

Aus der Klinik für Anaesthesiologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard Zwißler

**Die Auswirkungen von Hypoxie und simulierter Schwerelosigkeit  
auf das purinerge, hämatologische und psychoneuroendokrine  
System**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Raphael Zeller  
aus  
München  
2019

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Alexander Choukèr

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dennis Nowak

Prof. Dr. Markus Sperandio

Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: Dr. med. Claudia Strewe

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

Tag der mündlichen Prüfung: 18.07.2019

Meiner Großmutter  
Meinen Eltern

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>6</b>
<b>1. Einleitung .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1. Raumfahrt - Extreme Umweltbedingungen.....</b>	<b>7</b>
<b>1.2. Adenosin-Metabolismus.....</b>	<b>10</b>
<b>1.3. Anpassungsmechanismen an Hypoxie.....</b>	<b>12</b>
<b>1.4. (Simulierte) Schwerelosigkeit begünstigt chronische Gewebehypoxie .....</b>	<b>14</b>
<b>1.5. Fragestellung.....</b>	<b>17</b>
<b>2. Material und Methoden .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1. Studiendesign.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2. Studienpopulation .....</b>	<b>21</b>
2.2.1. Einschlusskriterien .....	21
2.2.2. Ausschlusskriterien .....	22
<b>2.3. Studieneinrichtung.....</b>	<b>22</b>
2.3.1. Erzeugung von hypoxischen Bedingungen .....	23
2.3.2. Simulation von Schwerelosigkeit (Bettruhe).....	26
<b>2.4. Vorgehensweise zur Probengewinnung .....</b>	<b>28</b>
2.4.1. Adenosin/Inosin .....	29
2.4.2. Hämatologisches System .....	30
2.4.2.1. Erythropoetin .....	30
2.4.2.2. (Differential-)Blutbild .....	30
2.4.2.3. Hämolyse-Evaluation.....	31
2.4.3. Psychoneuroendokrines System.....	32
2.4.3.1. Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB).....	32
2.4.3.2. State-Trait-Angstinventar (STAI) .....	32
2.4.3.3. Posttraumatische Stress Skala-10 (PTSS-10).....	33
2.4.3.4. Cortisol.....	33
2.4.3.5. Katecholamine (Adrenalin, Noradrenalin).....	34
<b>2.5. Statistische Analyse .....</b>	<b>35</b>
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1. Probandencharakteristik .....</b>	<b>36</b>
<b>3.2. Purinerges System.....</b>	<b>37</b>
3.2.1. Adenosin .....	37
3.2.2. Inosin.....	38
<b>3.3. Hämatologisches System.....</b>	<b>39</b>
3.3.1. Erythropoetin .....	39
3.3.2. (Differential-)Blutbild .....	40

3.3.3. Hämolyse-Evaluation .....	44
<b>3.4. Psychoneuroendokrines System.....</b>	<b>45</b>
3.4.1. Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB).....	45
3.4.2. State-Trait-Angstinventar (STAI) .....	46
3.4.3. Posttraumatische Stress Skala-10 (PTSS-10) .....	46
3.4.4. Cortisol .....	48
3.4.5. Katecholamine.....	48
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>50</b>
4.1. Wechselwirkungen des purinergeren und hämatologischen System.....	50
4.2. Psychoneuroendokrines System.....	53
4.3. Limitationen der Studie .....	56
<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>57</b>
<b>6. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>58</b>
<b>7. Anhang .....</b>	<b>64</b>
7.1. Blutbild .....	64
<b>8. Danksagung.....</b>	<b>65</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADA	Adenosindesaminase
AMP	Adenosinmonophosphat
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BDC	Baseline-Daten (englisch: baseline data collection)
BMI	Body-Mass-Index
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CMS	Kohlenstoffmolekularsieb (englisch: carbon molecular sieve)
EPO	Erythropoetin
ESA	Europäische Weltraumorganisation (englisch: European Space Agency)
FiO <sub>2</sub>	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration
HAMB	Hypoxie ohne Bettruhe (englisch: hypoxic ambulatory)
HBR	Hypoxische Bettruhe (englisch: hypoxic bed rest)
HDTBR	Bettruhe in Kopftieflage (englisch: head-down tilt bed rest)
HIF	Hypoxie-induzierter Faktor
IL	Interleukin
ISS	Internationale Raumstation (engl. International Space Station)
KAB	Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung
NASA	Amerikanische Weltraumbehörde (englisch: National Aeronautics and Space Administration)
NBR	Normoxische Bettruhe (englisch: normoxic bed rest)
P <sub>atm</sub>	Atmosphärischer Druck
P <sub>i</sub> O <sub>2</sub>	Inspiratorischer Sauerstoffpartialdruck
PV	Plasmavolumen
PlanHab	Planetary Habitat Simulation
PTSS	Posttraumatische Stress Skala
R	Erholungsphase (englisch: recovery)
SEM	Standardfehler (englisch: standard error of the mean)
SD	Standardabweichung (englisch: standard deviation)
STAI	State-Trait-Angstinventar
Tab.	Tabelle
VPSA	Vakuum-Druck-Schwing-Adsorption-System (englisch: vacuum pressure swing adsorption)
ZP	Zeitpunkt

# 1. Einleitung

## 1.1. Raumfahrt - Extreme Umweltbedingungen

*„Es gibt keinen bequemen Weg, der von der Erde zu den Sternen führt.“*

Aus der Tragödie  
„Hercules Furens 1“ Vers 437  
Lucius Annaeus Seneca (ca. 4 v. Chr - 65 n. Chr.)

Die bemannte Raumfahrt, die in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts mit der Erdumrundung des Kosmonauten Juri Gagarin ihren Anfang nahm und mit der Mondlandung der Apollo 11 Crew sowie der dauerhaften Besetzung der internationalen Raumstation (ISS) ihre vorläufigen Höhepunkte fand, stellte Mediziner und Wissenschaftler vor neue Herausforderungen. Raumfahrt, wenn auch nur von kurzer Dauer, hatte Auswirkungen auf die gesamte menschliche Physiologie. Schwerelosigkeit, kosmische Strahlung, Mangelernährung, physische und emotionale Belastungen sind nur einige der Stressoren, denen Astronauten im Weltraum ausgesetzt sind. Zukünftige Missionen streben längerfristige Aufenthalte von Menschen auf dem Mond und die damit verbundene Errichtung lunarer Habitate an. Neben neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen über die Entstehung der Erde und der möglichen Erschließung von Rohstoffen (u.a. Gold, Platin, Helium-3), soll vor allem eine erdnahe Erprobung von Mensch und Material die Grundlage für eine Expedition zum Mars bilden. Zuvor müssen jedoch noch weitere Erkenntnisse darüber gewonnen werden, inwieweit sich die extremen Umweltbedingungen auf die psychische und physische Gesundheit der Astronauten auswirken. Dabei wäre die offensichtlich beste Methode, diese potentiell schädlichen Einflüsse unter „realen Feldbedingungen“, z.B. an Bord der ISS, zu untersuchen. Unter der Federführung der nationalen und internationalen Weltraumorganisationen fanden und finden bis heute Studien zu dieser Thematik im Weltraum statt. Jedoch mussten aus Kosten- und Logistikgründen auch erdgebundene Modelle gefunden werden, die in der Lage sind vergleichbare Bedingungen zu schaffen.

Zur Simulation von Schwerelosigkeit/Mikrogravität werden deshalb mit Erfolg „Bettruhe“ (engl. bed rest)-Studien herangezogen, bei denen sich Probanden Tage bis Wochen in Horizontal- oder leichter Kopftieflage befinden. Die auftretenden Veränderungen ähneln hierbei denen, die bei Astronauten während des Aufenthaltes in realer Schwerelosigkeit (0 G) zu beobachten sind<sup>28</sup>. Es resultieren Blutgerinnungsstörungen sowie muskuloskelettale (Knochendemineralisierung, Muskelatrophien, verringerte Muskelkraft) und kardiovaskuläre Dekonditionierung, die auf Grund des fehlenden hydrostatischen Drucks zu einer Umverteilung und Verminderung des zirkulierenden Blutvolumens führen<sup>16, 28, 86</sup>.

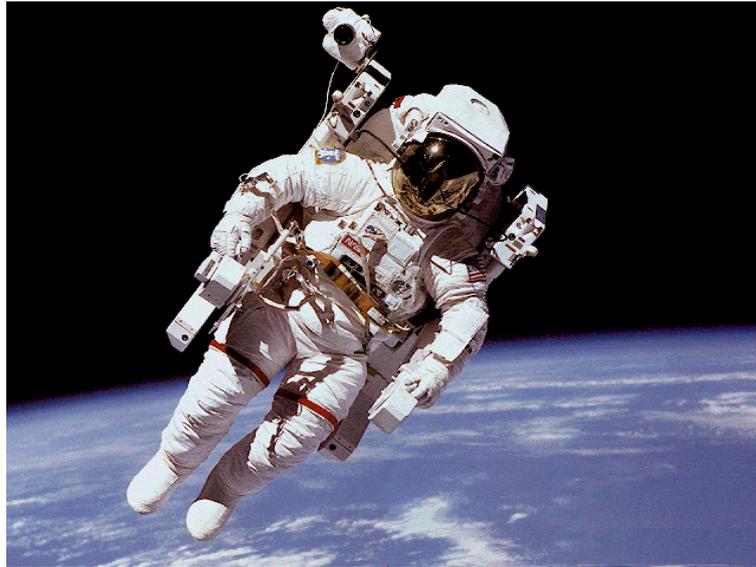
Neben Schwerelosigkeit wird als weiterer „physikalischer Stressor“ das Lebenserhaltungssystem innerhalb zukünftiger Habitate aus technischen Gründen einen niedrigeren atmosphärischen Druck ( $P_{\text{atm}}$ ) als auf der Erde (Meereshöhe) erzeugen<sup>5</sup>. Neben einer verringerten Strahlentoxizität, können dadurch Denitrogenisierungsintervalle beim wiederholten Einsatz von Raumanzügen, sog. „Extravehicular Mobility Units“ (Abb. 1), für Außeneinsätze auf der Mondoberfläche verringert und das Risiko für die Entwicklung einer Dekompressionskrankheit gesenkt werden<sup>5, 78</sup>. Dies ist vergleichbar mit dem Tauchsport, bei dem ein zu schneller Auftauchvorgang und der damit verbundene Druckabfall die Gewebelöslichkeit von Stickstoff reduziert. Es kommt zu einer plötzlichen Bildung von Gasblasen, welche zu Embolisationen führen und häufig eine Nachbehandlung in einer Druckkammer notwendig machen. Zudem wird durch eine Erniedrigung des atmosphärischen Drucks das Risiko druckbedingter Leckagen innerhalb der Habitate verringert<sup>5</sup>. Jedoch nimmt mit sinkendem Luftdruck auch der inspiratorische Sauerstoffpartialdruck ( $P_{\text{iO}_2}$ ) ab:

$$P_{\text{iO}_2} = (P_{\text{atm}} - P_{\text{H}_2\text{O}}) \times F_{\text{iO}_2}$$

**Formel 1:**  $P_{\text{iO}_2}$ : inspiratorischer Sauerstoffpartialdruck;  $P_{\text{atm}}$ : atmosphärischer Druck (760 mmHg auf Meereshöhe);  $P_{\text{H}_2\text{O}}$ : Wasserdampfdruck (47 mmHg bei 37°C);  $F_{\text{iO}_2}$ : inspiratorische Sauerstoffkonzentration

Um die daraus resultierende Minderversorgung des Gewebes mit Sauerstoff (Hypoxie) so gering wie möglich zu halten, muss die inspiratorische  $\text{O}_2$ -Konzentration ( $F_{\text{iO}_2}$ ) gesteigert werden. Eine erhöhte inspiratorische Sauerstoffkonzentration ist ihrerseits jedoch wiederum mit einer erhöhten Brandgefahr verbunden<sup>5</sup>.

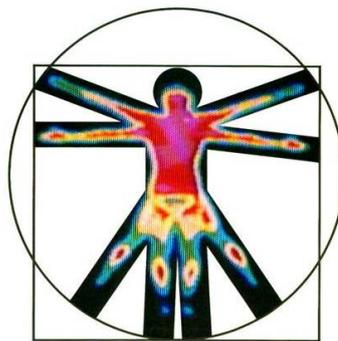
Unter Berücksichtigung der genannten Faktoren wird derzeit ein Luftdruck zwischen 414 und 429 mmHg bzw. eine inspiratorische Sauerstoffkonzentration zwischen 30 und 40 %, entsprechend einem  $P_{iO_2}$  von 115 bis 146 mmHg (Normwert auf Meereshöhe 150 mmHg), als möglicher Kompromiss diskutiert <sup>5</sup> . Hierbei ist anzumerken, dass endgültige Werte noch nicht abschließend genannt werden können, da Variablen wie Art und Dauer der Mission sowie technischer Fortschritt noch ungewiss sind.



**Abbildung 1: Raumanzug (Extravehicular Mobility Unit) <sup>65</sup>**

In Anbetracht der geplanten Langzeitmissionen auf der Mondoberfläche sollten also zunächst erdgebundene Studien über mögliche Auswirkungen von simulierter Schwerelosigkeit und Hypoxie durchgeführt werden. Es ist noch weitestgehend unbekannt, wie eine Kombination dieser beiden Stressoren die Gesundheit von Astronauten beeinflusst. Die von der Europäischen Kommission im Rahmen des Framework 7 Forschungsrahmenprogramms (FP7) geförderte Planetary Habitat Simulation (PlanHab) – Studie (Call FP7-SPACE-2011-1; project number 284438) untersuchte erstmals am Menschen die kombinierten Auswirkungen von Hypoxie und Bettruhe auf das kardiovaskuläre, respiratorische, muskuloskelettale, hämatologische und immunologische System sowie auf Thermoregulation und die mögliche Entwicklung von Schlafstörungen und Höhenkrankheit. Die erworbenen Erkenntnisse können nicht nur für zukünftige Missionen zu Mond oder Mars von großem Nutzen sein, sondern auch für die Gesellschaft im Allgemeinen. So nimmt die Anzahl an Patienten, die auf Grund

obstruktiver (z.B. COPD) oder restriktiver Lungenerkrankungen (z.B. Lungenfibrose) einer chronischen Hypoxie ausgesetzt sind, stetig zu. Verurteilt zu einem inaktiven Lebensstil und Immobilität sind diese Patienten vergleichbaren Bedingungen ausgesetzt wie zukünftige Bewohner lunarer Habitate. Unsere Arbeitsgruppe und im Speziellen die vorliegende Dissertation beschäftigte sich im Rahmen der P l a n H a b - Studie mit den potentiellen Auswirkungen auf das purinerge, hämatologische und psychoneuroendokrine System.



## **PLANETARY HABITAT SIMULATION**

Planica, Slovenia

Abbildung 2: P l a n H a b - Logo <sup>61</sup>

### **1.2. Adenosin-Metabolismus**

Adenosin als Teil des purinergen Systems ist ein ubiquitär im menschlichen Körper vorkommendes extrazelluläres Signalmolekül, welches über die Beeinflussung zahlreicher Organsysteme eine essentielle Rolle in der menschlichen Biologie einnimmt. Obwohl dem purinergen System inzwischen weitreichende pleiotrope Wirkungen zugesprochen werden, wurde unser Verständnis von Adenosin entscheidend durch die Pionierarbeit von Drury und Szent-Gyorgyi und deren Forschungen auf dem Gebiet der Kardiologie geprägt. Diese konnten bereits Anfang des letzten Jahrhunderts zeigen, dass Adenin-Verbindungen zu einer Beeinflussung der Herzfrequenz führten <sup>23, 49</sup>. Es sollte weitere 60 Jahre dauern bis sich diese Eigenschaft erstmalig zu Nutzen gemacht wurde, um Patienten mit supraventrikulären Tachykardien zu behandeln.

Adenosin besteht aus der Nukleinbase Adenin, welche über eine N-glykosidische Bindung mit  $\beta$ -D-Ribose verknüpft ist. Unter normalen physiologischen Bedingungen wird Adenosin intrazellulär durch die Dephosphorylierung von Adenosinmonophosphat (AMP) durch die 5'-Nucleotidase oder durch die Hydrolyse von S-Adenosyl-Homocystein gebildet<sup>8, 79, 109</sup>.

Die extrazelluläre Bildung von Adenosin erfolgt durch die Degradation von Adenosintriphosphat (ATP), Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosinmonophosphat (AMP) mit Hilfe von Ectonucleotidasen zu Adenosin. Durch bidirektionale Transporter gleichen sich die extra- und intrazellulären Spiegel von Adenosin an<sup>30</sup>. Die lediglich lokale Wirkung von Adenosin wird durch seine kurze Halbwertszeit von weniger als 10 Sek. erklärt, welche durch eine schnelle Aufnahme in die Erythrozyten sowie den Abbau zu Inosine durch Desaminasen verursacht wird<sup>69, 70</sup>.

