

Aus dem Institut und der Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Direktor: Prof. Dr. med. D. Nowak

**Kohlenstoffmonoxid- und alveoläre
Stickstoffmonoxidkonzentration in der Ausatemluft als
potenzielle Marker eines alveolären Entzündungsprozesses
- eine kritische Analyse**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Philipp Hans Eugen Fischer

aus Verden an der Aller

2016

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dennis Nowak

Mitberichterstatter: Prof Dr. Rainald Fischer
Priv. Doz. Dr. Silke Meiners

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. Rudolf Jörres

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 30.06.2016

Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Kohlenstoffmonoxid- und alveoläre Stickstoffmonoxidkonzentration in der Ausatemluft als potenzielle Marker eines alveolären Entzündungsprozesses - eine kritische Analyse

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 30.11.2015

Philipp Hans Eugen Fischer

Inhalt:

1 Einleitung.....	8
2 Hintergrund zum expiratorischen Kohlenstoffmonoxid und alveolären	
Stickstoffmonoxid.....	10
2.1 Kohlenstoffmonoxid (CO).....	10
2.1.1 Pathophysiologische Rolle von CO.....	10
2.1.2 Klinischer Einsatz von CO.....	12
2.1.3 Einflussfaktoren auf CO in der Ausatemluft.....	16
2.2 Stickstoffmonoxid (NO).....	20
2.2.1 Pathophysiologische Bedeutung von NO.....	21
2.2.2 Einflussfaktoren auf NO im Bronchialsystem.....	24
2.2.3 Modellvorstellungen zur Aufteilung des exhalierten NO.....	28
2.2.4 Verfahren zur Ermittlung der alveolären NO-Konzentration.....	28
2.2.5 Probleme bei der Schätzung.....	31
2.2.6 Mögliche Lösungsansätze.....	33
3 Fragestellung der Arbeit.....	35
4 Methodologische Ansätze.....	37
4.1 Analyse des exhalierten CO.....	37
4.1.1 Messung des exhalierten CO.....	37
4.1.1 Auswertung der CO-Daten.....	38
4.2 Analyse des exhalierten NO.....	39
4.2.1 Messung bei verschiedenen Ausatemraten.....	39
4.2.2 Auswertung der NO-Messdaten (Streuungen).....	40
4.3 Erzeugung von simulierten NO-Daten.....	41
4.3.1 Verwendetes Modell.....	41

4.3.2	Modellierung der beobachteten Messfehler.....	42
4.4	Abschätzung der Modellparameter.....	43
4.4.1	Nichtlineare Anpassung.....	44
4.4.2	Linearisierte Anpassung.....	44
4.4.3	Kombination der linearisierten und der nichtlinearisierten Anpassung.....	45
4.5	Statistische Analyse.....	45
5.	Ergebnisse.....	47
5.1	Exhalierendes CO.....	47
5.2	Exhalierendes NO.....	50
5.2.1	Mittelwerte und Streuungen.....	50
5.2.2	Parameterschätzwerte mit dem nichtlinearem Ansatz.....	52
5.2.3	Parameterschätzwerte mit linearisiertem Ansatz.....	55
5.2.4	Parameterschätzwerte mit Kombinationsansatz.....	57
5.3	Simulierte Daten.....	61
5.3.1	Übersicht über die Simulationsexperimente.....	61
5.3.2	Parameterschätzwerte mit dem nichtlinearem Ansatz.....	62
5.3.3	Parameterschätzwerte mit linearisiertem Ansatz.....	69
5.3.4	Parameterschätzwerte mit Kombinationsansatz.....	74
5.3.5	Beziehung zu FeNO.....	79
6	Diskussion.....	85
6.1	Exhalierendes CO.....	85
6.2	Exhalierendes NO.....	87
7	Zusammenfassung.....	94
8	Literatur.....	97
9	Anhang.....	102
9.1	Abkürzungsverzeichnis.....	102

9.2	Abbildungsverzeichnis.....	103
9.3	Tabellenverzeichnis.....	107

1

Einleitung

Entzündungen der Atemwege kommen bei verschiedenen Krankheitsbildern wie Asthma bronchiale, COPD, Infektionen und Allergien vor. Da entzündliche Prozesse in der Regel strukturellen und funktionellen Änderungen vorangehen, ist die frühzeitige Erkennung solcher Prozesse von besonderer Bedeutung. Hierbei sind nichtinvasive und wenig invasive Verfahren die erste Wahl, sowohl aus Gründen der Praktikabilität als auch der Akzeptanz [z.B. Holz & Jörres 2004; Ricciardolo 2014]. Allerdings ist bei allen solchen Verfahren kritisch zu prüfen, in wie weit sie methodologisch und inhaltlich valide und von Nutzen sind im Vergleich zu invasiven Verfahren.

Nichtinvasive Verfahren sind inzwischen in die klinische Praxis eingeführt. Im Wesentlichen betrifft dies die Messung der fraktionellen Konzentration des exhalierten Stickstoffmonoxids bei einer Ausatemgeschwindigkeit von 50 ml/s (FeNO). Dieses Verfahren findet bereits seit Jahren Verwendung sowohl für diagnostische Zwecke im Alltag niedergelassener Pneumologen als auch für klinisch-pharmakologische Studien [Dweik et al. 2011]. Sein Wert ist darin begründet, dass FeNO relativ gut mit allergischer Entzündung und der Zahl eosinophiler Granulozyten in den Atemwegen korreliert.

Weniger gebräuchliche Methoden der Diagnostik sind die Analyse des spontanen oder induzierten Sputums oder des Atemkondensats. Diese Verfahren sind entweder aufwändiger oder in ihrem zusätzlichen diagnostischen Nutzen noch nicht hinreichend belegt. Auch die Messung des exhalierten Kohlenmonoxids (CO) in der ausgeatmeten Luft wird in der Pneumologie eingesetzt. Allerdings wird dieser Wert in der Regel nur als Kontrollparameter erfasst, um eine Abstinenz vom Rauchen zu überprüfen. Theoretisch jedoch ist CO auch als ein Entzündungsmarker von Interesse, da es in der Antwort auf oxidativen Stress eine Rolle spielt [Babusikova et al. 2008; Rochette et al. 2013].

Mittels FeNO erfasst man im Wesentlichen Eosinophilen-assoziierte entzündliche Prozesse in den Bronchien, nicht hingegen in der Lungenperipherie. Bis heute fehlt eine praktikable nichtinvasive Methode, die mit einem verlässlich messbaren Marker periphere bzw. alveoläre Entzündungen der Lunge erkennen kann.

Die Messung des alveolären NO ist immer durch Beiträge des bronchialen NO verfälscht. Aufgrund der fehlenden Möglichkeit, die alveoläre NO-Konzentration direkt zu messen, muss man sich indirekter Methoden bedienen. Zu diesem Zweck nutzt man die Tatsache, dass die Konzentration des exhaliierten NO mit steigender Ausatemrate fällt, weil sich die Kontaktzeit der Luft mit den Bronchien verringert [Jörres 2000]. In der Literatur werden verschiedene Verfahren beschrieben, die auf mathematischem Wege eine Extrapolation auf die alveoläre Konzentration leisten, jedoch sind diese Verfahren nicht systematisch validiert, vor Allem nicht im Vergleich mit theoretisch erwarteten Werten.

Im Gegensatz zum exhaliierten NO hängt die Konzentration des ausgeatmeten CO nicht von der Ausatemrate ab [Zetterquist et al. 2002]. Daraus kann geschlossen werden, dass es alveolären Ursprungs ist und die gemessene CO-Konzentration direkt die alveolären Verhältnisse widerspiegelt. Allerdings hängt die ausgeatmete CO-Konzentration auch vom eingeatmeten CO ab, und es stellt sich die Frage, ob dieser Effekt eliminiert werden kann, um auf eine endogene CO-Produktion zu schließen.

Auf der Basis dieser Überlegungen sind die Konzentrationen des ausgeatmeten CO (eCO) und alveolären NO (NO_{alv}) in der Ausatemluft mögliche Kandidaten, die der Diagnosestellung als Marker peripherer Entzündungen dienlich sein könnten, da sie als Bestandteile der Ausatemluft primär alveolären Ursprungs sind. Allerdings hängen sie von einer Reihe von Einflussfaktoren ab, die überprüft werden müssen. Eine kritische Auseinandersetzung mit den Auswertemethoden inklusive der bisherigen Messverfahren ist daher erforderlich.

2 Hintergrund zu eCO und NOalv

2.1.1 Kohlenstoffmonoxid (CO), Pathophysiologische Rolle

Kohlenstoffmonoxid in der Ausatemluft ist ein möglicher Indikator für entzündliche Vorgänge der Lunge. CO nimmt insofern eine besondere Rolle ein, als seine vermehrte Erzeugung durch Hämoxigenase-1 oxidativen Stress anzeigt und CO selbst möglicherweise als Antioxidanz fungiert [Choi & Alam. 1996; Fredenburgh et al. 2007]. Ein exhalierter Marker für oxidativen Stress wäre vermutlich klinisch hilfreich. Das folgende Schema nach Babusikowa et al. [2008] veranschaulicht die zentrale physiologische Rolle von CO in dieser Hinsicht.

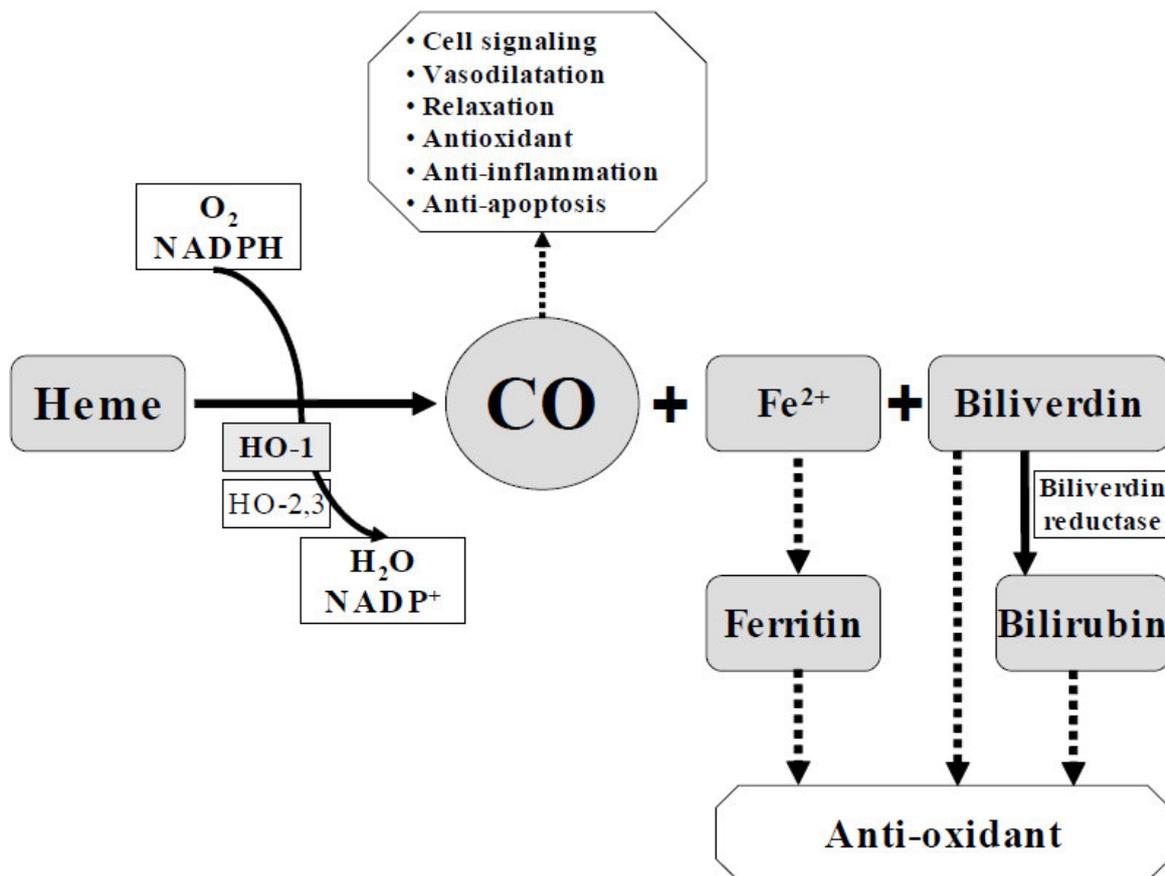


Abbildung 1: Beteiligung von CO an der Antwort auf oxidativen Stress [Babusikowa et al. 2008]

Entsprechend der Erwartung eines vermehrten oxidativen Stress wurden erhöhte Werte des exhalieren CO bei Patienten mit Asthma oder COPD berichtet [Horvath et al. 1998; Harju et

al. 2002]. Auch fanden sich Beziehungen zwischen der bronchialen Reaktivität und dem exhalierendem CO [Ramirez et al. 2004; Pearson et al. 2005].

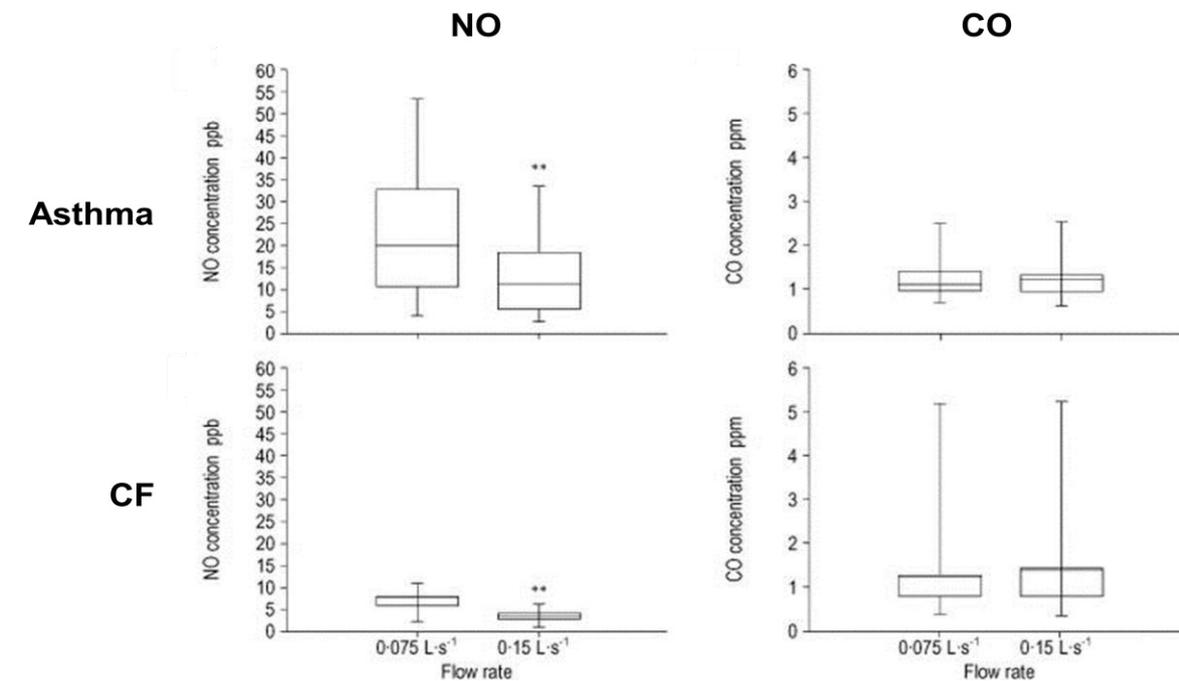


Abbildung 2: Flussabhängigkeit des exhalierendem CO aber nicht NO [Zetterquist et al. 2002]

Zetterquist et al. [2002] prüften, ob bei verschiedenen Ausatemgeschwindigkeiten Änderungen der CO-Konzentration in der Ausatemluft entstehen. Im Gegensatz zu NO fanden sich keine signifikanten Veränderungen der gemessenen Werte. Das ausgeatmete CO ist folglich alveolären Ursprungs. Würde ein signifikanter Anteil von CO aus den Bronchien stammen, würde sich die resultierende Konzentration von CO verändern, da die Kontaktzeit der Ausatemluft mit der Oberfläche der Bronchien und damit ein möglicher Transport von CO von der Ausatemrate abhängen würde. Damit würde CO eine wichtige Anforderung erfüllen, die an einen direkten Marker alveolärer Entzündungsprozesse zu stellen ist. Allerdings ist die CO-Messung von anderer Seite her problematisch. (siehe Kapitel 2.1.3)

2.1.2 Klinischer Einsatz von CO

In der klinischen Routine wird die CO-Konzentration der Ausatemluft primär als Kontrollparameter erfasst, um eine Abstinenz vom Rauchen zu überprüfen. Dies ist vor Allem der Fall, wenn die Messung des Carboxyhämoglobins (COHb) im Blut oder der Nachweis anderer, länger persistierender Marker wie Cotinin im Urin zu aufwändig oder nicht möglich sind.

Die folgende Grafik veranschaulicht den gemessenen CO-Gehalt der Ausatemluft von Patienten, die Raucher oder Nichtraucher sind.

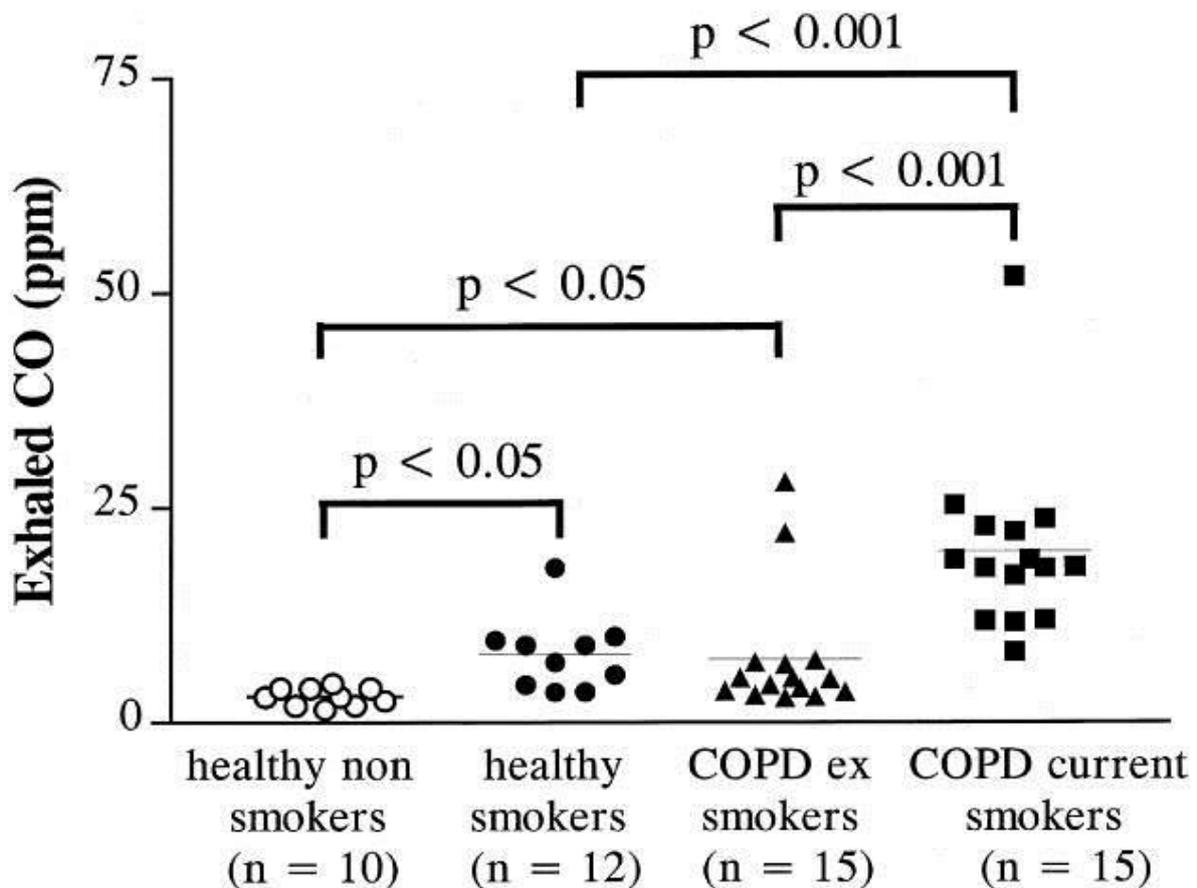


Abbildung 3: Exhalierendes Kohlenmonoxid bei Rauchern und Patienten mit COPD [Montuschi et al. 2001]

Es kann sogar auf die Menge an konsumierten Zigaretten rückgeschlossen werden (Abbildung 4), so daß eine CO-Messung in der Ausatemluft bei der langfristigen Zigarettenentwöhnung von Nutzen ist.

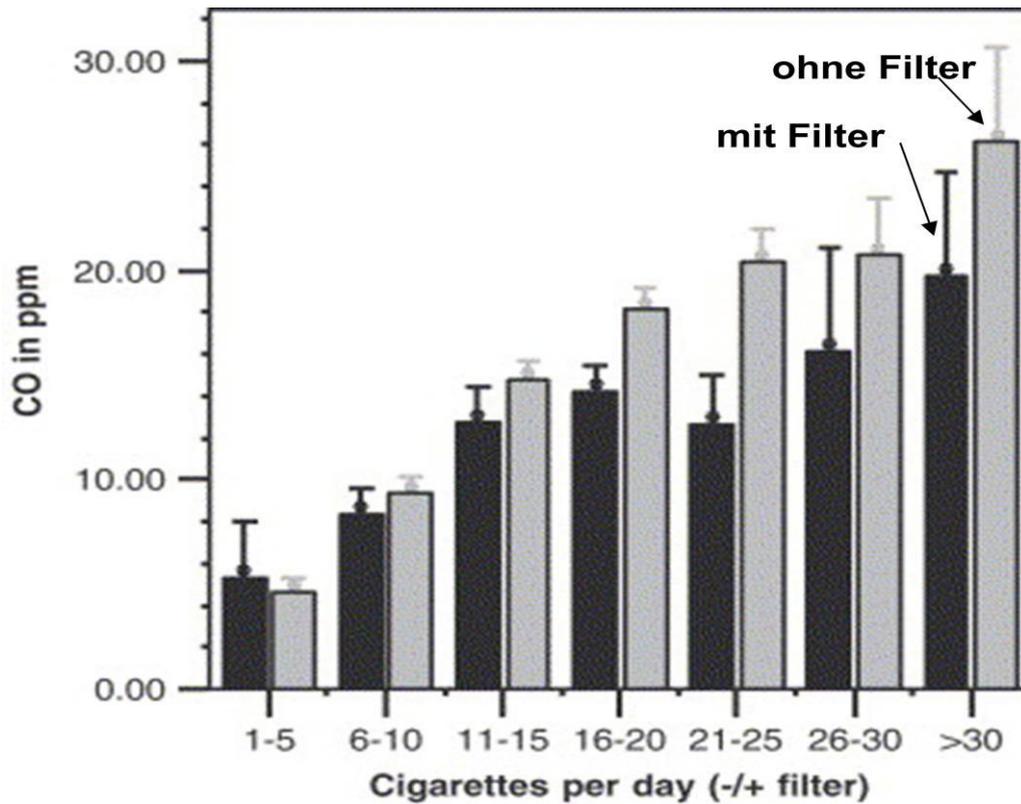


Abbildung 4: Beziehung zwischen Zigarettenkonsum und exhaliertem CO [Fabricius et al. 2007]

Auch zur Diagnostik und Therapiekontrolle von an Asthma erkrankten Kindern wurde die Messung des exhaliereten CO versuchsweise eingesetzt (Abb. 5). Diese zeigten einen signifikant höheren Wert als die gesunden bzw. anfallsfreien Kontrollgruppen, allerdings handelt sich dabei nur um vereinzelte Beobachtungen, die nicht von allen Autoren reproduziert werden konnten (Abb. 6).

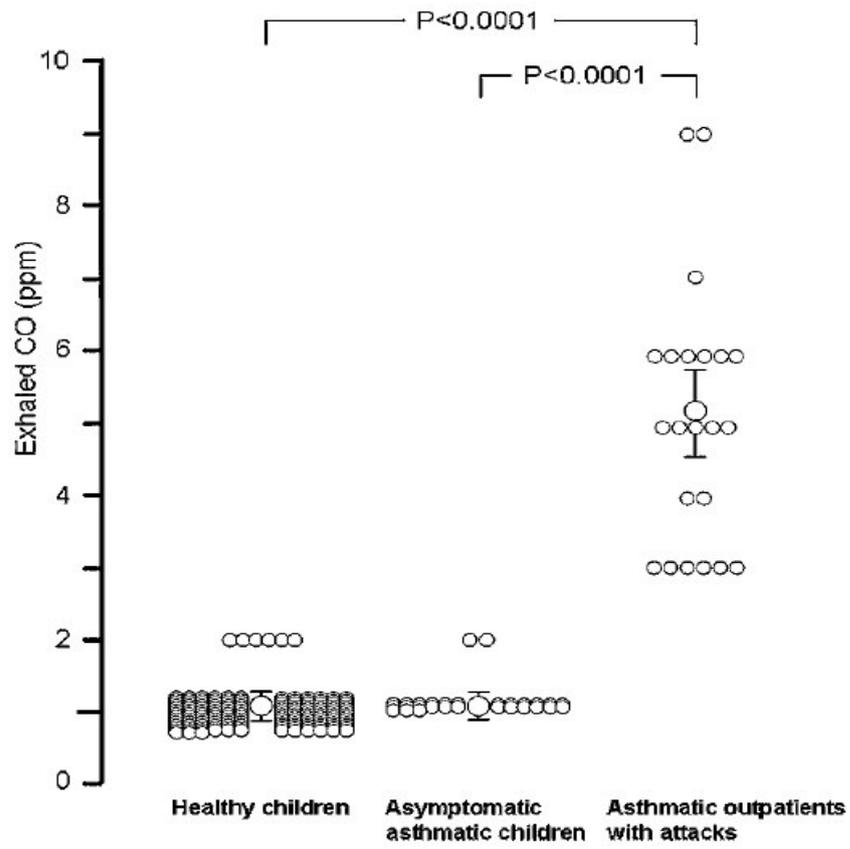


Abbildung 5: Exhaliertes CO bei Schulkindern mit episodischem Asthma [Ohara et al. 2006]

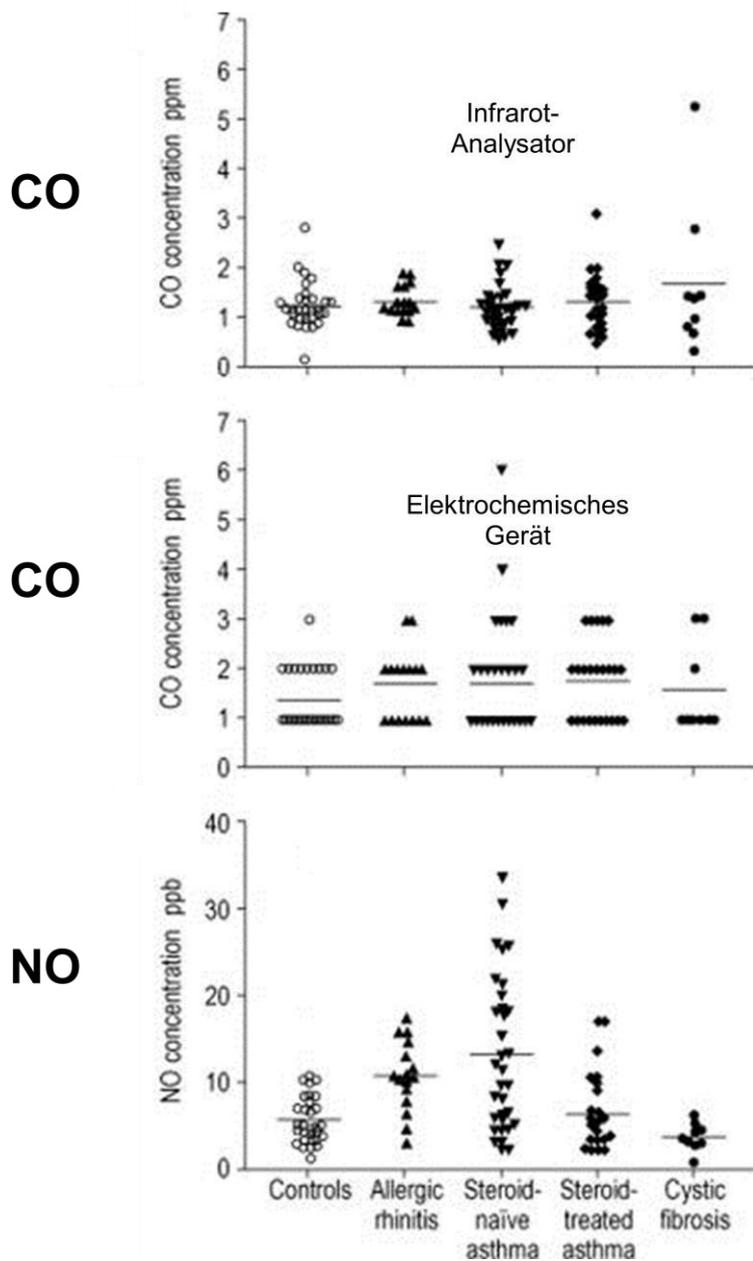


Abbildung 6: Keine Unterschiede im exhaliierten CO zwischen Erkrankungen [Zetterquist et al. 2002]

CO wurde auch gemessen, um möglichen oxidativen Stress nach einer Organtransplantation zu erfassen. So zeigte sich nach Lungentransplantation ein Anstieg des CO-Gehalts, der mit einer auftretenden Neutrophilie in der bronchoalveolären Lavage (BAL) korreliert (Abb. 7) und insofern auf plausible Weise mit möglichem oxidativen Stress assoziiert war.

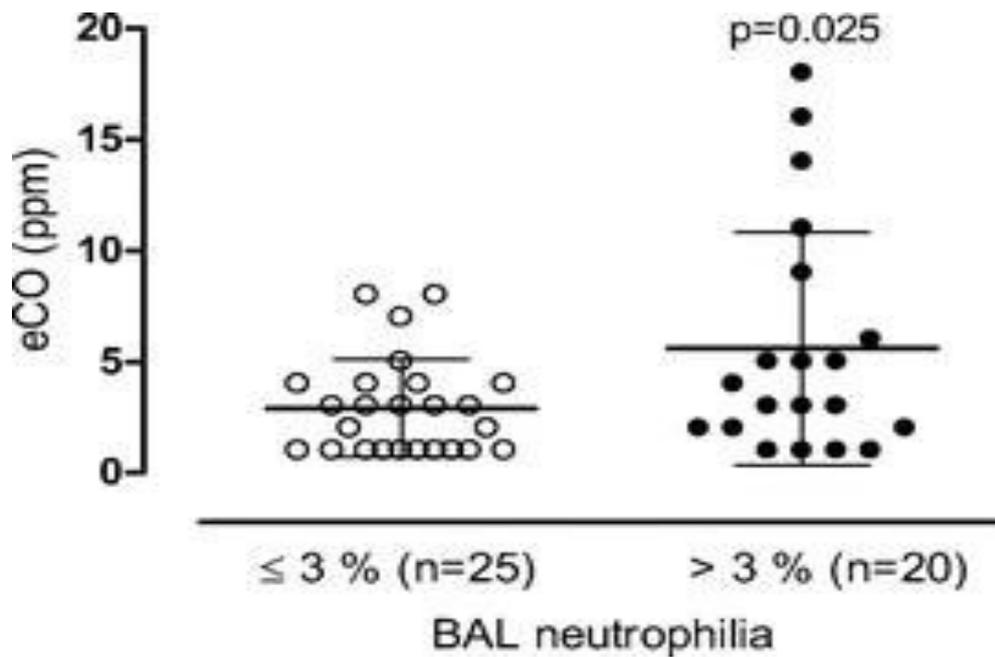


Abbildung 7: Erhöhtes CO assoziiert mit BAL-Neutrophilie nach Lungentransplantation [Vos et al. 2009]

2.1.3 Einflussfaktoren auf das exhalierete CO

Wie unter 2.1.1 dargelegt, ist CO im Prinzip ein attraktiver Marker für oxidativen Stress. Allerdings hängt die Konzentration von CO in der Ausatemluft über die inhalative Aufnahme von CO von äußeren Einflussfaktoren wie beispielsweise der Umweltbelastung oder dem Rauchverhalten ab (Abb. 8).

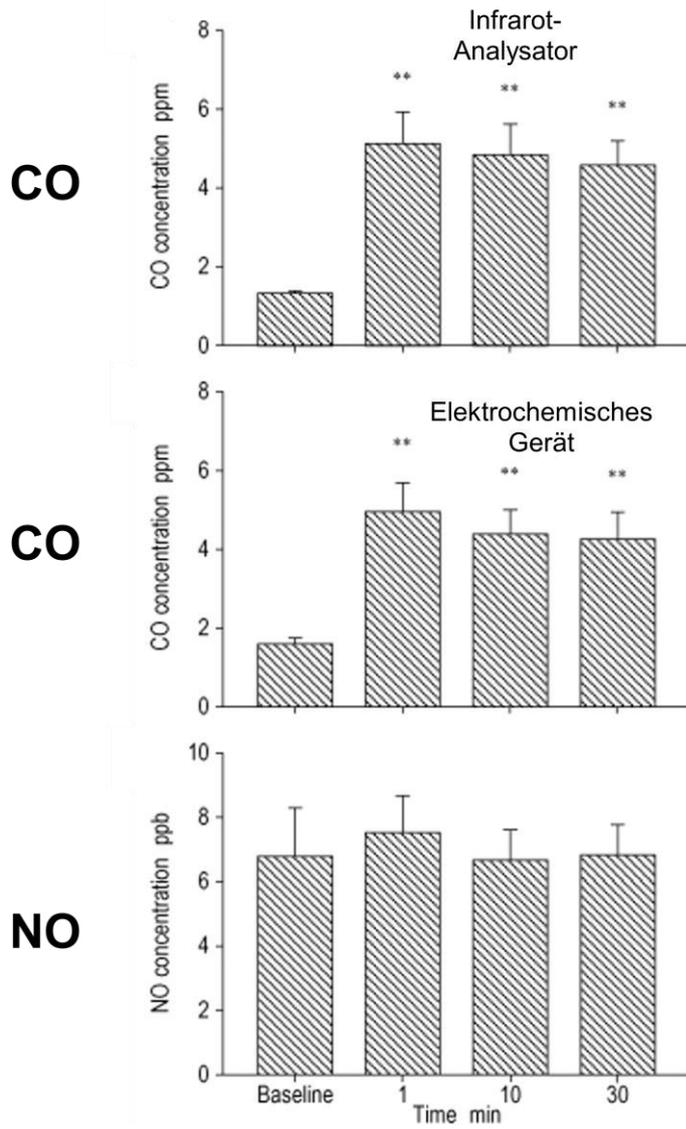


Abbildung 8: Akuteffekt einer Zigarette auf das exhalierete CO und NO [Zetterquist et al. 2002]

Allein schon die Teilnahme im Straßenverkehr erhöht die CO-Konzentration. Auch bei Nichtrauchern, die in Städten wohnen, werden durchschnittlich erhöhte CO-Werte gemessen (Abb. 9)

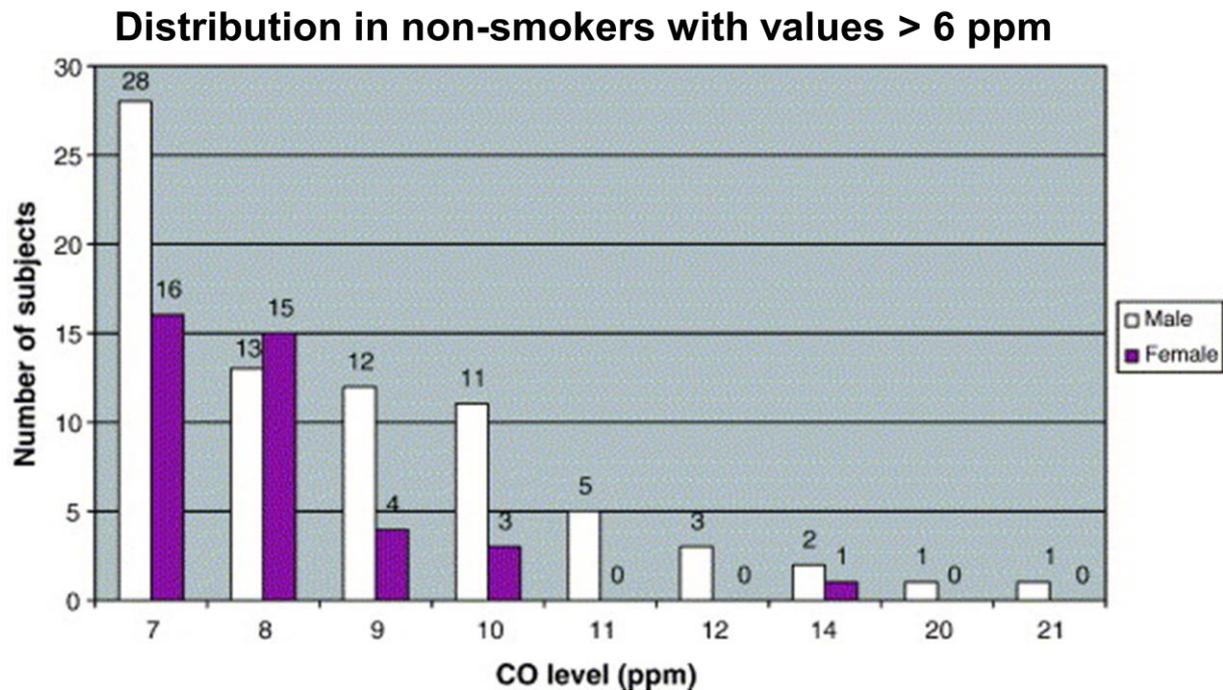


Abbildung 9: Endexpiratorischer CO-Gehalt in der Ausatemluft gesunder Probanden aus dichtbevölkerten, städtischen Gebieten [Jones & Lam 2006]

Auch endogene Faktoren, die CO direkt dem Kreislauf zuführen oder seinen Übertritt in die Atemluft verändern, sind zu berücksichtigen. So kann eine eingeschränkte Lungenfunktion zu einer erhöhten Streuung der gemessenen CO-Werte führen. Bei schlechter Lungenfunktion erhöht sich die Differenz zwischen den gemessenen CO-Werten und dem Wert, den man aus den gemessenen Carboxyhämoglobin (COHb) erwarten würde (Abb. 10). Darin spiegelt sich der erschwerte Übertritt des CO vom Blut in die Ausatemluft wider. Bei schlechter Lungenfunktion ist folglich der CO-Wert in der Ausatemluft nicht mehr in gleicher Weise zum COHb korreliert wie bei guter Lungenfunktion. Dies beeinflusst eine mögliche Anwendung als Marker des oxidativen Stress in den Alveolen insofern, als auch bei einer erhöhten alveolären CO-Produktion damit zu rechnen wäre, dass die am Mund gemessenen Werte vom Grad der Obstruktion abhängen würden.

