
46. Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ (1997):
ERS Task Force Report, Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations.
Eur Respir J 10, 1683-1693
47. Kharitonov SA, Wells AU, O'Connor BJ, Cole PJ, Hansell DM, Logan-Sinclair RB, Barnes PJ (1995):
Elevated levels of exhaled nitric oxide in bronchiectasis.
Am J Respir Crit Care Med 151, 1889-1893
48. Klein G, Matthys H (1986):
Bronchiale Hyperreagibilität. Nachweis mit pharmakologischen Substanzen.
Prax Klin Pneumol 40, 156-166
49. Kobzik L, Bredt DS, Lowenstein CJ, Drazen J, Gaston B, Sugarbaker D (1993):
Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization.
Am J Respir Cell Mol 9, 371-377

50. Loveless MO, Phillips CR, Giraud GD, Holden WE (1997):
Decreased exhaled nitric oxide in subjects with HIV infection.
Thorax 52, 185-186
51. Ludviksdottir D, Janson C, Hogman M, Gudbjornsson B, Valtysdottir S, Hedenstrom H, Venge P, Boman G (1999):
Increased nitric oxide in expired air in patients with Sjogren`s syndrome. BHR study group. Bronchial hyperresponsiveness.
Eur Respir J 13, 739-743
52. Lundberg JO, Nordvall SL, Weitzberg E, Kollberg H, Alving K (1996):
Exhaled nitric oxide in paediatric asthma and cystic fibrosis.
Arch Dis Child 75, 323-326
53. Martinez JL, Castro R, Aviado DM (1961):
Local and reflex effects of bronchial arterial injection of drugs.
J Pharmacol Exp Ther 133, 295-303
54. Matthys H, Köhler D (1985):
Pulmonary deposition of aerosols by different mechanical devices.
Respiration 48, 269-276
55. Maziak W, Loukides S, Culpitt S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ (1998):
Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease.
Am J Respir Crit Care Med 157, 998-1002
56. Meurs H, Hamer MA, Peteh S, Vadon-Le Goff S, Boucher JL, Zaagsma A (2000):
Modulation of cholinergic airway reactivity and nitric oxide production by endogenous arginase activity.
Br J Pharmacol 130, 1793-1798

57. Mitsunobu F, Mifune T, Hosaki Y, Ashida K, Yokota S, Tsugeno H, Tanizaki Y (1998):
Different roles of histamine and leukotriene C4 in the airways between patients with atopic and nonatopic asthma.
J Asthma 35, 367-372
58. Moncada S, RMJ Palmer and EA Higgs (1991):
Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology.
Pharmacol Rev 43, 109-142
59. Nathan C (1992):
Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells.
FASEB J 6, 3051-3064
60. Norman V, Keith CH (1965):
Nitrogen oxides in tobacco smoke.
Nature 205, 915-916
61. Nusslev AK, Hoffman EP, Billiar TR, Hutchinson NI, Mudgett JS (1994):
Molecular cloning, structure and chromosomal localisation of the human inducible nitric oxide synthase gene.
J Biol Chem 269, 6756-6772
62. O'Connor G, Sparrow D, Taylor D, Segal M, Weiss S (1987):
Analysis of dose-response curves to methacholine. An approach suitable for population studies.
Am Rev Respir Dis 136, 1412-1417
63. O'Riordan TG, Walser L, Smaldone GC (1993):
Changing patterns of aerosol deposition during methacholine bronchoprovocation.
Chest 103, 1385-1389

64. Parikh A, Scadding GK (1997):

Seasonal allergic rhinitis.

Br Med J 314, 1392-1395

65. Piacentini GL, Bodini A, Vino L, Zanolla L, Costella S, Vicentini L, Boner AL (1998):

Influence of environmental concentrations of NO on the exhaled NO test.

Am J Respir Crit Care Med 158, 1299-1301

66. Piacentini GL, Bodini A, Peroni DG, Miraglia Del Giudice M Jr, Costella S, Boner AL (2002):

Reduction in exhaled nitric oxide immediately after methacholine challenge in asthmatic children.

Thorax 57, 771-773

67. Rengasamy A, Johns RA (1993):

Regulation of nitric oxide synthase by nitric oxide.