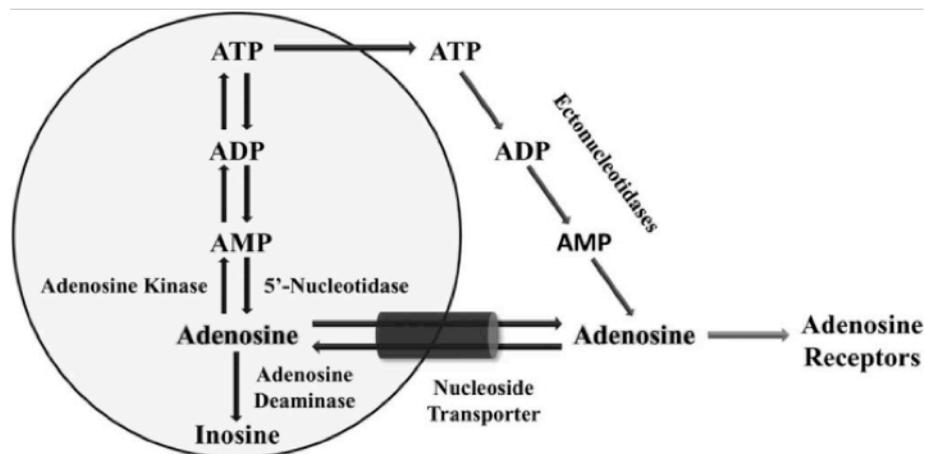


Abbildung 3: Adenosinmetabolismus<sup>103</sup>

Bisher wurden vier Adenosin-Rezeptoren ( $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$ ,  $A_3$ ) beschrieben, welche ubiquitär im menschlichen Körper (Gehirn, Herz, Lunge, Immunzellen) exprimiert werden<sup>53, 70</sup>. Die Rezeptoren sind aus sieben Transmembrandomänen mit einem intrazellulären C-terminalen und einem extrazellulären N-terminalen Ende aufgebaut sowie intrazellulär an G-Proteine gekoppelt, welche wiederum aus drei Untereinheiten ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) bestehen<sup>30, 84</sup>.

Je nach Rezeptortyp wird über die  $\alpha$ -Untereinheit eine Aktivierung ( $G_s$ ) oder Hemmung ( $G_i$ ) der Adenylylcyclase vermittelt. Unter Abspaltung von Pyrophosphat aus ATP katalysiert die Adenylylcyclase die Bildung des „second messenger“ cAMP (cyclisches Adenosinmonophosphat)<sup>84</sup>.

Dabei zeigen die Aktivierung der Rezeptoren  $A_1$  und  $A_3$  eine inhibitorische, die Aktivierung der  $A_{2A}$ - und  $A_{2B}$ - Rezeptoren eine stimulierende Wirkung auf die Adenylylcyclase<sup>70</sup>. Adenosin kann folglich den intrazellulären cAMP-Spiegel sowohl erhöhen als auch erniedrigen. Weiterhin können Rezeptoren mit hoher ( $A_1/A_{2A}$ ) und einer niedriger Bindungsaffinität ( $A_{2B}/A_3$ ) zu Adenosin unterschieden werden<sup>70</sup>. Dementsprechend werden in einer Zelle, welche alle vier Rezeptortypen exprimiert, unter niedrigen Adenosin-Konzentrationen stufenweise zuerst die  $G_i$ -Protein gekoppelten  $A_1$ -Rezeptoren, gefolgt von den  $G_s$ -Protein gekoppelten  $A_{2A}$ - und  $A_{2B}$ -Rezeptoren und schließlich die  $G_i$ -Protein gekoppelten  $A_3$ -Rezeptoren aktiviert<sup>30</sup>.

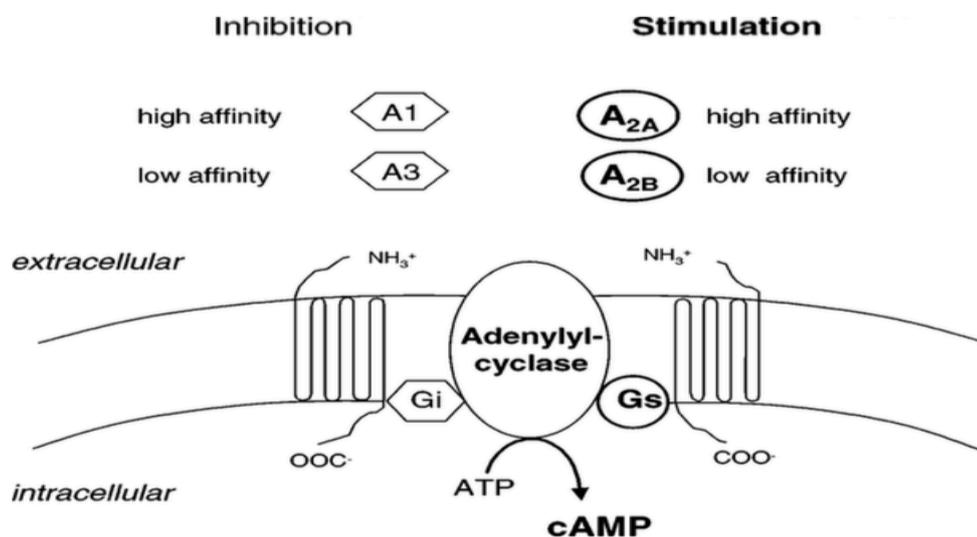


Abbildung 4: Adenosin-Rezeptor<sup>84</sup>

### 1.3. Anpassungsmechanismen an Hypoxie

Die endogene Freisetzung von Adenosin erfolgt physiologisch hauptsächlich als Resultat einer (Gewebe-)Hypoxie. Der daraus resultierende Energiemangel aktiviert anaerobe Stoffwechselprozesse. Neben der anaeroben Glykolyse ist hier an erster Stelle die Phosphohydrolyse des energiereichen Adenosintriphosphats zu nennen, bei der es zu einer Freisetzung der Adenin-Nukleotide AMP, ADP und ATP aus Erythro-/ Thrombozyten, Endothel-, Nerven- und Mastzellen kommt. Diese werden rasch durch Ektonukleotidasen in Adenosin umgewandelt und führen somit zu einer extrazellulären Akkumulation<sup>96</sup>. Daneben haben Untersuchungen der Promotorregionen der 5'-Nukleotidase und des  $A_2$ -Rezeptors Bindungsstellen für HIF-1 (Hypoxie-induzierter Faktor-1) nachgewiesen.

In Anwesenheit der Untereinheit HIF-1  $\alpha$  führte dies zu einer vermehrten Expression sowohl des Enzyms als auch des Rezeptors<sup>47, 96</sup>. Gleichzeitig wird über Inhibition der Adenosinkinase ein schneller Abbau des vorhandenen Adenosins zu AMP verhindert. Folglich kommt es zu einer weiteren Akkumulation von extrazellulärem Adenosin<sup>12, 20, 53, 96</sup>.

Studien konnten belegen, dass die unter Hypoxie auftretende extrazelluläre Adenosin-Akkumulation innerhalb kürzester Zeit über eine Aktivierung der A<sub>2B</sub>-Rezeptoren von Erythrozyten eine Induktion der 2,3-Bisphosphoglycerat Produktion bewirkt, welches wiederum über eine Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve eine Freisetzung von O<sub>2</sub> auch unter niedrigen Partialdrücken ermöglicht<sup>15, 54</sup>. Die Adenosin-Signalkaskade stellt somit einen entscheidenden Mechanismus für eine schnelle Adaption an (Gewebe-)Hypoxie zur Aufrechterhaltung der Sauerstoffversorgung dar.

Längerfristige Hypoxie führt zu einer vermehrten Freisetzung des hauptsächlich in der Niere produzierten Erythropoetins (EPO)<sup>43</sup>. Auf zellulärer Ebene kommt es unter Hypoxie über eine Hemmung der Hydroxylase zu einer Stabilisierung der  $\alpha$ -Untereinheit von HIF-1. Dies bewirkt eine Translokation von HIF-1 $\alpha$  aus dem Zytoplasma in den Zellkern, wo es an die  $\beta$ -Untereinheit bindet und zusammen als Heterodimerkomplex HIF-1 eine Aktivierung der EPO-codierenden Gene induziert. Durch die Expression dieser Gene ist der menschliche Körper in der Lage auf die eingeschränkte Sauerstoffversorgung mit einer gesteigerten Erythropoese zu reagieren<sup>38, 42</sup>, indem das Glykoprotein EPO im blutbildenden Knochenmark an spezifische Rezeptoren auf der Membranoberfläche von Erythroblasten bindet, was zu einer Teilung und Reifung der Vorläuferzellen führt. Nach einem Anstieg der EPO-Konzentration dauert es drei bis vier Tage, bis mehr Retikulozyten aus dem Knochenmark in das Blut gelangen<sup>58</sup>. Die Reifungszeit von Retikulozyten beträgt unter normalen Umständen vier Tage, von denen der Retikulozyt drei Tage im Knochenmark und einen Tag im peripheren Blut verweilt. Bei einer stark gesteigerten Erythropoese kann sich die Ausreifung der Retikulozyten (zu Erythrozyten) auf das periphere Blut verlagern.

#### **1.4. (Simulierte) Schwerelosigkeit begünstigt chronische Gewebhypoxie**

Schon während der ersten bemannten Raumfahrtunternehmungen konnte das vermehrte Auftreten von Anämien beobachtet werden. Durch (simulierte) Schwerelosigkeit kommt es zu Flüssigkeitsverschiebungen im Sinne einer zentralen Hypervolämie (Thorax, Kopf) auf Kosten der peripheren Durchblutung<sup>98</sup>. Als Antwort auf die zentrale Hypervolämie mit Erhöhung des zentralvenösen Drucks kommt es innerhalb von Stunden zu einer Reduktion des Plasmavolumens<sup>2, 101</sup>. Das reduzierte Plasmavolumen führt zu einem Anstieg des Hämatokrits (Hämokonzentration), der wiederum mit einer reaktiven Erhöhung der Hämoglobin-Konzentration und Erythrozytenzahlen einhergeht<sup>2, 51, 101</sup>. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass es sich aufgrund der Hämokonzentration lediglich um einen relativen Anstieg der Hämoglobin-Konzentration und der Erythrozytenzahl handelt. Nuklearmedizinische Untersuchungen mit Chrom-51 zeigen eine deutliche Abnahme der gesamten Erythrozytenmasse nach Eintritt in die Schwerelosigkeit<sup>2, 101</sup>. Die Abnahme beruht auf einer selektiven Hämolyse neu gebildeter „junger“ Erythrozyten (Neozytolyse). Es wird vermutet, dass die Erhöhung des zentralvenösen Drucks von kardialen Barorezeptoren detektiert wird und über eine Beeinflussung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und des Hypothalamus-Hypophysen-Systems zu einer EPO-Suppression führt<sup>22, 31, 36, 104</sup>. Die reaktiv erniedrigten EPO-Spiegel lösen über einen noch unbekanntem Mechanismus die Neozytolyse aus. Bei gleichzeitig unverändertem Abbau kommt es zu einem Abfall der Erythrozyten- und Hämoglobin-Konzentration. Über die Neozytolyse versucht der Körper der im Rahmen der Schwerelosigkeit entstandenen relativen Polyglobulie entgegenzuwirken<sup>18, 74</sup>. Dieser Mechanismus ermöglicht eine schnelle Adaption an die veränderten Umweltbedingungen des Weltraums. Vergleichbare Veränderungen konnten auch in erdgebundenen Modellen zur Simulation von Schwerelosigkeit beobachtet werden. Wenige Stunden nach Beginn der Bettruhe kam es ebenfalls durch Umverteilungsvorgänge zu einer Reduktion des Plasmavolumens mit darauffolgender Hämokonzentration<sup>7, 24, 29</sup>. Auch hier bedingt der erhöhte Hämatokrit über eine erniedrigte EPO-Konzentration eine Induktion der Neozytolyse<sup>18, 36, 99</sup>. Bei gleichzeitig unverändertem Abbau kommt es zu einer Abnahme der gesamten Erythrozytenmasse<sup>18</sup>. Die Verringerung des Plasmavolumens in Kombination mit einer Abnahme der Erythrozytenmasse führt zu einer Abnahme des zirkulierenden Blutvolumens um 10-15 % und stellt damit einen weiteren prädisponierenden Faktor zur Entwicklung einer Gewebhypoxie dar<sup>85</sup>.

Daneben konnte im Rahmen von Schwerelosigkeitsuntersuchungen eine vermehrte Sauerstoffausschöpfung sowie erhöhte Laktatwerte als Hinweis auf eine lokale Hypoxie im venösen Rückfluss der oberen Extremität beobachtet werden<sup>105</sup>. Auch konnte eine Verringerung des Residualvolumens (bei gleichbleibender Vitalkapazität) unter Mikrogravität nachgewiesen werden, welche vermutlich durch eine Änderung der abdominellen Compliance verursacht wird<sup>71</sup>. Beide Faktoren können über ein Ventilations-/Perfusions-Missverhältnis bereits bei normobaren bzw. normoxischen atmosphärischen Bedingungen zu einem eingeschränkten Gasaustausch und letztendlich zu einer Hypoxie führen<sup>98</sup>.

Schwerelosigkeit hat darüber hinaus Einfluss auf das psychoneuroendokrine System. Frühere Studien konnten eine negative Beeinträchtigung des psychischen Wohlbefindens während Weltraummissionen oder erdgebundenen Modellen zeigen<sup>25, 97</sup>. Emotionaler Stress kann zu einer Aktivierung des psychoneuroendokrinen Systems führen, da der Organismus über neuronale (autonomes Nervensystem) und/oder endokrine Mechanismen versucht sich an die ungewohnten Umweltfaktoren (Schwerelosigkeit, Hypoxie) anzupassen (Allostase)<sup>60</sup>. Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse leistet über die Regulation der Glucocorticoid- und Katecholaminausschüttung einen wichtigen Beitrag zur Aufrechterhaltung der Homöostase<sup>40</sup>. Im Rahmen einer Aktivierung des autonomen Nervensystems wird ATP (via Exozytose) als Ko-Transmitter von Noradrenalin und Acetylcholin in den synaptischen Spalt ausgeschüttet<sup>1</sup>. Das freigesetzte ATP wird mit Hilfe von Ektonukleotidasen rasch zu Adenosin dephosphoryliert (Abb. 3) und begünstigt somit einerseits eine weitere extrazelluläre Adenosin-Akkumulation, andererseits können auf Ebene der Mikrozirkulation erhöhte Konzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin zu einer Vasokonstriktion mit Minderperfusion des Gewebes führen. Diese kann durch die proaggregatorischen Effekte, welche Noradrenalin über den  $\alpha_2$ -Rezeptor auf Thrombozyten ausübt, weiter potenziert werden<sup>100</sup>. Hinzu kommt, dass unter dem Einfluss von Kortikosteroiden die Wirkung von Katecholaminen an den glatten Muskelzellen verstärkt und die Produktion von Vasodilatoren in den Endothelzellen inhibiert wird<sup>108</sup>. Somit ist es denkbar, dass die Aktivierung des psychoneuroendokrinen Systems das Risiko einer Gewebhypoxie vergrößert.

Zusammengefasst gibt es Hinweise darauf, dass Astronauten wegen spezieller Umwelteinflüsse, denen sie während ihrer Missionen ausgesetzt sind, zu einer chronischen Gewebehypoxie mit der Folge einer vermehrten Akkumulation von extrazellulärem Adenosin neigen. Wie bereits eingangs erwähnt, wird sich die Atmosphäre innerhalb lunarer Habitats sowohl in der Zusammensetzung als auch im Druck von der Erdatmosphäre unterscheiden. Auf Grund einer daraus resultierenden Erniedrigung des inspiratorischen Sauerstoffpartialdrucks ( $P_{iO_2}$ ) wird eine Minderversorgung des Gewebes mit Sauerstoff begünstigt. Die Gefahr einer Hypoxie nimmt durch die Auswirkungen von (simulierter) Schwerelosigkeit und anderer weltraumassoziierter Stressoren weiter zu. Zum Zeitpunkt der Durchführung der PlanHab-Studie existierten keine Studien, welche sich mit den kombinierten Auswirkungen von (simulierter) Schwerelosigkeit und (normobarer) Hypoxie beschäftigten.

## 1.5. Fragestellung

Die PlanHab-Studie untersuchte die Auswirkungen von (normobarer) Hypoxie und simulierter Schwerelosigkeit („Bettruhe“) auf die menschliche Physiologie. Für die geplante Errichtung lunarer Habitate und deren dauerhafte Besiedelung sind erdgebundene Simulationen zwingend notwendig, um die potentiellen Einflüsse auf die unterschiedlichen Organsysteme zu erkennen und diesen, falls notwendig, entgegenzuwirken. Zahlreiche Studien fokussierten sich in der Vergangenheit nur auf einen der beiden Faktoren, so dass deren Kombination eine innovative Neuerung darstellte. Dabei bleibt der Nutzen der Studie nicht nur auf zukünftige Weltraummissionen beschränkt. Für Patienten, die auf Grund einer chronischen respiratorischen Insuffizienz (z.B. COPD) zu einem inaktiven Lebensstil gezwungen sind (und damit ähnlichen Stressoren ausgesetzt sind), erhofft man sich neue Erkenntnisse zum besseren Verständnis der physiologischen Vorgänge. Unter der Annahme, dass Hypoxie und simulierte Schwerelosigkeit (Bettruhe) über verschiedene Mechanismen zu einer Beeinflussung des purinergen, hämatologischen und psychoneuroendokrinen Systems führen, haben wir folgende Fragestellungen aufgestellt:

- Welche Auswirkungen haben Hypoxie und/oder simulierte Schwerelosigkeit (Bettruhe) auf das purinerge, hämatologische und psychoneuroendokrine System?
- Sind diese Auswirkungen unter Hypoxie stärker ausgeprägt als unter Normoxie?
- Gibt es Wechselwirkungen der unterschiedlichen Systeme?

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Studiendesign

Die PlanHab-Studie wurde in einem prospektiven Cross-Over Design angelegt. Die Bewilligung der EU-Förderung erfolgte nur nach Erfüllung strikter EU-Auflagen, zu denen unter anderem die Erstellung eines ausführlichen Projektplans (Description of Work (DoW)) zählte, der genaue Angaben des Ethikvotums (und des Datenmanagements, s.u.) beinhalten musste. Diese Vorgaben und Bedingungen erkannten kein anderes nationales oder lokales Ethikvotum an als das höchste in Slowenien (durch das Slowenische Nationale Medizinische Ethikkomitee). Dies basierte auf der Tatsache, dass alle Probanden slowenischer Nationalität waren, alle Versuche in Slowenien erfolgten und somit auch alle Information einschließlich der Aufklärungen in slowenischer Sprache durchgeführt werden mussten sowie die Aufwandentschädigungen der Probanden durch die slowenische Einrichtung erfolgte.