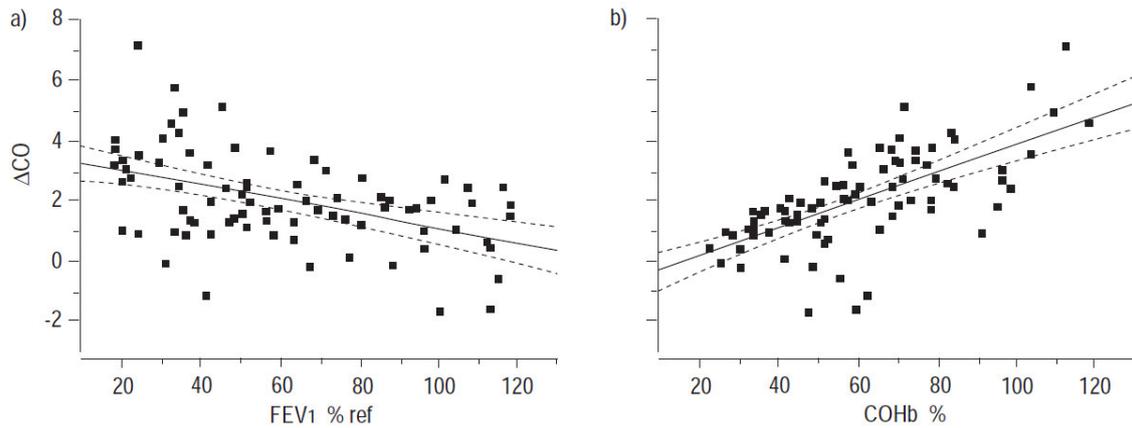


Abbildung 10: Die Werte des exhalieren CO sind beeinflusst durch Atemwegsobstruktion [Togores et al. 2000].

Diese Beispiele verdeutlichen, wie kritisch die Messung des in der Ausatemluft enthaltenen CO ist, so dass der Rückschluss auf eine mögliche Entzündung nicht ohne Probleme erfolgen kann. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob diese Probleme durch eine individuelle Analyse der Beziehung zwischen COHb und eCO gelöst werden können.

2.2 Alveoläre NO-Konzentration

Die alveoläre NO-Konzentration (NO_{alv}) ist, jedenfalls mittels nichtinvasiver Verfahren, nur indirekt zu messen. Man kann abschätzen, dass selbst bei geringgradiger bronchialer NO-Produktion, wie sie bei Gesunden zu erwarten ist, und bei hohen Ausatemraten, die mit einer geringen Verweilzeit der Luft in den Bronchien einhergehen, die Beiträge seitens des bronchialen NO zur Ausatemkonzentration um mindestens etwa den Faktor 10 größer sind als diejenigen des alveolären NO. Diese Abschätzungen basieren auf Modellannahmen, d.h. sie müssen notwendigerweise unter Anwendung derjenigen Modelle gewonnen werden, deren Validität in der vorliegenden Arbeit untersucht wird.

Je schneller die Luft abgeatmet wird, desto weniger NO kann aus den Bronchien in sie übertreten, so dass theoretisch bei unendlich hoher Ausatemgeschwindigkeit kein NO mehr aus den Bronchien abgegeben und nur das NO alveolären Ursprungs gemessen würde (Abb. 11).

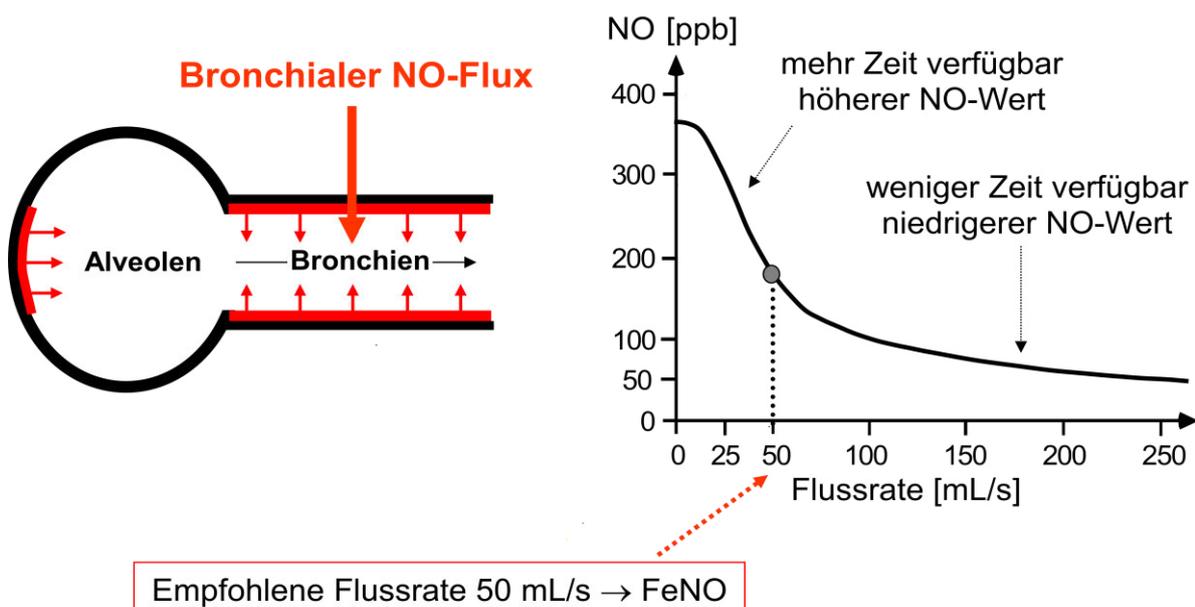


Abbildung 11: Beziehung zwischen Ausatemrate und Konzentration des exhalierten NO

Bei Asthmatikern mit erhöhter bronchialer NO-Konzentration ist das Verhältnis zwischen bronchialem und alveolärem NO noch ungünstiger und kann abhängig von der Ausatemrate den Faktor 50 oder mehr erreichen. Dies hat zur Folge, dass nur indirekt mittels einer rechnerischen Extrapolation eine Aussage über das alveoläre NO möglich ist, jedenfalls dann, wenn man ein nichtinvasives Verfahren fordert. Diese Extrapolation muss innerhalb eines

physiologischen Modells gerechtfertigt werden. Der indirekte Schluss auf NO_{alv} kann nach derzeitigem Kenntnisstand nur über eine Analyse der Flussabhängigkeit des exhalierten NO mittels der in Kapitel 2.2.6 beschriebenen Methoden erfolgen.

2.2.1 Pathophysiologische Bedeutung von NO in der Lunge

Grundlage der klinischen Messung von NO ist die Beobachtung, dass NO einen Marker der Entzündung in den Atemwegen darstellt [z.B. Dweik et al. 2011; Dressel et al. 2008]. Dies gilt vornehmlich dann, wenn die Entzündung mit einer Aktivierung eosinophiler Granulozyten bzw. einem allergischen Geschehen assoziiert ist. Daneben ist NO an der Infektabwehr beteiligt; entsprechend finden sich während oder nach Atemwegsinfekten erhöhte Werte [de Gouw et al. 1998].

Die weiteren bekannten Funktionen von NO als Neurotransmitter sowie seine zentrale Rolle als Vasodilatator spielen im Zusammenhang der genannten Anwendungen vermutlich keine wesentliche Rolle und werden im Verlaufe dieser Arbeit nicht berücksichtigt. Aufgrund seiner hohen Reaktivität ist es unwahrscheinlich, dass signifikante Anteile von NO aus den Gefäßen in der Ausatemluft zu finden sind. Vielmehr geht man davon aus, dass das exhalierete NO zum überwiegenden Teil aus bronchialen Epithelzellen [Jiang et al. 2009] stammt und auf enzymatischem Wege durch die induzierbare NO-Synthase (iNOS, NOS Typ2) produziert wird. Die Aktivierung dieser Zellen hängt in komplexer Weise mit der Rekrutierung und Aktivierung von Entzündungszellen, insbesondere eosinophilen Granulozyten, zusammen und ist insofern ein Indikator des entzündlichen Geschehens.

Beim klinischen Einsatz des FeNO handelt es sich um eine potenzielle diagnostische Hilfe, die in der klinischen Praxis breit eingesetzt werden kann [z.B. Schneider et al. 2009, 2013, 2014]. Vor allem bei an Asthma erkrankten Patienten werden erhöhte NO-Werte gemessen.

Ferner kann FeNO zum Monitoring nach Interventionen bei Patienten mit Asthma Anwendung finden [Dressel et al. 2007; Chérot-Kornobis et al. 2012]. So zeigte sich bei

Landwirten, die an allergischem Asthma erkrankt waren, nach einer Schulung und Therapieberatung im Vergleich zur ungeschulten Kontrollgruppe eine signifikante Absenkung des FeNO (Abb. 12). Diese gab einen Hinweis auf die Effektivität dieser Maßnahmen, der in dieser Form in der Lungenfunktion nicht bzw. nicht so rasch zu beobachten war.

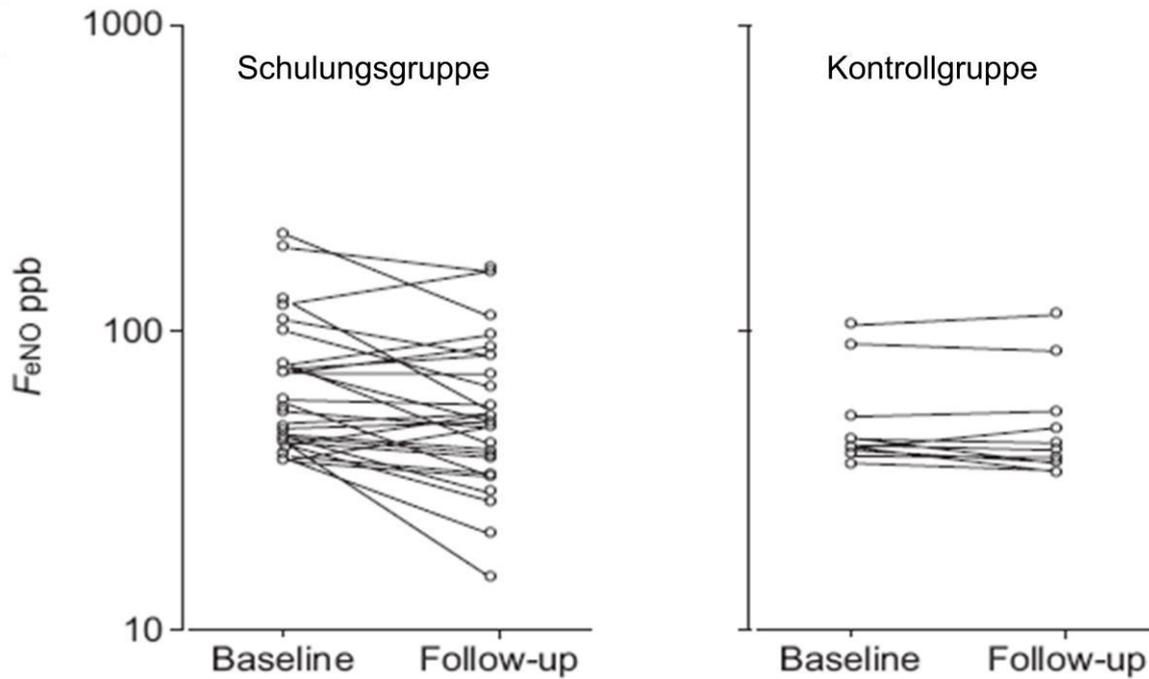


Abbildung 12: Exhalierendes NO (FeNO) in der Ausatemluft bei Patienten mit Asthma; Gruppe a) Schulung und Therapie b) Kontrollgruppe. Follow-up Messung nach 4 – 6 Wochen [Dressel et al. 2007]

Für das alveoläre NO ist im Gegensatz zum FeNO die Datenlage wesentlich unübersichtlicher. Von verschiedenen Autoren wurden Beziehungen zum Schweregrad des Asthma oder Veränderungen der Lungenfunktion aufgezeigt [z.B. van Veen et al. 2006]. Diese Arbeit beleuchtet allerdings unfreiwillig auch die Schwierigkeiten der Bestimmung des alveolären NO, da offenkundig die beobachteten Unterschiede und Beziehungen auf der Abschätzung negativer alveolärer NO-Konzentrationen beruhten, die physikalisch keinen Sinn ergeben (Abb. 13).

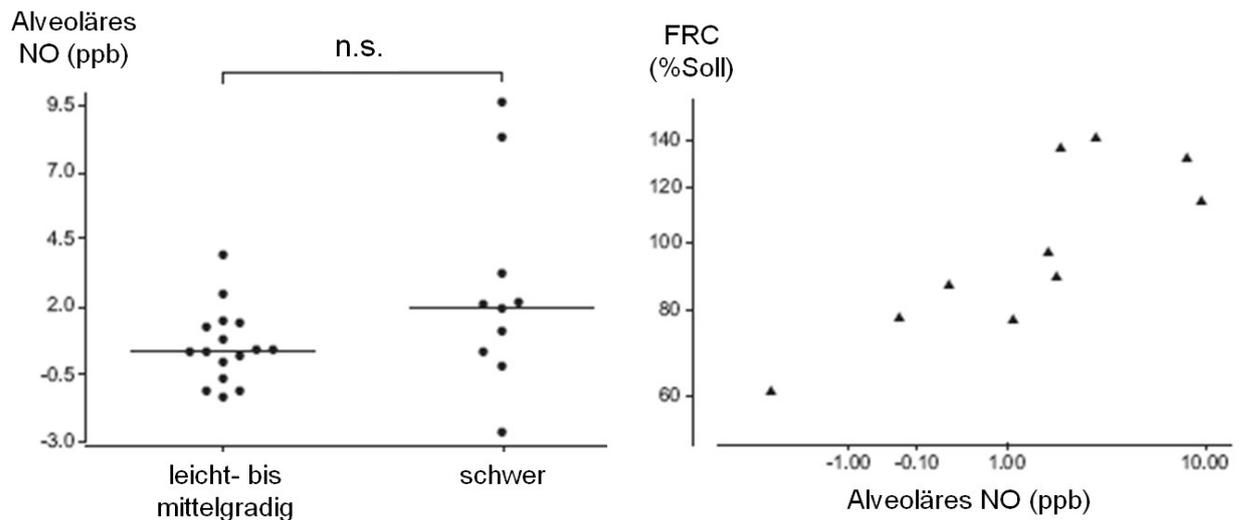


Abbildung 13: Korrelation des alveolären NO mit Indikatoren peripherer Atemwegsdysfunktion bei Patienten mit Asthma [van Veen et al. 2006]

Bei an Asthma erkrankten Kindern wurden ebenfalls Unterschiede des alveolären NO zu gesunden Kindern berichtet [Paraskakis et al. 2006]; allerdings ist die Streubreite der Daten beachtlich und lässt keine klare Interpretation zu (Abb. 14). Die Unterschiede des alveolären NO waren im Mittel denen des standardmässig bei 50 ml/s gemessenen FeNO weitgehend parallel, wenn auch die individuelle Beziehung zwischen beiden Parametern nicht sehr eng war. Im Prinzip war zu erwarten, dass das alveoläre NO mit dem exhalieren NO bei einer hohen Flussrate geringfügig besser korrelierte als bei einer niedrigen Flussrate, da bei einer hohen Flußrate der Beitrag des bronchialen NO relativ geringer ausfällt. Dennoch war die Korrelation nur schwach. Zwar kann die Abwesenheit einer engen Beziehung dafür sprechen, dass es sich um klinisch unabhängige Informationen handelt, andererseits jedoch ist nicht auszuschließen, dass sich darin primär die biologische und messtechnische Streuung widerspiegelt; diese Frage ist jedoch derzeit nicht zufriedenstellend geklärt. Mögliche methodologische Ursachen einer solchen Streuung zu untersuchen war das Ziel der vorliegenden Arbeit.

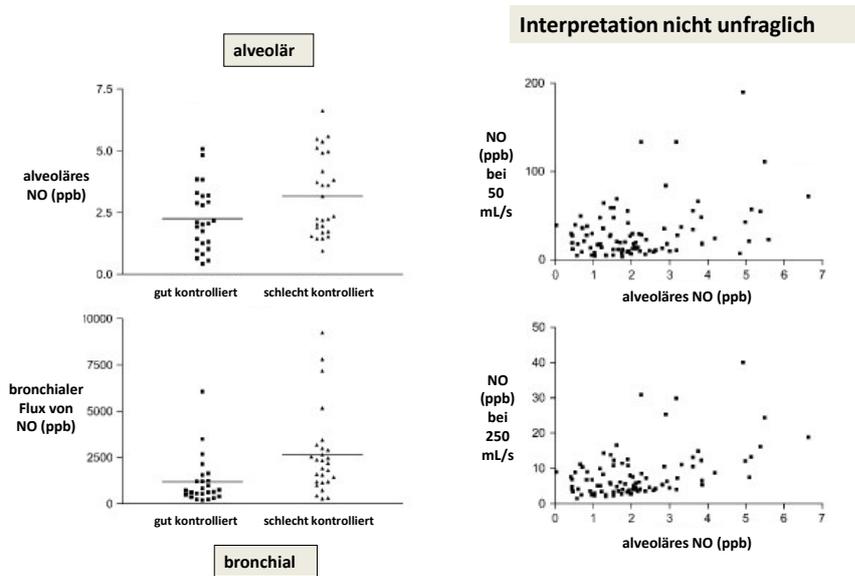


Abbildung 14: Bronchiales und alveoläres NO bei Kindern mit und ohne Asthma [Paraskakis et al. 2006]

2.2.2 Einflussfaktoren auf das exhalierete NO

Neben der Abhängigkeit von der Ausatemrate gibt es eine Reihe anderer Faktoren, die den Wert des exhaliereten NO beeinflussen. Dazu gehören Wechselwirkungen zwischen der internen oder externen Zufuhr von Oxidanzien, die zu chemischen Reaktionen mit dem in der Atemwegsschleimhaut produzierten NO führen und somit eine Abnahme des exhaliereten NO bewirken. Dies wird nahegelegt durch Untersuchungen, in denen die endogene Oxidanzienproduktion moduliert wurde [Wewel et al. 2006; Ichinose et al. 2003]. Auch die Tatsache, dass die Werte von FeNO bei Rauchern erniedrigt sind sowie nach Rauchstopp ansteigen [Robbins et al. 1997; Dressel et al. 2008], dürfte zumindest teilweise auf die Oxidanzienzufuhr durch den Zigarettenrauch zurückzuführen sein.

Darüber hinaus gibt es weitere Faktoren, die die Konzentration des exhaliereten NO beeinflussen. Zu den individuell verschiedenen, aber im Allgemeinen fixen Faktoren gehört die Geometrie bzw. verfügbare Oberfläche der Atemwege, die bestimmt, wie viel NO bei einer gegebenen NO-Produktion in der Schleimhaut in die Ausatemluft übertreten kann. Diese Oberfläche kann Bronchokonstriktion bzw. -dilatation verändert werden. Ferner hängt die Konzentration des exhaliereten NO davon ab, ob sich in den Atemwegen entzündliche

Prozesse im Sinne einer allergischen Reaktion oder einer Virusinfektion abspielen. Vor Allem die allergische Reaktion ist eine der Zielgrößen, die man mittels der Messung von FeNO zu eruieren sucht. Diese Überlegungen illustrieren, dass die Interpretation von FeNO, so einfach und direkt die Messung erscheint, eine Vielzahl von Faktoren berücksichtigen muss, wenn Fehlschlüsse vermieden werden sollen.

In einigen Analysen [zum Beispiel Dressel et al. 2008] wurde gezeigt, dass man für einige dieser Einflussfaktoren korrigieren kann und diese in erster Näherung durch multiplikative Korrekturfaktoren berücksichtigt werden können (Abb. 15). Leider hat sich diese differenzierte Betrachtung von FeNO noch nicht vollständig in der klinischen Praxis durchgesetzt.

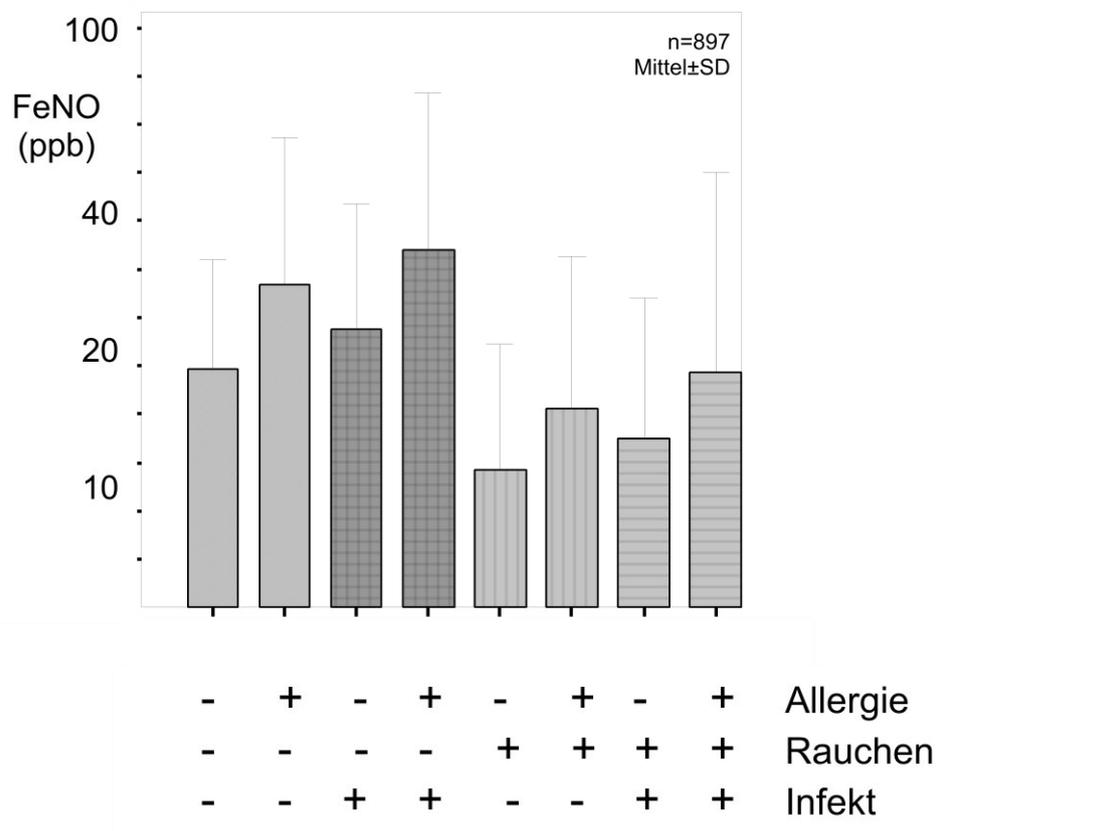


Abbildung 15: Einflussfaktoren auf FeNO [Dressel et al. 2008]. Zu erkennen ist, dass die Unterschiede im Wesentlichen additiv sind, d.h. bei der gewählten logarithmischen Skala konstanten Differenzen entsprechen.

Wie bislang dargelegt, ist zum einen die Messung von FeNO bei einer Ausatemrate von 50 ml/s standardisiert, zum anderen die Berücksichtigung der bekannten Einflussfaktoren

möglich. Insgesamt ist die Anwendung von FeNO wenig umstritten. Anders verhält es sich für das alveoläre NO; hier gibt es derzeit weder ein Standardmessverfahren noch eine allgemein akzeptierte klinische Anwendung.

So fand eine Untersuchung [Verbanck et al. 2009], dass sich der Schätzwert des alveolären NO in der ausgeatmeten Luft je nach Körperposition änderte, während das NO aus den Bronchien (im Wesentlichen FeNO) konstant blieb (Abb. 16). Diese Effekte dürften auf eine unterschiedliche Perfusion bzw. ein verändertes Ventilations-Perfusionsverhältnis der Lunge zurückzuführen sein. In jedem Fall sprechen diese Beobachtungen dafür, dass das alveoläre NO zumindest teilweise auf einen Austausch mit dem Blut zurückzuführen ist und deshalb von der Perfusion abhängt, die bekanntermaßen im Sitzen und Liegen unterschiedlich ist. Umgekehrt ist es weniger wahrscheinlich, dass bei den untersuchten gesunden Probanden alleine die möglichen Veränderungen der Ventilation im Sitzen versus Liegen für einen veränderten Wert des alveolären NO verantwortlich waren; eine solche Abhängigkeit wäre am ehesten bei obstruktiven Patienten mit inhomogener Belüftung der Lunge zu erwarten. Sie könnte nur zustande kommen, wenn Unter- und Oberlappen der Lunge unterschiedliche alveoläre NO-Werte aufwiesen, die im Sitzen und Liegen in unterschiedlicher relativer Gewichtung zum ausgeatmeten NO beitragen würden. Eine solche Situation erscheint eher unwahrscheinlich, und es gibt keine pathophysiologischen Indizien dafür. Daher bleiben Unterschiede der Perfusion als primäre Erklärung.

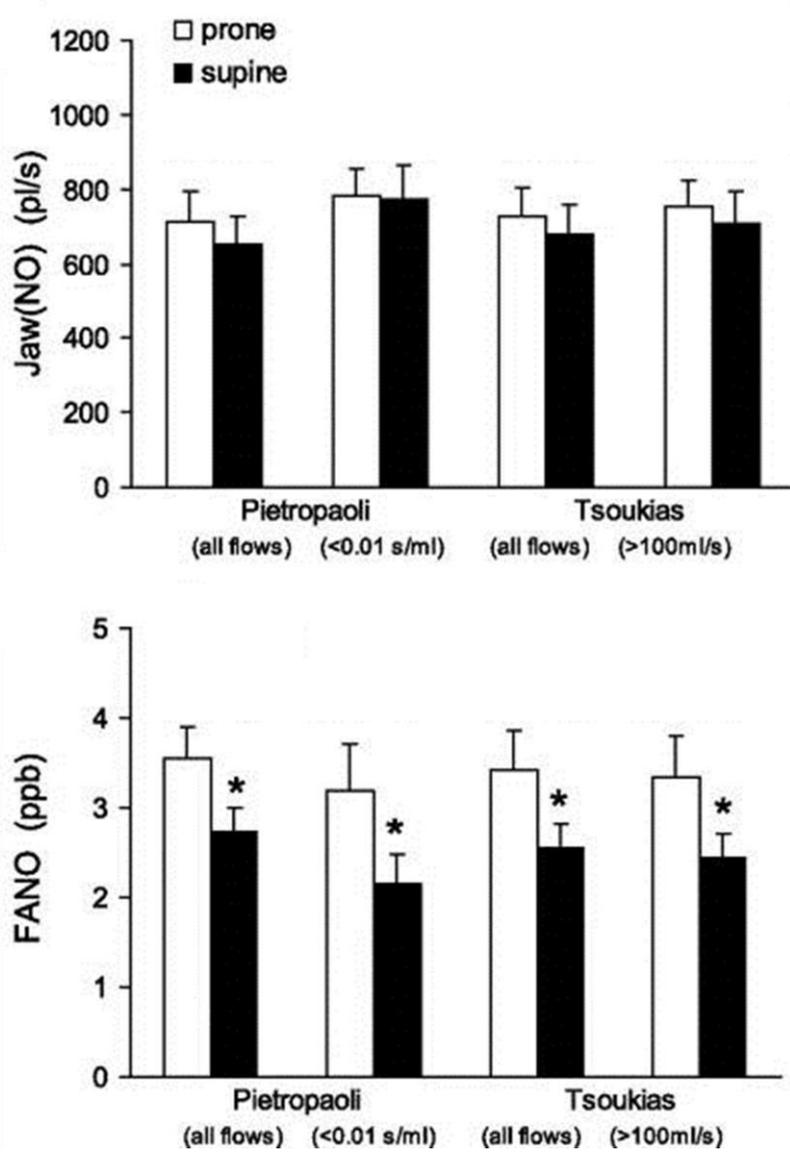


Abbildung 16: Effekt der Körperposition auf das bronchiale (Jaw(NO)) und alveoläre NO (FANO) bei zwei verschiedenen Auswertemethoden [Verbanck et al. 2009]

2.2.3 Modellvorstellungen zur Aufteilung des exhaliierten NO

Die Produktion des exhaliierten NO kann durch ein Zweikompartimenten-Modell auf einfache und plausible Weise beschrieben werden (siehe Abb. 11). Das Modell enthält ein bronchiales Kompartiment in Form einer von der Ausatemluft durchströmten Röhre sowie ein alveoläres Kompartiment in Form eines nicht weiter strukturierten Raumes, der das periphere Luftreservoir für die Ausatmung darstellt. Die Parameter, die das Modell und somit die funktionale Abhängigkeit des NO von der Ausatemrate beschreiben, sind 1.) die bronchiale NO-Schleimhautkonzentration als treibende Kraft und Reservoir von NO, 2.) der bronchiale NO-Diffusionsfaktor, der beschreibt, wie leicht NO aus der Wandung in das Lumen übertritt, sowie 3.) die alveoläre NO-Konzentration im peripheren Kompartiment, die als konstant angenommen wird.

Bei der Ausatmung wird Luft mit dieser fixen alveolären Konzentration in die Bronchien eingespeist und dort abhängig von der Flussrate mit NO angereichert. Wie bereits erwähnt, dominiert diese Anreicherung über das alveoläre NO. Die Beziehung zwischen der Ausatemrate und dem exhaliierten NO kann in dieser idealisierten Form durch ein einfaches mathematisches Modell dargestellt werden. Es hat sich gezeigt, dass die resultierende nichtlineare Funktion die charakteristische Abhängigkeit der gemessenen NO-Werte von der vorgegebenen Flussrate nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ sehr gut wiedergibt.

2.2.4 Verfahren zur Ermittlung der alveolären NO-Konzentration

In der Literatur wurden mehrere Verfahren beschrieben, die direkt oder indirekt die gewünschte Extrapolation anhand mehrerer Ausatemraten leisten. Die Verfahren umfassen die direkte Analyse der nichtlinearen Beziehung zwischen NO und Ausatemrate mittels iterativer Schätzverfahren, oder beruhen auf Linearisierungen der nichtlinearen Abhängigkeit, d.h. näherungsweise Umformungen in die Form einer Geraden (Abb. 17), oder sie bedienen sich einer Kombination beider Ansätze. Allerdings sind bei der Linearisierung nicht mehr alle drei Parameter des Modells schätzbar. Ein potenzielles Problem liegt darin, dass bei den mathematischen Umformungen der idealen Modellgleichung die tatsächlich auftretenden

Messfehler ebenfalls transformiert werden. Dies kann, wie z.B. aus der Enzymkinetik (Lineweaver-Burk-Plot) bekannt, zu Problemen führen, weil unbeabsichtigt Messwerte, die mit hohen Fehlern behaftet sind, ein großes statistisches Gewicht erhalten können. Dies kann zu absurden Parameterschätzungen führen. In der Literatur wurden die verschiedenen Analysemöglichkeiten von NO_{alv} bislang oft unkritisch eingesetzt, ohne eine nähere Analyse des Problems vorzunehmen. Ähnliches gilt für die Gefahr eines systematischen Schätzfehlers (Bias) durch die Verwendung eines ungeprüften Modells.

Die direkte Schätzung der Parameter anhand der Messwerte beruht darauf, dass man schrittweise die Parameterwerte so verändert, bis die entsprechende Kurve optimal, d.h. mit der kleinsten quadratischen Abweichung, durch die Messpunkte läuft (Abb. 11).

Die Linearisierung [Tsoukias et al. 1998] beruht auf folgender Überlegung: Die treibende Kraft für den Übertritt von NO aus der Bronchialwand in das Lumen ist die Konzentrationsdifferenz zwischen Wand und Lumen. Diese Differenz ändert sich bei niedrigen Ausatemraten dramatisch, da die Konzentration im Lumen stark schwankt und hoch oder niedrig sein kann. Bei hohen Ausatemraten ist die Konzentration im Lumen relativ konstant und verglichen mit der Konzentration in der Bronchialwand immer niedrig. Aus diesem Grund ist auch die Konzentrationsdifferenz zur Wand nahezu konstant und näherungsweise durch die Konzentration der Bronchialwand gegeben. Dies hat zur Folge, dass die Übertrittsrate von NO pro Zeiteinheit praktisch flussunabhängig ist und nur noch von der als konstant angenommenen Wandkonzentration abhängt. Wieviel NO für eine gegebene Wandkonzentration in das Lumen übertritt, hängt von dem bronchialen Transferfaktor von NO ab, der eine Art bronchialer NO-Diffusionskapazität darstellt.