Mol Pharmacol 44, 124-128

68. Riley MS, Porszasz J, Miranda J, Engelen M, Brundage B, Wasserman K (1997): Exhaled nitric oxide during exercise in primary pulmonary hypertension and pulmonary fibrosis.

Chest 111, 44-50

69. Robbins RA, Millatmal T, Lassi K, Rennard S, Daughton D (1997):

Smoking cessation is associated with an increase in exhaled nitric oxide.

Chest 122, 313-318

70. Robbins RA, Sisson JH, Springall DR, Nelson KJ, Taylor JA, Mason NA, Polak JM, Townley RG (1997):

Human lung mononuclear cells induce nitric oxide synthase in murine airway epithelial cells in vitro: role of TNF α and IL-1 β .

Am J Respir Crit Care Med 155, 268-273

71. Rolla G, Brussino L, Bertero MT, Colagrande P, Converso , Bucca C, Polizzi S, Caligaris-Cappio F (1997):

Increased nitric oxide in exhaled air of patients with systemic lupus erythematosus.

J Rheumatol 24, 1066-1071

72. Sandrini A, Ferreira IM, Gutierrez C, Jardim JR, Zamel N, Chapman KR (2003):

Effect of montelukast on exhaled nitric oxide and nonvolatile markers of inflammation in mild asthma.

Chest 124, 1334-1340

73. Schilling J, Holzer P, Guggenbach M (1994):

Reduced endogenous nitric oxide in the exhaled air of smokers and hypertensives.

Eur Respir J 7, 467-471

74. Schlegel J, Fischer B, Ferlinz R (1995):

Untersuchungen zur Äquipotenz von Methacholin und Carbachol im unspezifischen Provokationstest

Pneumologie 49, 535-538

75. Scott GC, Braun SR (1991):

A survey of the current use and methods of analysis of bronchoprovocational challenges.

Chest 100, 322-328

76: Silkoff PE, Caramori M, Tremblay L, McClean P, Chaparro C, Kesten S, Slutsky M, Hutcheon AS, Zamel N, Keshavjee S (1998):

Exhaled nitric oxide in human lung transplantation: a noninvasive marker of acute rejection.

Am J Respir Crit Care Med 157, 1822-1828

77. Silvestri M, Spallarossa D, Barristini E, Brusasco V, Rossi GA (2000):
Dissociation between exhaled nitric oxide and hyperresponsiveness in children
with mild intermittent asthma.
Thorax 55, 484-488
78. Sharma VS, Taylor TG, Gardiner R (1987):
Reaction of nitric oxide with haem proteins and model compounds of
haemoglobin.
Biochemistry 26, 3837-3843
79. Skloot G, Permutt S, Togias AG (1995):
Airway hyperresponsiveness in asthma: a problem of limited smooth muscle
relaxation with inspiration.
J Clin Invest 96, 2393-2403
80. Soderman C, Leone A, Furst V, Persson MG (1997):
Endogenous nitric oxide in exhaled air from patients with liver cirrhosis.
Scand J Gastroenterol 32, 591-597
81. Stuehr DJ, NS Kwon, CF Nathan, OW Griffith, PL Feldmann, J Wiseman
(1991):
N-omega-hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric
oxide from L-arginine.
J Biol Chem 266, 6259-6263
82. Tang C, Rolland JM, Li X, Ward C, Bish, Walters EH (1998):
Alveolar macrophages from atopic asthmatics, but not atopic nonasthmatics,
enhance interleukin-5 production by CD4+ T-Cells.
Am J Respir Crit Care Med 157, 1120-1126
83. Tang C, Rolland JM, Ward C, Quan B, Walters EH (1997):
IL-5 production by bronchoalveolar lavage and peripheral blood mononuclear
cells in asthma and atopy.
Eur Respir J 10, 624-632