Auszug aus der DoW Abschnitt 4:

*All the experiments will be performed at the Olympic Sport Centre Planica in Slovenia. Therefore, for the experiments performed in Slovenia, only the approval of a Slovene ethics committee is applicable. All Information for Subjects sheets must also be written in Slovene. The request for Ethics approval of the study will be submitted by the Coordinator (Mekjavic) who will also receive the formal approval from the National Ethics Committee, and will be responsible for all Ethics issues of the studies performed at the Olympic Sport Centre Planica.*

Zur unerlässlichen Wahrung der Persönlichkeitsrechte wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit ausschließlich anonymisierte Proben und Daten verwendet. Die Anonymisierung vor Weitergabe der Daten aus Slowenien an die Europäischen Partner wurde ebenfalls strikt eingehalten und im DoW auch in seinen Prozeduren exakt beschrieben und festgelegt.

#### **„Data management**

*All experimental data that will be collected during the study will only be available to the researchers directly involved in the study. Individual data will be coded so that the identity of any given subject cannot be linked to the data unless access to the code key is provided (which will be kept in a safe room at the Jozef Stefan Institute). On request, subjects will be provided with results of experiments in which they served as a test subject, but not results of experiments performed by other subjects. The Jozef Stefan Institute has a safe room available for data storage and meetings. This room has been certified by the Ministry of Defence (using NATO guidelines) as being appropriate for storage of sensitive/secret information. Information stored in this room pertains only to the experiments*

*conducted at the Jozef Stefan Institute. Access to this room, as well as to the information contained in the room, is regulated by the JSI Security Officer. The coded results will be added to the Data Archive currently being developed by the European Space Agency. It will not be possible to connect the information contained in the archive with individual subjects“*

Da die Blutproben und die anderen erhobenen Daten vollständig anonymisiert analysiert und prozessiert wurden und somit eine Rückverfolgung zur Person für den Untersucher nicht möglich war/ist und natürlich gleichzeitig ein gültiges Votum der lokalen Ethikbehörde am Studienort besteht/bestand, lagen keine ethisch-rechtlichen Bedenken vor, und es bestand keine zusätzliche Beratungspflicht seitens der EK der LMU.

Die Durchführung erfolgte gemäß der Deklaration von Helsinki für Forschung am Menschen und den Richtlinien der Europäischen Weltraumorganisation für „Betruhe-Studien“ (ESA, Standardization of bed rest study conditions 1.5, August 2009; international überarbeitet 2014 von der International Academy of Astronautics (IAA) in den `Guidelines for Standardization of Bed Rest Studies in the Spaceflight Context`

([www.nasa.gov/sites/default/files/atoms/files/bed\\_rest\\_studies\\_complete.pdf](http://www.nasa.gov/sites/default/files/atoms/files/bed_rest_studies_complete.pdf) ).

Unter der Koordination des Instituts Jožef Stefan (Ljubljana, Slowenien) war ein Konsortium aus acht Partnern beteiligt:

**Tabelle 1: P I a n H a b - Konsortium**

<b>Einrichtung</b>	<b>Land</b>
Deutsches Zentrum für Luft- u. Raumfahrt (DLR)	Deutschland
Institut Jožef Stefan (IJS)	Slowenien
Kungliga Tekniska högskolan (KTH)	Schweden
Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU)	Deutschland
Politecnico di Milano (PdM)	Italien
University of Nottingham (UNOTT)	Großbritannien
Universita degli Studi di Trieste (UniTs)	Italien
Universita degli Studi di Udine (UniUdi)	Italien

Die Studie umfasste drei Kampagnen mit einer Dauer von jeweils 32 Tagen. In jeder Kampagne wurden die Probanden einer von drei Interventionen zugewiesen, so dass am Ende der Studie jeder Proband jede Intervention einmal durchlaufen hatte. Im Einzelnen bestanden die Interventionen aus normoxischen (NBR) und hypoxischen (HBR) 21-tägigen Bettruhephasen, bei denen die Probanden alle Aktivitäten des Alltags (Essen, Körperhygiene, etc.) in horizontaler Position ausübten.

In der dritten Intervention waren die Probanden ebenfalls hypoxischen Bedingungen ausgesetzt. Jedoch war es diesen erlaubt, sich innerhalb der unter Hypoxie gestellten Räumlichkeiten (Schlafzimmer, Aufenthalts- u. Essbereich) frei zu bewegen (HAMB = engl. hypoxic ambulatory). Die Probanden waren jeweils in einem Zimmer mit zwei Einzelbetten untergebracht. Vor Beginn der jeweiligen Interventionen erfolgte eine siebentägige Vorlaufphase zur Erhebung der Ausgangsparameter/Baseline-Daten (BDC = engl. baseline data collection). Nach Beendigung der Intervention schloss sich eine viertägige Erholungsphase (R = engl. recovery) an. Zwischen den einzelnen Kampagnen lag ein Zeitraum von mindestens vier Monaten („*wash-out period*“), so dass von einer vollständigen Normalisierung der zu messenden Parameter ausgegangen werden kann.

Zur Standardisierung des Tagesablaufs wurden die Probanden täglich um 7:00 Uhr geweckt. Das Abschalten der Beleuchtung erfolgte um 23 Uhr. Schlafepisoden während des Tages waren untersagt. Zur Evaluierung der individuellen Körperzusammensetzung, des Energieverbrauchs und des Flüssigkeitshaushalts erfolgte in allen drei Kampagnen die Einnahme der Mahlzeiten nach einem standardisierten Schema mit festgelegten Zeiten:

Frühstück 8:00 Uhr; 1. Zwischenmahlzeit 11:00 Uhr; Mittagessen 13:00 Uhr;  
2. Zwischenmahlzeit 16:00 Uhr; Abendessen 19:00 Uhr.

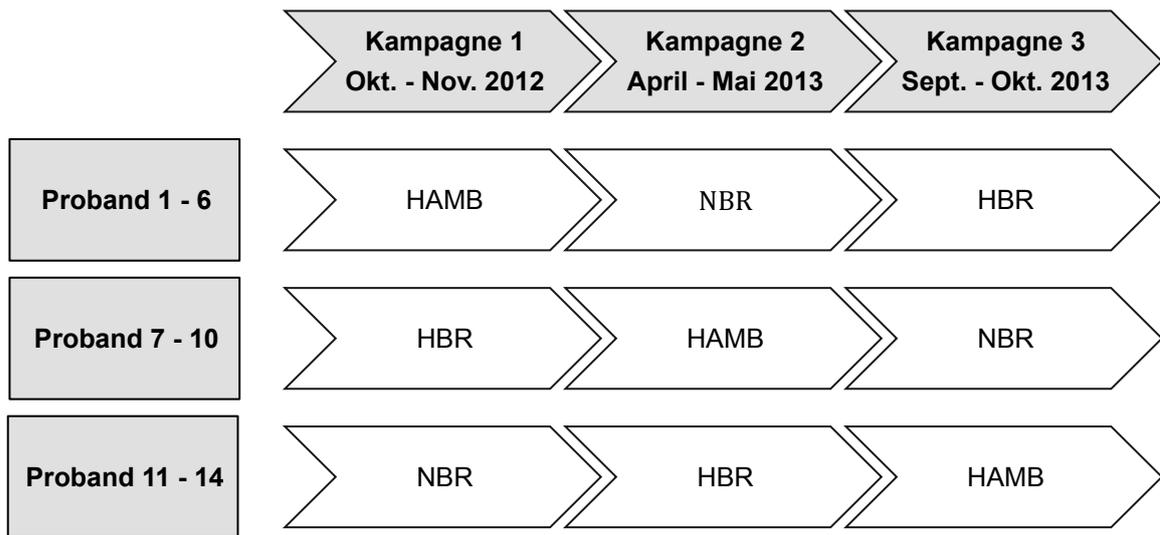


Abbildung 5: Studienprotokoll; HBR = Hypoxische Bettruhe, HAMB = Hypoxie ohne Bettruhe  
NBR = Normoxische Bettruhe

## 2.2. Studienpopulation

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über Aushänge an slowenischen Universitäten sowie über Werbung auf diversen Internetportalen und im Radio. Interessierte Personen wurden zu einer Präsentation mit weitergehenden Informationen über die Studie eingeladen. Anschließend erfolgten die Auswahlgespräche am Jožef Stefan Institut in Ljubljana. Das Auswahlkomitee bestand aus mindestens drei Wissenschaftlern mit Erfahrung in der Durchführung von Hypoxie- und Bettruhe-Studien.

### 2.2.1. Einschlusskriterien

Voraussetzungen waren ein Alter zwischen 20 und 45 Jahren, ein Body-Mass-Index (BMI) zwischen 18 und 30 kg/m<sup>2</sup>, eine Körpergröße zwischen 158 und 190 cm sowie ein Taillenumfang von weniger als 94 cm. Weitere Einschlusskriterien waren schriftliches Einverständnis, die Teilnahmebereitschaft an allen drei Kampagnen, das Vorhandensein einer Sozialversicherung, sowie das Beherrschen der englischen Sprache.

### **2.2.2. Ausschlusskriterien**

Zu den Ausschlusskriterien gehörten weibliches Geschlecht, Mangelernährung sowie die Einnahme von Medikamenten, welche die Testergebnisse beeinflussen könnten. Des Weiteren führten Drogen-, Alkohol- oder Medikamentenmissbrauch, bestehende Vorstrafen oder Inhaftierung zum Studienausschluss. Personen, die sich in den letzten zwei Monaten in Höhen über 2000 Meter aufgehalten haben, normalerweise auf Höhen über 500 Meter wohnen, sich ausschließlich vegetarisch oder vegan ernährten, innerhalb der letzten drei Monate vor Studienbeginn Blut spendeten, innerhalb der letzten zwei Monate Teilnehmer an anderen Studien waren oder innerhalb der letzten sechs Monate vor Studienbeginn Nikotin konsumierten, konnten bei der Auswahl nicht berücksichtigt werden. Darüber hinaus führten folgende durchgemachte oder aktuell bestehende Erkrankungen zum Ausschluss:

Gastroösophagealer Reflux, Hiatushernie, Nierenfunktionsstörung, Nierensteine, chronische Rückenschmerzen, Migräne, Klaustrophobie, Gleichgewichtsstörungen, orthostatische Dysregulation, Schilddrüsenfunktionsstörungen, Allergien, Hypokalziämie, Hyperurikämie, Hypertonus, Hyperlipoproteinämien, Diabetes, T-Score  $\leq -1,5$  (Knochendichte - gemessen mit der Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA) - liegt mindestens 1,5 Standardabweichungen unter dem Mittelwert gleichgeschlechtlicher gesunder Menschen im Alter von 30 Jahren), Vorhandensein metallischer Implantate oder Osteosynthesematerial, Hyperhomocysteinämie, Thrombophilie (APC-Resistenz, Protein C/S-Mangel, Antithrombin-III-Mangel, Prothrombinmutation, Antiphospholipid-Syndrom)

### **2.3. Studieneinrichtung**

Die Studie fand 2012/2013 im 940 Meter hoch gelegenen Olympischen Sportzentrum (OSC) Planica in Rateče, Slowenien statt. Am Fuße der östlichen Julischen Alpen gelegen, befindet sich die Einrichtung in einem Tal des Triglav Nationalparks. Bekannt als Standort der bis 2010 größten Skisprungschanze der Welt, dient es internationalen Athleten als Stützpunkt für ihre Trainingslager. Erbaut 1938, wurde es 2004 bis 2008 in Zusammenarbeit mit dem Slowenischen Sport- und Bildungsministerium und des Slowenischen Olympischen Komitees für sechs Millionen Euro generalsaniert.

Die Renovierung wurde finanziell durch den Europäischen Fond für regionale Entwicklung (EFRE) unterstützt. In Kooperation mit dem Institut Jožef Stefan und der Firma b-Cat (Tiel, Niederlande) wurde eine Höhentrainingsanlage installiert. Diese kann einerseits von Athleten für eine optimale Vorbereitung auf Wettkämpfe genutzt werden und dient andererseits auch der Wissenschaft zur Durchführung von Studien. Hierbei stehen vor allem die Auswirkungen von Hypoxie auf die menschliche Physiologie im Vordergrund. Wegen der Größe der Einrichtung und den dort bereits erfolgreich durchgeführten Studien entschloss man sich zur Durchführung des PlanHab-Projekts für das OSC Planica.

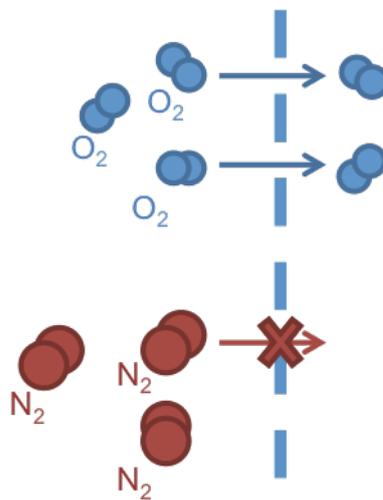


Abbildung 6: Olympisches Sportzentrum Planica<sup>67</sup>

### 2.3.1. Erzeugung von hypoxischen Bedingungen

In der PlanHab-Studie wurden die hypoxischen Umweltbedingungen durch eine Absenkung der  $F_{iO_2}$  bei konstantem  $P_{atm}$  erzeugt. Da die daraus resultierende Erniedrigung des  $P_{iO_2}$  ohne eine Veränderung des  $P_{atm}$  einhergeht, spricht man auch von normobarer Hypoxie. Im Gegensatz dazu wird bei lunaren Habitaten eine Reduzierung des  $P_{iO_2}$  hauptsächlich durch eine Verringerung des  $P_{atm}$  erreicht werden (hypobare Hypoxie). Die Durchführung der Studie unter normobaren Bedingungen erfolgte vor allem aus praktischen Gesichtspunkten (Kosteneffizienz, die Notwendigkeit von Druckschleusen entfällt). Gemäß dem „equivalent air altitude“ Modell resultieren aus unterschiedlichen Kombinationen von  $P_{atm}$  und  $F_{iO_2}$ , welche den gleichen  $P_{iO_2}$  ergeben, identische physiologische Antworten,

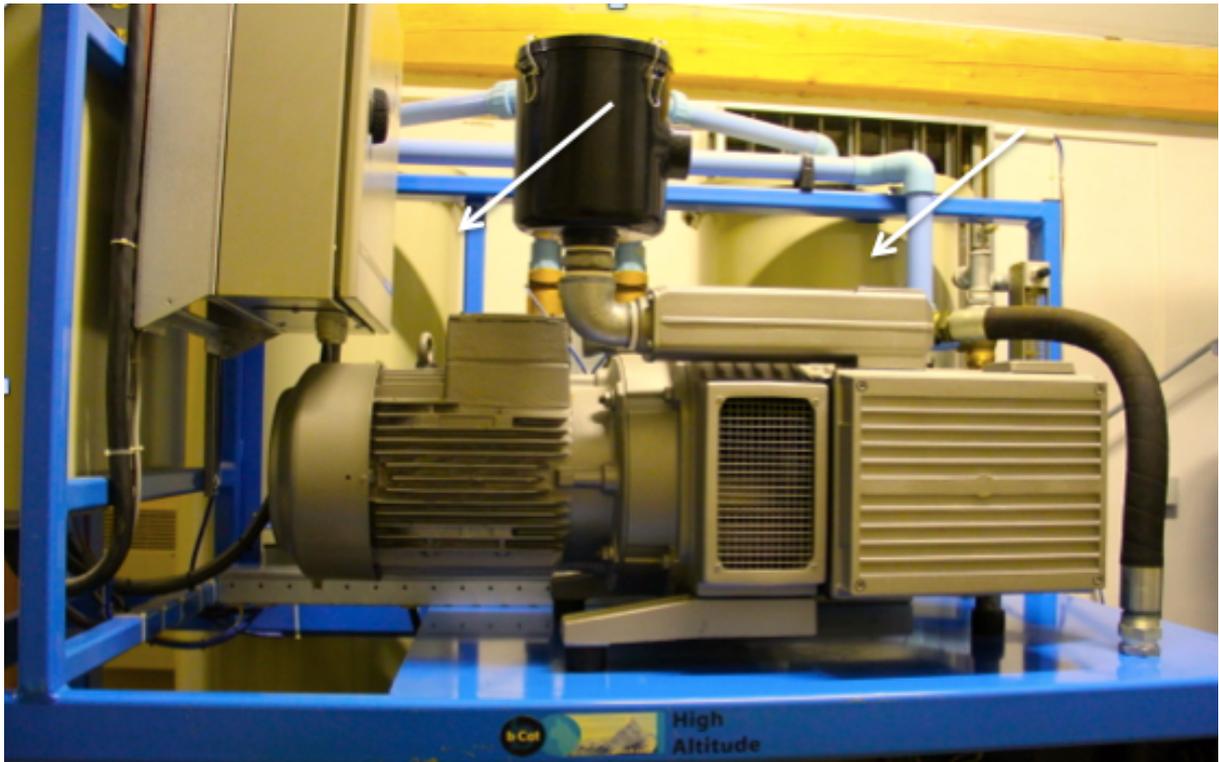
so dass die Art der erzeugten Hypoxie (normobar/hypobar) nur eine untergeordnete Rolle spielt<sup>14</sup>. Ein Stockwerk des OSC Planica ist atmosphärisch abgeschirmt. Hier kann durch Reduzierung des  $F_iO_2$  eine Höhe von bis zu 5400 Metern über dem Meeresspiegel (Höhe des Mount-Everest Basislagers) simuliert werden. Im Hypoxiebereich stehen 10 Doppelzimmer, ein Ess- und Aufenthaltsbereich sowie diverse Laborräumlichkeiten zur Verfügung. Die normobare Hypoxie wird durch ein Vakuum-Druck-Schwing-Adsorption-System (VPSA, b-Cat, Tiel, Niederlande) erzeugt. Bei diesem Verfahren wird Außenluft von einem Kompressor angesaugt, durch ein Kohlenstoffmolekularsieb mit einer speziellen Porenstruktur (CMS = engl. carbon molecular sieve) geleitet und auf diese Weise in ihre Bestandteile zerlegt (Abb. 7).