Daher ist die Gesamtmenge an bronchialem NO, die pro Zeiteinheit ausgeatmet wird, konstant. Zwar wird bei einer Verdopplung der Ausatemrate die Kontaktzeit mit der Bronchialwand halbiert und daher die Konzentration von NO auf die Hälfte reduziert. Andererseits wird bei doppelter Ausatemrate auch das doppelte Volumen pro Zeiteinheit ausgeatmet. Dieses doppelte Volumen enthält die halbe Konzentration von NO, so dass die Gesamtmenge von NO, das heißt das Produkt von Konzentration und Volumen, konstant bleibt. Diese Überlegung verdeutlicht, dass bei hohen Ausatemraten zwar immer noch ein wesentlicher Anteil des ausgeatmeten NO aus den Bronchien stammt, die Gesamtmenge dieses bronchialen NO aber näherungsweise konstant ist.

Diese Tatsache ermöglicht es, das alveoläre NO zu ermitteln. Die alveoläre NO-Konzentration wird nämlich, im Gegensatz zu der wechselnden Konzentration im bronchialen Lumen, als konstant angenommen. Bei einer doppelten Ausatemrate wird folglich auch die doppelte Menge von NO, das aus den Alveolen stammt, ausgeatmet. Die Menge des ausgeatmeten aus den Alveolen stammenden NO ist demzufolge der Ausatemrate proportional. Es gibt also bei hohen Flussraten zwei Anteile in der Menge des ausgeatmeten NO (NO-Output = Produkt aus Ausatemrate und Konzentration): einen konstanten Anteil aus den Bronchien und einen mit der Ausatemrate linear zunehmenden Anteil aus den Alveolen. Daher ergibt sich eine Gerade, deren Steigung einen Rückschluss auf das alveoläre NO zulässt.

Der Basislevel des NO-Output wird somit durch die NO-Menge pro Zeit gegeben, die aus den Bronchien stammt und bei hohen Flussraten praktisch konstant ist. Der flussabhängige Anstieg des NO-Output geht dann alleine auf das alveoläre NO zurück. Die Steigung ergibt direkt die alveoläre NO-Konzentration, und zwar deshalb, weil Steigung gleich vertikale Änderung dividiert durch horizontale Änderung ist. Auf der vertikalen Achse steht das Produkt von Konzentration und Ausatemrate, auf der horizontalen Achse die Ausatemrate, so dass der Quotient direkt die Konzentration ist. Daher kann aus einem entsprechenden Plot die alveoläre NO-Konzentration mit Hilfe einer linearen Regressionsanalyse geschätzt werden. Die beschriebenen Beziehungen sind in Abbildung 17 illustriert. Bei dieser Art der Analyse sollte immer bedacht werden, dass die Voraussetzungen nur erfüllt sind, wenn erstens das zu Grunde liegende Modell die Wirklichkeit hinreichend gut beschreibt und zweitens hohe oder sehr hohe Ausatemraten gewählt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde unter anderem die Gültigkeit dieser Voraussetzungen geprüft.

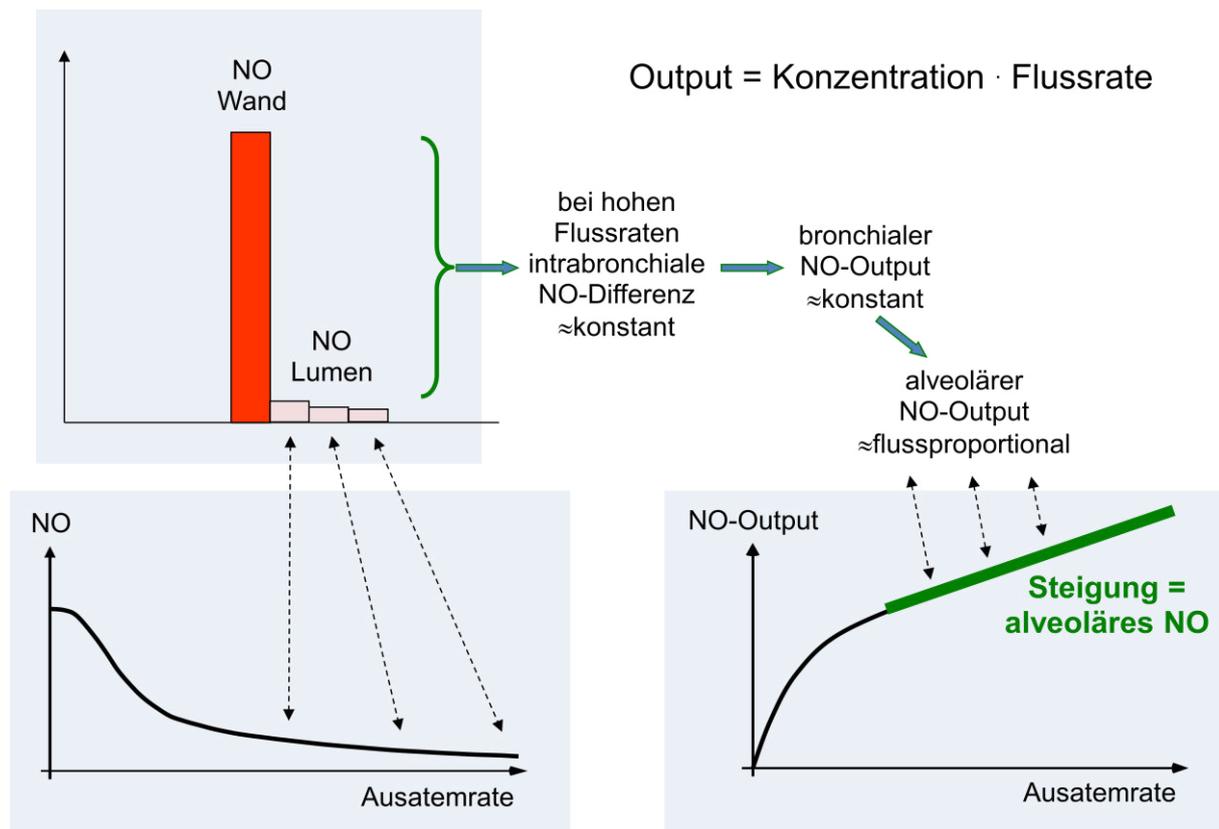


Abbildung 17: Grundlagen der linearisierten Analyse des alveolären NO. Oben links ist dargestellt, dass bei hohen Ausatemraten die Konzentration des ausgeatmeten NO gering ist. Daher ist die Konzentrationsdifferenz zur bronchialen Wand groß und näherungsweise konstant. Dies hat zur Folge, dass die Übertrittsrate von NO in das Lumen der Atemwege ebenfalls konstant ist. Im linken unteren Teilbild ist gezeigt, wie sich die genannten Werte in einer Kurve der NO-Konzentration gegen die Ausatemrate abbilden. Im rechten unteren Teilbild ist illustriert, dass bei hohen Ausatemraten die Gesamtmenge des ausgeatmeten NO zwei Anteile aufweist. Der flussproportionale Anteil hängt in linearer Weise von der Ausatemrate ab. Daher kann aus der Steigung direkt die Konzentration des alveolären NO abgelesen werden. Diese Analyse ist nur bei hohen Flussraten und vorausgesetzter Gültigkeit des Zwei-Kompartimenten-Modells anwendbar.

2.2.5 Probleme bei der Schätzung

Die Möglichkeit der linearisierten Analyse führt im Extremfall zu der Option, anhand nur zweier Flussraten bzw. Datenpunkte eine Regressionsgerade zu bestimmen. Die Steigung dieser Regressionsgerade ist wie in 2.2.6 beschrieben die alveoläre NO-Konzentration [Tsoukias et al. 1998]. Die anderen beiden Parameter des NO-Modells (bronchiale Wandkonzentration und bronchialer NO-Transferfaktor) können in dieser vereinfachten Analyse nicht bestimmt werden. In jedem Fall ist klar, dass bei Verwendung einer sehr geringen Zahl von Datenpunkten (minimal zwei) das Verhältnis der Zahl der Messwerte zur Zahl der zu schätzenden Parameter statistisch fragwürdig wird. Wenn nur eine Messung bei zwei verschiedenen Ausatemraten erfolgt, ist deren Verlässlichkeit nicht mehr anzugeben.

Die der Linearisierung zu Grunde liegenden Vereinfachungen waren durch zwei Überlegungen motiviert. Zum einen bestand das Bestreben, zu einfachen, ohne großen Rechenaufwand handhabbaren Beziehungen zu gelangen. Dies ist im Allgemeinen nur mit Regressionsgeraden oder ähnlich einfachen Beziehungen möglich. Sofern immer eine Gerade angenommen wird, kann der Eindruck entstehen, mit nur zwei Datenpunkten bereits eine valide Abschätzung vornehmen zu können. Es war eine der Aufgaben dieser Arbeit, zu eruieren, wieviele Datenpunkte man für eine verlässliche Abschätzung benötigt.

Zum anderen ist es mit gängigen Statistikprogrammen auch möglich, nichtlineare Funktionen ohne Linearisierung zu verwenden und die Modellparameter durch Suchalgorithmen zu bestimmen. Allerdings ist dies aufwändiger und teilweise statistisch weniger robust als eine lineare Regressionsanalyse. Die nichtlinearen Algorithmen arbeiten mittels systematischer Veränderung der Modellparameter. Diese werde so lange variiert, bis die Abweichung der Modellkurve von den Datenpunkten im Sinne des Kriteriums der kleinsten Quadrate minimal ist. Allerdings ist nicht garantiert, dass der Suchalgorithmus sinnvolle Werte findet, die die Daten gut beschreiben, oder überhaupt Werte findet. Dementsprechend führte auch in der vorliegenden Arbeit die direkte Anpassung der nichtlinearen Kurve nicht immer zu stabilen Resultaten und bisweilen sogar zu negativen alveolären NO-Konzentrationen, wie sie auch in der Arbeit von van Veen et al. [2006] auftraten.

Die Tatsache, dass mathematische Umformungen zu alternativen, aber im Prinzip gleichwertigen Formulierungen führen können, wäre ohne Bedeutung, wenn nicht gleichzeitig auch die Messfehler mit umgeformt würden und dadurch unter Umständen unsinnige Gewichtungen der Daten zustande kommen (siehe Kapitel 2.2.6). In jedem Fall verdeutlichen diese Überlegungen, dass die verschiedenen Ansätze zur Ermittlung der alveolären NO-Konzentration sich zwar im Prinzip auf das gleiche Zwei-Kompartimenten-Modell beziehen, aber mit den Daten unterschiedlich verfahren.

Theoretisch würde man der direkten nichtlinearen Anpassung den Vorzug geben; allerdings braucht man dazu möglicherweise viele Datenpunkte und geht dennoch das Risiko ein, zu unsinnigen Schätzwerten zu gelangen. Die Linearisierung als anderes Extrem ist zwar attraktiv, was die Einfachheit der Analyse angeht, und kommt möglicherweise auch mit wenig Datenpunkten aus. Jedoch sind die Voraussetzungen stärker als bei der direkten nichtlinearen Analyse, da hohe Ausatemraten vorausgesetzt werden. Dieses Problem ist nicht so offensichtlich, da seltener negative Steigungen, d.h. alveoläre NO-Konzentrationen

resultieren, allerdings verbürgt diese Tatsache keineswegs die Richtigkeit der Werte. Daneben sind auch Kombinationen denkbar, zum Beispiel die Schätzung der alveolären NO-Werte mittels Linearisierung und die ergänzende Schätzung der anderen beiden Parameter (bronchiale NO-Wandkonzentration und bronchialer NO-Transferfaktor) mittels des nichtlinearen Modells.

In wie weit die verschiedenen Ansätze zu gültigen Schätzwerten führen und wie das Verhältnis von messtechnischem und rechnerischem Aufwand zum Ertrag ist, ist nicht befriedigend geklärt. Die vorliegende Arbeit hatte unter anderem das Ziel, diese Frage anzugehen (siehe Abb. 18).

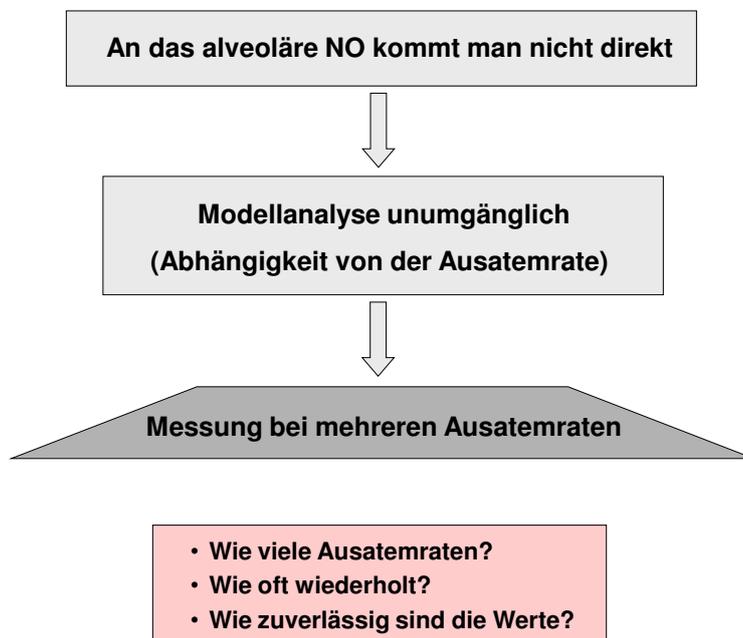


Abbildung 18: Strategie und sich ergebende Fragen bei der Analyse des alveolären NO

2.2.6 Mögliche Lösungsansätze

Die Probleme der Bestimmung des alveolären NO sind insofern technischer Natur, als bei verschiedenen Ausatemraten gemessen werden muss; diese Ausatemraten müssen präzise vorgebbar sein, ferner muss die Konzentration von NO mit hoher Genauigkeit gemessen werden, da sie bei hohen Ausatemraten sehr niedrige Werte annehmen kann. Die Werte bei diesen hohen Ausatemraten sind aber von entscheidender Bedeutung für die Extrapolation auf die Ausatemrate „unendlich“, bei der idealerweise das alveoläre NO unverfälscht als

Ausatemkonzentration messbar wäre. Dies gilt sowohl für die Linearisierung als auch die direkte nichtlineare Schätzung. Selbst wenn diese technischen Probleme gelöst sind, verbleiben die mit der Berechnung des alveolären NO verbundenen Schwierigkeiten. In der vorliegenden Arbeit konnte auf eine lange Erfahrung in der Messung von NO bei verschiedenen Ausatemraten zurückgegriffen werden. Daher standen nicht die technischen Probleme, sondern die statistisch-methodologischen Fragen im Vordergrund. Für den klinischen und klinisch-experimentellen Einsatz, zum Beispiel in Medikamenten- oder Umweltstudien, sollte die Methode möglichst wenige Einzelmessungen benötigen. Zum anderen ist klar, dass eine gewisse Mindestzahl von Wiederholungen bei verschiedenen Ausatemraten von Nöten sein wird, um überhaupt zu verlässlichen Werten zu gelangen. Ferner ist es wichtig, die Konsistenz und die Reproduzierbarkeit der Werte zu ermitteln.

Da keine Methode bekannt ist, die tatsächlichen alveolären NO-Konzentrationen direkt zu messen, fehlt eine wesentliche Komponente für die Überprüfung, ob die geschätzten Werte der Realität entsprechen. Ein Ausweg aus dieser Schwierigkeit besteht darin, eine Bewertung der Reproduzierbarkeit und Verlässlichkeit der statistischen Schätzverfahren anhand künstlich generierter Daten vorzunehmen. Dies erlaubt zwar nicht, die Gültigkeit des Modells direkt zu überprüfen, zumindest aber lassen sich die verschiedenen Schätzverfahren der Parameter miteinander vergleichen. Allerdings wird dabei die Gültigkeit des Zwei-Kompartimenten-Modells (oder eines anderen gewählten Modells) vorausgesetzt.

Zu diesem Zweck werden anhand der Modellgleichung unter Vorgabe der Parameterwerte Messkurven erzeugt. Diese werden mit zufälligen Fehlern versehen, um der Situation realer Messungen nahe zu kommen. Die Fehler werden zweckmäßigerweise so gewählt, dass sie den mittleren Streuungen wiederholter Messungen bei verschiedenen Ausatemraten entsprechen. Auf diese Weise ist es möglich, den statistisch-methodologischen Aspekt isoliert zu untersuchen und zu bestimmen, welche Minimalanforderungen erfüllt sein müssen, um zu validen Schätzwerten des alveolären NO zu gelangen. Man kann annehmen, dass diese auch die minimalen Anforderungen an reale Messungen darstellen, bei denen zusätzlich die Möglichkeit besteht, dass das Modell die physiologische Realität nur unzureichend widerspiegelt. Umgekehrt bedeutet dies, dass man die erhaltenen Schätzwerte als fragwürdig betrachten muss, falls die Messungen am Patienten nicht einmal diese Minimalanforderungen erfüllen.

3. Fragestellung der Arbeit

Aus den skizzierten Problemen der Messung von CO und alveolärem NO als potenziellen Markern alveolärer Entzündung ergab sich die Fragestellung dieser Arbeit.

In einem ersten Teilprojekt wurde geprüft, ob die Messung des exhalieren CO so modifiziert werden kann, dass die externen Einflüsse durch inhaliertes CO erkannt und korrigiert werden können. Zu diesem Zweck wurde versucht, durch systematische Variation des extern zugeführten CO eine Beziehung zwischen dem exhalieren CO und dem gemessenen COHb auf individueller Basis abzuleiten.

Dahinter stand die Überlegung, dass ein möglicher positiver CO-Wert bei einem COHb von Null eine echte alveoläre und/oder bronchiale Produktion von CO widerspiegeln könnte. Daher wurde geprüft, zu welchen Werten des exhalieren CO die jeweils individuell ermittelte Beziehung führte, wenn sie auf einen COHb-Wert von Null nach unten extrapoliert wurde. Zu diesem Zweck wurden 18 Probanden verschiedener Anamnese untersucht.

Das zweite Teilprojekt widmete sich mittels zweier aufeinander aufbauender Untersuchungen dem alveolären NO.

Die erste hatte zum Ziel, bei einer unterschiedlich großen Anzahl von Ausatemraten, die ein breites Spektrum von expiratorischen Flüssen abdeckten, in mehrfachen Wiederholungen Schätzwerte für die Variabilität der Messungen bei jeder der Flussraten zu ermitteln. Diese Schätzwerte waren wichtig, da in den zu vergleichenden mathematischen Verfahren, die zur Abschätzung der Modellparameter eingesetzt wurden, die unterschiedlichen Ausatemraten mit unterschiedlichem Gewicht eingehen. Andererseits wird in der praktischen Anwendung das Gewicht eines NO-Wertes bei einer bestimmten Ausatemrate auch von der Anzahl der Messungen bei dieser Ausatemrate bestimmt. Wenn man zu einer optimalen Balance zwischen dem Messaufwand und der Verlässlichkeit der geschätzten Parameter kommen will, braucht man die genannten Informationen. Dies ist insofern bedeutsam, als die offenen Fragen der klinischen Interpretation des alveolären NO wesentlich davon abhängen, wie verlässlich die Werte sind. Die genannte Teilstudie sollte diese für praktische Anwendungen relevanten Basisdaten liefern.

Die zweite Teilstudie zum alveolären NO erfolgte unter Verwendung der in der ersten Teiluntersuchung gewonnenen Daten. Grundsätzlich stehen zur Schätzung der

Modellparameter aus den Messdaten verschiedene mathematische Verfahren zur Verfügung, wie in der Einleitung beschrieben. Diese Verfahren sind nicht gleichwertig, da sie teilweise zu einer Änderung der relativen Gewichte der Daten führen. Ferner beinhaltet das einfachste (linearisierte) dieser Verfahren zusätzliche Annahmen, die über die Annahme der Gültigkeit des NO-Modells der Lunge hinausgehen.

Es ist weitgehend ungeklärt, welches dieser Schätzverfahren für die Praxis am besten geeignet ist. Dieses Problem ist deswegen interessant zu klären, als in der Literatur bereits systematische Unterschiede zwischen den Verfahren beschrieben wurden, ohne dass über deren Validität Aussagen gemacht wurden. Da die tatsächlichen alveolären Werte unbekannt sind, ist diese methodologische Frage nur durch möglichst realitätsnahe simulierte Werte zu beantworten. Zu diesem Zweck wurden in dem idealen NO-Modell unter Verwendung der gemessenen Streuungen zufällig variierende Sätze von simulierten Messdaten erzeugt. Diese simulierten Daten wurden dann mit den unterschiedlichen Verfahren daraufhin analysiert, in wie weit sich die vorgegebenen Parameter aus diesen Daten zurückgewinnen ließen. Vor Allem wurde geprüft, welche Ausatemraten hierfür minimal erforderlich waren und in wievielfacher Wiederholung diese Daten zur Verfügung stehen sollten, abhängig vom Verfahren. Ferner sollte geprüft werden, ob die verschiedenen Verfahren bei der Anwendung auf reale Messdaten zu systematisch unterschiedlichen Parameterschätzwerten führten; diese wäre ein Hinweis darauf, dass das NO-Modell keine adäquate Idealisierung der physiologischen Situation darstellt.

Somit bestand das Ziel, zu einem Verfahren der Abschätzung des alveolären NO zu gelangen, das möglichst wenig Aufwand erfordert und zugleich hinreichend verlässliche Werte liefert.

4. Methodologische Ansätze

4.1 Analyse des exhalierten CO

4.1.1 Messung des exhalierten CO

Die Messung des ausgeatmeten CO erfolgte an 18 freiwilligen Probanden, indem eine Blutgasanalyse mit nachfolgender möglichst zeitnaher CO-Messung in der Ausatemluft durchgeführt wurde. Auf diese Weise wurde eine zusätzliche Streuung durch die relativ kurze Halbwertszeit (ca. 5 h) von exhalierendem CO vermieden. Ferner wurden so auch störende externe Einflüsse (siehe Kapitel 2.1.2) durch Umwelt- oder andere Belastungen so gering wie möglich gehalten.

Bei der Blutgasanalyse (BGA) zur Messung des Carboxyhämoglobins (COHb) kam ein Blutgasanalysator (Siemens Radiometer ABL700 Serie) zum Einsatz. Die verwendete Blutprobe wurde über eine Kapillare dem hyperämisierten Ohrläppchen entnommen. Die Werte für COHb wurden stets zweimal gemessen.

Zur anschließenden Messung des ausgeatmeten CO wurde die Atemluft in einer für diesen Zweck gebauten Messapparatur gesammelt. Der Proband war aufgefordert, nach tiefer Inspiration die Luft 10 Sekunden anzuhalten und anschließend über ein Mundstück so weit als möglich auszuatmen. Das Mundstück war mit einem Umschaltventil (Viasys, Höchberg) gekoppelt, das mit zwei Ausgängen versehen war. An dem ersten Ausgang befand sich ein 2-Liter-Sammelbeutel zum Auffangen und Verwerfen der Totraumluft der oberen Atemwege. Am zweiten Ausgang war ein 10-Liter-Sammelbeutel angebracht. Beide Beutel wurden vor der Messung entleert. Sobald während einer kontinuierlichen Ausatmung der Verwerfbeutel gefüllt war, wurde manuell auf den Sammelbeutel umgeschaltet. Nach dem Manöver führte der Proband einige Ruheatemzüge aus, während derer der Verwerfbeutel, nicht aber der Sammelbeutel entleert wurde. Das Ausatemmanöver wurde sodann wiederholt, um den Sammelbeutel so weit als möglich zu füllen, damit genug Gas für die Analyse zur Verfügung stand.

Der verwendete, für CO spezifische Infrarotanalysator (Maihak, Hamburg) benötigte aufgrund eingebauter Ventil- und Filterelemente eine relativ hohe Menge an Probengas, um

einen stabilen Messwert zu erreichen. Zum Vergleich und zur Kontrolle atmeten die Probanden nach dieser Messung in einen kommerziellen elektrochemischen CO-Monitor (BreathCO, Vitalograph, Hamburg) aus, wie er zur Überprüfung der Raucherentwöhnung verwendet wird. Diese Messwerte wurden zwar nicht für die Analyse verwendet, es sollte jedoch geprüft werden, ob bei einem positiven Resultat der Untersuchung auch die Messgenauigkeit eines solchen einfachen Gerätes ausreichen würde. Es ist bekannt, dass elektrochemische Messzellen für CO Querempfindlichkeiten gegenüber anderen Gasen aufweisen können.

Die beschriebenen Messungen wurden bei jedem Probanden mindestens zweimal durchgeführt, und zwar bei verschiedenen Werten von COHb. Die COHb-Werte wurden systematisch erhöht, indem eine konventionelle Messung der CO-Diffusionskapazität mittels eines entsprechenden Lungenfunktionsgerätes (Care Fusion, Höchberg) erfolgte. Bei dieser Messung atmete der Proband in einem tiefen Atemzug eine Konzentration von 0,3% CO ein. Die Diffusionskapazitätsmessung erfolgte dreimal, um eine merkliche CO-Zufuhr zu erreichen. Diese Maßnahme ist völlig unbedenklich, da gemäß gängigen Empfehlungen zur Ermittlung der CO-Diffusionskapazität im klinischen Alltag die Messung mindestens zweimal und bei nicht-übereinstimmenden Werten öfter erfolgen sollte.

Auf diese Weise wurde für alle Probanden eine Anhebung des COHb-Wertes und des korrespondierenden exhalieren CO erzielt. Eine solche Anhebung war gemäß der zugrunde liegenden Hypothese die Voraussetzung dafür, mindestens zwei CO-Werte zu Verfügung zu haben, um auf einen angenommenen COHb-Wert von Null extrapolieren zu können. Bei vier Probanden wurde der COHb-Wert durch Einatmung des Testgases für die Diffusionskapazität zweimal angehoben. Bei der Mehrzahl der Probanden erfolgte das Manöver jedoch nur einmal, da bei einer eventuellen späteren Anwendung eine höhere Zahl als zwei nicht praktikabel gewesen wäre.

4.1.2 Auswertung der CO-Daten

Für die Analyse wurden die individuellen Mittelwerte des COHb sowie des exhalieren CO aus den wiederholten Messungen gebildet. Für jeden Probanden wurde das exhalierte CO gegen COHb aufgetragen. Die beiden Datenpunkte wurden mittels einer Geraden miteinander verbunden; falls mehr als zwei Datenpunkte vorhanden waren, wurde eine konventionelle

Regressionsgerade berechnet. Anhand der ermittelten Geraden wurde berechnet, welche CO-Konzentration jeweils einem COHb von Null entsprechen würde bzw. umgekehrt, welcher COHb-Wert einer exhalieren CO-Konzentration von Null entsprechen würde. Zur Darstellung des Gesamtergebnisses wurden für alle genannten Parameter Mittelwerte und Standardabweichungen über das Kollektiv berechnet.

4.2 Analyse des exhalieren NO

4.2.1 Messung bei verschiedenen Ausatemraten

Die Messungen des exhalieren NO wurden bei insgesamt 15 freiwilligen Probanden durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde die Konzentration von NO mit einem spezifischen Chemilumineszenz-Analysator (NOA280, Sievers, Boulder, Colorado, USA) bei bis zu 8 Ausatemraten mit bis zu 10 Wiederholungen gemessen. Die Ausatemraten wurden mittels austauschbarer Widerstände im Mundstück (5, 7, 12, 22, 35, 5, 125, 210 ml/s bei 12 mbar Ausatemdruck und 7, 10, 18, 32, 44, 71, 154, 230 ml/s bei 20 mbar Ausatemdruck) festgelegt.

Die Atmung gegen diese Widerstände erforderte den angegebenen Überdruck. Da der Proband ohne Nasenklemme in das Mundstück ausatmete, kam durch den Überdruck automatisch ein Verschluss des Gaumensegels zustande. Auf diese Weise wurde eine Verfälschung durch das in der Nase produzierte NO ausgeschlossen. Dieser Ausschluss war bei der vorliegenden Untersuchung von besonderer Bedeutung, da in der Nase, verglichen mit den Bronchien, die NO-Konzentration sehr hoch ist und andererseits die gesuchten Unterschiede des bronchialen NO zwischen den verschiedenen Ausatemraten relativ gering sind.

Die wiederholten Messungen bei den verschiedenen Flussraten erfolgten in einem ununterbrochenen Messablauf, um physiologische oder anderweitige Veränderungen möglichst gering zu halten, konnten jedoch in Einzelfällen bis zu 2 h in Anspruch nehmen. Zwischen einzelnen Messungen hatte die Probanden die Gelegenheit, in Ruhe zu atmen, um sich von den Atemmanövern zu erholen, die ihnen ein hohes Maß an Mitarbeit und Konzentration abverlangten. Darüber hinaus sollte durch die Pausen mit Ruheatmung

vermieden werden, dass sich durch Akkumulation oder Depletion aufgrund der Atemmanöver die NO-Produktion bzw. -Konzentration in der bronchialen Schleimhaut änderte.

Der Gegendruck zum Verschluss des Gaumensegels (12 mbar, bei vier Probanden 20 mbar) musste konstant gehalten werden. Die Widerstände waren so ausgelegt, dass sie bei den gewählten Drücken gerade die gewünschten Flussraten lieferten. Der Gegendruck von 12 mbar reichte noch sicher aus, um das Gaumensegel zu schließen, und war andererseits für die Probanden nicht zu anstrengend. Der Druck von 20 mbar war gewählt, um mit den gegebenen Widerständen bei vier Probanden besonders hohe Flussraten zu erzielen.

Der Ablauf der Messung wurde durch ein spezielles Programm auf einem Computerbildschirm dargestellt. Die Darstellung diente dazu, den Probanden die Kontrolle über den konstant aufzubringenden Druck und entsprechend konstanten Ausatemfluss zu geben. Die Probanden atmeten so lange in das Mundstück, bis sich ein Plateau der NO-Konzentration auf dem Monitor zeigte. Dieser flussabhängige Plateauwert wurde für die Auswertung verwendet, da er den bei konstanter Ausatemrate erzielten Steady State des Transportes von NO aus den Atemwegen in die Ausatemluft repräsentierte. Dieser Steady State-Wert ist gerade der Wert, der von den mathematischen Modellen des alveolären NO gefordert wird. Messungen mit offenkundigen Qualitätsmängeln wurden verworfen.

Im Laufe der Messungen zeigte sich, dass die sehr niedrigen Ausatemraten (3, 5, 14 ml/s), die lange Ausatemzeiten von teils mehr als einer Minute erforderten, selbst für sportliche Probanden eine zu große Herausforderung darstellten, um verlässlich reproduzierbare Messwerte zu erzielen. Daher wurde klar, dass diese Ausatemraten niemals für den klinischen Einsatz geeignet sein würden. Daher wurden Messungen bei diesen Ausatemraten nicht weiter verfolgt. Messungen des exhalierten NO und CO sind völlig nicht-invasiv, nicht mit Eingriffen verbunden und gehören zur klinischen Routine.

4.2.2 Auswertung der NO-Messdaten (Streuungen)

Für jeden Satz von Messungen eines Probanden bei einer Ausatemrate wurden aus den wiederholten Messungen Mittelwert und Standardabweichung ermittelt. Hieraus wurde der Variationskoeffizient (Standardabweichung in Prozent des Mittelwertes) berechnet. Um die mittlere Verlässlichkeit der Messungen zu quantifizieren, wurden für die einzelnen

Ausatemwiderstände geometrische Mittelwerte der Variationskoeffizienten über die Probanden errechnet. Diese für die Ausatemraten bzw. Widerstände charakteristischen mittleren Variationskoeffizienten dienen dazu, in den Simulationsexperimenten realitätsnahe Streuungen der simulierten Werte zu erzeugen.

4.3 Erzeugung simulierter NO-Daten

Unter Verwendung der im vorigen Kapitel beschriebenen Variationskoeffizienten für jede der einzelnen Ausatemraten sollte bestimmt werden, welche Auswerteprozedur die beste ist, und zwar einerseits in Hinsicht auf die Verlässlichkeit der Werte, andererseits das Verhältnis von Aufwand zu Ertrag.

4.3.1 Verwendetes Modell

Für das ideale NO-Zweikompartimenten-Modell wurden verschiedene Werte der Parameter „bronchiale Wandkonzentration“, „bronchialer Transferfaktor“ und „alveoläres NO“ eingesetzt. Das Modell entspricht mathematisch der in Formel 1 angegebenen Funktion, wie sie von verschiedenen Autoren verwendet wurde [siehe Jörres 2000]. Diese Funktion zeigt im Prinzip einen Verlauf wie in Abbildung 11 illustriert. Hierbei ist angenommen, dass alle Parameter konstant sind und sich weder über die Zeit der Ausatmung noch in Abhängigkeit von der Ausatemrate ändern. Die in den folgenden Formeln verwendeten Abkürzungen sind:

F	fraktionelle Ausatemkonzentration von NO
F_{wc}	bronchiale Wandkonzentration von NO
F_{ap}	alveoläre Konzentration von NO
k_{awc}	bronchialer NO-Transferfaktor (bronchiale Diffusionskapazität)
\dot{V}	Volumenflussrate (Ausatemrate)

$$F_{ex} = F_{wc} - (F_{wc} - F_{ap}) \cdot \exp\left(-\frac{k_{awc}}{\dot{V}_{ex}}\right)$$

Formel 1: Beziehung zwischen ausgeatmetem NO, Ausatemrate und Modellparametern

Da die Beziehung zwischen Ausatemrate und NO-Konzentration nichtlinear ist, müssen normalerweise iterative Schätzverfahren Anwendung finden. Tsoukias et al. [1998] haben jedoch eine vereinfachte Methode zur Schätzung der alveolären NO-Konzentration publiziert, die sich einer konventionellen linearen Regressionsanalyse bedient (siehe Kapitel 2.2.6 und Abb. 17). Das Verfahren beruht auf einer Umformung der in Formel 1 angegebenen Beziehung. Durch Multiplikation mit der Volumenflussrate ergibt sich die Gesamtmenge des bei der jeweiligen Ausatemrate ausgeatmeten NO pro Zeiteinheit (NO-Output). Die resultierende Formel kann unter bestimmten Einschränkungen (hohe Ausatemraten) mittels der bekannten Potenzreihenentwicklung der Exponentialfunktion linearisiert werden. Es ergibt sich eine Geradengleichung, die in Formel 2 angegeben ist.

$$\dot{V}_{ex} \cdot F_{ex} \approx \dot{V}_{ex} \cdot F_{ap} + (F_{wc} - F_{ap}) \cdot k_{awc}$$

Formel 2: Näherungsweise Beziehung zwischen NO-Output und Ausatemrate nach Linearisierung. Symbole wie in Formel 1

In der Auftragung des NO-Output $\dot{V}_{ex} \cdot F_{ex}$ (Ordinate) gegen die Ausatemrate \dot{V}_{ex} (Abszisse) gemäß einer Geraden entspricht somit der Koeffizient, d.h. die Steigung der gesuchten alveolären Konzentration F_{ap} . Der Achsenabschnitt (konstanter Term) der Geraden entspricht dem Ausdruck $(F_{wc} - F_{ap}) \cdot k_{awc}$. Dieser stellt den maximalen NO-Fluss aus der Bronchialwand dar, kann aber nicht weiter in die bronchiale Wandkonzentration und den bronchialen Transferfaktor aufgelöst werden. Daher liefert der linearisierte Ansatz alleine die alveoläre NO-Konzentration als Modellparameter. Darin liegt seine Limitierung verglichen mit dem nichtlinearen Verfahren.

4.3.2 Modellierung der beobachteten Messfehler

Die simulierten Daten wurden in speziell konzipierten Arbeitsblättern des Tabellenkalkulationsprogramms „Excel“ erzeugt. Zu diesem Zweck wurden zunächst anhand der Formel des Modells (siehe Formel 1) für die zu untersuchenden Ausatemraten die „idealen“, fehlerfreien NO-Werte in der Ausatemluft berechnet. Zu diesen Werten wurden

sodann pseudo-zufällige Fehler addiert, um reale Messwerte zu simulieren. Die Fehler folgten einer Normalverteilung mit Mittelwert Null und den Standardabweichungen, die aus den gemessenen Variationskoeffizienten für die einzelnen Ausatemraten abgeleitet waren. Die Fehler waren pseudo-zufällig, weil sie mit Hilfe eines mathematischen Generators für pseudo-zufällige Zahlen erzeugt worden waren.