84. Therminarias A, Flore P, Favre-Juvin A, Oddou MF, Delaire M, Grimbert F (1998):
Air contamination with nitric oxide.
Am J Respir Crit Care Med 157, 791-795
85. Vidal C, Armisen M, Dominguez-Santalla MJ, Gude F, Gonzalez-Quintela A (2002): Influence of alcohol consumption on serum immunoglobuline levels in atopic and nonatopic adults.
Alcohol Clin Exp Res 26, 59-64
86. Weller PF (1992):
Cytokine regulation of eosinophil function.
Clin Immunol Immunopathol 62, S55-S59
87. Widdicombe JG (1975):
Reflex control of airways smooth muscle.
Postgrade Med J 51, 36-43
88. Widdicombe JG (1963):
Regulation of tracheobronchial smooth muscle.
Physiol Rev 43, 36-43
89. Wildhaber JH, Hall GL, Stick SM (1999):
Measurements of exhaled nitric oxide with the single-breath technique and positive expiratory pressure in infants.
Am J Respir Crit Care Med 159, 74-78
90. Wiggs BR, Bosken C, Pare PD (1991):
A model of airway narrowing in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease.
Am Rev Respir Dis 145, 1251-1258

91. Xie QW, Cho H, Kashiwabara Y (1994):
Carboxyl terminus of inducible nitric oxide synthase- Contribution to NADPH
binding and enzymatic activity.
J Biol Chem 269, 28500-28505
92. Xie Q, Kashiwarbara Y, Nathan C (1994):
Role of transcription factor NF- κ B in induction of nitric oxide synthase.
J Biol Chem 269, 4705-4708
93. Xue J, Xu Y, Zhang Z (2000):
Effects of intrinsic nitric oxide on the expression of interleukin-4 and IFN-gamma
mRNA in the bronchial and lung tissues of sensitized rats.
J Tongji Med Univ 20, 29-31

6 Danksagung

Diese Arbeit wurde in der Zeit von Januar 1998 bis Juni 2003 am Berufsgenossenschaftlichen Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin (BGFA), Institut an der Ruhr-Universität Bochum, erstellt.

Es handelt sich um eine experimentelle Arbeit, die ohne die Mühe vieler engagierter Mitarbeiter im BGFA nicht in dieser Form hätte zustande kommen können.

Zuerst möchte ich Herrn Professor Dr. Merget für seine Förderung, kritische Begleitung und letztlich die Vollendung dieser Studie danken.

Mein Dank gilt ferner dem medizinisch-technischen Assistentinnen-Team, die mit ihrem Arbeitseinsatz die korrekte Durchführung der Messungen gewährleisteten.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Kozma, der mich jederzeit bei PC-technischen Fragen tatkräftig unterstützte, und Frau Dr. Pesch bedanken, die bei den statistischen Berechnungen wertvolle Dienste leistete.

Schließlich möchte ich mich bei meinen Freunden, Bekannten und zuletzt bei meinen Eltern bedanken, die mir das Studium der Humanmedizin ermöglichten.

7 Tabellarischer Lebenslauf

Name: Victor Kirschmann
 Wohnort: Am Königshof 1
 40472 Düsseldorf
 Geburtsdatum: 11.04.74
 Geburtsort: Bochum
 Familienstand: ledig

Schul Ausbildung

1981-82 Gemeinschaftsgrundschule Castroper Hellweg in Bochum
 1982-84 Grundschule an der Nordseestr. in Recklinghausen
 1984-93 Marie-Curie-Gymnasium in Recklinghausen

Zivildienst

07.93-09.94 Zivildienst beim Arbeiter-Samariter-Bund, Recklinghausen

Berufsausbildung/Studium

09.94-05.01 Studium der Humanmedizin, Ruhr-Universität Bochum
 10.01-03.03 Arzt im Praktikum in der Dermatologischen Abteilung,
 Chefarzt: Dr. med. Kingreen,
 Allg. Krankenhaus Hagen
 04.03-09.03 Weiterbildungsassistent in der Praxisklinik Dr. med.
 Eichelberg, Dortmund
 11.03-05.04 Weiterbildungsassistent in der Dermatologischen Abteilung,
 Chefarzt: Dr. med. Katsch,
 Klinikum D.C. Erxleben Quedlinburg
 seit 01.07.04 Weiterbildungsassistent in der Dermatologischen Abteilung,
 Chefarzt: Priv. Doz. Dr. med. Chatelain,
 Evangelisches Krankenhaus Düsseldorf