**Abbildung 7: Funktionsweise des Kohlenstoffmolekularsiefs. Die kleinen  $O_2$ -Moleküle können das Molekularsieb ungehindert passieren, die größeren  $N_2$ -Moleküle sind dazu jedoch nicht in der Lage.**

Die gefilterten Sauerstoffmoleküle werden an der inneren Oberfläche des Molekularsiefs gebunden (Adsorption). Sobald alle Poren gesättigt sind, wird es mit Hilfe eines angelegten Vakuums regeneriert und der isolierte Sauerstoff nach außen abgegeben (Regeneration). Das System besteht aus zwei Sieben, so dass gleichzeitig eine Adsorption und eine Regeneration erfolgen kann (Abb. 8). Dies ermöglicht eine nahezu ununterbrochene Zufuhr eines hypoxischen Gasgemischs, da durch die Adsorption der Sauerstoffmoleküle die inspiratorische Sauerstoffkonzentration ( $F_iO_2$ ) und folglich der Sauerstoffpartialdruck ( $P_iO_2$ ) sinkt. Reaktiv erhöhen sich Partialdruck ( $P_iN_2$ ) und Konzentration ( $F_iN_2$ ) von Stickstoff.

Die von Sauerstoff gereinigte Luft wird anschließend in die Räumlichkeiten geleitet. Sobald dort die gewünschte  $\text{FiO}_2$  erreicht ist, wird eine weitere Zufuhr gestoppt. Die  $\text{O}_2$ - und  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen werden in 15-minütigen Abständen durch das VPSA-Kontrollsystem überwacht. Ein Abfallen der Sauerstoffkonzentration unter den festgelegten Grenzwert stoppt die weitere Zufuhr sauerstoffarmer Luft und aktiviert einen Ventilator, welcher in kurzer Zeit große Mengen Frischluft von außen in den betreffenden Raum transportiert.



**Abbildung 8: Vakuumpressur-Schwingungs-Adsorptionssystem (VPSA); Vorne: Kompressor des VPSA; Hinten (weiße Pfeile): Kohlenstoffmolekularsiebe**

Ein von diesem System unabhängiger  $\text{CO}_2$ -Absorber wird bei Bedarf hinzugeschaltet. Für genauere Informationen über die Funktionsweise sei auf die Homepage der Firma b-Cat verwiesen (<http://www.b-cat.nl>).

Aus Sicherheitsgründen wurde während den hypoxischen Interventionen die arterielle Sauerstoffsättigung der Probanden dreimal täglich mittels Pulsoxymetrie überwacht. Neben den 15-minütigen Kontrollintervallen des VPSA-Systems löste ein am Körper zu tragender  $\text{O}_2$ -Sensor (RAE PGM-1100, Kalifornien, USA) bei einer  $\text{FiO}_2$  von weniger als 13,5 % einen akustischen Alarm aus.

Um das mögliche Vorhandensein einer akuten Höhenkrankheit beurteilen zu können, beantworteten die Probanden jeden Abend (20 Uhr) die Selbsteinschätzungsfragen des „Lake-Louis-Score“ für Erwachsene<sup>75</sup>.

**Tabelle 2: P I a n H a b - Umweltbedingungen**

P I a n H a b - Umweltbedingungen	
FiO <sub>2</sub> (HBR; HAMB)	0.141 ± 0.004
P <sub>i</sub> O <sub>2</sub> (mm Hg) (HBR; HAMB)	90.0 ± 0.4
FiCO <sub>2</sub> (HBR; HAMB)	0.0023 ± 0.0007
FiO <sub>2</sub> (NBR)	0.209 ± 0.0
P <sub>i</sub> O <sub>2</sub> (mm Hg) (NBR)	133.1 ± 0.3
P <sub>atm</sub> (mm Hg)	684±4
T (°C)	24.4 ± 0.7
RH (%)	53.5 ± 5.4

**Mittelwerte ± Standardabweichung; FiO<sub>2</sub> = inspiratorische Sauerstoffkonzentration; P<sub>i</sub>O<sub>2</sub> = inspiratorischer Sauerstoffpartialdruck; FiCO<sub>2</sub> = inspiratorische Kohlenstoffdioxidkonzentration; P<sub>atm</sub> = atmosphärischer Druck (Planica, 940 m ü.d.M.); T = Temperatur; RH = relative Luftfeuchtigkeit; HBR = Hypoxische Bettruhe; HAMB = mobile Probanden unter Hypoxie; NBR = Normoxische Bettruhe**

### 2.3.2. Simulation von Schwerelosigkeit (Bettruhe)

Bettruhe in leichter Kopftieflage (HDTBR) hat sich als zuverlässiges Simulationsmodell bei der Erforschung der physiologischen Veränderungen während der bemannten Raumfahrt etabliert. Zahlreiche Bettruhestudien konnten ähnliche Auswirkungen auf das muskuloskelettale und kardiovaskuläre System nachweisen, wie sie auch unter realer Schwerelosigkeit auftreten<sup>68</sup>. Allerdings sind die existierenden Bettruhemodelle nicht ohne weiteres auf lunare Simulationen übertragbar, da auf dem Mond keine absolute Schwerelosigkeit vorherrscht.

Bis heute (Stand 11/2017) betreten insgesamt nur zwölf Mitglieder der Apollo Missionen die Oberfläche des Mondes. Zusammengerechnet verbrachten Menschen bisher lediglich 12,5 Tage auf dem Mond, dessen Gravitationsbeschleunigung mit  $1,622 \text{ m/s}^2$  (0,16 G) nur ein Sechstel von der der Erde beträgt<sup>64</sup>.

Es ist noch völlig unbekannt, welche Auswirkungen die reduzierten G-Kräfte auf die menschliche Physiologie haben und inwiefern es möglich ist, diese durch erdgebundene Modelle identisch abzubilden. Theoretisch müsste die Körperposition der Probanden während der Bettruhephase um bis zu 9,5 Grad (mit dem Kopf als höchsten Punkt) gekippt werden, um die lunare Gravitationsbeschleunigung auf der Erde zu simulieren<sup>9</sup>. Jedoch kann eine Validierung dieser Annahme erst mit einer erneuten Rückkehr zum Mond erfolgen. Bei der Durchführung der P I a n H a b - Studie hat man sich dazu entschlossen, die Bettruhe Interventionen (NBR, HBR) in horizontaler Körperposition durchzuführen. Von einem wissenschaftlichen Standpunkt aus sollte zunächst eine Grundlagenforschung erfolgen, welche die Interaktion zwischen einer durch Bettruhe verursachten Inaktivität und Hypoxie analysiert. Wie schon bei der Auswahl des Hypoxiegrads kann davon ausgegangen werden, dass mögliche Interaktionen zwischen Hypoxie und Schwerelosigkeit umso leichter aufgedeckt werden, je ausgeprägter diese vorliegen. Ein weiterer Vorteil der horizontalen Körperposition (im Vergleich zur einer gekippten Position) ist der verringerte hydrostatische Druck in den tiefen Beinvenen, wodurch das Thromboserisiko während der Bettruhephasen sinkt.

Den Probanden war es während der Bettruhephasen nicht erlaubt, innerhalb ihres Betts zu sitzen oder zu stehen. Jede körperliche Aktivität mit Ausnahme von Positionsänderungen (Rücken-, Bauch- und Seitenlage) waren untersagt. Als Kopfstütze war die Benutzung eines Kissens erlaubt. Zur Linderung von Kopf- und/oder Rückenschmerzen, welche oft in den ersten Tagen der Bettruhe auftreten, wurde den Probanden die Einnahme von Paracetamol (500 mg) als Bedarfsmedikation erlaubt und passive Dehnungsübungen von Physiotherapeuten durchgeführt. Die Compliance der Bettruhe wurde durch ein kontinuierliches Video-Monitoring sichergestellt.

## 2.4. Vorgehensweise zur Probengewinnung

Gemäß dem Studienprotokoll erfolgte an festgelegten Messzeitpunkten (Tab. 3) die Datenerhebung mit Hilfe von Blut-, Speichel- und Urinproben. Zusätzlich kamen zur psychischen Evaluation der Probanden Fragebögen zum Einsatz.

Aus organisatorischen Gründen konnte die Bestimmung der Katecholamin-Konzentrationen im Urin an zwei Zeitpunkten nicht zusammen mit den übrigen Messungen erfolgen. Am Zeitpunkt R 4 konnten auf Grund der Abreise der Probanden keine abendlichen Messungen von Cortisol und Katecholaminen durchgeführt werden.

**Tabelle 3: Messzeitpunkte**

Baseline-Daten		Interventionsphase					Erholungsphase	
BDC 2	BDC 1	2	4	5	14	21	R 2	R 4
KAB/STAI		KAB/STAI		KAB/STAI	KAB/STAI	KAB/STAI	KAB/STAI	KAB/STAI
PTSS-10								PTSS-10
Cortisol		Cortisol		Cortisol	Cortisol	Cortisol	Cortisol	
	Katecholamine	Katecholamine	Katecholamine		Katecholamine	Katecholamine	Katecholamine	
EPO		EPO		EPO	EPO	EPO	EPO	
Blutbild/ Hämolyse- Evaluation		Blutbild/ Hämolyse- Evaluation		Blutbild/ Hämolyse- Evaluation	Blutbild/ Hämolyse- Evaluation	Blutbild/ Hämolyse- Evaluation	Blutbild/ Hämolyse- Evaluation	Blutbild/ Hämolyse- Evaluation
Adenosin/ Inosin		Adenosin/ Inosin		Adenosin/ Inosin	Adenosin/ Inosin	Adenosin/ Inosin	Adenosin/ Inosin	Adenosin/ Inosin

**BDC 2/1 = 2/1 Tag(e) vor Start der Intervention, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention;  
Grün = Fragebögen, Blau = Speichelproben, Gelb = Urinproben, Rot = Blutproben;  
KAB = Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung, STAI = State-Trait-Angstinventar,  
PTSS-10 = Posttraumatische Stresskala-10, EPO = Erythropoetin**

### 2.4.1. Adenosin/Inosin

Das Protokoll zur Bestimmung der Adenosin-Plasmakonzentration erfolgte nach einem erstmals 1984 von Ontyd et al. beschriebenen, modifizierten Schema<sup>66</sup>. Hierzu wurden den Probanden 2,5 ml venöses Vollblut mit Hilfe einer Spritze entnommen, die mit 2,5 ml eiskalter Stopplösung gefüllt war. Ein Rückschlagventil verhinderte die versehentliche Injektion der Stopplösung. Die Stopplösung verhindert eine Verschiebung des Adenosins von extrazellulär nach intrazellulär sowie über die Inhibierung der Adenosin-Desaminase die Umwandlung von Adenosin zu Inosin. Beide Mechanismen würden ansonsten zu falsch erniedrigten Adenosin-Plasmakonzentrationen führen. Gleichzeitig wird durch die Inhibierung von unspezifischen Phosphatasen und Ectonucleotidasen eine zusätzliche Bildung von Adenosin aus Nukleotiden (und damit einhergehenden zu hohen Plasmakonzentrationen) verhindert. Zur Herstellung eines Liters Stopplösung wurden 6,30 mg EHNA (M= 313,83 g/mol; c= 20 µmol/l), 7,446 g Na<sub>2</sub>EDTA (M= 372,30 g/mol; c= 20mmol/l), 7,608 g EGTA (M= 380,40 g/mol; c= 20 mmol/l), 6,482 g D,L-α-Glycerophosphat (M= 324,10 g/mol; c= 20mmol/l) sowie 100 mg Dipyridamol (M= 504,60 g/mol; c= 200 µmol/l) in 0,9% NaCl Lösung gelöst und mit Natronlauge (NaOH) auf einen pH-Wert von 6 titriert. Nach Umfüllen der Proben in einen 5 ml BD Vacutainer® PPT™ der Firma Becton, Dickinson and Company (Franklin Lakes, New Jersey, USA) wurden diese für fünf Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert und stehend bei -80 °C eingefroren. Nach Abschluss der Kampagne wurden im Labor der Klinik für Anästhesiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München zur Ausfällung der Plasmaproteine 2 ml des gewonnenen Blutplasmas mit 100 µl 70%-iger Perchlorsäure versetzt und anschließend zentrifugiert. Kaliumhydroxid (KOH) wurde in äquivalenter Menge zur Neutralisation verwendet. Die Analyse der Plasmakonzentrationen von Adenosin und Inosin erfolgte nach der von Hagemeyer beschriebenen „dual column switching high affinity performance/reversed phase high performance liquid chromatography“<sup>37</sup>. Der Inter-Assay Variationskoeffizient der von uns verwendeten Messmethode lag bei ca. 10%, die Sensitivität bei 2 - 5 pmol<sup>41</sup>.

## **2.4.2. Hämatologisches System**

Gemäß dem Studienprotokoll erfolgte zwischen 6:45 Uhr und 7:45 Uhr morgens bei den nüchternen Probanden im Liegen eine venöse Blutentnahme mittels Butterfly-Kanüle. Dabei kamen Monovetten<sup>®</sup> der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) zum Einsatz.

### **2.4.2.1. Erythropoetin**

Zur Bestimmung der Erythropoetin-Konzentration im Plasma wurde den Probanden an den Messzeitpunkten 4,5 ml venöses Blut mit Hilfe von Lithium-Heparin-Monovetten<sup>®</sup> der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) entnommen. Der Transport erfolgte eisgelagert in die Laborräumlichkeiten. Nach Umfüllen von 2 ml antikoaguliertem Vollblut in einen 3,5 ml BD Vacutainer<sup>®</sup> SST<sup>™</sup> II Advance der Firma Becton, Dickinson and Company (Franklin Lakes, New Jersey, USA) erfolgte eine fünfminütige Zentrifugation mit 3500 U/min. Im Anschluss wurden die Proben bei -80°C in aufrechter Position eingefroren. Die Analyse der Erythropoetin-Konzentration erfolgte am Kungliga Tekniska högskolan (KTH) in Schweden nach den Instruktionen des Herstellers mit einem Sandwich-Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay (Human Erythropoietin Quantikine IVD ELISA, R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA). Die optische Dichte wurde mit dem Mikroplattenleser SPECTRA<sub>MAX</sub>™ PLUS<sup>384</sup> (Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, California, USA) bei 450 nm bestimmt. Als Korrekturwellenlänge wurden 600 nm verwendet. Die Sensitivität liegt laut Herstellerangaben bei 0,6 mU/ml. Der geschätzte Intra- bzw. Inter-Assay Variationskoeffizient lag bei 2,2 %<sup>45</sup>. Die Referenzwerte der Erythropoetin-Konzentration bei gesunden Erwachsenen im Plasma liegen zwischen 3,1 und 14,9 mU/ml<sup>72</sup>.

### **2.4.2.2. (Differential-)Blutbild**

An den Messzeitpunkten erfolgte eine venöse Blutentnahme mit 2,7 ml EDTA-Monovetten<sup>®</sup> der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland). Diese wurden unmittelbar nach Abnahme in das Institut für klinische Chemie im benachbarten Krankenhaus Jesenice (Jesenice, Slowenien) transportiert. Die Analyse erfolgte innerhalb von 8 Stunden mit Hilfe der Durchflusszytometrie, Impedanzmessung sowie zytochemischen Untersuchungen (Pentra 120; Horiba ABX Diagnostics, Montpellier, Frankreich).

Folgende Parameter wurden erhoben: Leukozyten, Lymphozyten, Monozyten, Thrombozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC. Hinsichtlich der einzelnen Sensitivitäten sowie der Intra- bzw. Inter-Assay Variationskoeffizienten der unterschiedlichen Parameter sei auf die Betriebsanleitung des Herstellers verwiesen.

#### **2.4.2.3. Hämolyse-Evaluation**

Zur Quantifizierung einer möglichen Hämolyse-Reaktion wurde der Absorptionsgrad von freiem Hämoglobin im Plasma mit Hilfe eines Spektralphotometers gemessen. Zur Erstellung einer Standardkurve erfolgte hierzu vorab eine fünfminütige Zentrifugation von 2 ml Vollblut (abgenommen von einem gesunden freiwilligem Spender) bei 4000 U/min. Nach vorsichtiger Entfernung des Überstandes (Plasma) wurde dem verbleibenden Pellet zur Induktion der Hämolyse 1 ml Aqua destillata hinzugefügt und für 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneuter Zentrifugation für zehn Minuten bei 4000 U/min wurde der gewonnene Überstand (entsprechend eines 100 % Lysats) entnommen und das Pellet verworfen. Zur Herstellung einer Verdünnungsreihe folgte im Anschluss eine schrittweise Verdünnung des 100%igen Lysats mit „Hanks buffered salt solution (HBSS)“. Daraus resultierten hämolysierte Proben mit folgenden Konzentrationen: 2,5%, 1,0%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, 0,015625%, 0,0078125% und 0,00390625%. In einem letzten Schritt wurden nach erneuter zehnmütiger Zentrifugation bei 4000 U/min der Absorptionsgrad der Proben-Überstände mit Hilfe eines Spektralphotometers (Thermo Scientific™ Nano Drop 2000/2000c, Erlangen, Deutschland) bei 414 nm gemessen und eine Standardkurve erstellt. Zur Evaluation einer möglichen Hämolyse-Reaktion wurde den Probanden an den Messzeitpunkten venöses Blut mit Hilfe einer 2,7 ml EDTA-Monovette® der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) abgenommen, auf Eis gelagert und in die Laborräumlichkeiten transportiert. Nach fünfminütiger Zentrifugation bei 4000 U/min wurden 1000 µl des Überstandes in aufrechter Position bei -80°C eingefroren. Nach Abschluss der Studie wurden die Proben im Labor der Klinik für Anästhesiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München aufgetaut. Anschließend wurde der prozentuale Anteil der Hämolyse evaluiert, indem der Absorptionsgrad der Plasmaproben (1 µl) mit Hilfe des Spektralphotometers bei 414 nm gemessen und mit der vorab erstellten Standardkurve verglichen wurde.