Hierzu wurde die in Excel eingebaute Funktion zur Erzeugung von Zufallszahlen benutzt, die im Intervall zwischen Null und Eins gleichmäßig verteilt waren. Indem jeweils 12 solcher gleichmäßig verteilten Zufallszahlen addiert und die Summe entsprechend normiert wird, lässt sich eine näherungsweise Normalverteilung mit Mittelwert Null und Standardabweichung Eins erzeugen. Hierbei handelt es sich um ein vielfach eingesetztes Standardverfahren zur Erzeugung normalverteilter Zufallszahlen.

Die so erzeugten Zahlen wurden mit der gewünschten Standardabweichung multipliziert, die aus den Variationskoeffizienten abgeleitet worden war, um von der Standardabweichung Eins auf die angestrebte Standardabweichung bei der jeweiligen Ausatemrate zu kommen. Hierdurch wurde im Mittel für jede Ausatemrate ein ähnlicher Variationskoeffizient erzielt, wie er bei den realen Messungen aufgetreten war. Der Zufallsgenerator von Excel startete bei jedem Aufruf mit einer anderen Startzahl (seed), so dass die Wahrscheinlichkeit ungewollter Korrelationen oder Periodizitäten für den vorliegenden Anwendungszweck als extrem gering anzusehen ist.

Zum Zweck der vergleichenden Analysen wurden sowohl die Anzahl der simulierten Messwiederholungen als auch die Zahl der Ausatemraten systematisch variiert. Für die Abschätzungen der Parameter aus den simulierten Daten unter den verschiedenen Bedingungen wurden jeweils neu generierte, d.h. mit Sicherheit unabhängige Simulationen eingesetzt. Das galt vor allem, wenn unterschiedliche Anzahlen von Messwiederholungen für vorgegebene Ausatemraten verglichen wurden. Klar ist, dass die beschriebene Analyse auf dem idealerweise als gültig angenommenen Lungenmodell für die NO-Produktion basierte.

4.4 Abschätzung der Modellparameter

Zur Analyse der Messdaten bzw. der simulierten Daten wurden verschiedene Verfahren zur Gewinnung bzw. Rückgewinnung der Modellparameter eingesetzt und miteinander

verglichen. Diese Verfahren unterscheiden sich vor allem in der Anzahl der geforderten Messwerte und extrahierbaren Parameter der NO-Produktion.

4.4.1 Nichtlineare Anpassung

Die in Formel 1 dargestellte mathematische Beziehung beschreibt einen nichtlinearen Zusammenhang zwischen der Ausatemrate und dem exhalierendem NO. Für gegebene Messdaten kann diese Beziehung nicht unmittelbar über Einsetzen in eine Formel ausgewertet werden, wie dies beispielsweise für eine lineare Regression der Fall ist. Stattdessen ist es erforderlich, mit Hilfe eines schrittweisen Suchverfahrens, d.h. iterativ, diejenigen Parameterschätzwerte zu suchen, die die Messdaten optimal beschreiben. Hierfür wurde das Standardkriterium einer minimalen Summe der Abweichungsquadrate zwischen den Messwerten und der Kurve verwendet.

Als schrittweises Verfahren wurde ein etablierter Gradienten-Algorithmus eingesetzt, der in einem kommerziellen Statistikprogramm (Statistica) implementiert war. Dieser Algorithmus arbeitete dergestalt, dass für einen gegebenen Satz von Schätzwerten die Summe der Abweichungsquadrate bestimmt sowie ermittelt wurde, welche Änderungen der Parameter zu einer weiteren Verringerung der Abweichungsquadrate führen würden. Die neuen Parameterschätzwerte wurden in analoger Weise behandelt. Auf diese Weise arbeitete sich das Programm so nahe wie möglich an ein Minimum der Summe der Abweichungsquadrate, d.h. eine Kurve mit bestmöglicher Anpassung heran. Die Methode lieferte neben den Schätzwerten der Parameter auch Informationen über die Güte und Verlässlichkeit der Anpassung. Bei einem scharfen Minimum der Abweichungsquadrate resultierte eine verlässliche Schätzung, da eine kleine Veränderung der Parameter eine große Zunahme der Abweichungsquadrate hervorrief, und entsprechend bei einem breitem Minimum eine weniger verlässliche Abschätzung.

4.4.2 Linearisierte Anpassung

Die linearisierte Anpassung beruht auf den in Kapitel 2.2.6 beschriebenen Überlegungen. Für die Analyse wurde der NO-Output, das heißt das Produkt aus NO-Konzentration und Ausatemrate, gegen die Ausatemrate aufgetragen. Für hinreichend große Ausatemraten ist eine näherungsweise lineare Beziehung zu erwarten, deren Steigung der abgeschätzte Wert

des alveolären NO ist. Aus diesem Grunde konnte eine konventionelle lineare Regressionsanalyse angewendet werden. Diese Analyse lieferte neben dem Wert des alveolären NO auch eine Summe der Abweichungsquadrate. Der Achsenabschnitt der linearen Regression stellt eine Art von maximalem bronchialen NO-Fluss dar; dieser Parameter hat jedoch bislang keine über FeNO hinausgehende klinische Bedeutung gewonnen und wurde in der vorliegenden Arbeit nicht ausgewertet.

4.4.3 Kombination der linearisierten und nichtlinearisierten Anpassung

Wie bereits von anderen Autoren und in der eigenen Arbeitsgruppe beobachtet, kann das nichtlineare Modell insofern zu gravierenden Problemen führen, als dass möglicherweise gar kein oder ein negativer Wert des alveolären NO gefunden wird; im ersten Fall konvergiert das iterative Verfahren nicht einmal. Andererseits liefert dieses Modell Schätzwerte für die bronchiale Wandkonzentration von NO und den bronchialen NO-Transferfaktor. Diese Werte werden vom linearisierten Modell nicht ermittelt, dafür jedoch ist die Wahrscheinlichkeit unsinniger, negativer Werte des alveolären NO geringer.

Somit liegt es nahe, beide Verfahren miteinander zu kombinieren, indem man zunächst mit dem linearisierten Modell das alveoläre NO schätzt und dann den erhaltenen Wert in das nichtlineare Modell einsetzt, um die beiden anderen Parameter zu schätzen. Diese Kombination wurde in der vorliegenden Arbeit als dritte Option eingesetzt und mit den beiden anderen Ansätzen verglichen.

4.5 Statistische Analyse

Hauptzweck der statistischen Analyse war der Vergleich der Parameterschätzwerte des NO-Modells, vor Allem des alveolären NO, mit dem Ziel, die Abhängigkeit dieser Schätzwerte a) von der Zahl und dem Spektrum der Ausatemraten, b) der Anzahl der Messwiederholungen und c) dem für die Schätzung verwendeten Ansatz zu beschreiben. Hierzu wurden bei den an Probanden gewonnenen Daten unterschiedliche Anzahlen von Ausatemraten und

Messwiederholungen aus den vollständigen Datensätzen ausgewählt. Die mit Hilfe der drei Schätzverfahren ermittelten Parameterwerte wurden sodann gegeneinander aufgetragen, um die relative Variationsbreite sowie das Vorhandensein systematischer Verzerrungen (Bias) visuell darzustellen. Systematische Verzerrungen äußern sich in Abweichungen von der Identitätsgeraden, wenn die Werte eines Parameters, die mit zwei verschiedenen Verfahren geschätzt wurden, gegeneinander aufgetragen werden. Unterschiedliche Verlässlichkeiten und/oder ein gleichzeitiger Bias äußern sich in einer unterschiedlich starken Variation entlang beider Achsen.

Für die simulierten Daten war die Situation insofern anders, als die bei der Simulation verwendeten Parameterwerte bekannt waren. Daher konnten zusätzlich auch Diagramme erstellt werden, in denen die mit den verschiedenen Verfahren abgeschätzten Parameterwerte gegen die wahren Parameterwerte aufgetragen wurden. Die Simulationen erfolgten mit jeweils zwei verschiedenen Werten des alveolären NO, der bronchialen Wandkonzentration und des bronchialen Transferfaktors, so dass insgesamt 8 Kombinationen ausgewertet wurden. Dies diente dem Zweck, einerseits das Spektrum real beobachteter Parameterwerte weitgehend abzudecken, andererseits zu eruieren, in wie weit die Schätzung eines Parameters durch Werte anderer Parameter beeinflusst wird.

5. Ergebnisse

5.1 Exhalirtes CO

Unter den 18 freiwilligen Probanden (11 männlich, 7 weiblich) unterschiedlichen Alters befanden sich 6 Raucher, ein Allergiker und drei Probanden mit leichtem, nicht dauerhaft therapiertem Asthma.

Die Beziehung zwischen CO und COHb wies bei allen Personen praktisch die gleiche Steigung auf (im Mittel \pm SD: $5,3 \pm 1,1$ ppm CO pro 1 % COHb), allerdings waren die Achsenabschnitte verschieden. Bei den vier Probanden mit mehr als zwei Messpunkten zeigte sich, dass die Annahme einer linearen Beziehung gerechtfertigt war. Ferner waren die Achsenabschnitte überwiegend negativ. Daher war in der Regel bei einer extrapolierten COHb-Konzentration von Null der Wert des exhalierten CO, der als Indikator einer lokalen CO-Produktion über COHb hinaus hätte gelten können, negativ. Entsprechend fanden sich positive COHb-Werte (Mittel \pm SD: $0,3 \pm 0,4$ % COHb) bei einer extrapolierten exhalierten CO-Konzentration von Null.

Die Messdaten und individuellen Beziehungen zwischen exhaliertem CO und COHb sind in Abb. 19 dargestellt, die numerischen Werte in Tabelle 1. Es ist ersichtlich, dass die Raucher zwar höhere Werte von CO und COHb aufwiesen, Steigung und Achsenabschnitt der Beziehung zwischen beiden Messwerten jedoch nicht systematisch von derjenigen der Nichtraucher verschieden waren. Bei einem Raucher allerdings fiel der deutlich verschobene Achsenabschnitt bei vergleichbarer Steigung auf; dies war auch bei einer Nichtraucherin der Fall, die zugleich eine deutlich geringere Steigung zeigte.

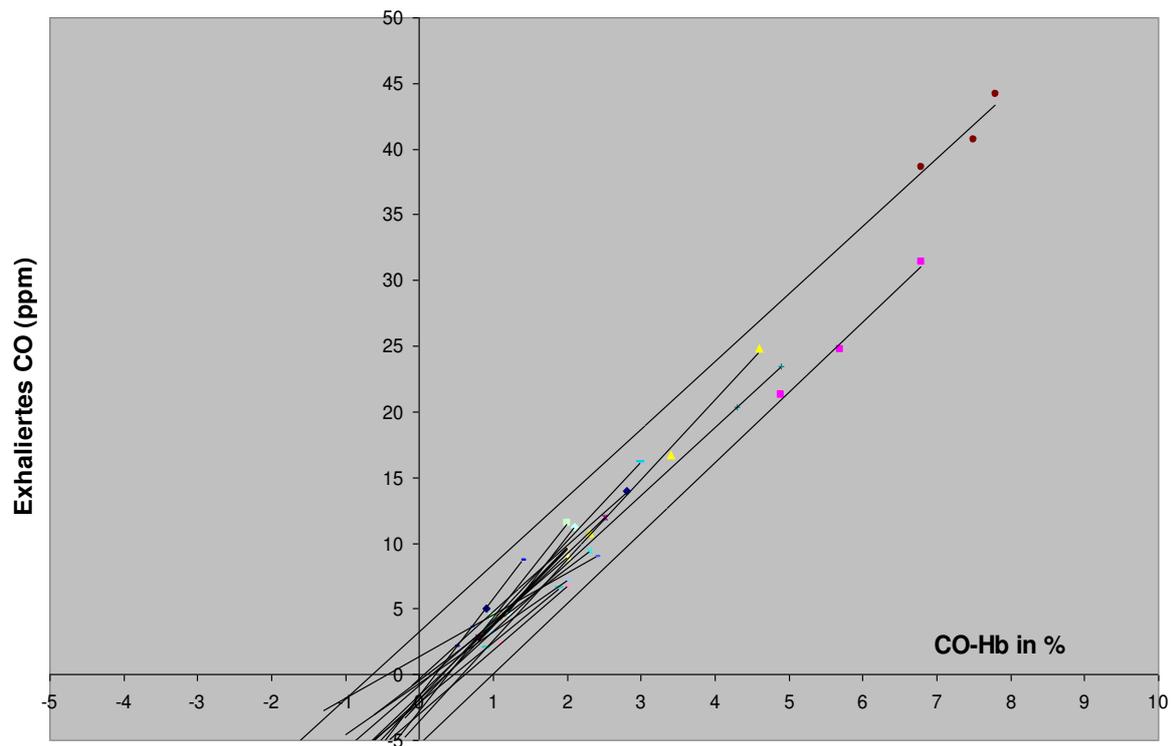


Abbildung 19: Exhalieretes CO versus COHb bei einzelnen Probanden und wechselnden COHb-Werten. Eingezeichnet sind die verbindenden Geraden bei den Probanden mit zwei Messpunkten, sowie die Regressionsgeraden mit drei Messpunkten.

	Breath-CO MW (ppm)	CO-Hb MW (%)	Raucher	Allergie	Asthma	Steigung	Intercept
Proband 1	5	0,9	x	x		5,0601	-0,2688
	4,4986	1,1					
	13,9836	2,8					
Proband 2	21,3	4,9	x			5,3626	-5,3033
	24,7	5,7					
	31,4	6,8					
Proband 3	10,8	2,3	x			6,097	-3,4996
	16,7	3,4					
	24,8	4,6					
Proband 4	3,4	0,9				4,2857	-0,4571
	9,4	2,3					
Proband 5	2,8	0,8				5,4118	-1,5294
	12	2,5					
Proband 6	38,6	6,8	x		x	5,1392	3,3076
	40,7	7,5					
	44,2	7,8					
Proband 7	20,4	4,3	x			5,1667	-1,8167
	23,5	4,9					
Proband 8	2,1	0,5				7,3333	-1,5667
	8,7	1,4					
Proband 9	4,2	1				6	-1,8
	16,2	3					
Proband 10	4,5	1,2	x			5,2637	-1,7813
	9,8	2,2					
Proband 11	4,8	1,2				7,1111	-3,7333
	11,2	2,1					
Proband 12	4,4	1				7,1	-2,7
	11,5	2					
Proband 13	4,6	1,1				4,8889	-0,7778
	9	2					
Proband 14	3,3	1				3,9	-0,6
	7,2	2					
Proband 15	2,4	1,1				4,8889	-2,9778
	6,8	2					
Proband 16	2,6	0,8				5,8333	-2,0667
	9,6	2					
Proband 17	3,6	0,7			x	3,1765	1,3765
	9	2,4					
Proband 18	2	0,9			x	4,6	-2,14
	6,6	1,9					

Tabelle 1: Exhalierendes CO als Funktion von COHb bei einzelnen Probanden und wechselnden COHb-Werten. Angegeben sind Steigung und Achsenabschnitt einer linearen Regression. MW=Mittelwert aus beiden Wiederholungsmessungen, Intercept=Achsenabschnitt der Regression

5.2 Exhalierendes NO, Messergebnisse

Unter den 15 Probanden (8 männlich, 7 weiblich) unterschiedlichen Alters befanden sich 4 Raucher, 7 Allergiker und ein leichtgradiger Asthmatiker ohne Therapie (Tabelle 2). Diese sowie weitere Charakteristika der Probanden werden jedoch im Folgenden nicht weiter verwendet, da das Ziel der Arbeit rein methodologisch ist und schon aufgrund der geringen Fallzahl keine diagnostische Anwendung beabsichtigt war. Die Heterogenität der Probanden diente alleine dazu, einen breiten Bereich von NO-Werten abzudecken.

	Raucher	Allergie	Asthma
Proband 1			
Proband 2			
Proband 3		X	
Proband 4		X	
Proband 5		X	
Proband 6	X	X	
Proband 7		X	X
Proband 8			
Proband 9	X		
Proband 10	X		
Proband 11			
Proband 12		X	
Proband 13			
Proband 14		X	
Proband 15	X	X	

Tabelle 2: Charakteristika der Probanden, die an der Messung des alveolären NO teilnahmen

5.2.1 Mittelwerte und Streuungen

Tabelle 3 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen des exhalierenden NO bei den verschiedenen Ausatemraten für jeden der Probanden, die mit einem Ausatemdruck von 12 mbar die Atemmanöver vollführten. Analog zeigt Tabelle 4 die Mittelwerte und Standardabweichungen der Probanden, die gegen einen Druck von 20 mbar ausatmeten. Diese NO-Messungen wurden zur Abschätzung der Parameter mittels der verschiedenen Verfahren verwendet. Hierbei gingen die Einzelwerte bei jeder Flussrate und nicht die Mittelwerte in die Analyse ein.

Flow (ml/s)	H=52	G=35	F=22	E=12	D=7	C=5	I=125	O=210
Proband 1	9,6788 ± 0,5569	16,8494 ± 0,6162	22,7011 ± 0,6991	35,3702 ± 2,6426	56,4768 ± 24,561	74,0202 ± 25,574	7,1984 ± 0,2195	4,641 ± 0,3021
Proband 2	17,7683 ± 2,0907	22,5639 ± 1,1183	29,4495 ± 2,8286	44,3403 ± 1,5377	67,3 ± 3,3928	86,8084 ± 7,0101	10,9531 ± 0,6165	7,6036 ± 0,2221
Proband 3	23,5258 ± 1,2955	40,4713 ± 2,0917	48,8391 ± 2,272	80,6131 ± 7,0405	108,7491 ± 4,4302	122,9332 ± 24,352	13,1991 ± 0,4896	8,9033 ± 0,6927
Proband 4	36,4166 ± 1,3469	53,9169 ± 1,5944	71,7402 ± 2,274	14,7225 ± 0,7064	110,6105 ± 6,7844	102,9754 ± 20,0864	19,8752 ± 0,6311	16,4259 ± 0,6454
Proband 5	17,7272 ± 1,2566	29,1492 ± 1,5924	38,7001 ± 1,4295				14,1598 ± 0,5159	9,6511 ± 0,3178
Proband 6	18,514 ± 1,411	29,5251 ± 1,9799	46,6001 ± 4,1121				17,0336 ± 0,5765	13,6383 ± 0,3243
Proband 7	18,4452 ± 4,4971	21,6967 ± 2,3589	26,0724 ± 10,7157				10,2914 ± 1,1229	7,7234 ± 0,1937
Proband 8	16,6058 ± 0,819	28,3975 ± 1,79	35,1548 ± 1,2044				10,0783 ± 0,5835	6,4477 ± 0,2796
Proband 9	12,0701 ± 1,0499	15,255 ± 0,9721	17,3125 ± 0,4757				9,0869 ± 0,5928	8,3693 ± 0,1989
Proband 10	7,7856 ± 0,6104	9,5324 ± 0,2806	11,4777 ± 0,727				4,481 ± 0,6263	3,3749 ± 0,0863
Proband 11	23,9394 ± 1,9845	34,6806 ± 1,9867	41,2936 ± 3,0587				12,4729 ± 0,752	7,5124 ± 0,6496

Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichungen des ausgeatmeten NO in ppb bei 12 mbar Ausatemdruck. Die bei den Ausatemraten angegebenen Buchstaben sind Codes für die verwendeten Widerstände

Flow (ml/s)	H = 72	G=44	F=32	E=18	D=10	C=7	I=154	O=230
Proband 12	8,115 ± 0,416	16,91 ± 2,368	27,366 ± 0,8255	41,2838 ± 1,557	50,9973 ± 10,468	66,636 ± 4,501	14,482 ± 0,4388	12,3 ± 0,4162
Proband 13	17,7228 ± 1,0529	27,4839 ± 0,9766	35,5217 ± 2,2841	53,6347 ± 2,26	82,4023 ± 4,2578	95,3369 ± 9,3573	13,8966 ± 0,3454	11,6599 ± 0,5991
Proband 14	285,4643 ± 26,0846	448,227 ± 31,5608	573,9796 ± 11,6218				133,1 ± 10,1853	73,1694 ± 6,8268
Proband 15	80,1953 ± 1,5346	136,1649 ± 15,3775	179,7266 ± 5,312				46,6625 ± 3,118	28,0784 ± 0,3575

Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichungen des ausgeatmeten NO in ppb bei 20 mbar Ausatemdruck. Die bei den Ausatemraten angegebenen Buchstaben sind Codes für die verwendeten Widerstände

Den in Tabelle 3 dargestellten Werten entsprechen die in Tabelle 4 dargestellten Variationskoeffizienten (Standardabweichung in Prozent des Mittelwertes). Ferner sind die über alle Probanden geometrisch gemittelten Koeffizienten angegeben. Diese mittleren Variationskoeffizienten wurden in den Simulationsexperimenten verwendet.

Flow (ml/s)	H = 72	G=44	F=32	E=18	D=10	C=7	I=154	O=230
Proband 1	5,753	3,654	3,08	7,471	43,488	34,551	3,049	6,509
Proband 2	11,766	4,956	9,604	3,468	5,041	8,075	5,629	2,921
Proband 3	5,5067	4,99	4,652	8,734	4,074	19,81	3,71	7,78
Proband 4	3,699	2,997	3,17	4,798	6,134	19,506	3,175	3,929
Proband 5	7,089	5,463	3,694				3,643	3,293
Proband 6	7,621	6,706	8,824				3,385	2,378
Proband 7	24,38	10,872	41,099				10,911	2,508
Proband 8	4,931	6,304	3,426				5,79	4,336
Proband 9	8,698	6,372	2,748				6,524	2,376
Proband 10	7,8405	2,943	6,334				13,978	2,556
Proband 11	8,2898	5,729	7,407				6,03	8,647
Proband 12	5,126	13,999	3,017	3,772	20,527	6,755	3,03	3,383
Proband 13	5,941	3,553	6,43	4,214	5,167	9,815	2,486	5,138
Proband 14	9,138	7,041	2,025				7,652	9,33
Proband 15	1,914	11,293	2,956				6,682	1,273
Mittelwert	7,846	6,458	7,231	5,41	14,072	16,418	5,712	4,424
Geom. Mittel	6,741	5,809	4,994	5,084	9,135	13,879	5,03	3,819

Tabelle 5: Individuelle Variationskoeffizienten (in Prozent) für die einzelnen Widerstände bzw. Ausatemraten für die einzelnen Probanden sowie arithmetische (vorletzte Zeile) und geometrische (letzte Zeile) Mittel für jeden der Ausatemwiderstände. Hierbei wurden sowohl die mit 12 mbar als auch die mit 20 mbar gemessenen Werte zusammengefasst. Die bei den Ausatemraten angegebenen Buchstaben sind Codes für die verwendeten Widerstände.

5.2.2 Parameterschätzwerte mittels nichtlinearem Ansatz

Die Parameterschätzwerte anhand des nichtlinearen Schätzverfahrens wurden in dreifacher Wiederholung für jeden Probanden bestimmt, um die Streuung wiederholter Abschätzungen zu erfassen. Jede der wiederholten Abschätzungen basierte auf 5 Ausatemraten (22, 35, 53, 120, 210 ml/s) und jeweils drei Messwiederholungen. Hierbei wurden die extrem niedrigen

Ausatemraten weggelassen, da sich in der Durchführung der Messungen gezeigt hatte, dass diese Ausatemraten wegen der Anforderungen an die Mitarbeit für den klinischen Einsatz nicht realistisch sein würden. Die 3x3 Messwiederholungen wurden aus den bis zu 10 Messungen pro Flussrate zufällig ausgewählt. Falls weniger als neun Messwerte vorhanden waren, kommen daher notwendigerweise einzelne Messwerte in mehreren dieser Tripel vor, jedoch wurde immer auf eine zufällige Auswahl mit einer möglichst geringen Zahl von Überschneidungen geachtet. Zum Vergleich sind in Tabelle 6 zusätzlich drei zufällig ausgewählte, gemessene Werte von FeNO gezeigt, um die Streuung der Daten im Vergleich zu illustrieren.

Proband	NO- Wandkonzentration	NOalv	NO- Transferfaktor		FeNO
Proband 1	45,152	1,708	24,053		16,640
	199,677	7,881	2,974		17,920
	510,245	5,891	1,204		17,009
Proband 2	40,033	1,778	18,024		10,168
	35,253	1,300	22,712		9,750
	37,537	1,656	19,925		9,474
Proband 3	68,679	-7,064	31,365		23,188
	64,372	-7,075	34,506		23,547
	64,002	-2,016	35,032		22,859
Proband 4	245,454	-2,099	8,805		23,547
	227,360	-1,615	9,389		22,859
	232,588	-2,974	9,836		35,892
Proband 5	51,704	3,744	29,410		37,194
	65,655	4,744	20,209		17,352
	77,473	5,556	13,375		18,683
Proband 6	2974,580	0,405	0,471		16,736
	1940,031	2,191	0,669		28,400
	1437,385	8,448	0,816		29,200
Proband 7	20,540	-163,118	346,371		23,008
	1351,330	6,388	0,412		18,294
	60,449	1,613	16,049		16,900
Proband 8	58,069	1,293	20,669		16,529
	57,590	-2,739	23,468		16,286
	42,522	-1,725	41,376		16,640
Proband 9	32,222	6,419	12,889		11,800
	24,530	6,247	21,016		12,600
	20,857	5,331	33,329		11,800
Proband 10	12,130	1,034	49,163		7,490
	12,545	0,590	48,348		7,307
	17,633	1,610	22,586		7,547
Proband 11	47,872	-2,410	43,978		23,624
	59,422	-1,891	33,246		25,400
	52,142	-0,053	32,911		22,380

Tabelle 6: Parameterschätzwerte anhand des nichtlinearen Schätzverfahrens in dreifacher Wiederholung für jeden Probanden. Jede Wiederholung basiert auf 5 Ausatemraten und drei Messwerten pro Ausatemrate. Zusätzlich sind zum Vergleich drei zufällig ausgewählte Werte von FeNO für jeden Probanden gezeigt. Einheiten in ppb bzw. ml/s für den NO-Transferfaktor (für Dimensionen vgl. Formel 1)

5.2.3 Parameterschätzwerte mittels linearisiertem Ansatz

Tabelle 7 zeigt die Parameterschätzwerte, die mit Hilfe des linearisierten Schätzverfahrens (NO-Output versus Ausatemrate) erhalten wurden. Diese Schätzung wurde jeweils dreifach durchgeführt. Hierbei wurden zwei (120, 210 ml/s oder 210, 400 ml/s) oder drei (120, 210, 400 ml/s) Ausatemraten verwendet. Für jede der Ausatemraten wurden aus den Messungen wiederum drei Werte zufällig ausgewählt. Die Analyse ist somit der des nichtlinearen Ansatzes unter 5.2.2 analog, mit dem Unterschied, dass nur die hohen Flussraten verwendet werden konnten (siehe Methode). Den einzigen Parameter, der mit den Parametern des nichtlinearen Ansatzes direkt vergleichbar ist, stellt das alveoläre NO dar, da das linearisierte Verfahren nicht zwischen der bronchialen NO-Wandkonzentration und dem bronchialen NO-Transferfaktor differenzieren kann.

Proband	NO-Output, maximal	NOalv
Proband 1	885,198	3,583
	1071,078	2,759
	1026,161	2,964
Proband 2	701,967	1,461
	780,415	0,905
	633,331	1,880
Proband 3	1306,046	2,379
	1133,160	3,610
	1184,941	3,401
Proband 4	783,030	12,135
	998,668	10,369
	1094,637	9,592
Proband 5	1339,664	3,396
	1340,156	3,595
	1183,772	3,930
Proband 6	1501,448	6,951
	1819,563	5,273
	1792,156	5,266
Proband 7	766,861	3,904
	705,158	4,095
	845,263	3,539
Proband 8	1003,534	1,866
	1014,082	1,899
	1123,376	1,188
Proband 9	322,445	6,380
	553,868	4,807
	336,382	6,218
Proband 10	375,116	1,588
	420,237	1,438
	186,601	2,527
Proband 11	1355,116	1,047
	1605,025	-0,095
	1197,842	2,075

Tabelle 7: Parameterschätzwerte für NOalv des linearisierten Schätzverfahrens für die einzelnen Probanden in jeweils dreifacher Wiederholung. Jeder Schätzwert basiert auf zwei Ausatemraten und drei zufällig ausgewählten Messwerten für jede Ausatemrate. Der Wert von „NO-Output maximal“ (Achsenabschnitt der Regression) wurde nicht weiter in den Analysen verwendet. Einheiten in ppb (NOalv) bzw. ppb * ml/s für NO-Output

Die Beziehung zwischen den Schätzwerten des alveolären NO, die mit dem nichtlinearen Verfahren erhalten wurden (siehe 5.2.2), und den mit dem linearen Verfahren erhaltenen Werten ist in Abbildung 20 dargestellt, da letztere in den Kombinationsansatz eingingen.

5.2.4 Parameterschätzwerte mit Kombinationsansatz

Da die Anwendung der nichtlinearen Schätzung immer wieder zu Konvergenzproblemen führte und die Streuung der Werte teils sehr hoch war (siehe Tabelle 5), wurde eine Kombination mit der linearisierten Schätzung versucht. Zu diesem Zweck wurde die alveoläre Konzentration aus dem linearisierten Ansatz genommen (siehe 5.2.3) und in einer nichtlinearen Schätzung der beiden anderen Modellparameter verwendet. Das heißt, dass bei der nichtlinearen Schätzung der numerische Wert der alveolären NO-Konzentration jeweils fest vorgegeben war. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt. Im Vergleich zu Tabelle 5 zeigt sich eine deutlich geringere Streuung der Parameter bei wiederholter Messung, zumindest für einige Probanden. Allerdings kann der Kombinationsansatz nur für die bronchiale Wandkonzentration und den Transferfaktor verbesserte Werte liefern, da die alveoläre Konzentration aus dem linearisierten Ansatz bereits vorgegeben ist. Aus diesem Grund bringt der Kombinationsansatz für die Bestimmung des alveolären NO keinen Gewinn.

Proband	NO- Wandkonzentration	NOalv	NO- Transferfaktor		FeNO
Proband 1	52,733	3,583	17,711		16,640
	42,966	2,759	26,515		17,920
	67,298	2,964	13,282		17,009
Proband 2	36,555	1,461	21,112		10,168
	32,628	0,905	26,426		9,750
	40,120	1,880	17,766		9,474
Proband 3	95,786	2,379	16,115		23,188
	89,444	3,610	17,087		23,547
	99,230	3,401	15,168		22,859
Proband 4	6060,668	12,135	0,236		23,547
	4041,674	10,369	0,363		22,859
	4356,854	9,592	0,363		35,892
Proband 5	50,274	3,396	31,413		37,194
	56,728	3,595	26,872		17,352
	55,543	3,930	23,737		18,683
Proband 6	4521,581	6,951	0,248		16,736
	3054,657	5,273	0,381		28,400
	90,999	5,266	19,533		29,200
Proband 7	21,669	3,904	94,802		23,008
	123,436	4,095	5,758		18,294
	84,191	3,539	9,673		16,900
Proband 8	64,689	1,866	17,229		16,529
	84,770	1,899	12,171		16,286
	51,364	1,188	26,258		16,640
Proband 9	31,303	6,380	13,569		11,800
	19,222	4,807	43,870		12,600
	25,557	6,218	19,456		11,800
Proband 10	12,958	1,588	38,671		7,490
	13,040	1,438	41,276		7,307
	51,059	2,527	4,763		7,547
Proband 11	57,835	1,047	27,894		23,624
	62,327	-0,095	29,621		25,400
	63,846	2,075	21,937		22,380

Tabelle 8: Kombinierte Parameterschätzwerte für jeden Probanden anhand des nichtlinearen Schätzverfahrens in dreifacher Wiederholung basierend auf 5 Ausatemraten. Je Ausatemrate wurden drei zufällig ausgewählte Messwerte verwendet. Zusätzlich sind drei zufällig ausgewählte Werte von FeNO gezeigt. Einheiten in ppb bzw. für NO-Transferfaktor in ml/s

In den Abbildungen 20 - 22 sind die Parameterschätzwerte gegeneinander aufgetragen, die einerseits mit dem vollständigen nichtlinearen Verfahren und andererseits mit dem Kombinationsverfahren bzw. linearisierten Ansatz erhalten wurden. Zu beachten ist, dass

aufgrund der großen Streuung bzw. Abweichungen eine doppelt-logarithmische Darstellung notwendig wurde. Für das alveoläre NO (Abbildung 20) ergab sich, dass mit dem linearisierten Verfahren und entsprechend dem Kombinationsansatz weniger häufig problematische Schätzwerte (kleiner Null) erhalten wurden als mit dem vollständigen nichtlinearen Ansatz. Ferner war die Streuung wiederholter Abschätzungen geringer.

Abbildung 21 verdeutlicht, dass die Vorgabe eines Werts für das alveoläre NO auch den erhaltenen Schätzwert für die bronchiale NO-Wandkonzentration beeinflusste. Abbildung 22 illustriert, dass dies ebenfalls für den bronchialen NO-Transferfaktor der Fall war. Es ergaben sich sogar Hinweise auf systematische Abweichungen von der Identitätslinie.