### **2.4.3. Psychoneuroendokrines System**

Alle eingesetzten Fragebögen wurden über die Firma Beltz Testzentrale (European Test Publisher Group, Göttingen, Deutschland) bezogen und den Probanden zur Beantwortung in englischer Sprache elektronisch zur Verfügung gestellt.

#### **2.4.3.1. Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB)**

Zur Evaluierung des emotionalen Stresses wurde an den Messzeitpunkten jeweils morgens und abends der Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB) eingesetzt<sup>63</sup>. Es handelt sich um einen subjektiven Test, der aus sechs gegensätzlichen Adjektivpaaren besteht. Zwischen diesen mussten die Probanden auf einer sechsstufigen Likert-Skala ihre aktuelle Stimmung einordnen. Die Auswertung erfolgt durch Summation der Einzelwerte und anschließender Mittelwertbildung. Es kann eine Punktzahl zwischen 1 (keine psychische Belastung) und 6 (maximale psychische Belastung) erreicht werden. Normwerte erwachsener Testpersonen bewegen sich zwischen 2,4 und 2,8<sup>63</sup>. Mehrere Studien ergaben eine interne Konsistenz zwischen 0.8 und 0.82 sowie für den Retestkoeffizienten einen Mittelwert von 0.83<sup>6</sup>. Im Vergleich zum ebenfalls verwendeten STAI-Test zeigen sich vergleichbare Ergebnisse mit einer vorbeschriebenen Korrelation von 0.7 bis 0.9<sup>3, 91</sup>.

#### **2.4.3.2. State-Trait-Angstinventar (STAI)**

Das von Spielberger et al. entwickelte Angstinventar ist ein fest etablierter Bestandteil in der klinischen Forschung und Praxis<sup>88</sup>. Es unterscheidet zwischen Angst als Zustand (State) und Angst als Eigenschaft (Trait). Dabei beziehen sich zwanzig Items auf das je nach Situation variable, aktuelle Angstniveau zum Erhebungszeitpunkt. Weitere zwanzig Items dienen zur Erfassung einer konstanten Neigung zu Angstreaktionen bzw. des Vorhandenseins der Angst als Persönlichkeitsmerkmal. Hierbei ordneten die Probanden das Zutreffen der jeweiligen Aussage auf einer vierstufigen Skala ein. Für die jeweilige Angstskala (Zustand/Eigenschaft) kann eine Punktzahl zwischen 20 (keine Angst) und 80 (maximale Angst) erreicht werden. Normstichproben arbeitender Erwachsener und Studenten ergaben Mittelwerte zwischen 35.7 bis 36.5 (State) und 34.9. bis 38.3 (Trait) bei Männern bzw. 35.2 bis 38.8 (State) und 34.8 bis 40.4 (Trait) bei Frauen<sup>89</sup>.

Die interne Konsistenz beider Skalen des Angstinventars variiert zwischen 0.86 und 0.95. Der Retestkoeffizient liegt über einen Zeitraum von zwei Monaten zwischen 0.65 und 0.75<sup>89</sup>. Analog zu dem Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB) erfolgte die Testdurchführung an den jeweiligen Messzeitpunkten jeweils am Morgen und am Abend.

#### **2.4.3.3. Posttraumatische Stress Skala-10 (PTSS-10)**

Die posttraumatische Stress Skala-10 wurde, angelehnt an die Diagnosekriterien der Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (aktuell 5. Auflage) der American Psychiatric Association, zum Screening auf eine posttraumatische Belastungsstörung (PTBS) entwickelt<sup>73, 106</sup>. Die PTSS-10 ist in zwei Teile gegliedert. In Teil A kann das Auftreten von Schmerzen, Atemnot, Alpträumen und Angst innerhalb des letzten Monats mit „ja“ oder „nein“ beantwortet werden. In Teil B bewerten die Probanden das Vorhandensein verschiedener Symptome innerhalb der letzten sieben Tage auf einer Skala von 0 (nie) bis 6 (immer). Im Einzelnen besteht der Test aus zehn Items:

Schlafstörungen, Alpträume, Depressionen, Schreckhaftigkeit, das Bedürfnis sich von anderen zurückzuziehen, Gereiztheit, Stimmungsschwankungen, Selbstvorwürfe/ Schuldgefühle, Angst und Muskelverspannungen.

Dabei kann in Teil B ein Ergebnis zwischen 10 und 70 Punkten erreicht werden. Bei einer Gesamtsumme von mehr als 35 Punkten sind mit hoher Wahrscheinlichkeit die Diagnosekriterien einer posttraumatischen Belastungsstörung erfüllt<sup>92</sup>. Der PTSS-10 zeigt eine hohe interne Konsistenz (Cronbach's  $\alpha = 0.93$ ) und Retest-Reliabilität (0.89)<sup>92</sup>. Beide Teile wurden jeweils an den Zeitpunkten BDC 2 und R 4 beantwortet um eine mögliche Belastungsstörung vor bzw. nach den Interventionen aufzudecken.

#### **2.4.3.4. Cortisol**

Zur Bestimmung des freien Cortisols im Speichel wurden Salivetten<sup>®</sup> der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) verwendet. Hierbei mussten die Probanden für 30 bis 45 Sek. einen Wattetupfer im Mund behalten und kauen. Um Verdünnungseffekte oder Kontaminationen zu vermeiden, waren Nahrungs- bzw. Flüssigkeitsaufnahme sowie Zähneputzen eine Stunde vor Abnahme untersagt. Zur Abbildung der zirkadianen Cortisolausschüttung erfolgte die Abnahme jeweils

zwischen 7:00 – 7:30 Uhr (nüchterne, liegende Probanden, direkt nach dem Erwachen) und 20:00 – 20:30 Uhr (je nach Zeitpunkt/Intervention: sitzend oder liegend). Die Proben wurden im Anschluss bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren und bis zum Ende der Kampagne vor Ort gelagert.

Die Messung erfolgte anschließend am Institut für klinische Chemie des Universitätsklinikums Großhadern (München, Deutschland) mit Hilfe eines Elektrochemilumineszenz-Immunoassays (ECLIA, Elecsys 2010, Roche, Mannheim, Germany). Die Referenzwerte der Cortisol-Konzentration bei gesunden Erwachsenen im Speichel liegen - laut Herstellerangaben - morgens bei weniger als  $0,87\ \mu\text{g}/\text{dl}$ , abends bei weniger als  $0,35\ \mu\text{g}/\text{dl}$ . Nach den Herstellerangaben beträgt bei Konzentrationen zwischen  $0,007$  und  $0,972\ \mu\text{g}/\text{dl}$  der Intra-Assay Variationskoeffizient zwischen  $1,5$  und  $5,4\ \%$ , der Inter-Assay Variationskoeffizient bei Konzentrationen zwischen  $0,013$  und  $1,17\ \mu\text{g}/\text{dl}$  zwischen  $1,9$  und  $10,1\ \%$ . Die Sensitivität lag bei  $0,018\ \mu\text{g}/\text{dL}$ .

#### **2.4.3.5. Katecholamine (Adrenalin, Noradrenalin)**

Zur Ermittlung der Katecholamin-Konzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin wurde an den Messzeitpunkten zweimal täglich für jeweils 12 Stunden (Tag: 7 – 19 Uhr; Nacht: 19 – 7 Uhr) Urin in einem lichtgeschützten Behältnis gesammelt. Im Anschluss wurden mit einer Urin-Monovette<sup>®</sup> der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) 10 ml Proben entnommen und bis zur späteren Auswertung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Die Analyse erfolgte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit elektrochemischer Detektion (Chromosystems, Gräfelfing, Deutschland) im Institut für klinische Chemie des Universitätsklinikums Großhadern (München, Deutschland). Nach Herstellerangaben und den Messungen des Instituts für klinische Chemie beträgt der Intra-Assay Variationskoeffizient weniger als  $2,7\ \%$ , der Inter-Assay Variationskoeffizient weniger als  $4,1\ \%$ . Die Sensitivität lag bei  $3\ \mu\text{g}/\text{dL}$ . Zur Ermittlung der Ausscheidung pro 12 Stunden wurden die auf einen Liter bezogenen Konzentrationen mit der Sammelmenge multipliziert.

## 2.5. Statistische Analyse

Die deskriptive und vergleichende Statistik erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 23.0 (IBM, Armonk, New York, USA). Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test. Um eine annähernde Normalverteilung zu erhalten, wurde auf die nicht normalverteilte Stichprobe eine Box-Cox-Transformation angewendet. Zur Abschätzung des Zusammenhangs zwischen den verschiedenen Interventionen und Zeitpunkten während derselben Kampagne wurde das gemischte lineare Regressionsmodell angewendet. Das gemischte lineare Regressionsmodell wird bevorzugt in Longitudinalstudien verwendet, bei welchen in bestimmten zeitlichen Abständen wiederholte Messungen an denselben Probanden unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt werden. Dabei wurden die Kampagne, die Abfolge der Kampagnen, potentielle Carry-Over-Effekte der vorangegangenen Kampagne, Zeitpunkt der jeweiligen Kampagne und die Interaktion zwischen Intervention und Zeitpunkt als feste Effekte einbezogen. Unter der Verwendung einer Kovarianzmatrix mit Varianzkomponenten-Struktur wurden Probanden und Carry-Over-Effekte als zufällige Effekte einbezogen. Auf Grund des explorativen Charakters unserer Analysen erfolgte keine Korrektur für multiples Testen. Die Daten in den Tabellen sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (SD) dargestellt. Aus Anschauungsgründen sind die Werte in den Diagrammen als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM = engl. standard error of the mean) abgebildet. Im Fließtext sind die Mittelwerte zusammen mit der Standardabweichung angegeben. Als signifikant wurden Ergebnisse mit einem  $p < 0,05$  gewertet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Probandencharakteristik

Nach medizinischen und psychologischen Eingangsuntersuchungen wurden aus initial 65 Bewerbern vierzehn gesunde männliche Probanden für die Teilnahme an der PlanHab-Studie ausgewählt. Gemäß dem Cross-Over Studiendesign durchliefen die Probanden zwischen Oktober 2012 und Oktober 2013 in unterschiedlicher Reihenfolge die Interventionen HAMB (Hypoxie ohne Bettruhe), HBR (hypoxische Bettruhe) und NBR (normoxische Bettruhe). Drei Studienteilnehmer schieden aus persönlichen oder gesundheitlichen Gründen vor ihrer Teilnahme an der letzten Kampagne aus. Auf Grund finanzieller Beschränkungen konnte HAMB nicht durch eine vierte Gruppe (mobile Probanden unter Normoxie) kontrolliert werden. Deshalb wurde die HAMB Intervention im Rahmen dieser Arbeit von den Analysen ausgeschlossen und der Fokus lag auf dem Vergleich zwischen hypoxischer und normoxischer Bettruhe, da diese auch am ehesten die Umweltbedingungen zukünftiger Habitats repräsentieren.

**Tabelle 4: Probandencharakteristik**

Probanden (n)	Alter (Jahre)	Körpergröße (m)	Gewicht (kg)	Body-Mass-Index (kg/m <sup>2</sup> )
14	26,4 ± 5,2	1,80 ± 0,05	75,9 ± 10,6	23,5 ± 2,8

## 3.2. Purinerges System

### 3.2.1. Adenosin

In beiden Bettruhe-Interventionen kam es zu einem signifikanten Anstieg der Adenosin-Konzentration gegenüber den Ausgangswerten mit Maximalwerten zwischen Zeitpunkt (ZP) 14 und 21. Die höchste Konzentration von Adenosin fand sich mit  $235 \pm 126$  nmol/l in der HBR-Gruppe an Zeitpunkt 21. Nach dem Ende der Bettruhephase imponierten in beiden Gruppen im Vergleich zu den Ausgangswerten (BDC) weiterhin erhöhte Adenosin-Konzentrationen mit dem Nachweis statistischer Signifikanz zum Zeitpunkt R 2 in der NBR-Gruppe.

Über den gesamten Beobachtungszeitraum konnten unter hypoxischen Bedingungen (HBR) tendenziell höhere Adenosin-Plasmakonzentrationen als unter Normoxie (NBR) gemessen werden. Ein signifikanter Unterschied konnte im Intergruppenvergleich für den Zeitpunkt 5 und 21 belegt werden.

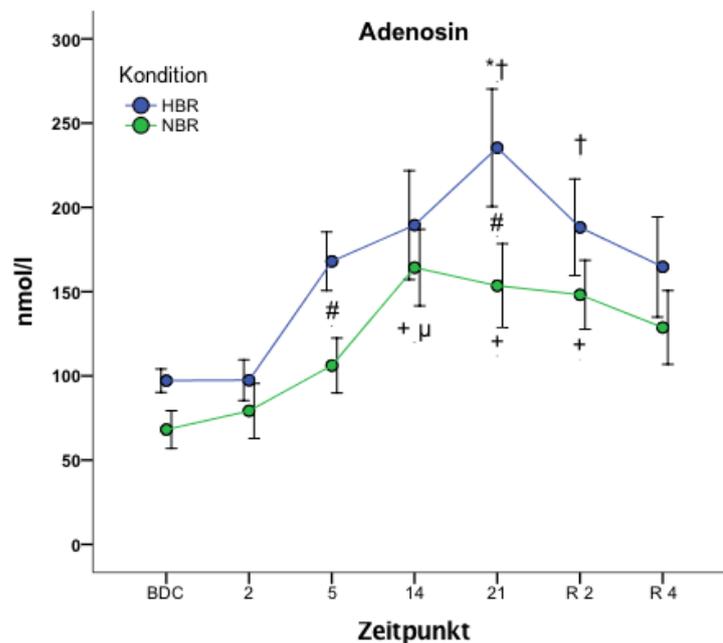


Abbildung 9: Adenosin-Konzentration im Plasma; Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten = nmol/l; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen HBR und NBR; \* / † = Signifikanter Unterschied in der HBR/NBR-Gruppe zwischen jeweiligem Zeitpunkt und Baseline-Daten (BDC);  $\mu$  = Signifikanter Unterschied der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und Zeitpunkt 14; † = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und den Zeitpunkten 21 und R 2

### 3.2.2. Inosin

Analog zur Adenosin-Konzentration zeigten sich während beider Bettruhe-Interventionen signifikante Anstiege der Inosin-Konzentration mit Maximalwerten am Zeitpunkt 21. Bezogen auf die Ausgangswerte (BDC) konnten für die ZP 14, 21, R 2, R 4 (HBR) bzw. ZP 21, R2, R4 (NBR) signifikant höhere Konzentrationen gemessen werden. Erneut waren innerhalb der HBR-Gruppe höhere Werte als in der NBR-Gruppe festzustellen. Im Intergruppenvergleich ließ sich hier für den Zeitpunkt 21 und den Zeitpunkt R4 ein statistisch signifikanter Unterschied belegen.

Während der Erholungsphase fielen in beiden Gruppen die Werte ab, waren jedoch weiterhin gegenüber den Ausgangswerten signifikant erhöht.

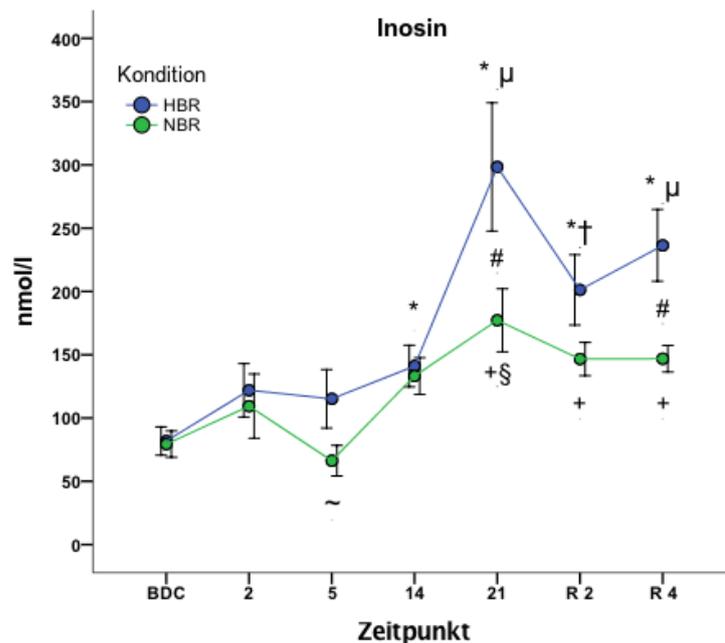


Abbildung 10: Inosin-Konzentration im Plasma; Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten = nmol/l; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen HBR und NBR; \* / + = Signifikanter Unterschied in der HBR/NBR-Gruppe zwischen jeweiligem Zeitpunkt und Baseline-Daten (BDC);  $\mu$  = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen den Zeitpunkten 21 und R 4 und den Zeitpunkten 2, 5 und 14; † = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt R 2 und den Zeitpunkten 2 und 5; ~ = Signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 5 und den Zeitpunkten 14, 21, R 2 und R 4; § = Signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und Zeitpunkt 21

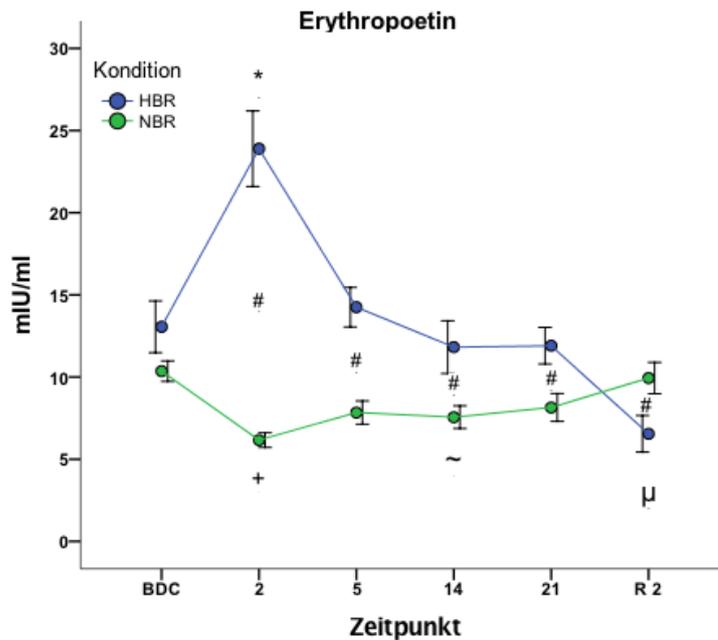
### **3.3. Hämatologisches System**

#### **3.3.1. Erythropoetin**

Erwartungsgemäß wurden die höchsten Konzentrationen zu Beginn der hypoxischen Bettruhephase am Zeitpunkt 2 (HBR:  $23,89 \pm 7,64$  mU/ml) beobachtet, gefolgt von einem raschen Rückgang auf die Ausgangswerte (BDC). Nach Ende der Intervention (R 2) konnten in der HBR-Gruppe signifikant niedrigere EPO-Werte gegenüber allen anderen Zeitpunkten, insbesondere auch gegenüber den Ausgangswerten (BDC) nachgewiesen werden.

Im Gegensatz dazu imponierte unmittelbar nach Beginn der NBR-Intervention an ZP 2 eine Reduktion der EPO-Konzentration um ca. 39 % (Einzelwerte in dieser Arbeit nicht abgebildet). Eine Suppression der EPO-Ausschüttung nach Beendigung der normoxischen Bettruhe konnte im Vergleich zur HBR-Intervention nicht festgestellt werden.

Im Intergruppenvergleich fanden sich unter hypoxischen Bedingungen während der gesamten Dauer der Intervention signifikant höhere Erythropoetin-Konzentrationen als in der NBR-Gruppe. In der anschließenden Erholungsphase zeigten sich unter Berücksichtigung des ausgeprägten EPO-Abfalls der HBR-Gruppe signifikant höhere EPO-Spiegel in der NBR-Gruppe.



**Abbildung 11: Erythropoetin-Konzentration im Plasma; Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten = mIU/ml; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2 = 2 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied zwischen HBR und NBR; \* = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und den Zeitpunkten BDC, 5, 14, 21, R2;  $\mu$  = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen R 2 und den Zeitpunkten BDC, 2, 5, 14, 21; + = Signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und den Zeitpunkten BDC und R2; ~ = Signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt BDC und Zeitpunkt 14**

### 3.3.2. (Differential-)Blutbild

Mit Beginn der Bettruhephasen (ZP 2) kam es in beiden Gruppen zu einem signifikanten Anstieg der Erythrozytenzahlen, der Hämoglobin-Konzentration und des Hämatokrits im Sinne einer Hämokonzentration. Im weiteren Verlauf der NBR-Intervention waren die Werte annähernd konstant. Im Gegensatz dazu erfolgte in der HBR-Gruppe ein weiterer signifikanter Anstieg der drei Parameter bis zu einem Maximum an Zeitpunkt 14.

Im Intergruppenvergleich zeigten sich signifikante Unterschiede an den ZP 14 und 21 mit höheren gemessenen Werten (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit) in der HBR-Intervention. Nach Beendigung der Bettruhephasen folgte in beiden Gruppen ein Abfall der drei Parameter, teilweise unterhalb der Ausgangswerte (Abb. 12/13).

Unter Hypoxie kam es zu einem signifikanten Anstieg der Retikulozytenzahlen mit Maximalwerten an Zeitpunkt 5. Auch unter Normoxie konnte ein signifikanter Peak der Retikulozytenzahlen zum Zeitpunkt 5 beobachtet werden. In der HBR-Gruppe fanden sich während der gesamten Interventionsdauer (mit Ausnahme von ZP 2) und während der Erholungsphase (R 2, R 4) signifikant höhere Werte als in der NBR-Gruppe.

Eine ausführliche Tabelle der gemessenen Werte (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozyten, Retikulozyten, Differentialblutbild) ist im Anhang zu finden.

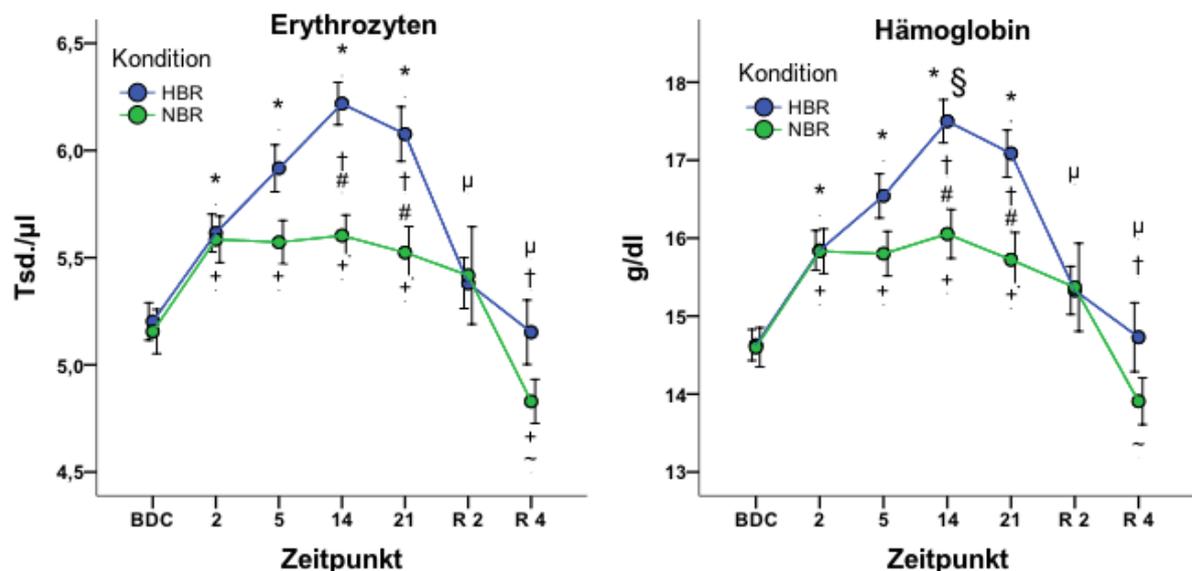


Abbildung 12: Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten = Tsd./ $\mu$ l (Erythrozyten) bzw. g/dl (Hämoglobin); HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied zwischen HBR und NBR; \* / + = Signifikanter Unterschied in der HBR/NBR- Gruppe zwischen jeweiligem Zeitpunkt und Baseline-Daten (BDC); ~ = Signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt R 4 und den Zeitpunkten 2, 5, 14, 21 und R 2;  $\mu$  = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen den Zeitpunkten R 2/4 und den Zeitpunkten 5, 14 und 21; † = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und den Zeitpunkten 14, 21, R 4; § = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 5 und Zeitpunkt 14

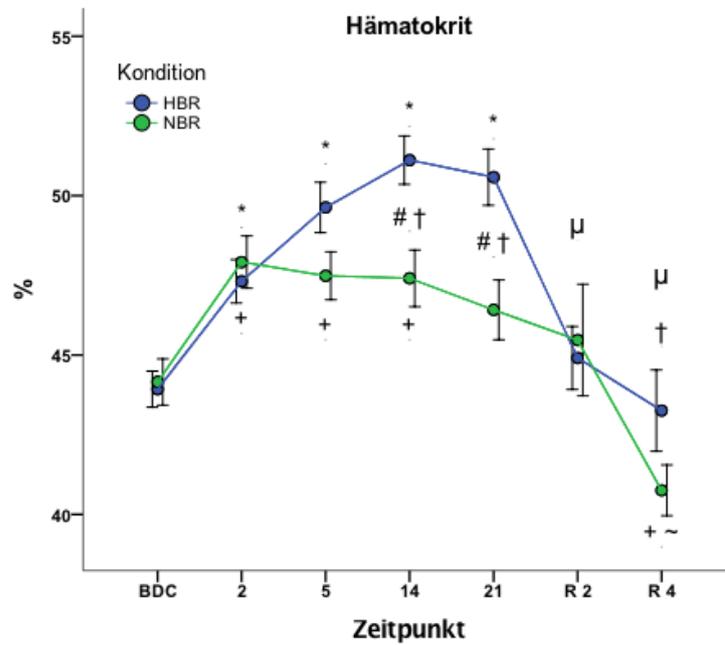


Abbildung 13: Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheit = %; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied zwischen HBR und NBR; \* / + = Signifikanter Unterschied in der HBR/NBR- Gruppe zwischen jeweiligem Zeitpunkt und Baseline-Daten (BDC);  $\mu$  = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen den Zeitpunkten R 2/4 und den Zeitpunkten 5, 14 und 21; † = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und den Zeitpunkten 14, 21, R 4; ~ = Signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt R 4 und den Zeitpunkten 2, 5, 14, 21 und R 2

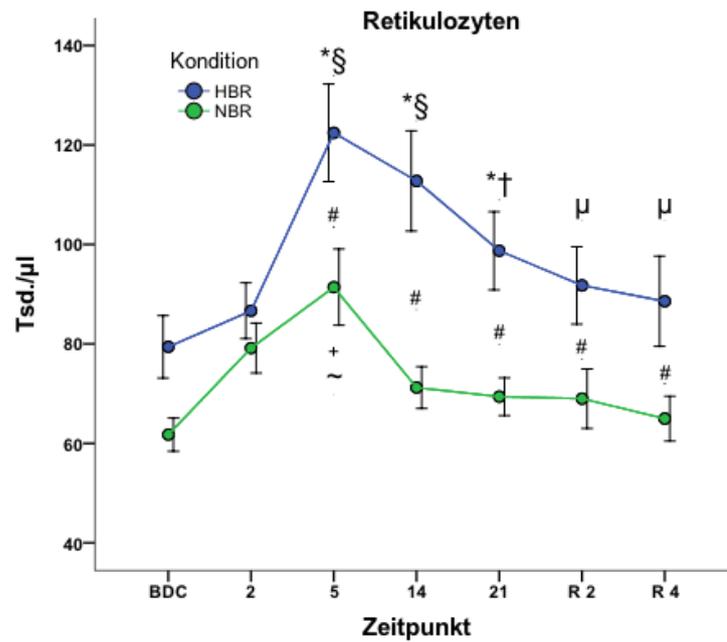


Abbildung 14: Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten = Tsd./ $\mu$ l; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied zwischen HBR und NBR; \* / + = Signifikanter Unterschied in der HBR/NBR- Gruppe zwischen jeweiligem Zeitpunkt und Baseline-Daten (BDC); ~ = Signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 5 und den Zeitpunkten 14, 21, R 2 und R 4;  $\mu$  = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen den Zeitpunkten R 2/4 und den Zeitpunkten 5 und 14;  $\S$  = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 2 und den Zeitpunkt 5 und 14; † = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 5 und Zeitpunkt 21

### 3.3.3. Hämolyse-Evaluation

Es fand sich während der Intervention eine signifikant höhere Hämolyserate unter hypoxischen Bedingungen (HBR) als unter Normoxie (NBR). Diese normalisierte sich bereits in der frühen Erholungsphase und näherte sich wieder den Ausgangswerten an. Innerhalb der NBR-Gruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die einzelnen Messzeitpunkte.

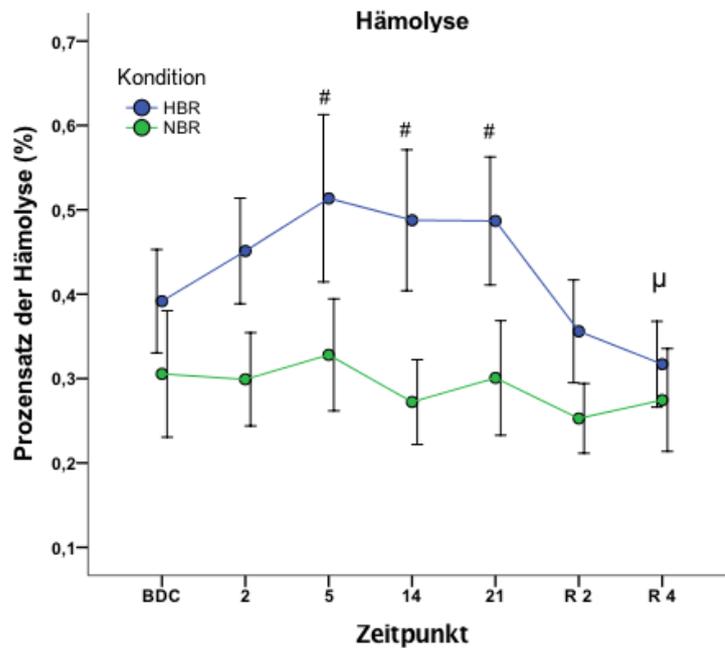


Abbildung 15: Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheit = %; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied zwischen HBR und NBR;  $\mu$  = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen den Zeitpunkt R 4 und Zeitpunkt 5

### 3.4. Psychoneuroendokrines System

#### 3.4.1. Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB)

Die Auswertung des Kurzfragebogens zur aktuellen Beanspruchung ergab keine Hinweise auf relevant erhöhte psychische Stresspegel innerhalb der beiden Bettruhegruppen (HBR und NBR). Die Punktezahlen bewegten sich während des Beobachtungszeitraums innerhalb der Normwerte (2,4 – 2,8) mit nur geringfügigen Änderungen zwischen Morgen- und Abendwerten. Mit Beginn der Bettruhephasen zeigten sich unter hypoxischen Bedingungen tendenziell höhere Werte im Vergleich zu normoxischen Bedingungen. Diese waren am Abend ausgeprägter als am Morgen. Ein einmaliger statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (HBR/NBR) konnte am Zeitpunkt (ZP) 5 während der morgendlichen ( $2,47 \pm 1,27/1,78 \pm 0,86$ ;  $p = 0,046$ ) und abendlichen ( $2,64 \pm 1,42/1,73 \pm 0,72$ ;  $p = 0,018$ ) Messung nachgewiesen werden.

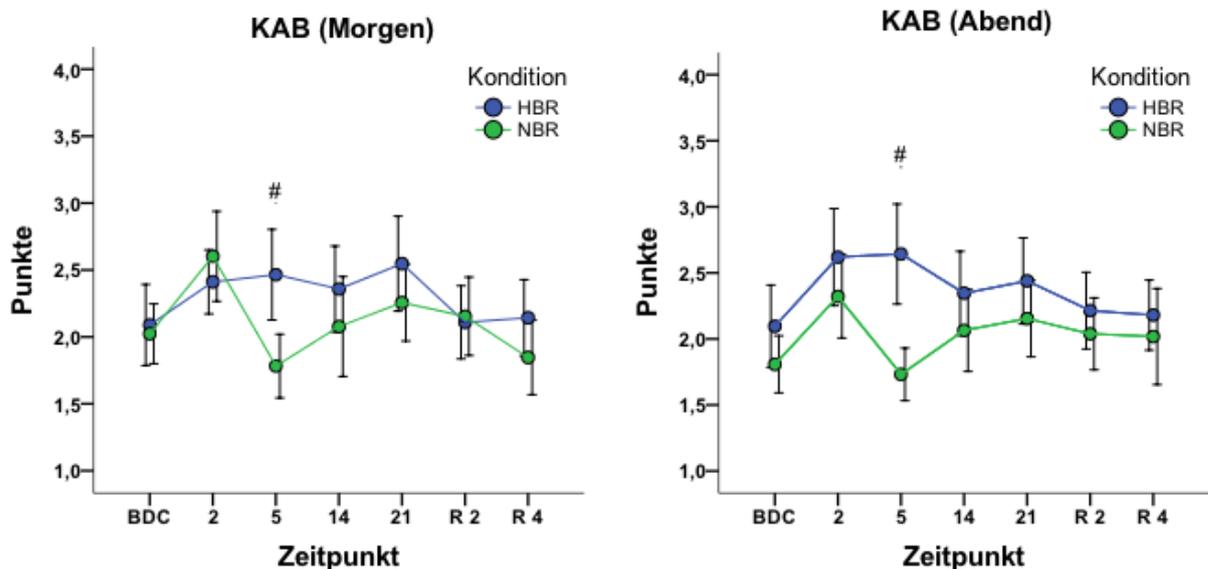


Abbildung 16: Kurzfragen zur aktuellen Belastung (KAB); Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten = Punkte; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline- Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; # = Signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen HBR und NBR

### 3.4.2. State-Trait-Angstinventar (STAI)

Betrachtet man die Resultate des STAI wurden die Schwellenwerte (State:  $36,83 \pm 9,82$ ; Trait:  $34,45 \pm 8,83$ ), die auf psychisches Ungleichgewicht bzw. Angst hinweisen, während des Beobachtungszeitraums in beiden Gruppen nicht überschritten<sup>48</sup>. Hinsichtlich der Angst als aktuellen Zustand (State) zeigten sich, wie schon im Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung, tendenziell höhere Werte in der HBR-Gruppe als in der NBR-Gruppe. Diese Unterschiede waren zu keinem Zeitpunkt signifikant. Vergleicht man die Mittelwerte der beiden Gruppen hinsichtlich der Angst als Eigenschaft (Trait) zeigte sich ebenfalls ein biphasischer, jedoch nicht signifikanter Verlauf.