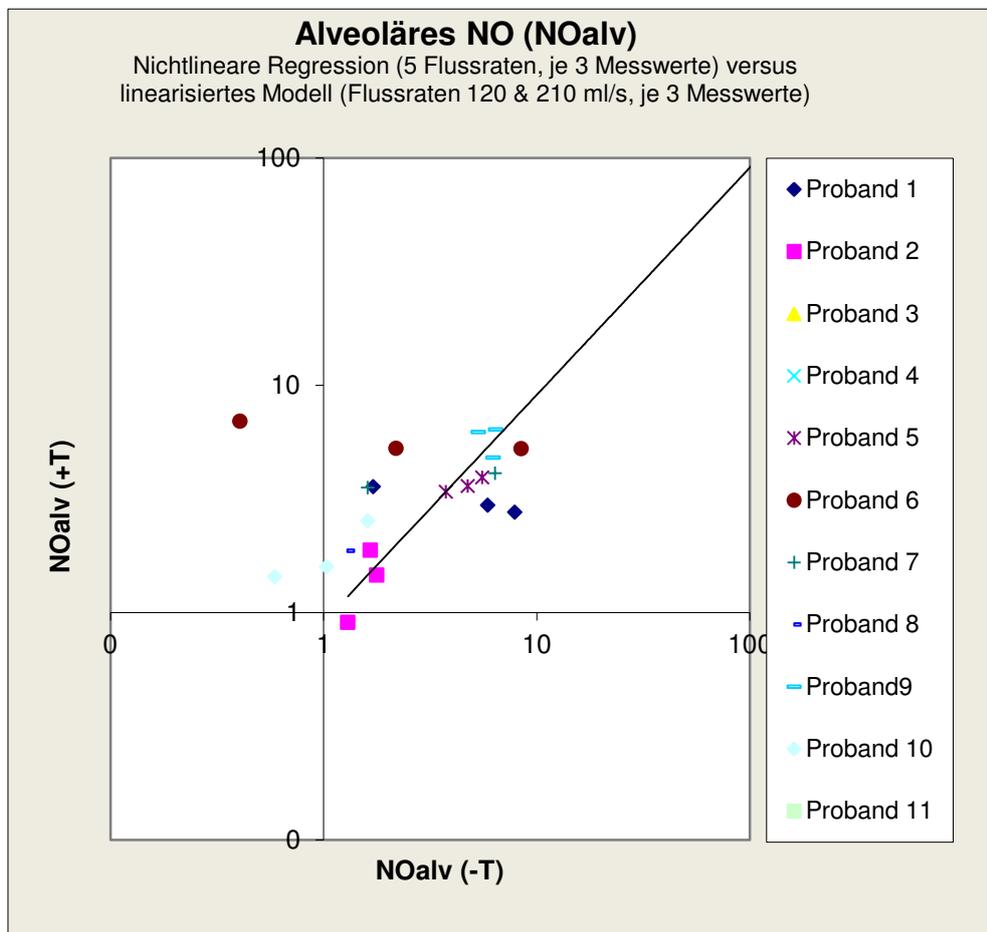


Abbildung 20: Schätzwerte des alveolären NO (NO_{alv}) mit dem vollständigen nichtlinearen Modell (Abszisse, -T) versus linearisierte Abschätzung bzw. im Falle des NO_{alv} äquivalente kombinierte Abschätzung (Ordinate, +T). Einheiten in ppb

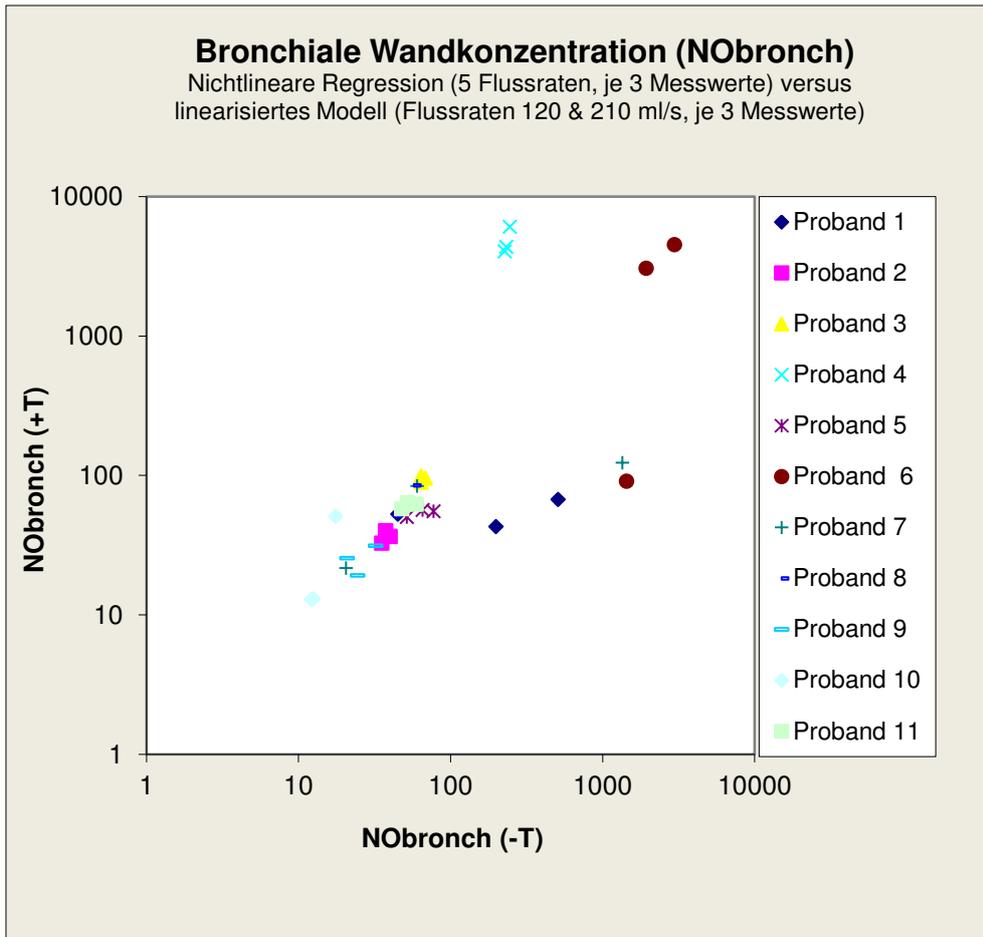


Abbildung 21: Schätzwerte der bronchialen NO-Wandkonzentration (NObronch) mit dem vollständigen nichtlinearen Modell (Abszisse, -T) versus linearisierte Abschätzung bzw. kombinierte Abschätzung (Ordinate, +T). Einheiten in ppb

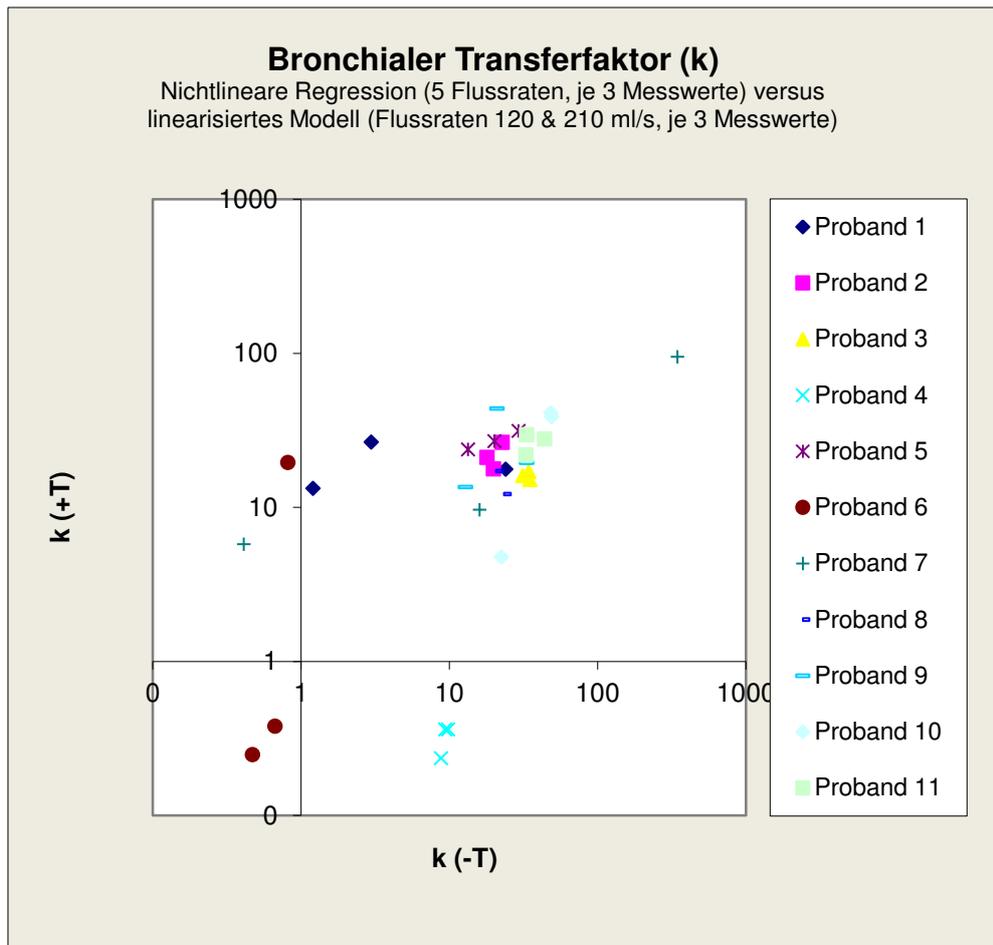


Abbildung 22: Schätzwerte des NO-Transferfaktors (k) mit dem vollständigen nichtlinearen Modell (Abszisse, -T) versus linearisierte Abschätzung bzw. kombinierte Abschätzung (Ordinate, +T). Einheiten in ml/s

5.3 Simulierte Daten

5.3.1 Übersicht über die Simulationsexperimente

Für die Simulationsexperimente wurden acht Modelle gewählt. Diese ergaben sich daraus, dass für die drei Modellparameter jeweils ein hoher und ein niedriger Wert gewählt wurden, um den Bereich der Möglichkeiten abzudecken. Tabelle 9 gibt eine Übersicht über die für die Simulation verwendeten Parameterwerte des NO-Modells.

Die in den Modellen verwendeten Werte entsprachen der Mitte des Wertebereichs, der mittels des nichtlinearen Modells bei den Messungen an den Probanden beobachtet wurde (siehe Kapitel 5.2.2 – 5.2.4); die Extremwerte wurden vermieden, da sie vermutlich auf Schätzfehlern beruhten. Ferner wurden bis zu sechs, den Messwerten entsprechende Ausatemraten (22, 35, 52, 120, 210, 400 ml/s) für die Simulation gewählt. Zur

Parameterschätzung wurden drei simulierte Messwiederholungen pro Ausatemrate verwendet, deren Fehler anhand der ermittelten Variationskoeffizienten (siehe Kapitel 5.2.1) erzeugt wurden; die Variationskoeffizienten für 210 und 400 ml/s wurden hierbei als gleich angenommen.

Analog der Analyse der an Probanden gemessenen Daten (siehe Kapitel 5.2) wurden die drei verschiedenen Schätzverfahren eingesetzt, um ihre Wertigkeit unter der Voraussetzung der idealen Gültigkeit des NO-Modells zu vergleichen.

Simuliertes Modell	NObronch	NOalv	NO-Transferfaktor
S1	80	2,5	8
S2	80	2,5	20
S3	80	6,5	8
S4	80	6,5	20
S5	300	2,5	8
S6	300	2,5	20
S7	300	6,5	8
S8	300	6,5	20

Tabelle 9: Kennzeichen der acht für die Simulationen verwendeten Modelle. Für jedes Modell wurde entweder ein hoher oder niedriger Wert des alveolären NO (NOalv) oder der bronchialen NO-Wandkonzentration (NObronch) oder des NO-Transferfaktors (k). Einheiten in ppb bzw. ml/s für NO-Transferfaktor

5.3.2 Parameterschätzwerte mit dem nichtlinearem Ansatz

Die Schätzwerte des vollständigen nichtlinearen Verfahrens (alle drei Modellparameter) ergaben sich aus fünf (22, 35, 52, 120, 210 ml/s) bzw. sechs (22, 35, 52, 120, 210, 400 ml/s) gewählten Ausatemgeschwindigkeiten mit jeweils drei Messwertwiederholungen. Für diese beiden Bedingungen wurden für jedes der vorgegebenen Modelle (S1-8, siehe Tabelle 9) je 20 Simulationen und entsprechende Parameterschätzungen durchgeführt.

Die Abbildungen 23 - 25 illustrieren die Streubreite der erhaltenen Schätzwerte unter Zugrundelegung von fünf Ausatemgeschwindigkeiten. Hierbei sind die in das Modell eingespeisten und im Idealfall zurückzugewinnenden Parameterwerte durch horizontale Linien markiert. Es wird deutlich, dass trotz der hohen Zahl der verwendeten simulierten NO-Werte (5 Flussraten x 3 Wiederholungen) die Streuung der Parameterschätzwerte teilweise erheblich war. Darüberhinaus hing sie von der Gesamtkonstellation des Modells, das heißt den vorgegebenen Werten der jeweils anderen Parameter ab. Wie in Abbildung 23 zu sehen, waren selbst unter Zugrundelegung des idealen Modells unter bestimmten Umständen negative Schätzwerte für das alveoläre NO möglich. Ferner war die Überlappung zwischen verschiedenen Streubereichen so groß, dass unter realistischen Bedingungen nicht damit zu rechnen ist, die Parameterschätzwerte anhand der gewählten Flussraten und Zahl der Messwiederholungen verlässlich zurückzugewinnen.

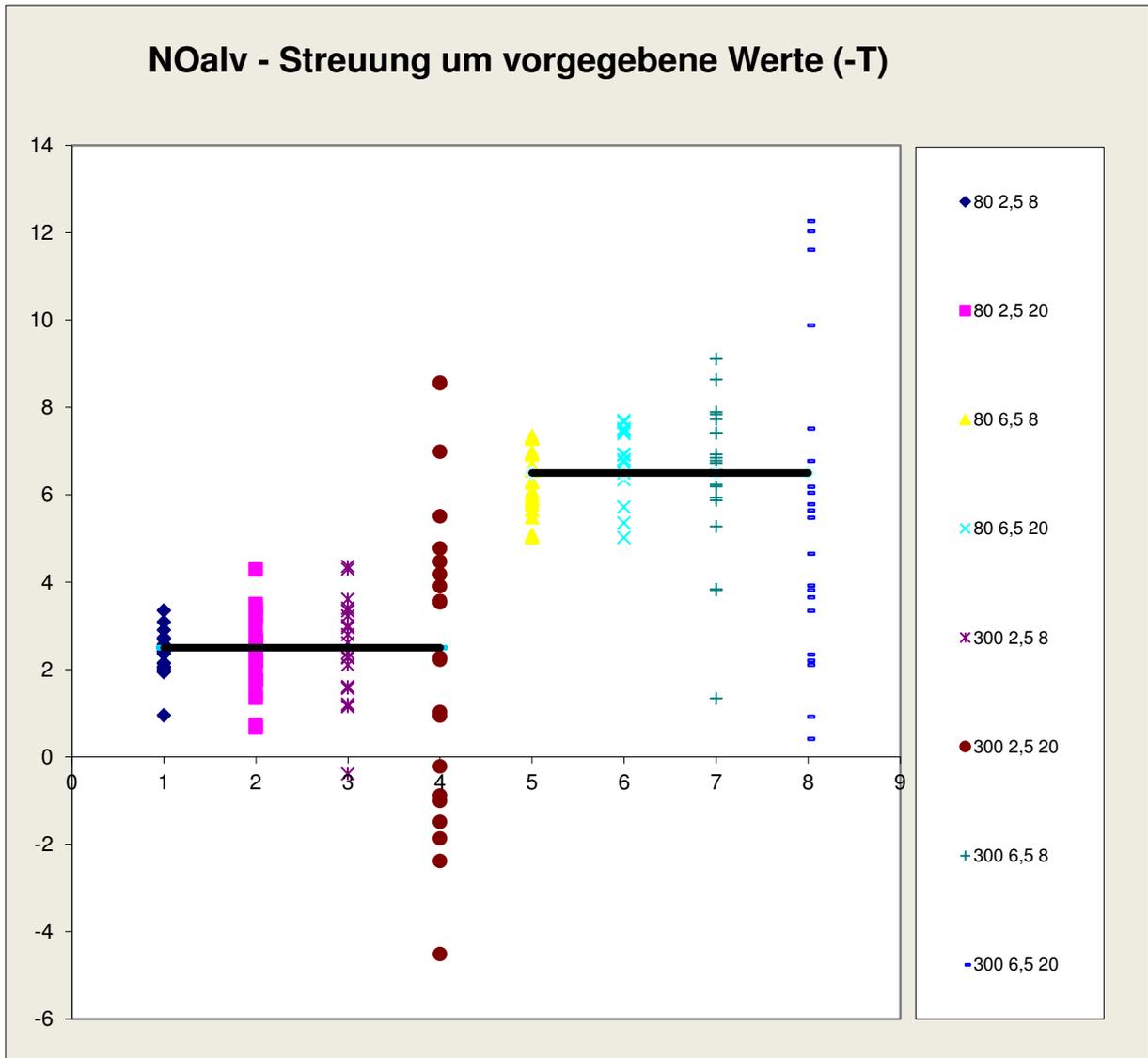


Abbildung 23: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alveolären NO-Werte (NOalv) anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit fünf Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Die rechte Spalte gibt die verwendeten Parameterwerte des Modells an, und zwar in der Reihenfolge: bronchiale Wandkonzentration, alveoläres NO, bronchialer Transferfaktor. Einheiten in ppb

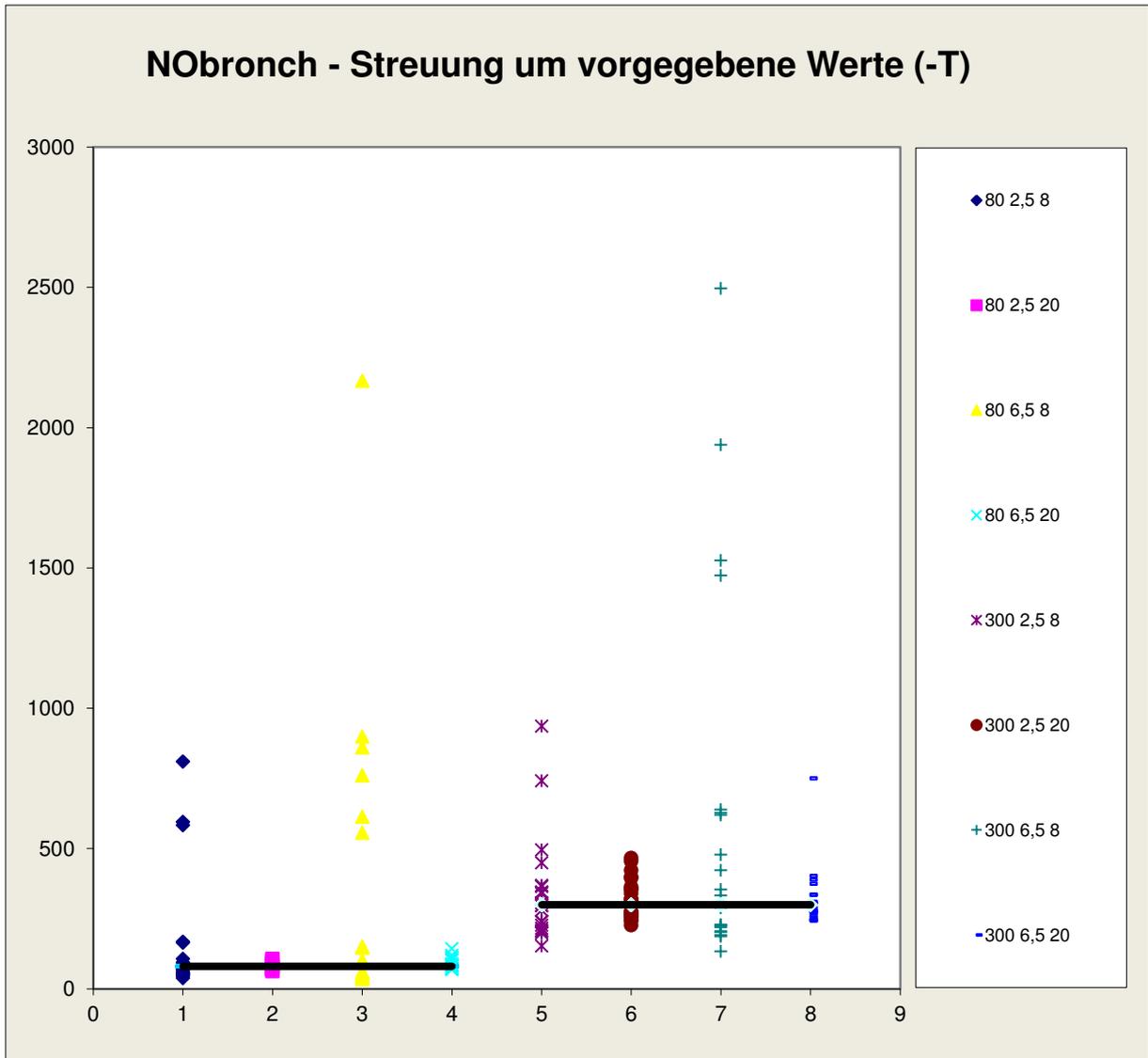


Abbildung 24: Streuung der in den Simulationen erhaltenen bronchialen NO-Wandkonzentration anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit fünf Ausatemraten bei dreifacher Messwertwiederholung. Symbole wie in Abb. 23. Einheiten in ppb

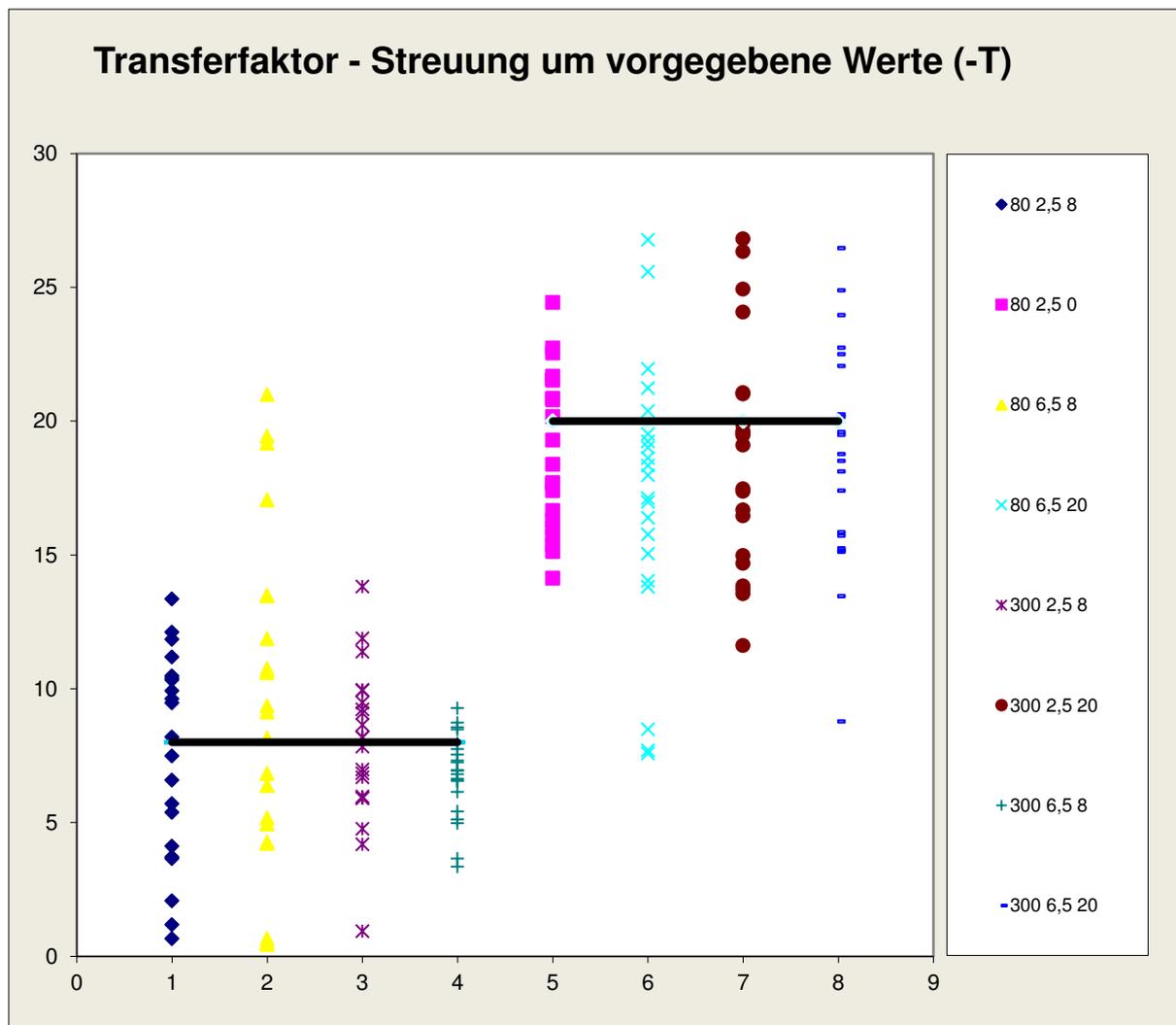


Abbildung 25: Streuung des in den Simulationen erhaltenen NO-Transferfaktor anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit fünf Ausatemraten bei dreifacher Messwertwiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ml/s

In den Abbildungen 26 – 28 sind die Streuungen der Parameterschätzwerte gezeigt, wenn die Simulationen zusätzlich mit einer Ausatemrate von 400 ml/s vorgenommen wurden. Zu erkennen ist, dass vor Allem die Schätzung des alveolären NO (Abbildung 26) von dieser zusätzlichen Ausatemrate profitierte und weniger häufig negative Schätzwerte vorkamen. Insgesamt waren die Streuungen deutlich kleiner als unter Weglassen dieser Flussrate (Abbildung 23 - 25). Die stabilere Schätzung des alveolären NO ging einher mit stabileren und weniger streuenden Schätzwerten der anderen beiden Modellparameter einschließlich der bronchialen Wandkonzentration, die ohne die zusätzliche Ausatemrate enorme Streuungen zeigte (vgl. Abbildungen 24 und 27). Ähnliches gilt für den bronchialen Transferfaktor (vgl. Abbildungen 25 und 28).

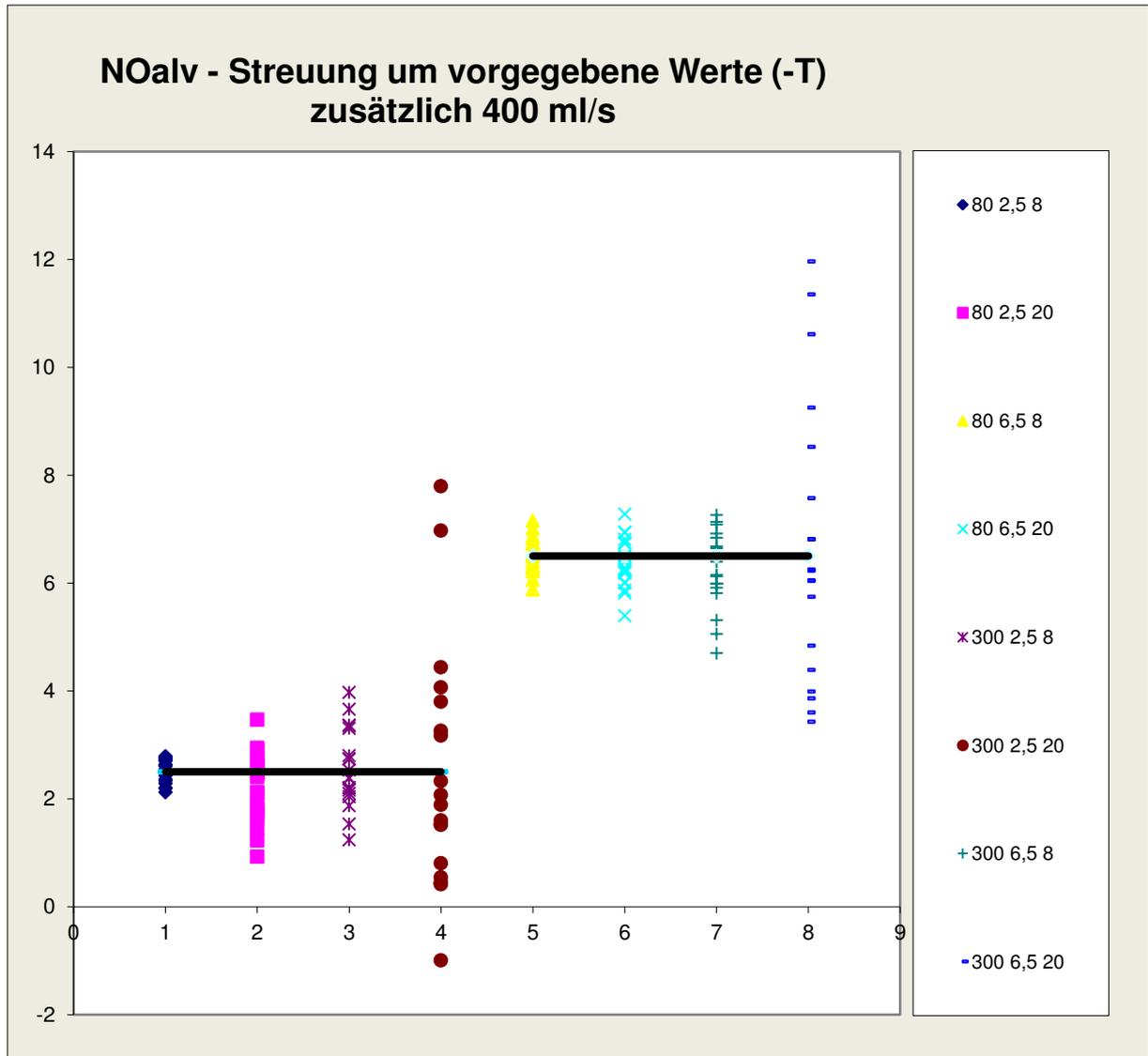


Abbildung 26: Streuung des in den Simulationen erhaltenen alveolären NO anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit Hilfe von sechs Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abb. 23. Einheiten in ppb

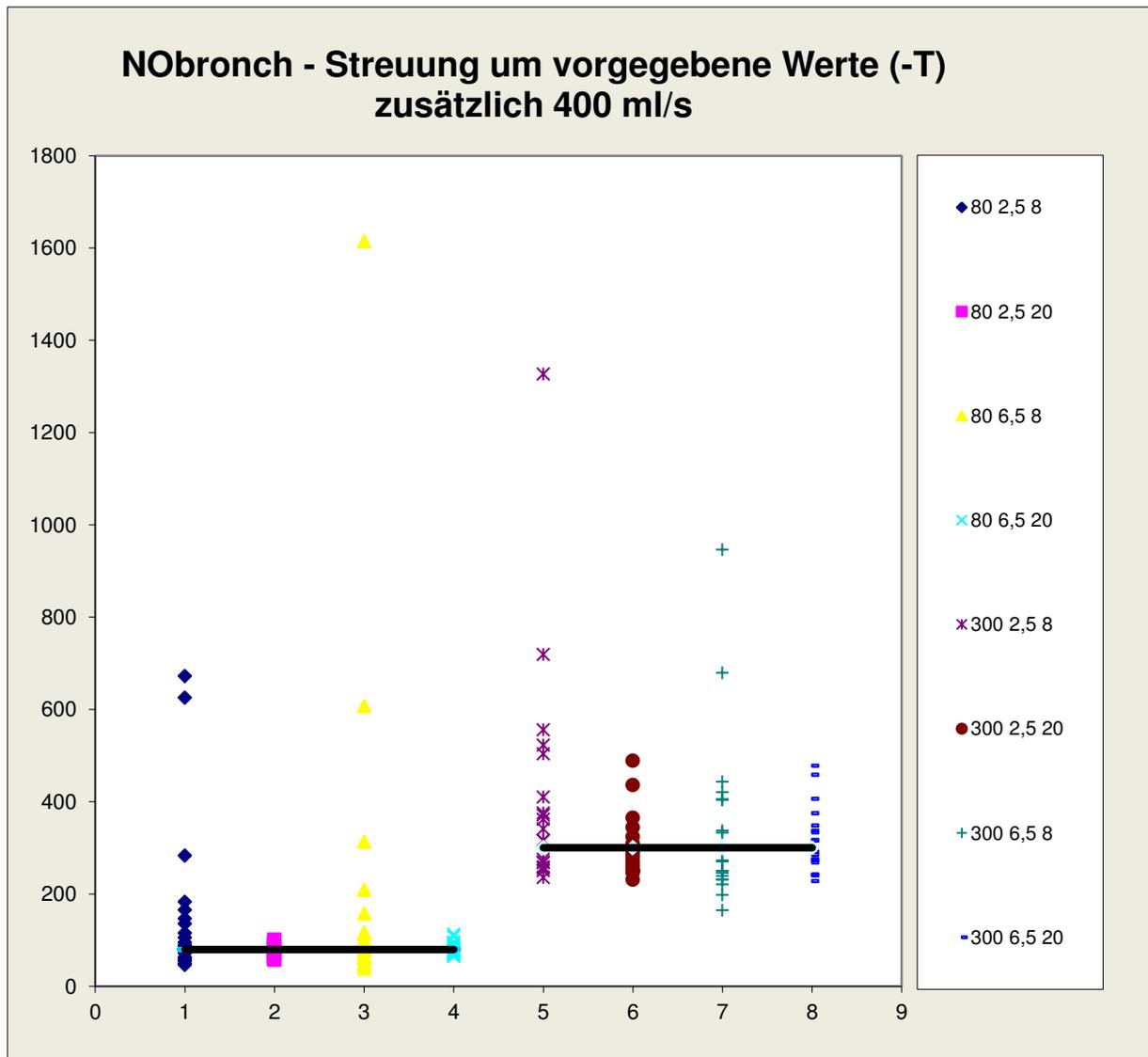


Abbildung 27: Streuung der in den Simulationen erhaltenen bronchialen NO-Wandkonzentration anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit Hilfe von sechs Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abb. 23. Einheiten in ppb

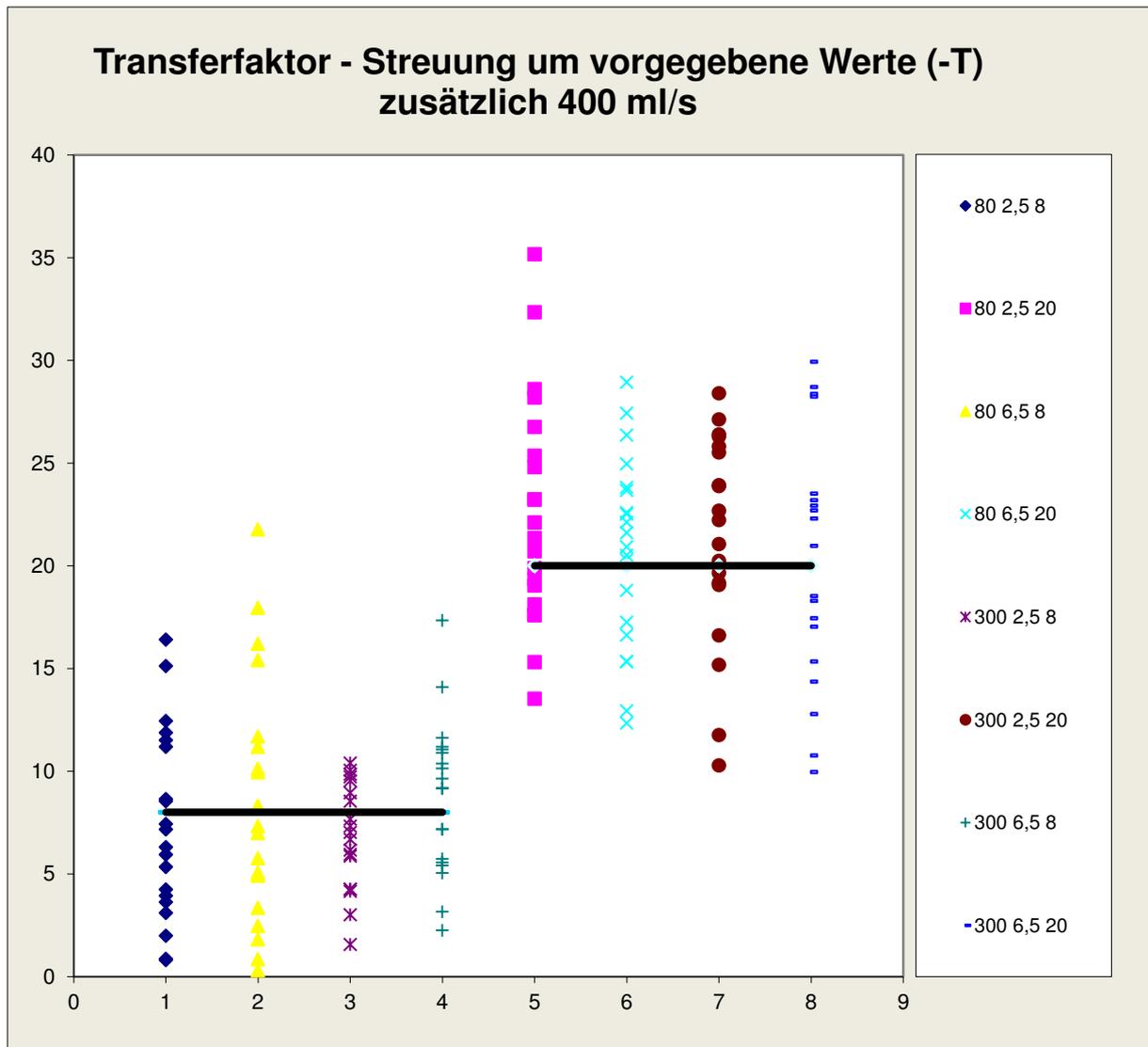


Abbildung 28: Streuung des in den Simulationen erhaltenen NO-Diffusionsfaktors anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit Hilfe von sechs Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ml/s

5.3.3 Parameterschätzwerte mit linearisiertem Ansatz

Für die Analyse des linearisierten Schätzverfahrens wurden zwei (120, 210 ml/s oder 210, 400 ml/s) oder drei (120, 210, 400 ml/s) Ausatemraten gewählt, um das Spektrum praktisch realisierbarer und zugleich zulässiger und von Patienten bewältigbarer Flussraten abzudecken. Die simulierten Messungen bei den verschiedenen Ausatemraten wurden jeweils in dreifacher Wiederholung in die Analyse eingesetzt, analog zu Kap. 5.3.2. Die Abbildungen 29 - 31 zeigen die Streuungen der auf diese Weise entstandenen Schätzwerte des alveolären NO.