**Tabelle 5: State-Trait-Angstinventar (STAI)**

		BDC	2	5	14	21	R 2	R 4
<b>STAI</b>	HBR	$33,07 \pm 9,23$	$36,36 \pm 12,45$	$35,5 \pm 9,01$	$36,21 \pm 10,53$	$36,21 \pm 11,74$	$35,64 \pm 11,24$	$30,36 \pm 6,21$
	NBR	$30,54 \pm 8,05$	$32,69 \pm 10,34$	$29,92 \pm 7,58$	$31,62 \pm 9,62$	$33,38 \pm 10,82$	$33,85 \pm 11,21$	$32,46 \pm 11,2$
<b>STAI</b>	HBR	$33,14 \pm 5,29$	$35,29 \pm ,56$	$35,43 \pm 7,15$	$33,64 \pm 6,5$	$34,14 \pm 5,04$	$35,36 \pm 7,59$	$32,64 \pm 5,49$
	NBR	$33,23 \pm 6,66$	$31,77 \pm 4,97$	$32,62 \pm 4,99$	$35,46 \pm 6,35$	$35,15 \pm 6,52$	$34,92 \pm 8,38$	$34,15 \pm 8,5$

Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (SD); Einheiten = Punkte; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention

### 3.4.3. Posttraumatische Stress Skala-10 (PTSS-10)

Nach Auswertung der Ergebnisse der PTSS-10 konnten in der HBR-Gruppe sowohl in Teil A für das Item „Angst“ als auch in Teil B signifikant höhere Testergebnisse ( $p = 0,031$  bzw.  $p = 0,045$ ) nach Beendigung der Intervention (Zeitpunkt R 4) in Bezug auf die Baseline-Daten festgestellt werden. Zwischen den beiden Bettruhegruppen fanden sich keine statistisch relevanten Unterschiede. Auffallend waren auch hier wieder die tendenziell höheren Werte der HBR-Gruppe im Vergleich zur NBR-Gruppe.

In beiden Gruppen ergaben sich unter Berücksichtigung des Gesamt-Scores keine Hinweise auf die Entwicklung einer posttraumatischen Belastungsstörung.

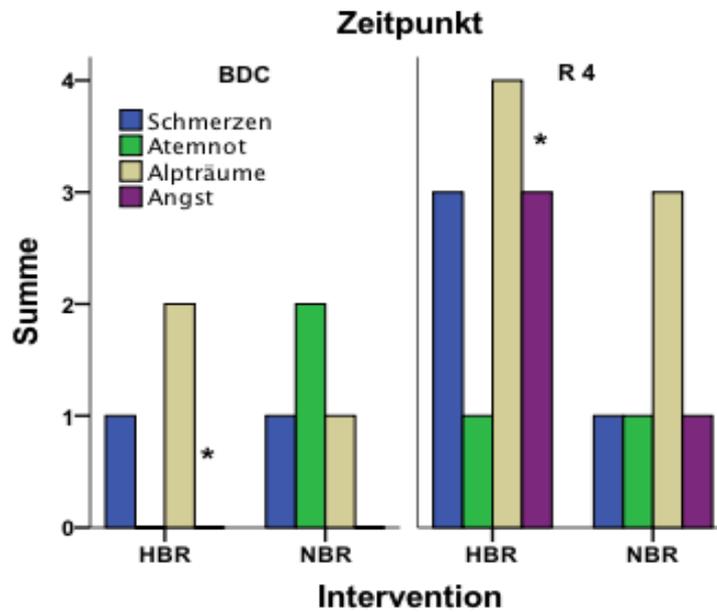


Abbildung 17: Posttraumatische Stress Skala-10 (PTSS-10) Teil A; Summe = Anzahl der Probanden (n = 14); HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 4 = 4 Tage nach Ende der Intervention; \* = signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt BDC und Zeitpunkt R 4

Tabelle 6: Posttraumatische Stress Skala-10 (PTSS-10) Teil B

		BDC	R 4
PTSS-10 Teil B	HBR	15,5 ± 3,82	18,71 ± 7,62 *
	NBR	14,77 ± 4,57	16,54 ± 7,4

Mittelwerte ± Standardabweichung (SD); Einheiten = Punkte; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 4 = 4 Tage nach Ende der Intervention; \* = Signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen ZP R 4 und Baseline-Daten (BDC)

### 3.4.4. Cortisol

Das freie Cortisol im Speichel der Probanden bewegte sich am Morgen und Abend innerhalb der Referenzwerte (morgens/abends: < 0,87/0,35 µg/dl). In beiden Gruppen scheinen die initial (BDC) gemessenen Cortisol-Konzentrationen mit Beginn der Intervention leicht abzufallen. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang konnte weder in Bezug auf die Intervention (HBR, NBR) noch den Zeitpunkt gefunden werden.

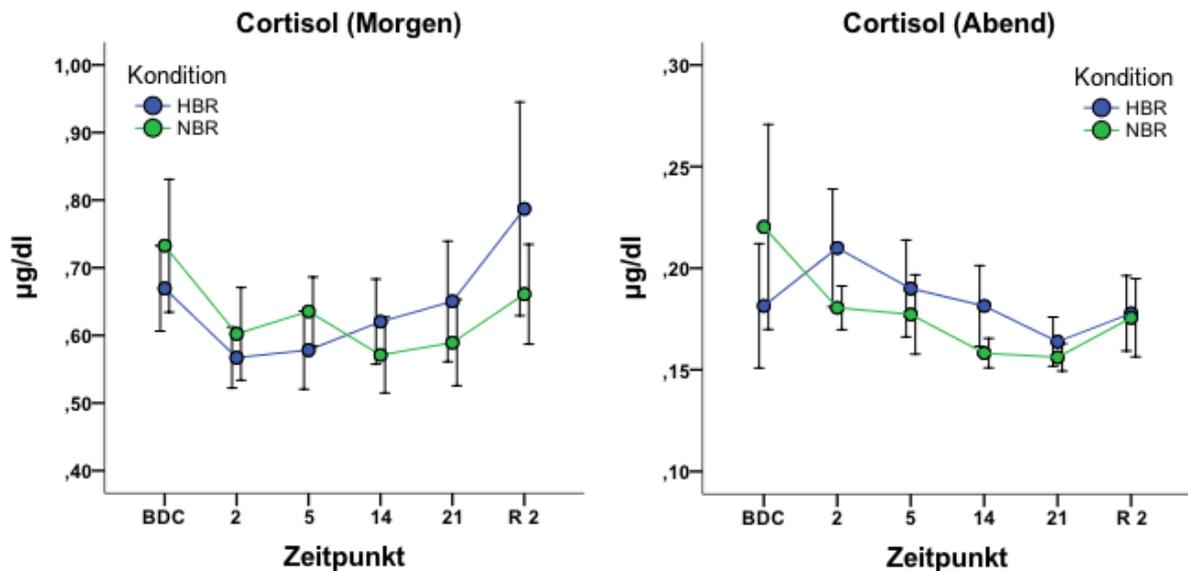


Abbildung 18: Freie Cortisol-Konzentration im Speichel; Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten = µg/dl; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline- Daten, R 2 = 2 Tage nach Ende der Intervention

### 3.4.5. Katecholamine

Die Katecholamin-Konzentrationen bewegten sich über den gesamten Beobachtungszeitraum innerhalb der Referenzwerte (Adrenalin < 20 µg/24h; Noradrenalin < 100 µg/24h<sup>76</sup>) und variierten nur geringfügig zwischen HBR und NBR. Es imponierten tendenziell höhere Noradrenalin-Konzentrationen in der HBR-Gruppe als in der NBR-Gruppe ohne Nachweis statistischer Signifikanz. Demgegenüber fand sich in beiden BR-Gruppen im gesamten Tagesprofil (Morgen/Abend) ein signifikanter Abfall der Noradrenalin-Konzentration an Zeitpunkt 14 gegenüber den Zeitpunkten BDC, 2, 4 und einem anschließenden signifikanten Anstieg an ZP R 2 gegenüber ZP 14.

Darüber hinaus konnten in der NBR-Gruppe (Noradrenalin Tag) zwischen Zeitpunkt 21 und Zeitpunkt R 2 sowie in der HBR-Gruppe (Noradrenalin Nacht) zwischen Zeitpunkt 14 und Zeitpunkt 21 signifikante Anstiege verzeichnet werden.

Betrachtet man die Liniendiagramme der gemessenen Adrenalinwerte, so ist ein nahezu identischer Verlauf der beiden Kurven festzustellen ohne signifikante Veränderungen hinsichtlich der Intervention oder des Zeitpunkts.

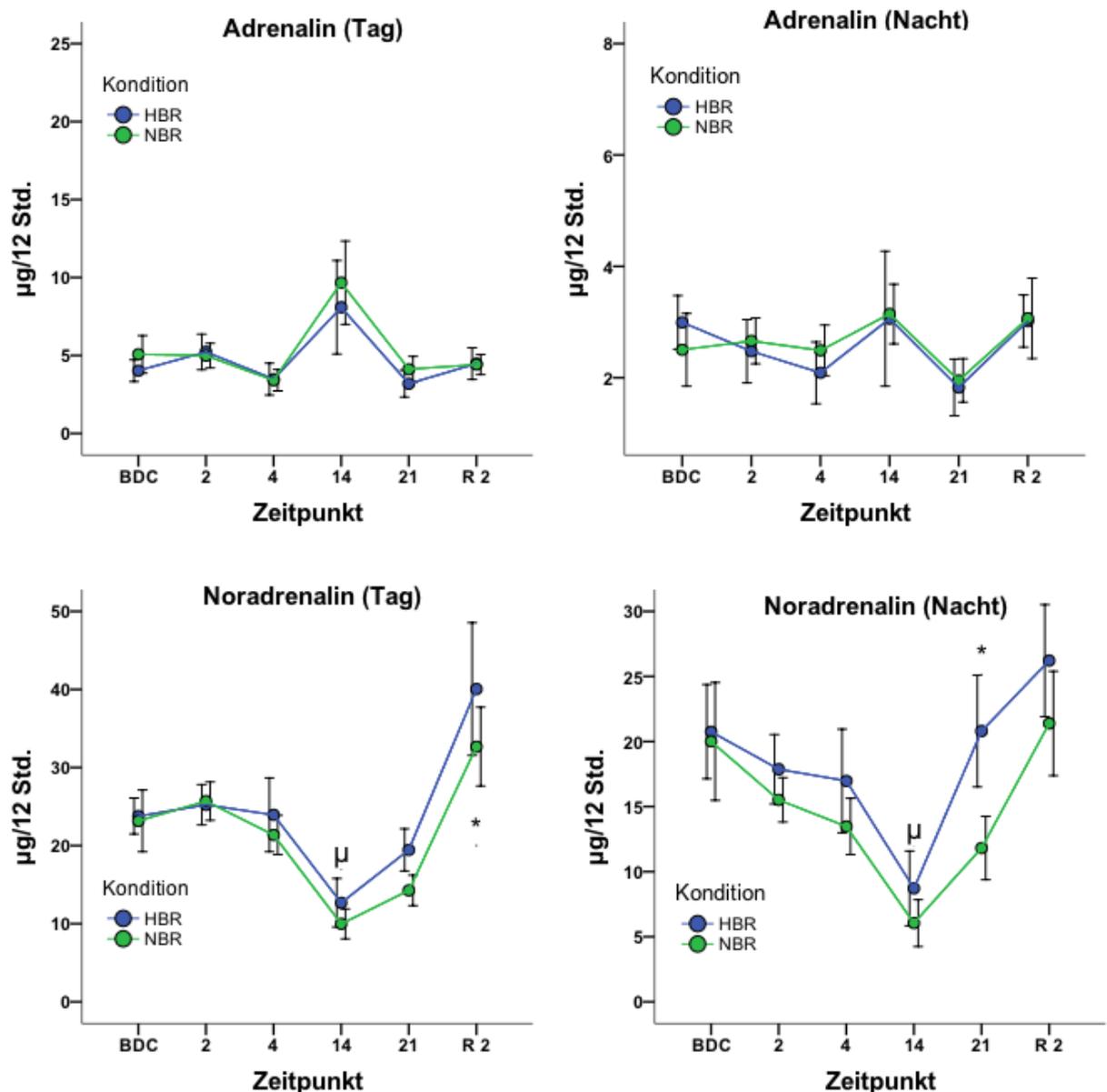


Abbildung 19: Katecholamin-Konzentrationen im Urin; Tag: 7:00-19:00 Uhr, Nacht: 19:00-7:00 Uhr; Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM); Einheiten =  $\mu\text{g}/12$  Stunden; HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2 = 2 Tage nach Ende der Intervention;  $\mu$  = Signifikanter Unterschied in der HBR/NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 14 und den Zeitpunkten BDC, 2, 4, R 2; Noradrenalin (Tag): \* = signifikanter Unterschied in der NBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 21 und Zeitpunkt R 2; Noradrenalin (Nacht): \* = signifikanter Unterschied in der HBR-Gruppe zwischen Zeitpunkt 14 und Zeitpunkt 21

## 4. Diskussion

### 4.1. Wechselwirkungen des purinergen und hämatologischen System

Die vorliegende Arbeit befasste sich mit den Auswirkungen von (normobarer) Hypoxie und simulierter Schwerelosigkeit (Bettruhe) auf das purinerge, hämatologische und psychoneuroendokrine System. Nach Auswertung der Daten bestätigte sich unsere Hypothese, dass Hypoxie und simulierte Schwerelosigkeit (Bettruhe) die Adenosin-Kinetik beeinflussen. So konnten wir zeigen, dass hypoxische Bettruhe zu einer signifikanten Erhöhung der extrazellulären Adenosin-Konzentration führt. Interessanterweise war auch unter normoxischen Bedingungen eine erhöhte Adenosin-Freisetzung zu verzeichnen, wenn auch geringer ausgeprägt als unter Hypoxie.

Über mehrere Mechanismen führt Gewebhypoxie zu einer direkten oder indirekten Freisetzung von Adenosin (s. Einleitung). Eine vermehrte ATP-Freisetzung mit der Folge einer extrazellulären Adenosin-Akkumulation durch Phosphohydrolyse konnte auch im Rahmen einer Hyperkapnie oder als Reaktion auf eine Zelldeformation beobachtet werden<sup>4, 26</sup>. Neben diesen spezifischen Freisetzungsmechanismen scheint auch ein direkter Zelluntergang im Sinne einer intravaskulären Hämolyse für eine extrazelluläre Anreicherung von Adenosin-Verbindungen verantwortlich zu sein<sup>57</sup>. Sikora et al. stellten nach *in vitro* Versuchen die Hypothese auf, dass alleine eine intravaskuläre Hämolyse für die extrazelluläre ATP-Akkumulation verantwortlich sei. Die bisher propagierten spezifischen Freisetzungsmechanismen, wie Hypoxie, Hyperkapnie, Scherkräfte etc., würden lediglich eine Hämolyse induzieren und keine selektive ATP-Freisetzung aus Erythrozyten bewirken<sup>83</sup>.

Vor diesem Hintergrund untersuchten wir inwiefern eine Hämolyse in unserer Studie eine mögliche Ursache für die erhöhten Adenosinspiegel darstellte. Wir stellten signifikant höhere Hämolyseraten unter hypoxischen im Vergleich zu normoxischen Bedingungen fest. Diese normalisierten sich bereits in der frühen Erholungsphase (R) und näherten sich wieder den Ausgangswerten. Als Ursache vermuteten wir eine Induktion der Neozytolyse unter Hypoxie. Wir untersuchten daher i) die Erythropoetin-Konzentration im Plasma sowie ii) die Retikulozytenzahl im Serum und deren wechselseitige Zusammenhänge in den beiden Interventionen.

Die EPO-Konzentration in der HBR-Gruppe stieg bereits zu Beginn signifikant an mit entsprechend höchsten Retikulozytenzahlen ( $122,43 \pm 36,67 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) an dem auf die maximale EPO-Konzentration folgenden Messzeitpunkt (ZP 5).

Unter Berücksichtigung der Reifungszeit von Retikulozyten im peripheren Blut, konnten wir die höchsten Hämoglobin-Konzentrationen ( $17,5 \pm 1,03$  g/dl) bzw. Erythrozytenzahlen ( $6,22 \pm 0,37$  Mio./ $\mu$ l) vierzehn Tage nach Beginn der hypoxischen Bettruhe beobachten. Diese Veränderungen standen in positiver Korrelation zur erhöhten Hämolyserate unter hypoxischer Bettruhe (HBR).