Abbildung 29 verdeutlicht, dass trotz einer geringeren Zahl von Messwerten (2 Flussraten mit je 3 Werten) verlässlichere oder ähnliche verlässliche Abschätzungen des alveolären NO erreicht werden konnten wie mit dem vollständigen nichtlinearen Modell (5 Flussraten mit je 3 Werten; vgl. Abbildungen 23 und 26). Negative Schätzwerte kamen allerdings ebenfalls vor.

Wurde statt der Ausatemrate von 120 ml/s die Ausatemrate von 400 ml/s eingesetzt, bei der der Anteil des bronchialen NO noch einmal deutlich geringer zu erwarten ist, so verringerte sich die Streuung der Parameterschätzwerte des alveolären NO wesentlich, obwohl die Anzahl der Messungen nicht zugenommen hatte (Abbildung 30). In den Simulationsexperimenten kamen negative Schätzwerte jetzt nicht mehr vor. Die Streuung hing jedoch nach wie vor bei vorgegebener alveolärer NO-Konzentration von den Werten der anderen Modellparameter ab.

Eine weitere Verbesserung ließ sich erzielen, indem drei (120, 210, 400 ml/s) Ausatemraten für die Schätzung mit dreifacher Wiederholung der simulierten Messungen verwendet wurden (Abbildung 30). Wie der Abbildung zu entnehmen ist, bestand unter diesen Bedingungen zumindest für bestimmte Parameterkonstellationen die Chance, mit nach wie vor begrenztem Aufwand (3 Flussraten mit je 3 Messwiederholungen) die „wahre“ alveoläre NO-Konzentration verlässlich zu schätzen.

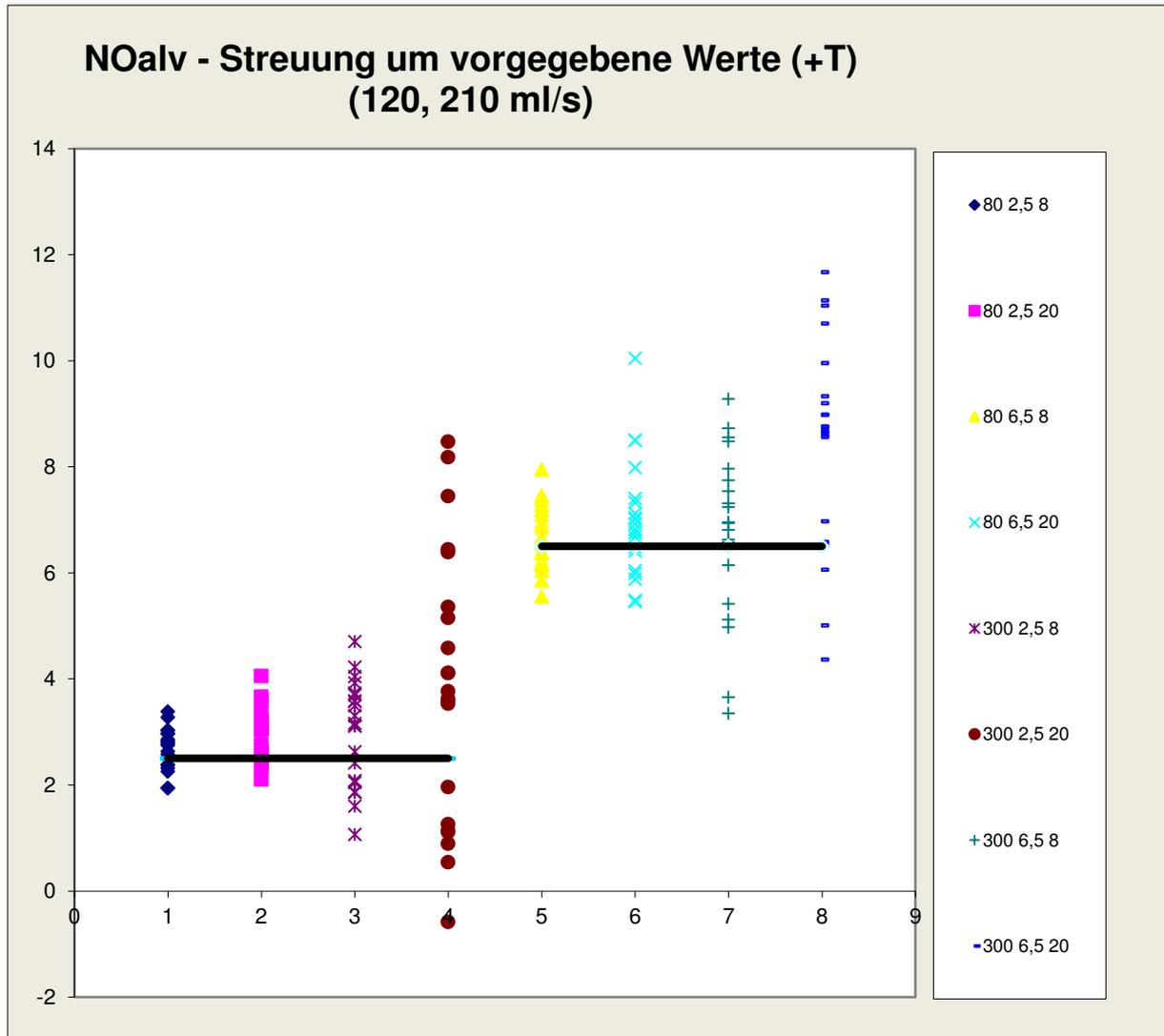


Abbildung 29: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alveolären NO-Konzentration anhand des linearisierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (120 und 210 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb

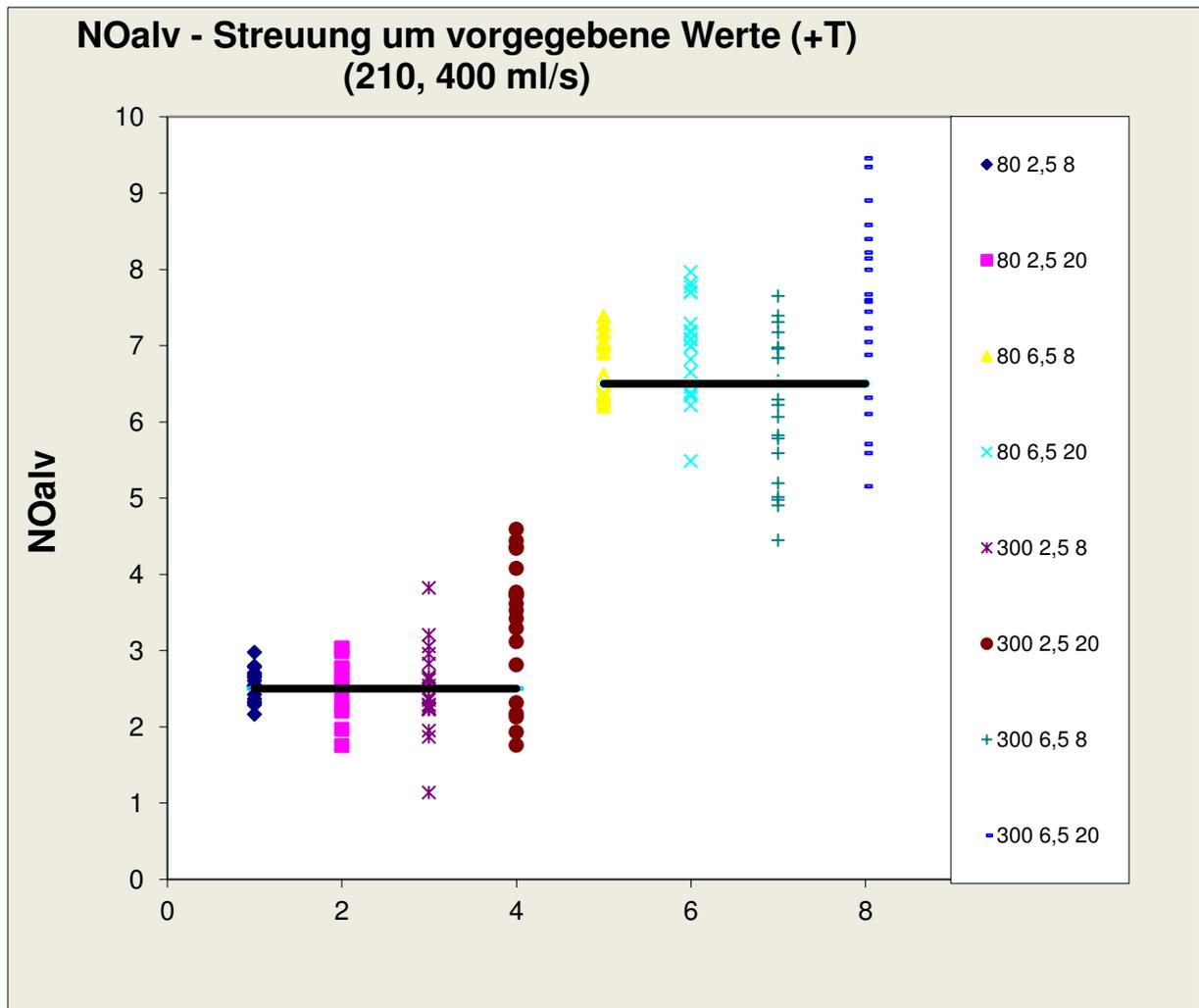


Abbildung 30: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alveolären NO-Konzentration anhand des linearisierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (210 und 400 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb

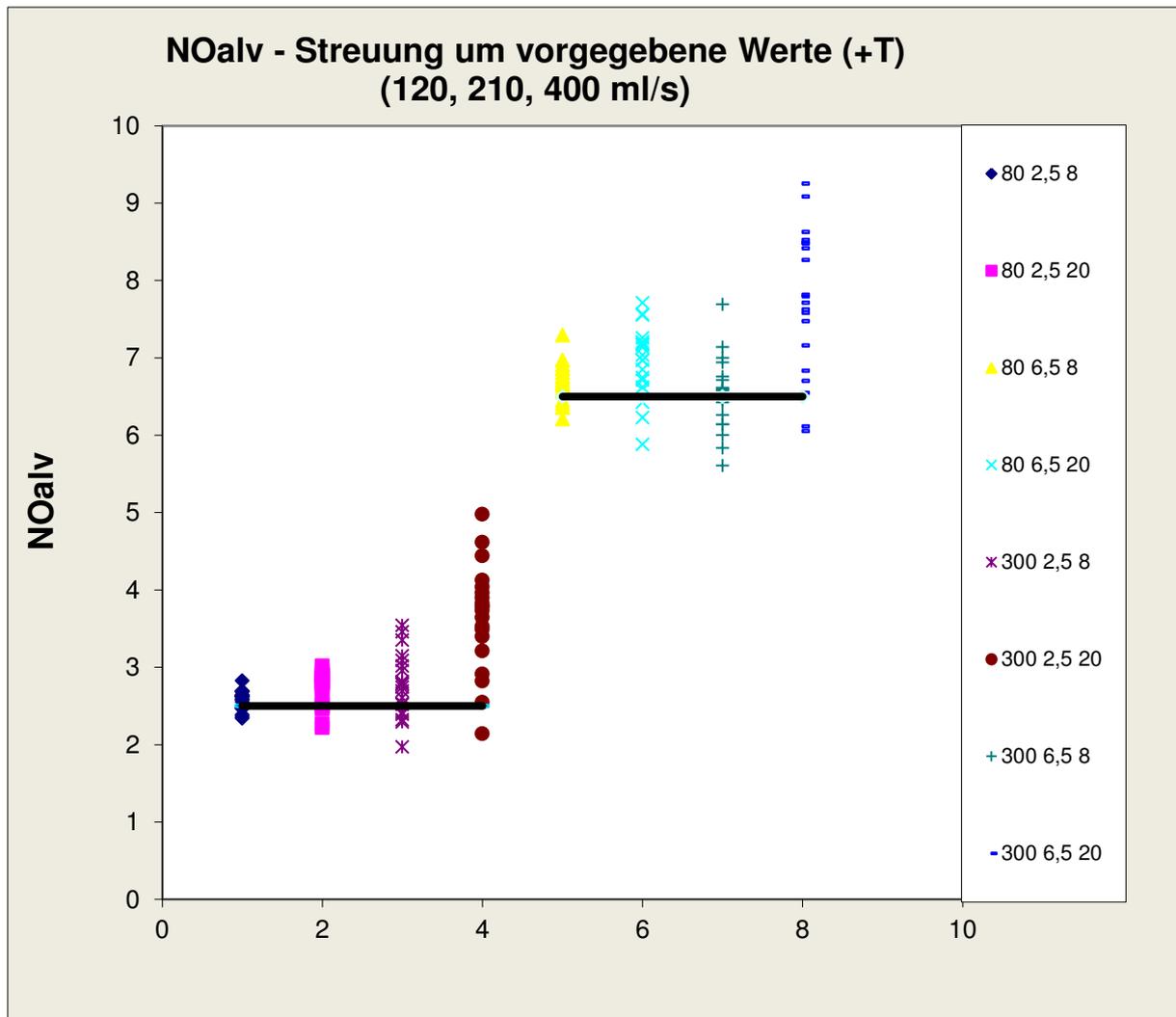


Abbildung 31: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alveolären NO-Konzentration anhand des linearisierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von drei (120, 210 und 400 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb

5.3.4 Parameterschätzwerte mit Kombinationsansatz

Für die Simulation des kombinierten Verfahrens wurden die aus dem linearisierten Verfahren errechneten alveolären NO-Konzentrationen dem nichtlinearen Schätzverfahren vorgegeben. Die nichtlineare Schätzung beschränkte sich daher auf die beiden anderen Parameter (bronchiale NO-Wandkonzentration und NO-Transferfaktor). Die für die alveoläre NO-Konzentration eingesetzten Werte waren hierbei mit zwei (120 und 210 ml/s) Ausatemraten des linearisierten Modells geschätzt worden. Bei dieser Analyse ging es primär darum, zu eruieren, ob die beiden anderen Parameter sich durch diese Kombination wesentlich besser schätzen ließen oder kein merklicher Gewinn auftrat. Daher sind nur die Daten für den Flussbereich bis 210 ml/s dargestellt. Hinzu kommt, dass erfahrungsgemäß eine konstante Ausatemrate von 400 ml/s nicht von allen Patienten, vor Allem von solchen mit Obstruktion oder geringem Lungenvolumen, zu bewältigen ist.

Für das alveoläre NO sind die Schätzwerte des linearisierten Verfahrens per definitionem mit denen des Kombinationsansatzes identisch (vgl. Abbildung 29). Die Streuung der beiden anderen erhaltenen Parameterschätzwerte ist in den Abbildungen 32 und 33 illustriert. Im Vergleich zu den Abbildungen 24 und 25 ist kein entscheidender Gewinn zu erkennen. Dies gilt vor Allem in Anbetracht der Tatsache, dass im Vergleich zu Abbildung 29 5x3 statt nur 2x3 Messungen, also 3x3 zusätzliche Messungen benötigt wurden, um die beiden anderen Modellparameter bei insgesamt hoher Streuung zu erhalten. Auch konnte für diese Parameter bislang keine überzeugende klinische Interpretation aufgewiesen werden.

Um für das alveoläre NO den Gewinn gegenüber dem vollständig nichtlinearen Ansatz zu verdeutlichen, sind in Abbildung 34 die entsprechenden Werte noch einmal gegeneinander aufgetragen. Im Mittel streuten sie um die Identitätslinie, jedoch war für die verschiedenen Parameterkombinationen die Streuung in vertikaler Richtung (linearisiertes Modell bzw. Kombinationsmodell) in der Regel deutlich kleiner als in horizontaler Richtung (vollständig nichtlineares Modell). Zur Verdeutlichung sind auch für die anderen beiden Parameter die Schätzwerte aus dem vollständig nichtlinearen gegen die aus dem kombinierten Verfahren aufgetragen (Abbildungen 35 - 36). Die Werte orientierten sich zwar im Mittel entlang der Identitätslinie, waren aber einer großen Streuung und im Falle des bronchialen Transferfaktors (Abbildung 36) offenbar auch systematischen Abweichungen unterworfen.

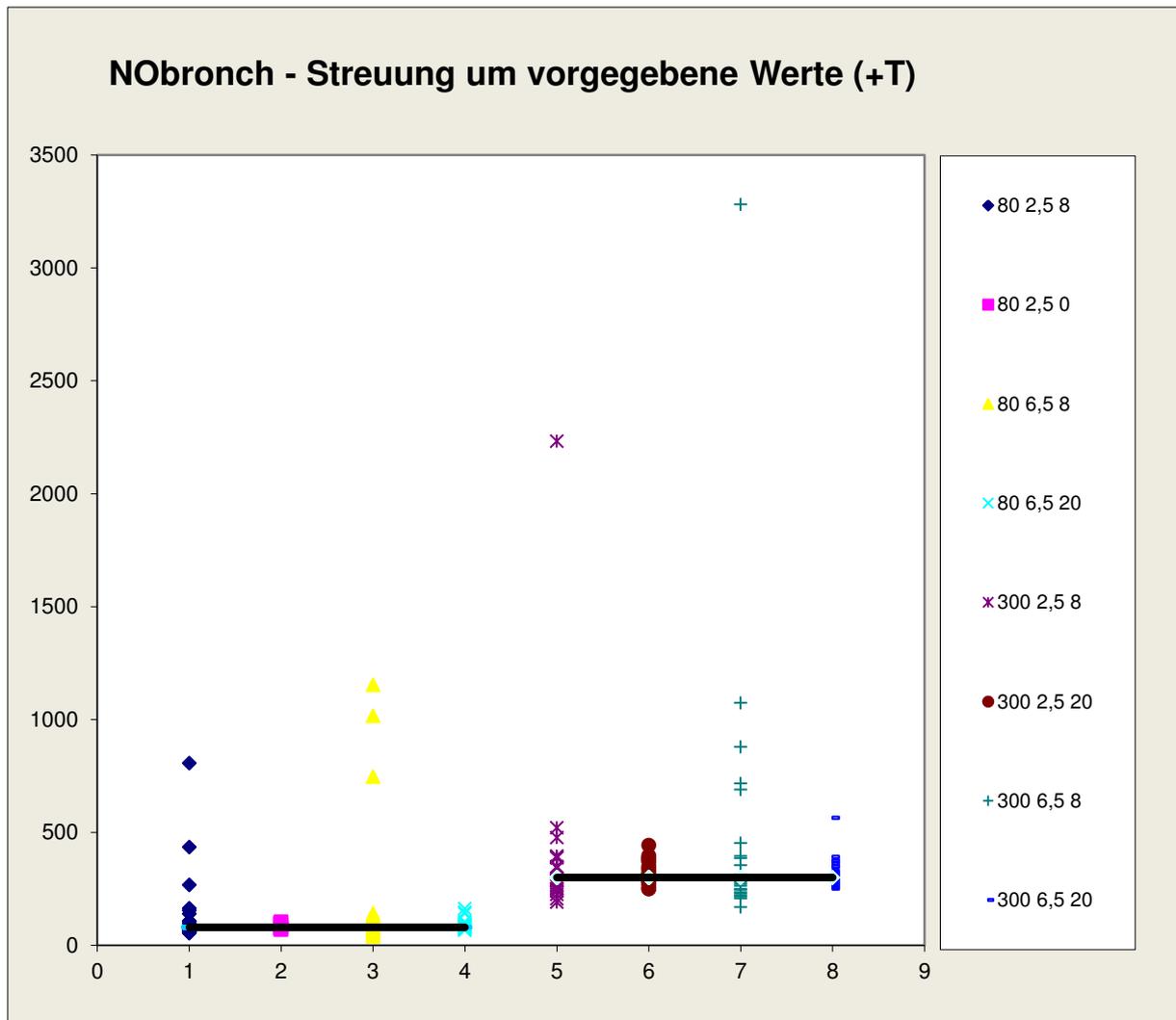


Abbildung 32: Streuung der in den Simulationen erhaltenen bronchialen NO-Wandkonzentration anhand des kombinierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (120 und 210 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung, wenn die alveoläre NO-Konzentration mit dem linearisierten Verfahren gewonnen wurde. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb

Transferfaktor - Streuung um vorgegebene Werte (+T)

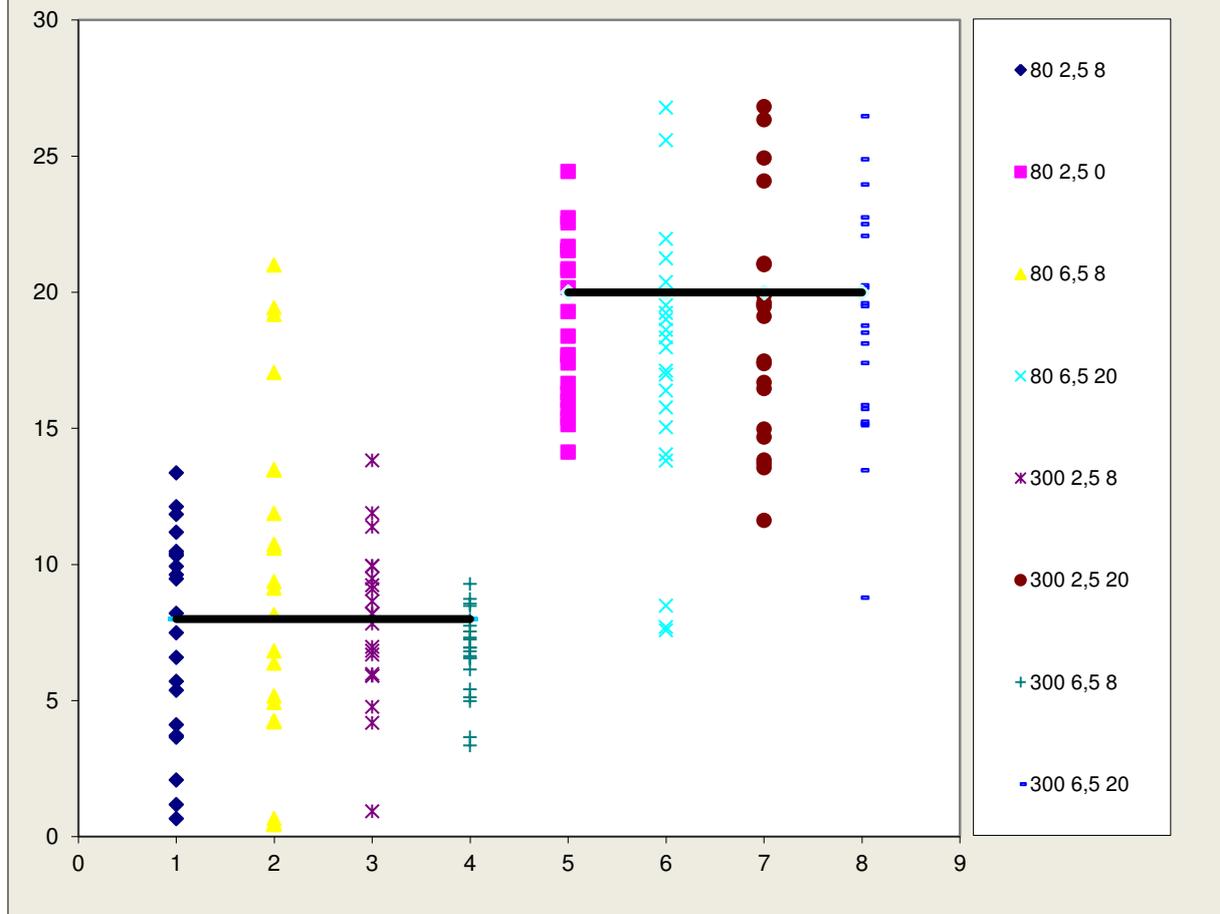


Abbildung 33: Die Streuung des in den Simulationen erhaltenen NO-Transferfaktors anhand des kombinierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (120 und 210 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung, wenn die alveoläre NO-Konzentration mit dem linearisierten Verfahren gewonnen wurde. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ml/s

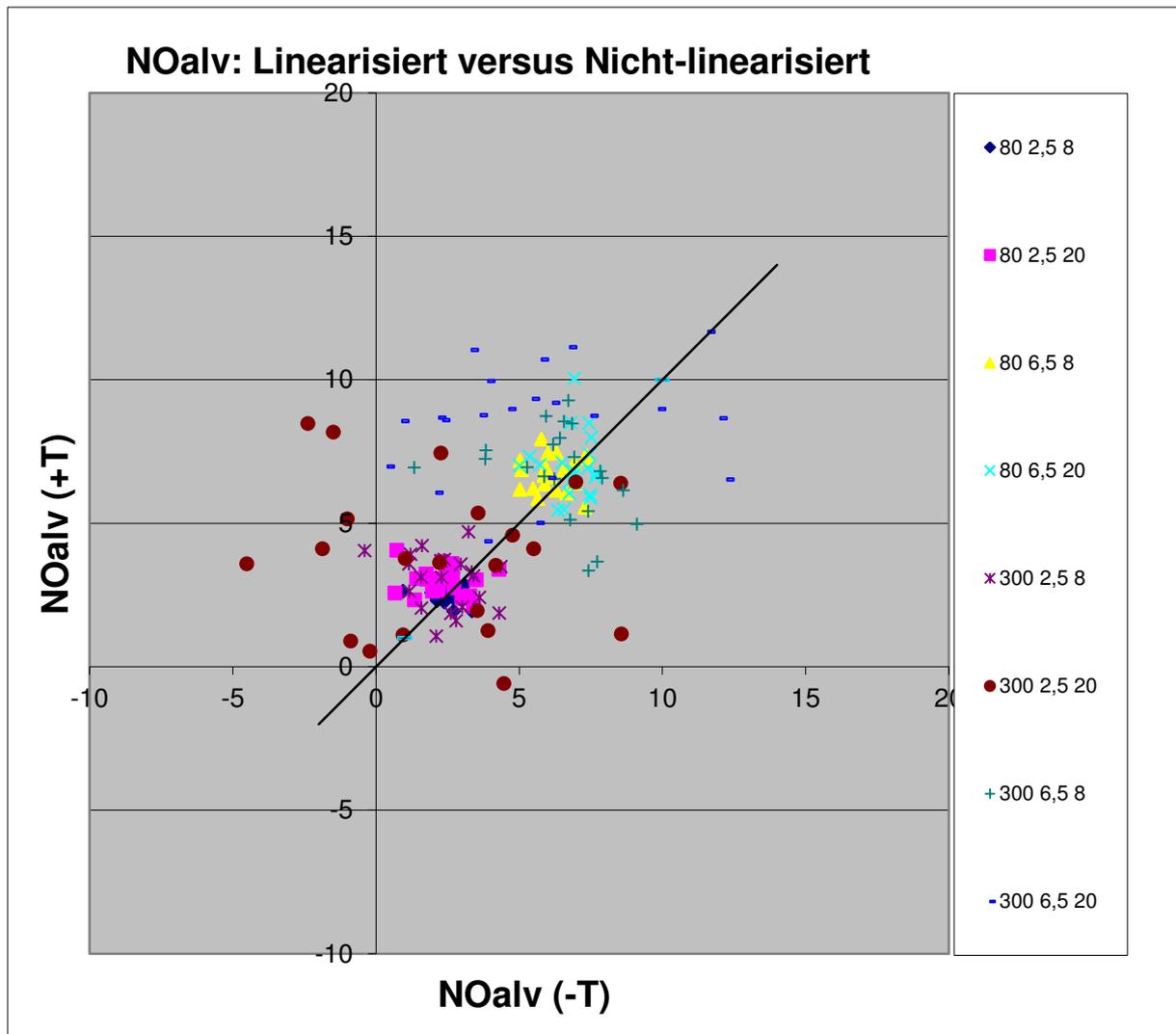


Abbildung 34: Korrelation der Schätzwerte des alveolären NO, die in den Simulationen mit Flussraten bis 210 ml/s erhalten wurden. Horizontal: vollständige nichtlineare Abschätzung (-T), vertikal: linearisiertes Verfahren für alveoläres NO bzw. kombiniertes Verfahren (+T). Symbole wie in Abbildung 23. Die Linie repräsentiert die Identitätslinie. Einheiten ppb.

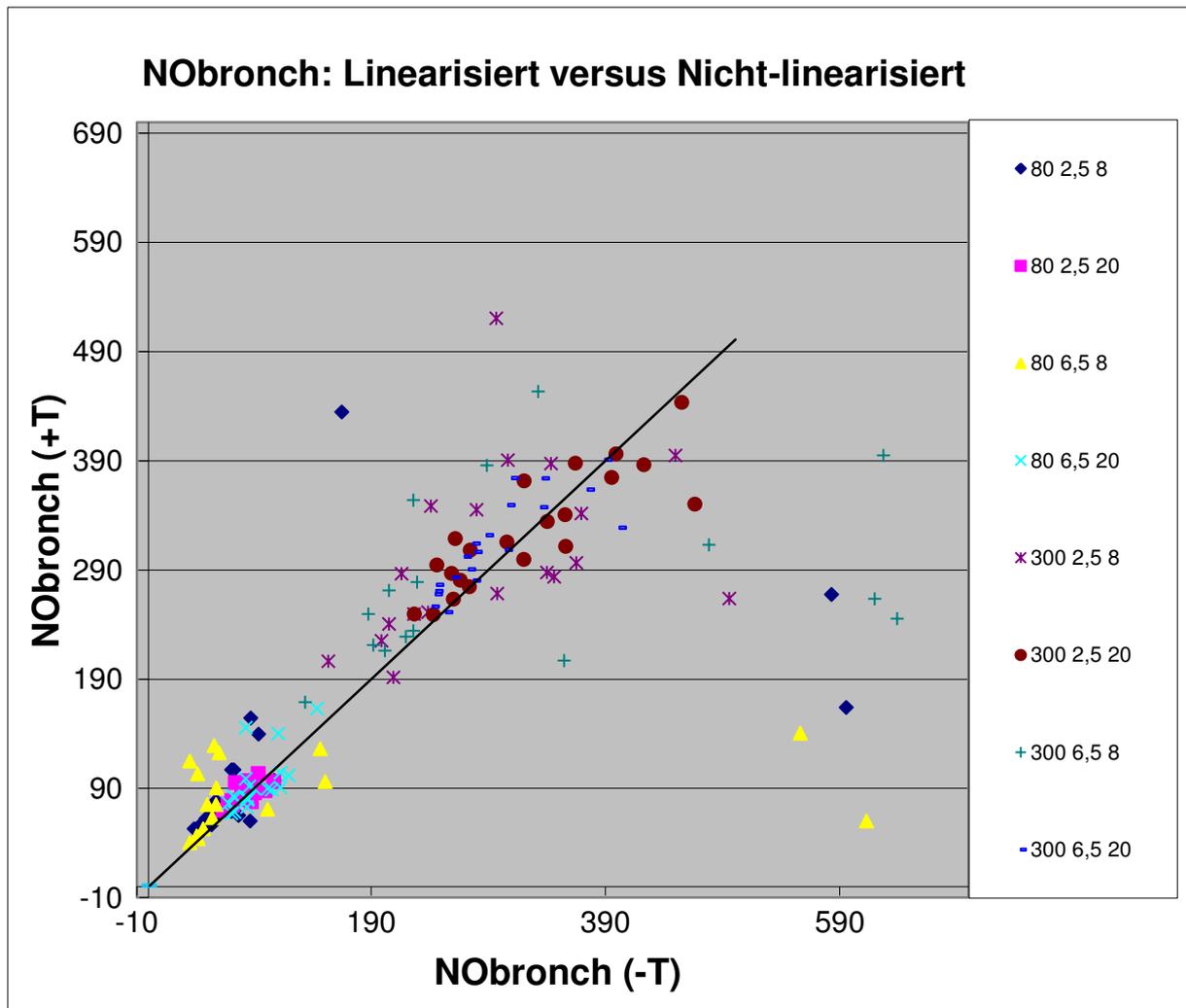


Abbildung 35: Korrelation der Schätzwerte der bronchialen Wandkonzentration, die in den Simulationen mit Flussraten bis 210 ml/s erhalten wurden. Horizontal: vollständige nichtlineare Abschätzung (-T), vertikal: linearisiertes Verfahren für alveoläres NO bzw. kombiniertes Verfahren (+T). Symbole wie in Abbildung 23. Die Linie repräsentiert die Identitätslinie. Einheiten in ppb

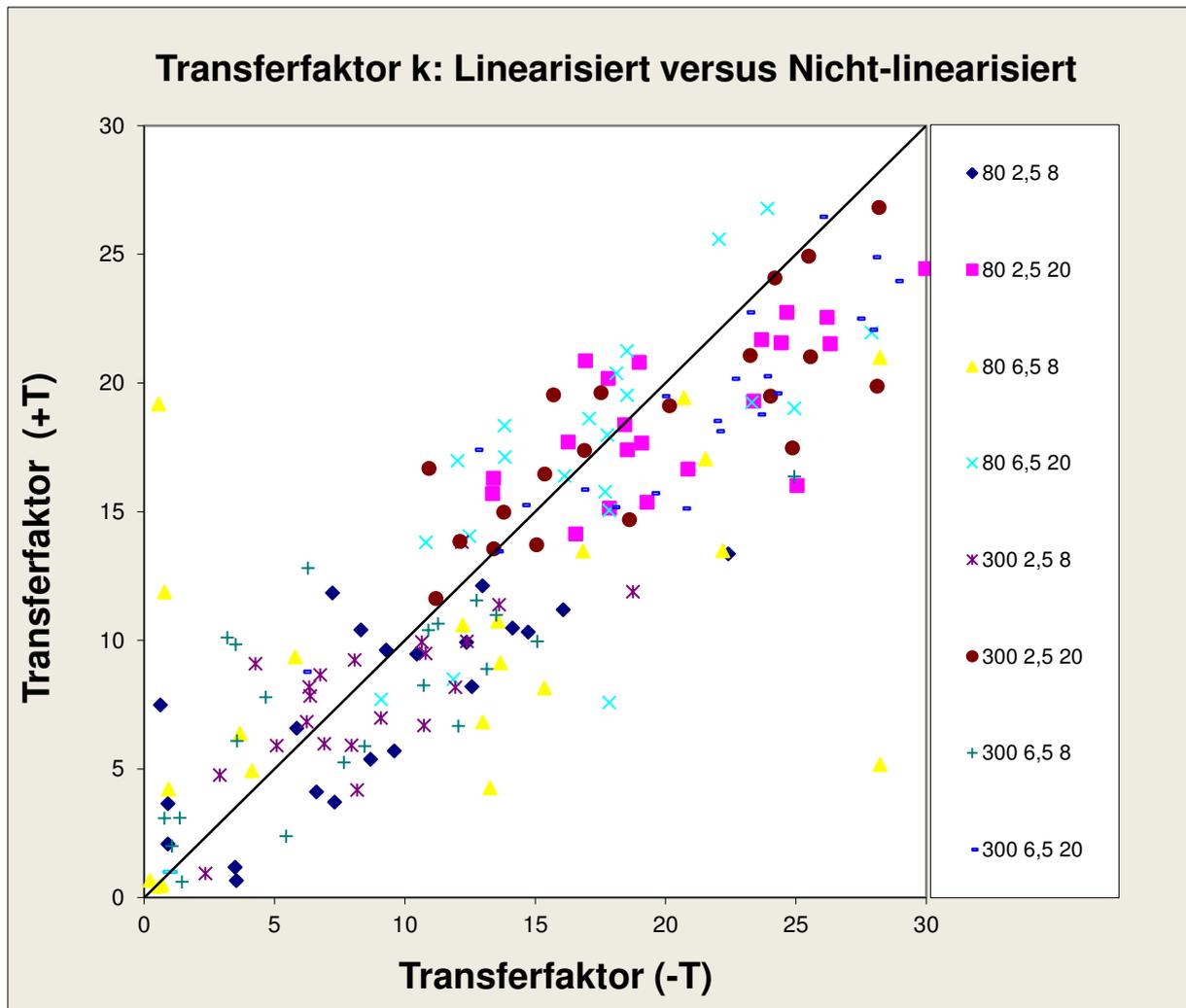


Abbildung 36: Korrelation der Schätzwerte des bronchialen Transferfaktors (k) für NO, die in den Simulationen mit Flussraten bis 210 ml/s erhalten wurden. Horizontal: vollständige nichtlineare Abschätzung (-T), vertikal: linearisiertes Verfahren für alveoläres NO bzw. kombiniertes Verfahren (+T). Symbole wie in Abbildung 23. Die Linie repräsentiert die Identitätslinie. Einheiten in ml/s.

5.3.4 Beziehung zu FeNO

Gemäß dem Zweikompartmentenmodell hängt die Konzentration des ausgeatmeten NO im mittleren Flussbereich hauptsächlich von der bronchialen Wandkonzentration, aber auch vom bronchialen Transferfaktor (k) ab. Dies gilt auch für Ausatemraten um 50 ml/s, mit deren Hilfe der Standardwert FeNO ermittelt wird. Um zu prüfen, in wie weit diese Ausatemrate die Modellparameter widerspiegelt, wurden die Zusammenhänge zwischen FeNO und den Modellparametern für die empirischen Daten (Kapitel 5.2) analysiert. Hierfür wurden fünf Ausatemraten (22, 35, 52, 120, 210 ml/s) bei drei Messwiederholungen eingesetzt.

Die Abbildungen 37 und 38 zeigen die Schätzwerte der bronchialen NO-Wandkonzentration aufgetragen gegen die Werte des exhalierten NO, die bei 52 ml/s in den Messungen an den Probanden gewonnen wurden. Die Ergebnisse für die vollständige nichtlineare Schätzung sind in Abbildung 37, die für die Kombination mit der linearisierten Schätzung des alveolären NO in Abbildung 38 gezeigt.

Bei insgesamt großer Streuung ist tendenziell eine Korrelation dieser Werte zu erkennen. Zu beachten ist, dass die vertikale Achse logarithmisch ist, um den gesamten Wertebereich abzudecken. Die Beziehung scheint für die kombinierte Abschätzung enger zu sein, da die Streuungen innerhalb der einzelnen Probanden geringer ausfallen. Im Vergleich zu theoretischen Überlegungen, die eine enge Beziehung zwischen NO-Wandkonzentration und FeNO nahelegen, dürfte die große Streuung primär auf die geringe Verlässlichkeit der abgeschätzten NO-Wandkonzentrationen zurückzuführen sein.

In den Abbildungen 39 und 40 sind die Beziehungen zwischen FeNO und dem bronchialen Transferfaktor für NO dargestellt, wie er aus dem vollständigen nichtlinearen Ansatz (Abbildung 39) oder dem Kombinationsansatz (Abbildung 40) erhalten wurde. Es ist keine konsistente Beziehung zu erkennen, vermutlich ebenfalls aufgrund der geringen Verlässlichkeit, mit der der Transferfaktor aus den Daten abgeleitet werden konnte.

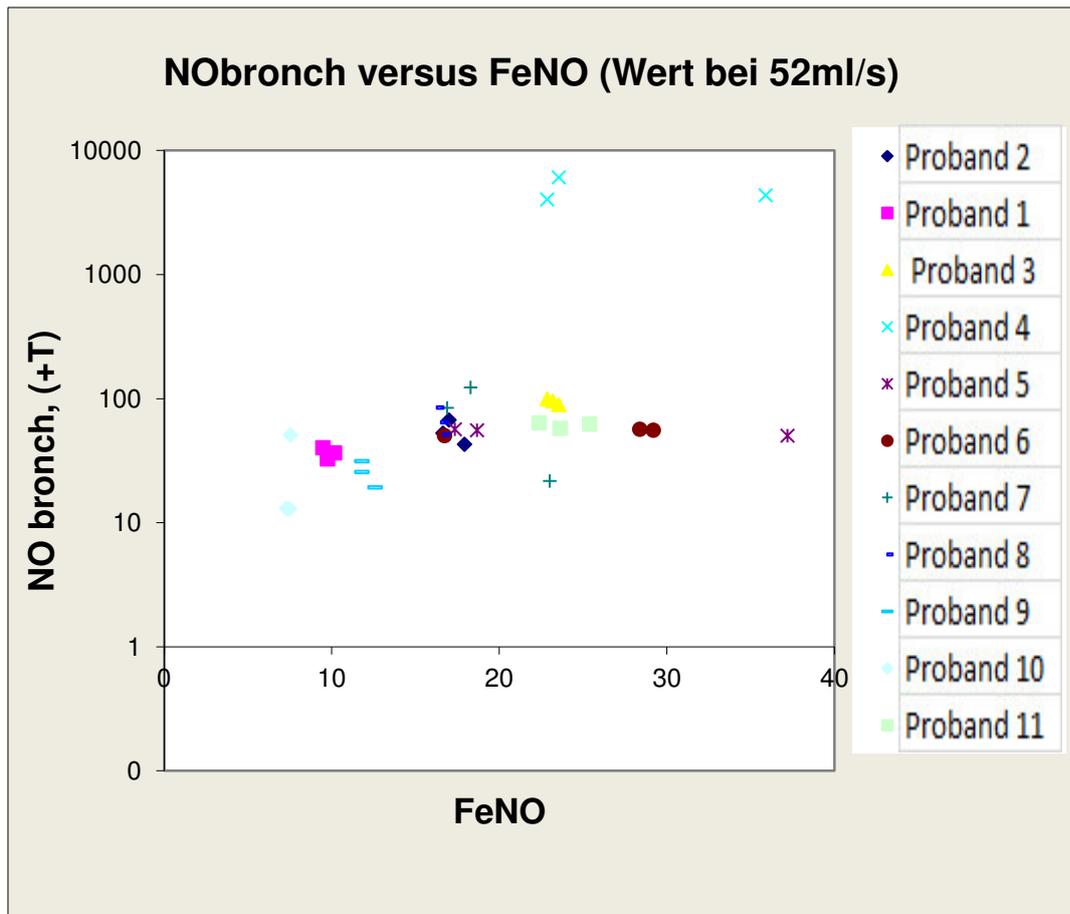


Abbildung 38: Schätzwerte der bronchialen NO-Wandkonzentration (NO bronch) mittels kombiniertem Ansatz (Ordinate, +T; 5 Ausatemraten, je 3 Messungen) versus Werte von FeNO (Abszisse; Ausatemrate 52 ml/s, Mittelwert aus je 3 Messungen). Die FeNO-Werte entsprechen den jeweils bei der Modellschätzung verwendeten Werten. Einheiten in ppb.

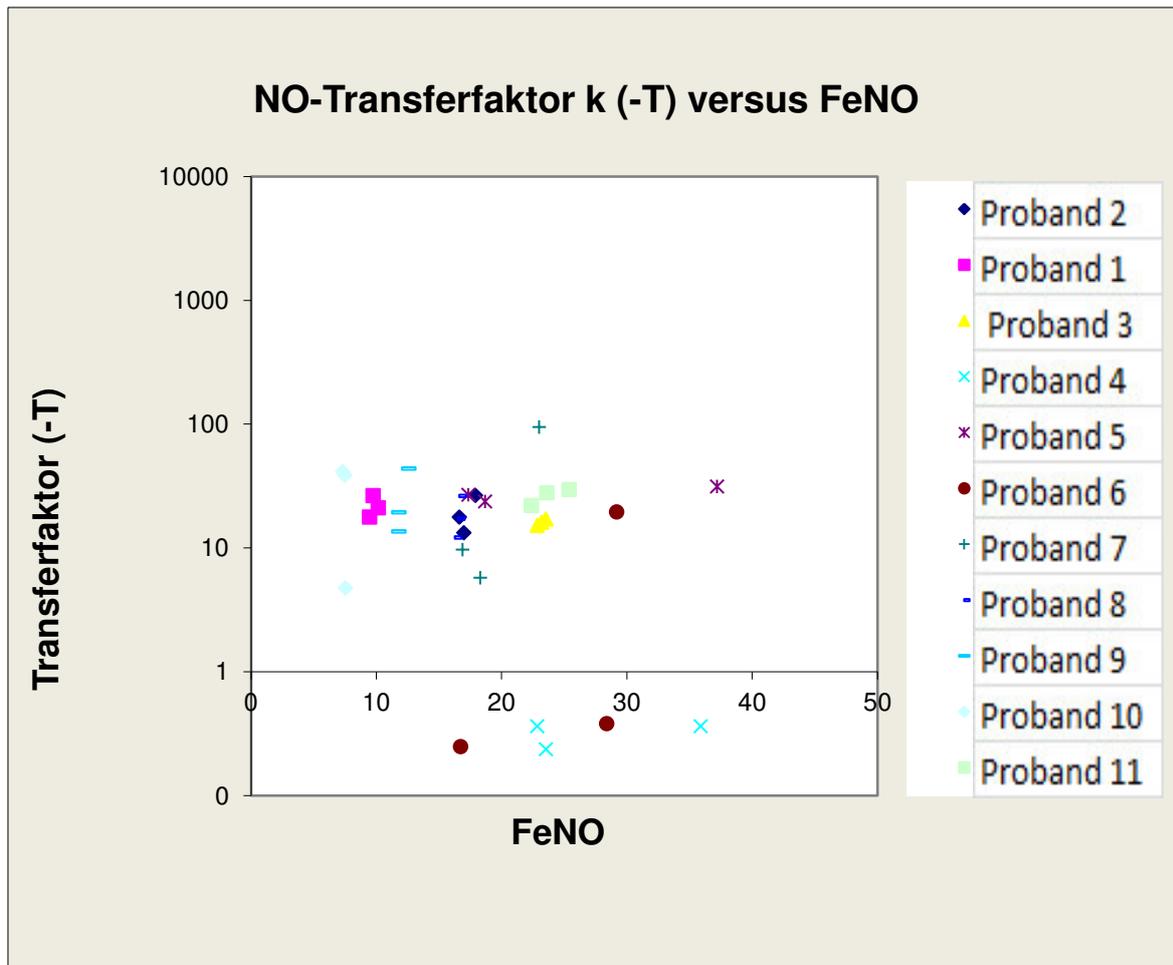


Abbildung 39: Schätzwerte der bronchialen NO-Transferfaktors k mittels vollständigem nichtlinearen Ansatz (Ordinate, $-T$; 5 Ausatemraten, je 3 Messungen) versus Werte von FeNO (Abszisse; Ausatemrate 52 ml/s, Mittelwert aus je 3 Messungen). Die FeNO-Werte entsprechen den jeweils bei der Modellschätzung verwendeten Werten. Einheiten in ml/s für NO-Transferfaktor und ppb für FeNO

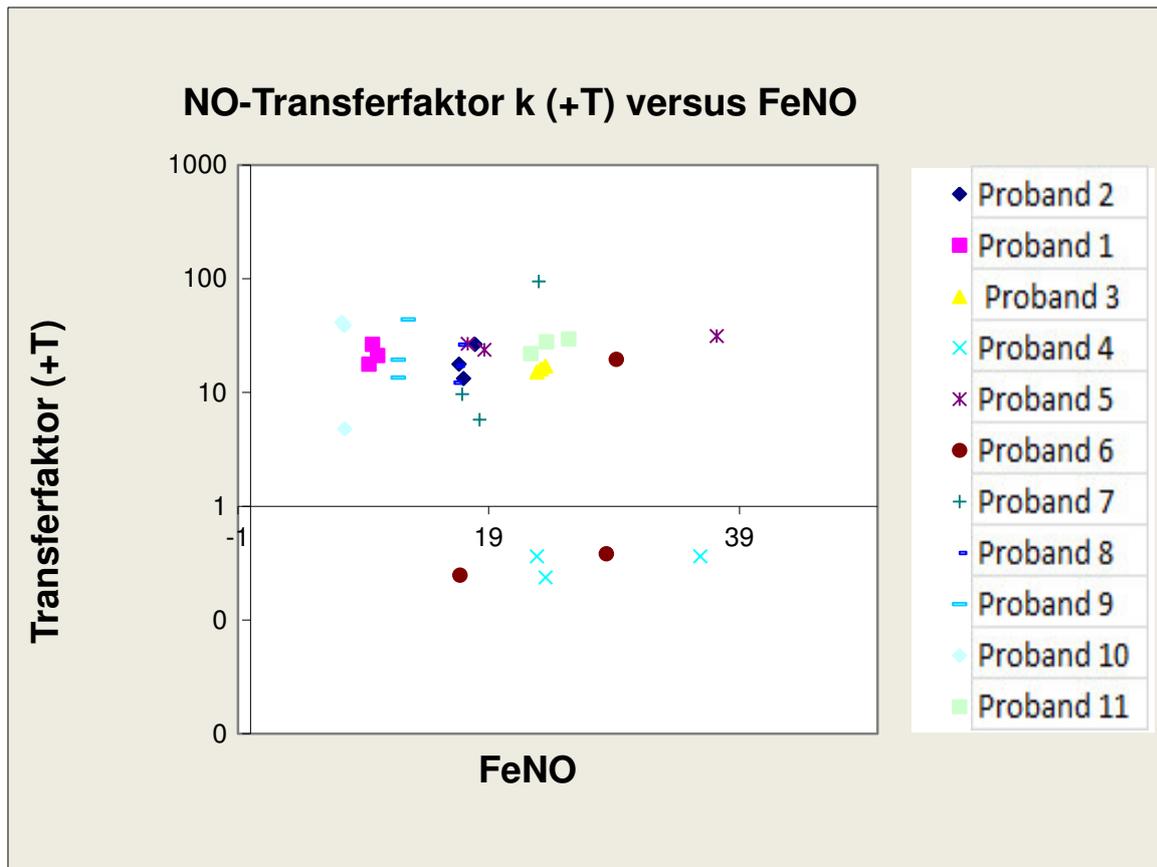


Abbildung 40: Schätzwerte der bronchialen NO-Transferfaktors k mittels kombiniertem Ansatz (Ordinate, +T; 5 Ausatemraten, je 3 Messungen) versus Werte von FeNO (Abszisse; Ausatemrate 52 ml/s, Mittelwert aus je 3 Messungen). Die FeNO-Werte entsprechen den jeweils bei der Modellschätzung verwendeten Werten. Einheiten in ml/s für NO-Transferfaktor und ppb für FeNO

6 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde eruiert, in wie weit potentielle Marker der Entzündung, die den Alveolen entstammen, verlässlich quantifiziert werden können. Solche Marker wären von großem Wert sowohl für diagnostische als auch für klinisch-experimentelle Zwecke. Für beide Marker ist denkbar, dass sie in den Alveolen produziert werden oder aus dem Blut in die alveoläre Luft übertreten; beide Alternativen schließen sich nicht aus.

6.1 Exhalierendes CO

Für den ersten der untersuchten Marker, Kohlenmonoxid (CO), ist gut bekannt, dass die Ausatemkonzentration mit der Konzentration im Blut in Form von Carboxyhämoglobin (COHb) zusammenhängt [siehe Togores et al. 2000]. Unklar ist, ob in den Alveolen, beispielsweise als Antwort auf oxidativen Stress, CO produziert wird. Ferner ist steht offen, ob das produzierte CO in der Ausatemluft entdeckt und von dem CO, das aus COHb stammt, unterschieden werden kann. Um diese Frage anzugehen, wurde die Beziehung zwischen CO und COHb bei verschiedenen Probanden bestimmt, und zwar auf individueller Basis. Dies erfolgte, indem jeder Proband vor und nach einer inhalativen CO-Belastung gemessen wurde; die CO-Belastung ergab sich als Folge einer Messung der CO-Diffusionskapazität der Lunge, wie sie als Routineverfahren etabliert ist. Ein Vorteil des exhalierenden CO ist die Tatsache, dass die gemessene Konzentration mit hoher Wahrscheinlichkeit direkt die alveoläre Konzentration widerspiegelt und keine komplexen Modellannahmen und -berechnungen erforderlich sind. Dies ergibt sich aus der Tatsache, dass die Ausatemkonzentration nicht flussabhängig ist [Zetterquist et al. 2002].

Extrapolierte man die individuelle Beziehung zwischen CO und COHb auf einen fiktiven COHb-Wert von Null, so waren die korrespondierenden CO-Konzentrationen in der Ausatemluft kleiner Null. Die Hypothese war allerdings, dass diese Werte geringfügig größer Null hätten ausfallen müssen, sofern es eine alveoläre CO-Produktion gibt, die nicht in COHb umgesetzt wird. Die Daten deuten daher an, dass es im Gegensatz zur Erwartung eine COHb-Konzentration größer Null gibt, die in der Ausatemluft einem exhalierenden CO-Wert von Null entspricht. Vom physikochemischen Standpunkt aus wäre ein Gleichgewicht zwischen COHb und gasförmigen CO jedoch auch bei sehr niedrigen Konzentrationen von COHb plausibel.

Möglicherweise gibt es einen Schwellenwert, unterhalb dessen kein messbares CO freigesetzt wird.

Diese Frage ist anhand der vorliegenden Daten nicht entscheidbar, vor Allem auch deshalb, weil es nicht möglich war, bei der allgegenwärtigen Umweltbelastung durch inhaliertes CO den Wert von COHb auf extrem niedrige Werte abzusenken, die ausschließlich einer endogenen CO-Produktion entsprechen würden. Eine Limitation der erhobenen Daten liegt darin, dass in der Regel nur zwei Messpunkte pro Proband erhoben werden konnten; die Annahme einer linearen, auf COHb von Null extrapolierbaren Beziehung ist daher hypothetischer Natur. Jedoch deuteten die Beziehungen, die bei Probanden mit drei Messpunkten beobachtet wurden, darauf hin, dass die Beziehung linear ist. Darüber hinaus war die Steigung dieser Dreipunkt-Messungen nicht verschieden von der Steigung der Mehrzahl der Zweipunkt-Messungen (siehe Abbildung 19). Bei einer möglichen praktischen Anwendung wäre ohnedies nur eine Zweipunkt-Messung realisierbar. Würde man die zufälligen Schwankungen des COHb-Spiegels zugrunde legen, wie sie aus Umweltbelastungen resultieren, wäre die Spannweite der Messwerte vermutlich kleiner als in dieser Untersuchung und damit die Aussagekraft geringer.

Die praktische Schlussfolgerung ist, dass es aussichtslos erscheint, mittels einer Messung einzelner Probanden bei verschiedenen COHb-Spiegeln auf eine endogene alveoläre CO-Produktion zurückschließen zu wollen. Nach aller Wahrscheinlichkeit gilt diese Schlussfolgerung auch für Patienten mit Atemwegserkrankungen. Aus diesem Grunde wird sich vermutlich in Zukunft die Anwendung der Messung des exhalieren CO weiter auf das Monitoring des COHb, am ehesten zur Kontrolle der Raucherentwöhnung, beschränken. Es ist derzeit unbekannt, ob es eine andere, leicht messbare biochemische Komponente gibt, die mit einer alveolären Entzündung assoziiert ist, nicht wesentlich von Werten im Blut beeinflusst wird und nur in geringem Ausmaß von einer externen Belastung durch die Einatemluft beeinflusst wird. Andere potenzielle Marker eines oxidativen Stress wie Ethan oder Pentan [Olopade et al. 1997; Paredi et al. 2000; Gorham et al. 2009] sind ebenfalls problematisch und deutlich schwieriger zu messen als CO.

6.2 Exhalierendes NO

Als zweiter potenzieller Marker wurde das alveoläre Stickstoffmonoxid (NO) untersucht. Im Unterschied zu CO ist das alveoläre NO (NO_{alv}) allerdings nicht direkt messbar. Vielmehr muss es mit Hilfe eines mathematischen Modells aus einer Reihe von Messwerten errechnet werden. Das mathematische Modell stellt notwendigerweise eine Idealisierung der Verhältnisse in der Lunge dar, weist jedoch pathophysiologisch eine hohe Plausibilität auf und beschreibt die empirischen Daten gut, soweit es den Verlauf der Messkurven betrifft (siehe Abb. 11).

Die Schwierigkeiten liegen hauptsächlich in den Methoden, aus den gemessenen Daten die Kenngrößen (Parameter) des Modells zu gewinnen. Diese Kenngrößen sind zum einen die bronchiale Wandkonzentration von NO (NO_{bronch}) und der bronchiale NO-Transferfaktor (k). Diese beiden Parameter bestimmen den bronchialen NO-Transport. In der Ausatemluft dominiert das aus den Bronchien stammende NO im Vergleich zu dem dritten Parameter des Modells, der alveolären NO-Konzentration (NO_{alv}). Daher ist in der Messung das alveoläre NO immer von bronchialem NO überlagert.

Alle akzeptierten Verfahren der Bestimmung der alveolären NO-Konzentration beruhen darauf, bei verschiedenen Ausatemraten die Konzentration des exhalierendes NO zu messen und durch eine Extrapolation auf eine Ausatemrate von „unendlich“ die „unverfälschte“ alveoläre NO-Konzentration zu schätzen. Allerdings sind die Zahl der schätzbaren Parameter, die Verlässlichkeit der Schätzung und der erforderliche Umfang an Messdaten verschieden. Die vorliegende Arbeit versucht, zu einer vergleichenden Wertung zu kommen, vor allem unter dem Aspekt der Praktikabilität im klinischen und klinisch-experimentellen Einsatz.

In der Literatur [Roy et al. 2007] beschrieben und in der vorliegenden Arbeit ausgewertet sind im Wesentlichen drei Schätzverfahren, teilweise mit geringfügigen Modifikationen und Ergänzungen. Erstens ein vollständiger nichtlinearer Ansatz zur Abschätzung aller drei Modellparameter [Jörres 2000; Roy et al. 2007]. Zweitens eine vereinfachte, linearisierte Version, die allerdings nur die Abschätzung des alveolären NO erlaubt [Tsoukias et al. 1998]. Drittens eine Kombination aus beiden, indem das mit dem vereinfachten Verfahren gewonnene alveoläre NO in den nichtlinearen Ansatz eingesetzt wird, mit dem Ziel, die verbleibenden beiden Modellparameter der bronchialen NO-Wandkonzentration und des bronchialen NO-Transferfaktors zu schätzen.

Das alveoläre NO wurde bereits viele Male in klinischen und experimentellen Studien eingesetzt, allerdings nicht immer mit überzeugenden, konsistenten und plausiblen Ergebnissen. Ein besonders markantes Beispiel sind die negativen alveolären Konzentrationen in der Arbeit von van Veen et al. [2006]. Die publizierten Daten einschließlich der Ergebnisse zu möglichen Artefakten bzw. Einflussfaktoren bei der Messung legen nahe, dass es sich nicht um ein unproblematisches Verfahren handelt. In Analogie zu anderen Verfahren gibt es daher auch Grund zu der Annahme, dass ein Publikations-Bias besteht, in dem negative Studienergebnisse nicht publiziert wurden. Da das alveoläre NO eine alveoläre Entzündung widerspiegeln könnte, sofern es in den Alveolen produziert wird, als auch die Diffusionswiderstände in den Alveolen beschreiben könnte, sofern es aus dem Blut stammt, bleibt es im Prinzip eine attraktive Messgröße. Umso wichtiger ist es, die Einflussfaktoren und vor allem die Fehlerquellen der Schätzung systematisch zu untersuchen.

In der vorliegenden Arbeit wurden zu diesem Zweck zwei Wege beschritten. Zum einen wurde an Probanden über ein breites Spektrum an Ausatemraten die Konzentration des ausgeatmeten NO bestimmt. Diese Messungen erfolgten in vielfacher Wiederholung, um die Streuung der Messwerte bei den einzelnen Ausatemraten zu erfassen. Die Kenntnis dieser Streuungen ist deswegen wichtig, weil sie bestimmt, mit welchem Gewicht die verschiedenen Messwerte bzw. Ausatemraten in die Schätzung der Modellparameter eingehen. Dieses statistische Gewicht ist für die unterschiedlichen Schätzverfahren verschieden. Falls man ein optimales Schätzverfahren findet, bestimmt dieses Verfahren, wie viele Messungen bei welchen Ausatemraten man für eine verlässliche Bestimmung des alveolären NO benötigt werden.

Die Tatsache, dass die Gewichtung vom verwendeten Schätzverfahren abhängt, wird dadurch einsichtig, dass die Streuungen der NO-Messwerte im Allgemeinen mit zunehmender Ausatemrate abnehmen (siehe Tabelle 5 aus Kap. 5.2.1). Bei der nichtlinearen Schätzung gehen die Messwerte und damit die Streuungen direkt in die Summe der Abstandsquadrate ein. Die linearisierte Schätzung hingegen basiert auf dem NO-Output, das heißt dem Produkt von NO-Konzentration und Ausatemrate. Daher werden die Streuungen der Messwerte bei hohen Ausatemraten mit vergleichsweise großen Zahlen multipliziert und daher relativ zu den niedrigeren Ausatemraten stärker gewichtet. Zugleich muss man beachten, dass bei hohen Ausatemraten die NO-Werte niedrig sind und damit eher an die Grenze des Messbereichs des Analysators kommen. An dieser Grenze wird die Messungenauigkeit relativ zum Messwert groß, zumal der Messwert nur mit einer Genauigkeit von 1 ppb angegeben wird.

Die Analyse der Messdaten mittels der verschiedenen Verfahren ergab, dass die vollständig nichtlineare Schätzung aller drei Modellparameter mit teils enormen Streuungen behaftet war (siehe Tabelle 6 und Abb. 20 - 22). Dies war der Fall, obwohl im Allgemeinen eine große, für praktische Anwendungen unrealistisch hohe Zahl von Messungen einging.

Die linearisierte Schätzung ist zwar auf die Schätzung des alveolären NO beschränkt, lieferte aber deutlich weniger streuende Werte (vgl. Tabelle 7), und dies auf der Basis von wesentlich weniger Messwerten und Ausatemraten. Verwendete man den linearisiert gewonnenen Schätzwert des alveolären NO in der Kombination mit dem nichtlinearen Ansatz, so waren auch die Streuungen der NO-Wandkonzentration und des NO-Transferfaktors bei Wiederholungsmessungen reduziert (vgl. Tabelle 8). Dennoch streuten die geschätzten Parameter teils über mehrere Größenordnungen, obwohl es sich um gesunde oder allenfalls leichtgradig an Allergien oder Asthma erkrankte Probanden handelte, bei denen solche enormen Unterschiede nicht physiologisch plausibel sind. Allein aufgrund solcher Messungen ist es schwer zu entscheiden, unter welchen Konstellationen verlässliche Werte der Parameter gewonnen werden, weil keinerlei Kontrollmöglichkeit besteht und die Modellparameter nicht mit anderweitigen Verfahren unabhängig vom Modell überprüft werden können. Vor Allem ist das alveoläre NO einer direkten Messung nicht zugänglich. Als Zwischenfazit lässt sich festhalten, dass die Schätzung des alveolären NO mittels des linearisierten Verfahrens das relativ beste Verhältnis zwischen Aufwand und Reproduzierbarkeit bzw. Glaubwürdigkeit des Ergebnisses lieferte.

Im Anschluss daran stellte sich die Frage, welche Faktoren den beobachteten Einschränkungen der Verlässlichkeit zugrunde liegen könnten. Grundsätzlich sind zwei Klassen von Fehlerquellen zu unterscheiden. Zum ersten könnte das Modell systematisch falsch sein, indem es einen wesentlichen Einflussfaktor nicht beinhaltet. Theoretisch würden verschiedene Modelle auf verschiedene vorausgesagte Messkurven führen. Jedoch sind Messungen immer fehlerbehaftet und erlauben somit nicht notwendigerweise, zwischen Modellen unterscheiden zu können, deren Kurven sich nur geringfügig unterscheiden. Daher belegt auch die Tatsache, dass die Kurven, die das hier verwendete Modell voraussagt, die Messdaten im Allgemeinen sehr gut beschreiben (vgl. Abb. 11), nicht zwingenderweise die Richtigkeit des Modells. Andererseits ist es unumgänglich, vereinfachte Modelle zu verwenden, weil nur solche Modelle eine Aussicht haben, in der Praxis eingesetzt zu werden. Vereinfachende Modelle liegen auch den klinisch üblichen und erfolgreichen Verfahren wie der Ganzkörperplethysmographie oder der Messung der CO-Diffusionskapazität zu Grunde.

Somit war es vernünftig, anzunehmen, dass das NO-Transportmodell im Wesentlichen korrekt ist. Wenn das Modell inkorrekt sein sollte, könnte man vermuten, dass die verschiedenen Schätzverfahren zu systematisch unterschiedlichen Werten der Parameter führen und somit indirekt dessen Mängel anzeigen.

Zum zweiten könnte die beobachtete Streuung der Parameter auf Unzulänglichkeiten der Schätzverfahren zurückzuführen sein. Im Gegensatz zum ersten Punkt ist diese Möglichkeit direkt überprüfbar, indem man die Gültigkeit des NO-Transportmodells voraussetzt. Auf dieser Basis kann man fiktive Messwerte erzeugen, die realen Messwerten soweit wie möglich ähneln, und nachfolgend die eingesetzten Modellparameter mittels der zu prüfenden Schätzverfahren ermitteln. Dieser Weg wurde ist optimal geeignet, um die Verfahren als solche miteinander zu vergleichen, und wurde folglich in dieser Arbeit beschrritten.

Hierbei konnten die an den Probanden ermittelten Streuungen der Messwerte bzw. daraus resultierenden Variationskoeffizienten direkt eingesetzt werden, um eine realitätsnahe Erzeugung von simulierten Messdaten zu gewährleisten. Der entscheidende Vorteil liegt darin, dass die eingesetzten, „wahren“ Werte der Modellparameter bekannt sind. Daher ist zweifelsfrei zu erkennen, in wie weit die Streuungen der Parameterschätzungen und ihre möglichen Verzerrungen (Bias) durch die statistischen Verfahren sowie die Wahl der Ausatemraten bzw. Anzahl der Messwiederholungen bestimmt sind.

Zur Erzeugung der Daten wurden konventionelle Pseudozufallsgeneratoren verwendet. Diese reichten für den vorliegenden Zweck völlig aus, da immer neue Sätze von Zufallszahlen erzeugt wurden und die Analyse sich auf relativ einfache Korrelationen beschränkte. Die für die Simulation gewählten Ausatemraten entsprachen denen, die in der Untersuchung an den Probanden verwendet wurden. Es wurde bewusst darauf verzichtet, extrem niedrige oder extrem hohe Ausatemraten zu implementieren. Diese Ausatemraten hätten die Abschätzung bestimmter Modellparameter wesentlich verbessern können, wären aber für den praktischen Einsatz irrelevant gewesen. Die Anzahl der Messwiederholungen wurde auf drei festgesetzt, um zu berücksichtigen, dass in der klinischen Praxis nach aller Voraussicht niemals mehr als drei Messungen bei einer Ausatemrate durchgeführt würden. Die verwendeten Ausatemraten und Messwiederholungen stellten das Maximum des Praktikablen dar.

Dennoch ergab die vollständig nichtlineare Schätzung der drei Modellparameter hohe Streuungen. Dies galt auch für das extrapolierte alveoläre NO, für das selbst unter diesen idealen Voraussetzungen vereinzelt negative Schätzwerte resultierten. Im Vergleich dazu war

die Anwendung des linearisierten Verfahrens mit einer geringeren Streuung behaftet, obwohl eine wesentlich geringere Zahl von Messwerten in das Verfahren einging. Die Tatsache, dass das Verhältnis der Zahl der Messungen zur Zahl der Parameter bei beiden Verfahren ähnlich war, kann diesen Unterschied nicht erklären. Offenbar weist das linearisierte Modell trotz der stärkeren Voraussetzungen eine geringere „interne“ Variabilität auf.

Diese aus den Simulationen gewonnenen Beobachtungen für das alveoläre NO gehen mit denen parallel, die sich bei den Messungen an den Probanden ergaben. Daher ist es vernünftig anzunehmen, dass die geringere Streuung der Werte des alveolären NO bei den Probanden bei Anwendung des linearisierten Modells nicht das Resultat eines möglichen Artefakts war. Vielmehr war sie eher ein Anzeichen dafür, sich den unbekanntem „wahren“ Werten des alveolären NO auch bei den Probandenmessungen besser angenähert zu haben.

Kombinierte man das alveoläre NO, wie es mittels des linearisierten Ansatzes abgeschätzt wurde, mit der nichtlinearen Schätzung der beiden anderen Modellparameter, so war bei den simulierten Daten eine geringgradige Verbesserung zu beobachten (vgl. Abb. 32-33). Dieses Ergebnis ging wiederum den Beobachtungen parallel (vgl. Tabelle 8), die sich aus den Messungen an den Probanden ergaben.

Die simulierten Daten zeigten somit im Vergleich zu den gemessenen Daten, dass ein erheblicher Anteil der Variabilität der Parameterschätzwerte bereits auf die Variabilität der NO-Messwerte zurückgeht, selbst wenn das Modell die Realität perfekt beschreiben sollte. Die Variabilität der Messwerte war in der vorliegenden Studie bereits so klein wie möglich, da auf eine langjährige Erfahrung in der Messung des exhalieren NO sowie auf standardisierte und kalibrierte Messgeräte zurückgegriffen werden konnte. Daher steht nicht zu erwarten, dass die Verlässlichkeit der Parameterschätzung durch eine weitere Erhöhung der Messgenauigkeit verbessert werden kann. Die einzige Möglichkeit wäre eine extrem hohe Zahl von Messwiederholungen (vermutlich mehr als 20) oder eine Ausweitung des Flussbereiches auf extreme Ausatemraten. Dieser Ausweg ist allerdings für die klinisch-experimentelle Forschung, geschweige denn die klinische Praxis völlig unrealistisch.

Andererseits lieferte die Anwendung des linearisierten Verfahrens bei nur zwei Ausatemraten (120, 210 ml/s), Schätzwerte, die sowohl in den empirischen als auch den simulierten Daten eine akzeptable Streuung aufwiesen. Diese Messungen sollten von der Mehrzahl der Probanden bzw. Patienten bewältigt werden. Der Preis hierfür allerdings war, dass über das alveoläre NO hinaus die beiden anderen Modellparameter nicht bestimmt werden konnten. Da

diese Parameter angesichts ihrer Streuung vermutlich keine klinisch verwertbare Zusatzinformation liefern dürften und diese auch in der Literatur noch nie beschrieben wurde, ist die Einschränkung auf das alveoläre NO vermutlich zu verschmerzen.

Die vorliegenden Daten legen nahe, dass man mit der Beschränkung auf zwei praktikable Ausatemraten bei dreifacher Messwiederholung erstens ein vernünftiges Verhältnis von Aufwand zu Ertrag erzielen kann und zweitens das linearisierte Schätzverfahren verwenden sollte. Künftige Studien zur physiologischen und klinischen Bedeutung des alveolären NO sollten daher die Problematik der Schätzung in Rechnung stellen und die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit berücksichtigen. Vor allem ist festzuhalten, dass die Anwendung des vollständigen nichtlinearen Modells kontraproduktiv ist, obwohl es prima vista dem linearisierten Modell überlegen scheint.

Da das alveoläre NO im Prinzip ein interessanter Parameter ist, wurden immer wieder Verfeinerungen oder Modifikationen des NO-Transportmodells vorgeschlagen [z.B. Paredi et al. 2014; Kobayashi et al. 2011]. Alle diese beinhalten eine mathematische Modellierung der Lunge in irgendeiner Form, auch wenn die Autoren anderes behaupten [Paredi et al. 2014], da notwendigerweise immer Modellannahmen über den NO-Transport innerhalb der Lunge zugrunde liegen [Lehtimäki et al. 2014]. Ferner liegen weitere Arbeiten vor, in denen die Bestimmung des alveolären NO zur Diagnose oder zum Monitoring von Atemwegserkrankungen, vor allem Asthma, sowie zur Beschreibung von Interventionen eingesetzt wurde [z.B. Scichilone et al. 2013; Hirano et al. 2013; Fujisawa et al. 2013; Short et al. 2012; Williamson et al. 2011; Caspersen et al. 2011]. Teilweise ergaben sich paradoxe Ergebnisse [van Muylem et al. 2010], die die komplizierten Wechselwirkungen zwischen lokaler, alveolärer NO-Produktion, NO-Aufnahme und Abgabe aus dem Blut, sowie dem exhalieren NO unterstreichen. Entsprechend wird die Anwendung von einigen Autoren derzeit noch eher kritisch gesehen [z.B. Mahut & Delclaux 2013; Kelly 2010], und auch von den Befürwortern der Messung wird anerkannt, dass zumindest eine Standardisierung der Methoden notwendig ist, um die Vergleichbarkeit von Studien zu gewährleisten [Lehtimäki et al. 2014].

Alle genannten Arbeiten bedienen sich der einen oder anderen Methode zur Schätzung des alveolären NO, ohne die zentrale Frage anzugehen, inwieweit eine solche überhaupt selbst unter idealen Bedingungen verlässlich erfolgen kann, ohne von anderen Faktoren verzerrt zu

werden. So bleibt es fraglich, ob sich das alveoläre NO unter realen Bedingungen unabhängig vom bronchialen NO sowie den Konzentrationen im Blut schätzen lässt (vgl. Abb 23, 29-31). Die in einigen Studien berichteten erhöhten Werte bei Asthmatikern könnten mit den bekanntermaßen erhöhten bronchialen Werten zusammenhängen. Vor allem gibt es nach wie vor keine unabhängige Methode, die den tatsächlichen Wert des alveolären NO bestimmen und damit als Referenz dienen kann. Die vorliegende Arbeit gibt Anlass zur Skepsis. Hierbei erscheint wenig relevant, dass ein spezielles Zweikompartimentenmodell verwendet wurde, dass im Sinne der Zahl der Parameter das einfachst-mögliche darstellen dürfte.

Komplexere Modelle, die die physiologischen Verhältnisse genauer beschreiben, enthalten in der Regel auch eine größere Zahl von Parametern, die aus den Daten geschätzt werden müssen. Die relative Überlegenheit der einfachen linearen Methode, die in der vorliegenden Arbeit gezeigt wurde, beruht offenbar zum Teil darauf, dass statt drei Parametern - wie bei dem vollständigen Modell - effektiv nur zwei Parameter aus den Daten geschätzt werden (alveoläres NO sowie maximaler NO-Output, der bislang nicht auf seine mögliche Bedeutung analysiert wurde). Diese Reduktion der Parameterzahl von drei auf zwei kompensiert offenbar die damit einhergehende weitere Vereinfachung des Modells.

In Studien, in denen seitens der Arbeitsmedizin der LMU die Bestimmung des alveolären NO unter Berücksichtigung der vorliegenden Erkenntnisse eingesetzt wurde, fanden sich keine oder keine interpretierbaren Veränderungen [u.a. Luszpinski 2012; DGUV 2014]. Es ist daher immer noch eine offene Frage, inwieweit die Messung des alveolären NO in Zukunft - bei einem vernünftigen Verhältnis zwischen Aufwand und Ertrag - einen signifikanten Beitrag zur Diagnosestellung, zum klinischen Monitoring oder zu klinischen Studien liefern kann.

7 Zusammenfassung

Die nichtinvasive Messung von Markern der Atemwegsentzündung hat in den letzten 20 Jahren stark an Bedeutung gewonnen. Zur Erfassung der bronchialen, im wesentlichen mit eosinophilen Granulozyten assoziierten Entzündungen ist die Messung des exhalieren Stickstoffmonoxids bei einer Ausatemrate von 50 ml/s (FeNO) bereits in der klinischen Praxis etabliert. Es fehlen jedoch nichtinvasive, einfach messbare Marker einer alveolären bzw. peripheren Entzündung. Hierfür kommen unter anderem das alveoläre Stickstoffmonoxid (NO_{alv}) sowie das exhalierete Kohlenstoffmonoxid (CO) in Frage.

Beide Messgrößen sind jedoch problematisch: CO vor Allem wegen der unkontrollierten inhalativen Belastung durch die Umwelt, alveoläres NO vor Allem wegen der Tatsache, dass in der Ausatmung die bronchiale NO-Produktion dominiert und das alveoläre NO nur mittels mathematischer Modelle abgeleitet werden kann.

Ziel dieser Arbeit war es, zum einen zu prüfen, ob bei Variation des Carboxyhämoglobinspiegels im Blut (COHb) indirekt eine endogene, alveoläre CO-Produktion sichtbar wird. Zum anderen sollte eruiert werden, wie verlässlich das alveoläre NO geschätzt werden kann. Dies beinhaltete die Frage, wie viele Messungen bei welchen Ausatemraten für eine plausible Schätzung erforderlich sind und welches der verschiedenen Schätzverfahren das beste Verhältnis von Aufwand zu Ertrag bringt. Zu diesem Zweck erfolgten Ausatemmessungen an Probanden; ferner wurden die statistischen Eigenschaften der Schätzverfahren mittels simulierter Daten untersucht.

Die Messung des exhalieren CO erfolgte an 18 Probanden, die entweder gesund waren oder eine allenfalls leichtgradige Atemwegserkrankung aufwiesen. Das exhalierete CO sowie das Carboxyhämoglobin im Blut (COHb) wurden einmal als Ausgangswert und zum anderen bei erhöhtem COHb (nach Messung der CO-Diffusionskapazität der Lunge) bestimmt. Die Messung des exhalieren CO erfolgte mit Hilfe eines CO-spezifischen Infrarot-Analysators.

Die Extrapolation der Geraden, die sich durch Verbindung der Datenpunkte ergab, führte zu dem Ergebnis, dass sich in 16 von 18 Fällen ein COHb-Wert größer Null bei einer Konzentration des exhalieren CO von Null ergab. Dies widersprach der Hypothese, anhand eines CO-Wertes von grösser Null bei einem extrapolierten COHb-Wert von Null eine mögliche alveoläre CO-Produktion abzuleiten zu können. Im Gegenteil fanden sich bei

Extrapolation positive COHb-Werte bei einem ausgeatmeten CO von Null. Aus diesem Grunde erscheint es aussichtslos, mit Hilfe des beschriebenen Ansatzes für eine externe CO-Belastung bzw. unterschiedliche COHb-Werte korrigieren zu wollen, um eine mögliche interne, alveoläre CO-Produktion abzuschätzen.

Die Analyse des exhalieren NO erfolgte an 15 Probanden. Hierbei wurde ein breites Spektrum an Ausatemraten (3, 5, 15, 22, 35, 52, 120, 210, 400 ml/s) in bis zu zehnfacher Messwiederholung eingesetzt. Die Messungen erfolgten durch Ausatmung gegen verschiedene Widerstände bei einem Ausatemdruck von 12 bzw. 20 mbar. Durch den Gegendruck wurde das Gaumensegel geschlossen und eine Kontamination durch nasales NO vermieden. Die NO-Werte wurden mittels eines hochempfindlichen Chemilumineszenz-Analysators bestimmt.

Die erhaltenen Daten wurden auf der Basis eines etablierten NO-Zwei-Kompartimentenmodells der Lunge mittels dreier statistischer Ansätze analysiert. Erstens anhand einer nichtlinearen, iterativen Abschätzung, die die Modellparameter bronchiale NO-Wandkonzentration, bronchialer NO-Transferfaktor und alveoläre NO-Konzentration unmittelbar lieferte. Zweitens mittels eines vereinfachenden, linearisierten Ansatzes, der auf dem NO-Output (NO-Menge pro Zeit) basierte, allerdings nur die alveoläre NO-Konzentration zu schätzen erlaubte. Und drittens eine Kombination beider Ansätze, in der das alveoläre NO mittels des zweiten und sodann die beiden anderen Modellparameter mittels des ersten Ansatzes geschätzt wurden.

Die Analyse der Daten ergab, dass selbst bei Verwendung von bis zu 15 Messungen bei mehreren Ausatemraten die Streuung der Schätzwerte des alveolären NO mit dem ersten Verfahren erheblich war. Teils resultierten sogar physikalisch unsinnige Werte (kleiner Null). Die große Streuung galt auch für die beiden anderen Modellparameter. Im Vergleich dazu ergab das linearisierte Verfahren, bei einer geringeren Zahl von sechs Messungen und zwei Ausatemraten, Schätzwerte des alveolären NO mit deutlich geringerer Streuung. Verwendete man diese Schätzwerte in dem kombinierten Verfahren, so ergaben sich für die beiden anderen Parameter ebenfalls geringere Streuungen. Ungeachtet dessen schien die Verlässlichkeit aller Schätzwerte gering. Dies war zu erkennen, wenn man wiederholte Schätzungen anhand von jeweils drei Messwiederholungen pro Ausatemrate durchführte.

Im zweiten Schritt wurden die Streuungen bzw. die daraus resultierenden Variationskoeffizienten der NO-Messdaten verwendet, um mittels eines Zufallszahlengenerators auf der

Basis des NO-Transfermodells Messwerte zu simulieren. Anhand dieser simulierten Werte wurde geprüft, welcher Anteil der Variabilität alleine auf das Konto des Schätzverfahrens geht und welche Genauigkeit mit den jeweiligen Schätzverfahren und Ausatemraten maximal erreichbar ist.

Die Ergebnisse waren im Prinzip denen der empirischen Daten analog. Selbst unter den idealen Bedingungen ergab der vollständig nichtlineare Ansatz bisweilen negative Werte für das alveoläre NO. Die linearisierte Analyse war wesentlich stabiler, vor Allem wenn eine sehr hohe Ausatemrate von 400 ml/s einbezogen wurde; allerdings ist diese Ausatemrate für den klinischen Einsatz nicht realistisch. Ferner konnte durch die Kombination des linearisierten und des nichtlinearen Ansatzes auch die Schätzgenauigkeit der beiden anderen Modellparameter (bronchiale NO-Wandkonzentration, bronchialer NO-Transferfaktor) verbessert werden. Dennoch verblieb eine große Variabilität. Diese ist somit rein statistisch durch die Schätzverfahren bedingt und vermutlich nicht weiter reduzierbar, falls man die Zahl der Messungen und Ausatemraten auf ein realistisches Maß begrenzt. Darüber hinaus deuteten die systematischen Abweichungen, die bei der Anwendung der Schätzverfahren auf die Probanden-Daten zu beobachten waren, auf Mängel des NO-Transportmodells hin.

Die Analyse der Messdaten an Probanden und die Ergebnisse der Simulationen zeigten daher übereinstimmend, dass das linearisierte Verfahren der Schätzung des alveolären NO bei den Ausatemraten 120 und 210 ml/s das beste Verhältnis von Aufwand, Realisierbarkeit und Verlässlichkeit ergab. Dennoch unterstreichen die Ergebnisse, dass bei der Ermittlung des alveolären NO mit einer großen Streuung zu rechnen ist. Diese Befunde sollten in künftigen klinischen und klinisch-experimentellen Studien, in denen das alveoläre NO gemessen wird, in Rechnung gestellt werden.

8 Literatur

- Babusikova E, Jesenak M, Durdik P, Dobrota D, Banovcin P (2008). Exhaled carbon monoxide as a new marker of respiratory diseases in children. *Physiol. Pharmacol.* 59 Suppl. 6:9-17.
- Caspersen C, Stensrud T, Thorsen E (2011). Bronchial nitric oxide flux and alveolar nitric oxide concentration after exposure to hyperoxia. *Aviat Space Environ Med.* 82(10):946-950.
- Chérot-Kornobis N, Hulo S, de Broucker V, Hassoun S, Lepage N, Edmé JL, Sobaszek A (2012). Induced sputum, exhaled NO, and breath condensate in occupational medicine. *J Occup. Environ. Med.* 54(8):922-927.
- Choi AM, Alam J. (1996). Heme oxygenase-1: Function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* (1):9-19.
- de Gouw HW, Grünberg K, Schot R, Kroes AC, Dick EC, Sterk PJ (1998). Relationship between exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness following experimental rhinovirus infection in asthmatic subjects. *Eur Respir J.* 11(1):126-132.
- DGUV (2014). Untersuchung möglicher gesundheitlicher Gefährdungen durch Drucker- und Kopierer-Emissionen (DGUV, Kennziffer FP 294). Abschlussbericht der Projektpartner. <http://www.dguv.de/Projektdatenbank/0294A/3228283v1.pdf>.
- Dressel H, de la Motte D, Reichert J, Ochmann U, Petru R, Angerer P, Holz O, Nowak D, Jörres RA (2008). Exhaled nitric oxide: independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height. *Respir. Med.* 102(7):962-969.
- Dressel H, Gross C, de la Motte D, Sültz J, Jörres RA, Nowak D (2007). Educational intervention decreases exhaled nitric oxide in farmers with occupational asthma. *Eur. Respir. J.* 30(3):545-548.
- Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, Olin AC, Plummer AL, Taylor DR (2011). American Thoracic Society Committee on Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184(5):602-615.
- Fabricius P¹, Scharling H, Løkke A, Vestbo J, Lange P (2007). Exhaled CO, a predictor of lung function? *Respir Med.* 101(3):581-586.

- Fredenburgh LE, Perrella MA, Mitsialis SA (2007). The role of heme oxygenase-1 in pulmonary disease. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 36(2):158-165.
- Fujisawa T, Yasui H, Akamatsu T, Hashimoto D, Enomoto N, Inui N, Nakamura Y, Maekawa M, Suda T, Chida K (2013). Alveolar nitric oxide concentration reflects peripheral airway obstruction in stable asthma. *Respirology* 18(3):522-527.
- Gorham KA, Sulbaek Andersen MP, Meinardi S, Delfino RJ, Staimer N, Tjoa T, Rowland FS, Blake DR (2009). Ethane and n-pentane in exhaled breath are biomarkers of exposure not effect. *Biomarkers*. 14(1):17-25.
- Harju T¹, Soini Y, Pääkkö R, Kinnula VL (2002). Up-regulation of heme oxygenase-I in alveolar macrophages of newly diagnosed asthmatics. *Respir Med.* 96(6):418-423.
- Hirano T, Matsunaga K, Sugiura H, Minakata Y, Koarai A, Akamatsu K, Ichikawa T, Furukawa K, Ichinose M (2013). Relationship between alveolar nitric oxide concentration in exhaled air and small airway function in COPD. *J. Breath Res.* 7(4):046002.
- Holz & Jörres (2004). [Non-invasive methods for monitoring airway inflammation: a comparison of expenditures, gain and clinical value]. *Pneumologie* 58(7):510-515.
- Horváth I, Donnelly LE, Kiss A, Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ (1998). Raised levels of exhaled carbon monoxide are associated with an increased expression of heme oxygenase-1 in airway macrophages in asthma: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 53(8):668-672.
- Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Tomaki M, Ogawa H, Komaki Y, Barnes PJ, Shirato K, Hattori T (2009). Xanthine oxidase inhibition reduces reactive nitrogen species production in COPD airways. *Eur. Respir. J.* 22(3):457-461. Erratum in: *Eur. Respir. J.* 23(3):496.
- Jiang J, Malavia N, Suresh V, George SC (2009). Nitric oxide gas phase release in human small airway epithelial cells. *Respir Res.* 19;10:3.
- Jörres (2000). Modelling the production of nitric oxide within the human airways. *Eur. Respir. J.* 16(3):555-560.
- Jones AY, Lam PK (2006). End-expiratory carbon monoxide levels in healthy subjects living in a densely populated urban environment. *Sci. Total Environ.* 354(2-3):150-156.
- Kelly HW (2010). Alveolar nitric oxide concentration, small airways inflammation, and targeted asthma therapy: are we there yet? *J. Allergy Clin. Immunol.* 126(4):736-737.

- Kobayashi D, Tochino Y, Kanazawa H, Ichimaru Y, Kyoh S, Asai K, Hirata K (2011). Comparison of alveolar nitric oxide concentrations using two different methods for assessing small airways obstruction in asthma. *Respirology* 16(5):862-868.
- Lethimäki L, Cristescu SM, van Muylem A, Högman M, Dinh-Xuan AT (2014). How to assess alveolar nitric oxide. A quest of the grail? *Chest* 146(6):e234-e235.
- Luszpinski MA (2012). Biologische Effekte gegenüber Nanopartikeln bei Benutzung handelsüblicher Drucker. Dissertation, LMU 2012.
- Mahut B¹, Delclaux C (2013). Usefulness of alveolar nitric oxide measurement in asthma: still debated. Comment on Alveolar nitric oxide and asthma control in mild untreated asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 132(5):1255-1256.
- Montuschi P, Kharitonov SA, Barnes PJ (2001). Exhaled carbon monoxide and nitric oxide in COPD. *Chest* 120(2):496-501.
- Ohara Y, Ohru T, Morikawa T, He M, Yasuda H, Yamaya M, Sasaki H (2006). Exhaled carbon monoxide levels in school-age children with episodic asthma. *Pediatr. Pulmonol.* 41(5):470-474.
- Olopade CO, Christon JA, Zakkar M, Hua C, Swedler WI, Scheff PA, Rubinstein I (1997). Exhaled pentane and nitric oxide levels in patients with obstructive sleep apnea. *Chest* 111(6):1500-1504.
- Paraskakis E, Brindicci C, Fleming L, Krol R, Kharitonov SA, Wilson NM, Barnes PJ, Bush A (2006). Measurement of bronchial and alveolar nitric oxide production in normal children and children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 174(3):260-267.
- Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, Ward S, Cramer D, Barnes PJ (2000). Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162(2 Pt 1):369-373.
- Paredi P, Kharitonov SA, Meah S, Barnes PJ, Usmani OS (2014). A novel approach to partition central and peripheral airway nitric oxide. *Chest* 145(1):113-119.
- Pearson P, Lewis S, Britton J, Fogarty A (2005). Exhaled carbon monoxide levels in atopic asthma: a longitudinal study. *Respir. Med.* 99(10):1292-1296.
- Ramirez M¹, García-Río F, Viñas A, Prados C, Pino JM, Villamor J (2004). Relationship between exhaled carbon monoxide and airway hyperresponsiveness in asthmatic patients. *J. Asthma* 41(1):109-116.
- Ricciardolo FLM (2014). Revisiting the role of exhaled nitric oxide in asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 20:53-59.

- Robbins RA, Millatmal T, Lassi K, Rennard S, Daughton D (1997). Smoking cessation is associated with an increase in exhaled nitric oxide. *Chest* 112(2):313-318.
- Rochette L, Cottin Y, Zeller M, Vergely C (2013). Carbon monoxide: mechanisms of action and potential clinical implications.. *Pharmacol. Ther.* 37(2):133-152.
- Roy K, Borrill ZL, Starkey C, Hazel AL, Morris J, Vestbo J, Singh D (2007). Use of different exhaled nitric oxide multiple flow rate models in COPD. *Eur. Respir. J.* 29(4):651-659.
- Schneider A, Faderl B, Schwarzbach J, Welker L, Karsch-Völk M, Jörres RA (2014). Prognostic value of bronchial provocation and FENO measurement for asthma diagnosis --results of a delayed type of diagnostic study. *Respir. Med.* 108(1):34-40.
- Schneider A, Schwarzbach J, Faderl B, Welker L, Karsch-Völk M, Jörres RA (2013). FENO measurement and sputum analysis for diagnosing asthma in clinical practice. *Respir. Med.* 107(2):209-216.
- Schneider A, Tilemann L, Schermer T, Gindner L, Laux G, Szecsenyi J, Meyer FJ (2009). Diagnosing asthma in general practice with portable exhaled nitric oxide measurement--results of a prospective diagnostic study: FENO ≤ 16 ppb better than FENO ≤ 12 ppb to rule out mild and moderate to severe asthma [added]. *Respir. Res.* 3:10:15.
- Scichilone N, Battaglia S, Taormina S, Modica V, Pozzecco E, Bellia V (2013). Alveolar nitric oxide and asthma control in mild untreated asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 131(6):1513-1517. Erratum in: *J. Allergy Clin. Immunol.* 132(4):1015.
- Short PM, Williamson PA, Lipworth BJ (2012). Effects of extra-fine inhaled and oral corticosteroids on alveolar nitric oxide in COPD. *Lung* 190(4):395-401.
- Togores B, Bosch M, Agusti AG (2000). The measurement of exhaled carbon monoxide is influenced by airflow obstruction. *Eur. Respir. J.* 15(1):177-180.
- Tsoukias NM, George SC (1998). A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics. *J. Appl. Physiol.* 85(2):653-666.
- Van Muylem A, Kerckx Y, Michils A (2010). Acinar effect of inhaled steroids evidenced by exhaled nitric oxide. *J. Allergy Clin. Immunol.* 126(4):730-735.
- van Veen IH¹, Sterk PJ, Schot R, Gauw SA, Rabe KF, Bel EH (2006). Alveolar nitric oxide versus measures of peripheral airway dysfunction in severe asthma. *Eur. Respir. J.* 27(5):951-956.
- Verbanck S, Kerckx Y, Schuermans D, de Bisschop C, Guénard H, Naeije R, Vincken W, Van Muylem A (2009). The effect of posture-induced changes in peripheral nitric oxide uptake on exhaled nitric oxide. *J. Appl. Physiol.* 106(5):1494-1498.

- Vos R, Cordemans C, Vanaudenaerde BM, De Vleeschauwer SI, Schoonis A, Van Raemdonck DE, Dupont LJ, Verleden GM (2009). Exhaled carbon monoxide as a noninvasive marker of airway neutrophilia after lung transplantation. *Transplantation* 87(10):1579-1583.
- Wewel AR, Crusius JA, Gatzemeier U, Heckmayr M, Becher G, Magnussen H, Jörres RA, Holz O (2006). Time course of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide during chemotherapy. *Eur. Respir. J.* 27(5):1033-1039.
- Williamson PA, Clearie K, Menzies D, Vaidyanathan S, Lipworth BJ (2011). Assessment of small-airways disease using alveolar nitric oxide and impulse oscillometry in asthma and COPD. *Lung* 189(2):121-129.
- Zetterquist W, Marteus H, Johannesson M, Nordval SL, Ihre E, Lundberg JO, Alving K (2002). Exhaled carbon monoxide is not elevated in patients with asthma or cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 20(1):92-99.

9 Anhang

9.1 Abkürzungsverzeichnis

CO	Kohlenstoffmonoxid
COHb	Carboxyhämoglobin
eCO	expiratorisches Kohlenstoffmonoxid
FeNO	exhalierendes Stickstoffmonoxid bei einer Ausatemgeschwindigkeit von 50 ml/s
k	Bronchialer Transferfaktor
NO	Stickstoffmonoxid
NO _{alv}	alveoläre Stickstoffmonoxidkonzentration in ppb (parts per billion)
NO _{bronch}	bronchiale NO-Wandkonzentration
SD	Standardabweichung

9.2 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1:	Beteiligung von CO an der Antwort auf oxidativen Stress [Babusikowa et al. 2008].....	10
Abbildung 2:	Flussabhängigkeit des exhalieren CO aber nicht NO [Zetterquist et al. 2002].....	11
Abbildung 3:	Exhalieretes Kohlenmonoxid bei Rauchern und Patienten mit COPD [Montuschi et al. 2001].....	12
Abbildung 4:	Beziehung zwischen Zigarettenkonsum und exhalieretem CO [Fabricius et al. 2007].....	13
Abbildung 5:	Exhalieretes CO bei Schulkindern mit episodischem Asthma [Ohara et al. 2006].....	14
Abbildung 6:	Keine Unterschiede im exhalieren CO zwischen Erkrankungen [Zetterquist et al. 2002].....	15
Abbildung 7:	Erhöhtes CO assoziiert mit BAL-Neutrophilie nach Lungentransplantation [Vos et al. 2009].....	16
Abbildung 8:	Akuteffekt einer Zigarette auf das exhalieretes CO und NO [Zetterquist et al. 2002].....	17
Abbildung 9:	Endexpiratorischer CO-Gehalt in der Ausatemluft gesunder Probanden aus dichtbevölkerten, städtischen Gebieten [Jones & Lam 2006].....	18
Abbildung 10:	Die Werte des exhalieren CO sind beeinflusst durch Atemwegsobstruktion [Togores et al. 2000].....	19
Abbildung 11:	Beziehung zwischen Ausatemrate und Konzentration des exhalieren NO...	20
Abbildung 12:	Exhalieretes NO (FeNO) in der Ausatemluft bei Patienten mit Asthma; Gruppe a) Schulung und Therapie b) Kontrollgruppe. Follow-up Messung nach 4 – 6 Wochen [Dressel et al. 2007].....	22
Abbildung 13:	Korrelation des alveolären NO mit Indikatoren peripherer Atemwegsdysfunktion bei Patienten mit Asthma [van Veen et al. 2006].....	23
Abbildung 14:	Bronchiales und alveoläres NO bei Kindern mit und ohne Asthma [Paraskakis et al. 2006].....	24

Abbildung 15: Einflussfaktoren auf FeNO [Dressel et al. 2008]. Zu erkennen ist, dass die Unterschiede im Wesentlichen additiv sind, d.h. bei der gewählten logarithmischen Skala konstanten Differenzen entsprechen.....	25
Abbildung 16: Effekt der Körperposition auf das bronchiale (Jaw(NO)) und alveoläre NO (FANO) bei zwei verschiedenen Auswertemethoden [Verbanck et al. 2009].....	27
Abbildung 17: Grundlagen der linearisierten Analyse des alveolären NO.....	31
Abbildung 18: Strategie und sich ergebende Fragen bei der Analyse des alveolären NO.....	33
Abbildung 19: Exhalierendes CO versus COHb bei einzelnen Probanden und wechselnden COHb-Werten. Eingezeichnet sind die verbindenden Geraden bei den Probanden mit zwei Messpunkten, sowie die Regressionsgeraden mit drei Messpunkten.....	48
Abbildung 20: Schätzwerte des alveolären NO (NOalv) mit dem vollständigen nichtlinearen Modell (Abszisse, -T) versus linearisierte Abschätzung bzw. im Falle des NOalv äquivalente kombinierte Abschätzung (Ordinate, +T). Einheiten in ppb	59
Abbildung 21: Schätzwerte der bronchialen NO-Wandkonzentration (NObronch) mit dem vollständigen nichtlinearen Modell (Abszisse, -T) versus linearisierte Abschätzung bzw. kombinierte Abschätzung (Ordinate, +T). Einheiten in ppb.....	60
Abbildung 22: Schätzwerte des NO-Transferfaktors (k) mit dem vollständigen nichtlinearen Modell (Abszisse, -T) versus linearisierte Abschätzung bzw. kombinierte Abschätzung (Ordinate, +T). Einheiten in ml/s.....	61
Abbildung 23: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alveolären NO-Werte (NOalv) anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit fünf Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Die rechte Spalte gibt die verwendeten Parameterwerte des Modells an, und zwar in der Reihenfolge: bronchiale Wandkonzentration, alveoläres NO, bronchialer Transferfaktor. Einheiten in ppb.....	64
Abbildung 24: Streuung der in den Simulationen erhaltenen bronchialen NO-Wandkonzentration anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit fünf Ausatemraten bei dreifacher Messwertwiederholung. Symbole wie in Abb. 23. Einheiten in ppb.....	65
Abbildung 25: Streuung des in den Simulationen erhaltenen NO-Transferfaktor anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit fünf Ausatemraten bei dreifacher Messwertwiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ml/s.....	66

Abbildung 26: Streuung des in den Simulationen erhaltenen alveolären NO anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit Hilfe von sechs Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abb. 23. Einheiten in ppb.....	67
Abbildung 27: Streuung der in den Simulationen erhaltenen bronchialen NO-Wandkonzentration anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit Hilfe von sechs Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abb. 23. Einheiten in ppb.....	68
Abbildung 28: Streuung des in den Simulationen erhaltenen NO-Diffusionsfaktors anhand des vollständigen nichtlinearen Schätzverfahrens (-T) mit Hilfe von sechs Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ml/s.....	69
Abbildung 29: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alveolären NO-Konzentration anhand des linearisierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (120 und 210 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb.....	71
Abbildung 30: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alvolären NO-Konzentration anhand des linearisierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (210 und 400 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb.....	72
Abbildung 31: Streuung der in den Simulationen erhaltenen alveolären NO-Konzentration anhand des linearisierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von drei (120, 210 und 400 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb.....	73
Abbildung 32: Streuung der in den Simulationen erhaltenen bronchialen NO-Wandkonzentration anhand des kombinierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (120 und 210 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung, wenn die alveoläre NO-Konzentration mit dem linearisierten Verfahren gewonnen wurde. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ppb.....	75
Abbildung 33: Die Streuung des in den Simulationen erhaltenen NO-Transferfaktors anhand des kombinierten Schätzverfahrens (+T) mit Hilfe von zwei (120 und 210 ml/s) Ausatemraten bei dreifacher Wiederholung, wenn die alveoläre NO-Konzentration mit dem linearisierten Verfahren gewonnen wurde. Symbole wie in Abbildung 23. Einheiten in ml/s.....	76

- Abbildung 34: Korrelation der Schätzwerte des alveolären NO, die in den Simulationen mit Flussraten bis 210 ml/s erhalten wurden. Horizontal: vollständige nichtlineare Abschätzung (-T), vertikal: linearisiertes Verfahren für alveoläres NO bzw. kombiniertes Verfahren (+T). Symbole wie in Abbildung 23. Die Linie repräsentiert die Identitätslinie. Einheiten ppb.....77
- Abbildung 35: Korrelation der Schätzwerte der bronchialen Wandkonzentration, die in den Simulationen mit Flussraten bis 210 ml/s erhalten wurden. Horizontal: vollständige nichtlineare Abschätzung (-T), vertikal: linearisiertes Verfahren für alveoläres NO bzw. kombiniertes Verfahren (+T). Symbole wie in Abbildung 23. Die Linie repräsentiert die Identitätslinie. Einheiten in ppb...78
- Abbildung 36: Korrelation der Schätzwerte des bronchialen Transferfaktors (k) für NO, die in den Simulationen mit Flussraten bis 210 ml/s erhalten wurden. Horizontal: vollständige nichtlineare Abschätzung (-T), vertikal: linearisiertes Verfahren für alveoläres NO bzw. kombiniertes Verfahren (+T). Symbole wie in Abbildung 23. Die Linie repräsentiert die Identitätslinie. Einheiten in ml/s.....79
- Abbildung 37: Schätzwerte der bronchialen NO-Wandkonzentration (NO bronch) mittels vollständigem nichtlinearem Ansatz (Ordinate, -T; 5 Ausatemraten, je 3 Messungen) versus Werte von FeNO (Abszisse; Ausatemrate 52 ml/s, Mittelwert aus je 3 Messungen). Die FeNO-Werte entsprechen den jeweils bei der Modellschätzung verwendeten Werten. Einheiten in ppb.....81
- Abbildung 38: Schätzwerte der bronchialen NO-Wandkonzentration (NO bronch) mittels kombiniertem Ansatz (Ordinate, +T; 5 Ausatemraten, je 3 Messungen) versus Werte von FeNO (Abszisse; Ausatemrate 52 ml/s, Mittelwert aus je 3 Messungen). Die FeNO-Werte entsprechen den jeweils bei der Modellschätzung verwendeten Werten. Einheiten in ppb.....82
- Abbildung 39: Schätzwerte der bronchialen NO-Transferfaktors k mittels vollständigem nichtlinearem Ansatz (Ordinate, -T; 5 Ausatemraten, je 3 Messungen) versus Werte von FeNO (Abszisse; Ausatemrate 52 ml/s, Mittelwert aus je 3 Messungen). Die FeNO-Werte entsprechen den jeweils bei der Modellschätzung verwendeten Werten. Einheiten in ml/s für NO-Transferfaktor und ppb für FeNO.....83
- Abbildung 40: Schätzwerte der bronchialen NO-Transferfaktors k mittels kombiniertem Ansatz (Ordinate, +T; 5 Ausatemraten, je 3 Messungen) versus Werte von FeNO (Abszisse; Ausatemrate 52 ml/s, Mittelwert aus je 3 Messungen). Die FeNO-Werte entsprechen den jeweils bei der Modellschätzung verwendeten Werten. Einheiten in ml/s für NO-Transferfaktor und ppb für FeNO.....84

Formel 1:	Beziehung zwischen ausgeatmetem NO, Ausatemrate und Modellparametern.....	41
Formel 2:	Näherungsweise Beziehung zwischen NO-Output und Ausatemrate nach Linearisierung. Symbole wie in Formel 1.....	42

9.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Exhalieretes CO als Funktion von COHb bei einzelnen Probanden und wechselnden COHb-Werten. Angegeben sind Steigung und Achsenabschnitt einer linearen Regression. MW=Mittelwert aus beiden Wiederholungsmessungen, Intercept=Achsenabschnitt der Regression.....	49
Tabelle 2:	Charakteristika der Probanden, die an der Messung des alveolären NO teilnahmen.....	50
Tabelle 3:	Mittelwerte und Standardabweichungen des ausgeatmeten NO in ppb bei 12 mbar Ausatemdruck. Die bei den Ausatemraten angegebenen Buchstaben sind Codes für die verwendeten Widerstände.....	51
Tabelle 4:	Mittelwerte und Standardabweichungen des ausgeatmeten NO in ppb bei 20 mbar Ausatemdruck. Die bei den Ausatemraten angegebenen Buchstaben sind Codes für die verwendeten Widerstände.....	51
Tabelle 5:	Individuelle Variationskoeffizienten (in Prozent) für die einzelnen Widerstände bzw. Ausatemraten für die einzelnen Probanden sowie arithmetische (vorletzte Zeile) und geometrische (letzte Zeile) Mittel für jeden der Ausatemwiderstände. Hierbei wurden sowohl die mit 12 mbar als auch die mit 20 mbar gemessenen Werte zusammengefasst. Die bei den Ausatemraten angegebenen Buchstaben sind Codes für die verwendeten Widerstände.....	52
Tabelle 6:	Parameterschätzwerte anhand des nichtlinearen Schätzverfahrens in dreifacher Wiederholung für jeden Probanden. Jede Wiederholung basiert auf 5 Ausatemraten und drei Messwerten pro Ausatemrate. Zusätzlich sind zum Vergleich drei zufällig ausgewählte Werte von FeNO für jeden Probanden gezeigt. Einheiten in ppb bzw. ml/s für den NO-Transferfaktor (für Dimensionen vgl. Formel 1).....	54

Tabelle 7:	Parameterschätzwerte für NOalv des linearisierten Schätzverfahrens für die einzelnen Probanden in jeweils dreifacher Wiederholung. Jeder Schätzwert basiert auf zwei Ausatemraten und drei zufällig ausgewählten Messwerten für jede Ausatemrate. Der Wert von „NO-Output maximal“ (Achsenabschnitt der Regression) wurde nicht weiter in den Analysen verwendet. Einheiten in ppb (NOalv) bzw. ppb * ml/s für NO-Output.....56
Tabelle 8:	Kombinierte Parameterschätzwerte für jeden Probanden anhand des nichtlinearen Schätzverfahrens in dreifacher Wiederholung basierend auf 5 Ausatemraten. Je Ausatemrate wurden drei zufällig ausgewählte Messwerte verwendet. Zusätzlich sind drei zufällig ausgewählte Werte von FeNO gezeigt. Einheiten in ppb bzw. für NO-Transferfaktor in ml/s.....58
Tabelle 9:	Kennzeichen der acht für die Simulationen verwendeten Modelle. Für jedes Modell wurde entweder ein hoher oder niedriger Wert des alveolären NO (NOalv) oder der bronchialen NO-Wandkonzentration (NObronch) oder des NO-Transferfaktors (k). Einheiten in ppb bzw. ml/s für NO-Transferfaktor...62