Zudem zeigten Feuerecker et al., dass prolongierte Bettruhe durch Flüssigkeitsumverteilungen und damit verbundene Scherkräfte ein Ablösen von Adhäsionsmolekülen bewirkt<sup>27</sup>. Sollten sich diese Scherkräfte auch auf Erythrozyten auswirken, könnte dies die nachfolgende Hämolyse und den extrazellulären Adenosin-Anstieg erklären. Dies erscheint umso wahrscheinlicher, da Hypoxie Erythrozyten in ihrer Dehnbarkeit herabsetzt und ihre Anfälligkeit für Zellschäden ansteigen lässt<sup>59, 81</sup>. Während P1a nH ab waren Flüssigkeitsverschiebungen am auffälligsten unter der hypoxischen Bettruhe, so dass diese Hypothese unterstützt wird (Ergebnisse durch die Studienpartner Keramidas et al. veröffentlicht<sup>45</sup>).

Betrachtet man nun die Veränderungen unter normoxischer Bettruhe (NBR), fällt auf, dass auch hierunter die extrazelluläre Adenosinkonzentration anstieg, allerdings ohne eine damit einhergehende gesteigerte Hämolyse als mögliche Erklärung. Möglicherweise war die Sensitivität der von uns verwendeten Messmethode zur Hämolysebestimmung nicht hoch genug, um den Grad der Hämolyse linear zu quantifizieren und abzubilden. Sie wird aber durch einen Retikulozytenanstieg, der auch unter normoxischer Bettruhe nachzuweisen war, unterstützt.

Dieser Retikulozytenanstieg scheint hier jedoch hauptsächlich ein Hämokonzentrations-Effekt bei initialer Reduktion des Plasmavolumens, als eine Folge einer gesteigerten EPO-Produktion, zu sein. Betrachtet man diese nämlich unter normoxischer Bettruhe, so fällt zu Beginn der Intervention zunächst eine EPO-Suppression auf. Dieses Ergebnis steht jedoch nicht im Widerspruch zu einer gesteigerten (und nicht ausreichend durch unsere Methode detektierten) Hämolyse, denn wie in der Einleitung erwähnt, zeigten schon frühere Studien denselben Effekt. Auch hier wurde die Vermutung einer durch reaktiv-erniedrigte EPO-Spiegel (bei zentraler Hypervolämie) induzierten Neozytolyse nahegelegt<sup>18, 36, 74</sup>. Somit scheint eine Neozytolyse unter diesen Bedingungen sowohl bei erhöhten als auch bei erniedrigten EPO-Spiegeln aufzutreten.

Des Weiteren interessierte uns inwiefern die durch Bettruhe induzierte Inaktivität das Verhältnis der Zusammensetzung der Körpermasse (Fett/Muskelmasse) beeinflusst und damit eventuell auch Veränderungen im purinergen System hervorruft.

In zahlreichen Studien, die sich mit den Folgen von körperlichem Training auf die oxidative Muskelkapazität befassen, zeigen sich widersprüchliche Ergebnisse betreffend Beeinflussung der extrazellulären ATP-Konzentration<sup>33, 39</sup>. Die Auswirkungen körperlicher Inaktivität auf das purinerge System sind hingegen bislang nur wenig untersucht.<sup>35</sup> Unsere Studienpartner Debevec et al.<sup>19</sup> wiesen während P I a n H a b bei allen Studienteilnehmern einen gesteigerten muskulären Katabolismus mit signifikanter Reduktion des Körpergewichts nach, der somit eine mögliche Erklärung für die gesteigerten Adenosinkonzentrationen bietet. Interessanterweise wurde der beobachtete Katabolismus aber durch Hypoxie nicht verstärkt und trat auch in der Intervention ohne Bettruhe auf. Erklärbar ist dies möglicherweise durch ein vermindertes Appetitempfinden mit konsekutiv verminderter Kalorienzufuhr unter solchen Studienbedingungen im Allgemeinen.

Es bleibt hier noch zu erwähnen, dass alle drei Interventionen während P I a n H a b einen einzigen Faktor tatsächlich alle gemeinsam teilten, und das war eine strikt kontrollierte und standardisierte Ernährung während der Studienperiode in allen drei Kampagnen. Eventuell ist dieser Faktor am Ende erklärend für die Beobachtungen, die wir im purinergen System während P I a n H a b gemacht haben.

Auch die ausgeprägten Veränderungen des Plasmavolumens unter Hypoxie sollten in weiteren Studien näher betrachtet werden, um deren Ursache(n) zu klären. Während P I a n H a b unterschieden sich Flüssigkeitsaufnahme und Diurese in den drei Interventionen nicht, so dass eine gesteigerte Diurese als Erklärung ausgeschlossen werden konnte<sup>19</sup>. Ebenso verhielt es sich mit den Katecholaminkonzentrationen, d.h. auch eine vermehrte periphere Vasokonstriktion mit zentraler Hypervolämie bei erhöhtem Sympathikotonus unter Hypoxie kam nicht als Ursache in Frage<sup>45</sup>.

Des Weiteren können sowohl Hypoxie als auch Bettruhe eine Hypoproteinämie induzieren<sup>13, 77, 102</sup>, so dass eine Verringerung des onkotischen Drucks als Folge eines Verlustes von Plasmaproteinen als Ursache für Plasmaveränderungen denkbar ist. Eine Proteinbestimmung war im Rahmen von P I a n H a b allerdings leider nicht möglich, so dass diese Hypothese nicht näher verifiziert werden konnte.

Auch die erhöhten EPO-Konzentrationen in der HBR-Gruppe könnten, zumindest bis zu einem gewissen Grad, über eine *downregulation* der Renin-Angiotensin-Aldosteron-Achse zu einer Plasmavolumen-Reduktion beitragen<sup>56</sup>. Für eine klare Definition dieser Mechanismen bedarf es weiterer Studien.

## 4.2. Psychoneuroendokrines System

In unserer Untersuchung wurde der psychische Zustand durch drei verschiedene Fragebögen evaluiert. Darüber hinaus wurden die Konzentrationen der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin im Urin sowie die Cortisol-Konzentration im Speichel bestimmt.

Wir konnten zeigen, dass 21-tägige, normoxische Bettruhe keinen Einfluss auf den emotionalen Zustand der Probanden hatte. Unter hypoxischen Bedingungen konnten im Intergruppenvergleich höhere Belastungswerte gefunden werden. Diese bewegten sich jedoch während des gesamten Beobachtungszeitraums innerhalb der Normwerte für gesunde Erwachsene. In beiden Bettruhe-Interventionen fielen interessanterweise die Noradrenalin-Konzentrationen an Zeitpunkt 14 signifikant ab und stiegen in der Erholungsphase (R 2) wieder an. Die Cortisol-Konzentration im Speichel zeigte weder in Bezug auf die Intervention noch die einzelnen Messzeitpunkte signifikante Veränderungen.

Bei der Induktion einer psychologischen Stressantwort scheint die Dauer der Bettruhephasen eine entscheidende Rolle zu spielen. Analog zu unseren Ergebnissen wurde in früheren Studien während kürzeren (5/17 Tage) und geringfügig längeren Bettruhephasen (30 Tage) kein vermehrter emotionaler Stress festgestellt<sup>10, 21, 80</sup>. Jedoch führte 45-tägige bzw. 120-tägige Bettruhe zu einer erhöhten psychischen Belastung<sup>11, 55</sup>. Die von uns gewählte Interventionsdauer war dementsprechend möglicherweise zu kurz, um eine signifikante psychologische Stressantwort zu induzieren.

Da während PlanHab Bettruhe alleine keine signifikanten psychologischen Veränderungen hervorrief, stellte sich die Frage nach Auswirkungen der Kombination aus Bettruhe und Hypoxie auf die Stressantwort. Nachweislich kommt es abhängig von Dauer und Ausmaß der Hypoxie zu psychischen Belastungsreaktionen mit Beeinträchtigung der mentalen und kognitiven Fähigkeiten<sup>17, 32, 52</sup>. Bei der Auswertung unserer Daten fand sich auch hier kein Hinweis auf eine signifikante

Belastungsreaktion. Unsere Ergebnisse widersprechen damit früheren Studienergebnissen. Dies kann zum Teil durch eine unterschiedliche Methodik erklärt werden <sup>46, 90</sup>. Unterschiede finden sich erneut v.a. in der Dauer der Bettruhephasen als auch in der Art der eingesetzten Fragebögen. Stavrou et al. zeigten, dass zehntägige hypoxische Bettruhe negative Auswirkungen auf die Stimmung und die emotionale Belastbarkeit hat <sup>90</sup>. Obwohl eine kurzzeitige Exposition somit einen eher negativen Einfluss auf die psychische Stressantwort nachwies, ließ sich dies für einen subakuten Einfluss von hypoxischer Bettruhe über 3 Wochen nicht belegen. Möglicherweise sind hierfür Adaptionprozesse bzw. Gewöhnungseffekte verantwortlich. Ob eine längere Interventionsdauer diese Anpassungsvorgänge unterstützt oder sich – ähnlich normoxischer Bettruhe – eher negativ auf den psychischen Zustand auswirkt, kann mit der aktuellen Studienlage nicht beantwortet werden.

In Übereinstimmung mit früheren Studien, fanden sich während beider Bettruhe-Interventionen signifikant geringere Noradrenalin-Spiegel im Urin <sup>34, 82</sup>. Diese werden mit einer verminderten sympathoadrenergen Aktivität als Folge von fehlenden orthostatischen Anpassungsreaktionen während (simulierter) Schwerelosigkeit erklärt. Dabei scheint das Ausmaß einer verminderten Noradrenalin-Ausschüttung vom körperlichen Trainingszustand abzuhängen <sup>87</sup>. Nach Ende der Bettruhephase kam es in beiden Gruppen zu einer Aktivierung des sympathoadrenergen Systems mit signifikant höheren Noradrenalin-Konzentrationen. Dies dient der Kompensation der kardiovaskulären Dekonditionierung unter simulierter Schwerelosigkeit beim Übergang von liegender zu stehender Position (gesteigerte Orthostasereaktion) <sup>82, 107</sup>. Möglicherweise haben aber auch Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen (Bestimmung der maximalen Sauerstoff-Konzentration ( $VO_2max$ ) per Fahrradergometer zum ZP R2) die Freisetzung der Katecholamine artifiziell verändert und beeinflusst.

Im Unterschied zu Studien kürzerer Dauer (weniger als 9 bzw. 16 Tage) unter realer Schwerelosigkeit mit vermehrter Ausschüttung von Glucocorticoiden (und Katecholaminen) <sup>62, 94, 95</sup>, war die Freisetzung von Cortisol weder unter normoxischer noch hypoxischer Bettruhe verändert. Unter realen Bedingungen werden vor allem die Gravitationskräfte während Start und Landung für eine vermehrte Ausschüttung von Stresshormonen verantwortlich gemacht.

So wiesen Mills et al. erhöhte Katecholamin-Konzentrationen bei Astronauten unmittelbar nach ihrer Rückkehr auf die Erde nach<sup>62</sup>. Zudem wurden erhöhte Cortisol-Konzentrationen im Urin unmittelbar nach dem Start gemessen, die sich im weiteren Verlauf der Mission wieder normalisierten<sup>50,93</sup>. Auch in Simulationsstudien, in denen ein Wechsel aus Bettruhe und Zentrifugation zur Simulation von Start und Landung stattfand, wurden nach Zentrifugation höhere Katecholamin-Konzentrationen als nach alleiniger Bettruhe gemessen<sup>10, 44, 95</sup>. Diese Beobachtungen stützen die Hypothese, dass akute Veränderungen der g-Kräfte und nicht (simulierte) Schwerelosigkeit für eine Induktion der neuroendokrinen Stressantwort verantwortlich sind<sup>95</sup>.

Somit kann für das Nichtansprechen der psychoneuroendokrinen Stressantwort während der Bettruhephasen Folgendes verantwortlich sein:

(i) zu kurze Bettruhephasen, (ii) die angewandten Umweltbedingungen stellten keinen adäquaten Stressor dar, (iii) die verwendeten Tests waren nicht sensitiv genug, (iv) die simulierte Schwerelosigkeit und/oder Hypoxie stellten einen unzureichenden Stimulus dar.

### **4.3. Limitationen der Studie**

Bei europäischer Förderung bestand das internationale Konsortium aus acht Partnern mit einer Vielzahl wissenschaftlicher Fragestellungen bei allerdings begrenzten finanziellen und organisatorischen Möglichkeiten. Somit konnte ein Teil der Fragestellungen nicht berücksichtigt werden. Zudem konnte die Studie vor allem aus sicherheitstechnischen Überlegungen nicht verblindet stattfinden. Auch konnte aus ethischen, finanziellen und gesundheitlichen Gründen keine tägliche Blutentnahme erfolgen. Nuklearmedizinische Untersuchungen zur Bestimmung der gesamten Erythrozytenmasse und des Plasmavolumens waren aus logistischen und finanziellen Überlegungen nicht realisierbar. Auf Grund von Probenknappheit war die Evaluation einer möglichen Hämolyse-Reaktion nur durch die oben aufgeführte Methode (Spektralphotometer) möglich. Diese Bestimmung klassischer Hämolyse-Marker (z.B. Haptoglobin) war somit leider nicht durchführbar. Weiterhin konnte eine vierte Gruppe mit der Intervention NAMB (mobile Patienten unter Normoxie) aufgrund finanzieller Restriktionen nicht durchgeführt werden, so dass eine Kontrollgruppe für HAMB fehlte. Diese Gruppe wurde daher in dieser Arbeit ausgeschlossen. Die Aussagekraft der PlanHab-Studie hätte darüberhinaus möglicherweise durch eine längere Nachbeobachtungszeit erhöht werden können. Von besonderem Interesse wäre hier der weitere Verlauf der Erythropoetin- und Adenosin-Konzentrationen gewesen.

## 5. Zusammenfassung

Die Planetary Habitat Simulation (PlanHab) – Studie untersuchte die Auswirkungen raumfahrtassoziierter Stressoren – Bettruhe (simulierte Schwerelosigkeit) und Hypoxie – auf die Physiologie des Menschen.

Die Ergebnisse bestätigten unsere Hypothese, dass diese beiden Stressoren das purinerge und hämatologische als auch das psychoneuroendokrine System beeinflussen. Während hypoxischer Bettruhe stellten wir eine signifikante Akkumulation von extrazellulärem Adenosin fest, welche am ehesten auf eine gesteigerte Hämolyse (Neozytolyse) als Reaktion auf erhöhte EPO-Spiegel mit reaktiver Retikulozytose zurückzuführen war. Unter Berücksichtigung früherer Ergebnisse erschien das Einwirken von Scherkräften auf Erythrozyten, deren Zellintegrität durch Hypoxie verändert wurde, am wahrscheinlichsten. Diese These wurde vor dem Hintergrund einer signifikant erhöhten Reduktion des Plasmavolumens (und folglich einer zusätzlich einhergehende Hämokonzentration) unter Hypoxie gestützt.

Überraschenderweise fanden sich allerdings auch erhöhte Adenosinkonzentrationen unter normoxischer Bettruhe. Somit sind rein Hypoxie-assoziierte Erklärungen für unsere Beobachtungen nicht vollständig ausreichend. Zum einen stellte sich daher die Frage nach der Sensitivität unserer Hämolysedetektion (auch unter normoxischer Bettruhe fand sich eine Retikulozytose) und zum anderen auch inwiefern ein Muskelkatabolismus unter Bettruhe zu diesen purinergen Veränderungen beitragen könnte. Hierzu fanden Studienpartner heraus, dass ein ausgeprägter Muskelkatabolismus als Folge körperlicher Inaktivität und eines reduzierten Appetitempfindens mit konsekutiv verminderter Kalorien-/ Energiezufuhr in allen drei Interventionen vorlag. Dies vermag zu Teilen auch als Erklärung für die erhöhten Adenosinkonzentrationen gelten.

Auf psychoneuroendokriner Ebene lagen unter hypoxischen Bedingungen höhere emotionale Belastungswerte vor, die jedoch die Normgrenzwerte nie überschritten. Cortisolkonzentrationen im Speichel zeigten keine Veränderungen und Katecholaminveränderungen standen eher im Zeichen orthostatischer Regulation als einer psychischen Stressreaktion.

Die pathophysiologischen Konsequenzen, die sich aus unseren Beobachtungen ergeben, sind noch weitgehend unklar und werden im Fokus zukünftiger Untersuchungen stehen.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Abbracchio MP, Burnstock G, Verkhatsky A et al. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. *Trends Neurosci* 2009; 32(1): 19-29.
2. Alfrey CP, Udden MM, Huntoon CL et al. Destruction of newly released red blood cells in space flight. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28(10 Suppl): S42-4.
3. Basler HD, Steinfelder C, Hartnack U et al. The safety of and the strain on the donor during thrombocytapheresis on the cell separator. A psychological study. *Infusionsther Klin Ernahr* 1987; 14 Suppl 4: 36-42.
4. Bergfeld GR, Forrester T. Release of ATP from human erythrocytes in response to a brief period of hypoxia and hypercapnia. *Cardiovasc Res* 1992; 26(1): 40-7.
5. Bodkin DK, Escalera P, Bocam KJ. A human Lunar surface base and infrastructure solution. *American Institute of Aeronautics and Astronautics* 2006; 2006-7336. 17pp.NASA.
6. Brähler E, Holling H, Leutner D et al. *Brickenkamp Handbuch psychologischer und pädagogischer Tests*. 3 ed. Göttingen: Hogrefe Verlag. 2002.
7. Branch JD, 3rd, Pate RR, Bodary PF et al. Red cell volume and [erythropoietin] responses during exposure to simulated microgravity. *Aviat Space Environ Med* 1998; 69(4): 347-51.
8. Broch OJ, Ueland PM. Regional and Subcellular Distribution of S-Adenosylhomocysteine Hydrolase in the Adult Rat Brain. *Journal of Neurochemistry* 1980; 35(2): 484-488.
9. Cavanagh PR, Rice AJ, Licata AA et al. A novel lunar bed rest analogue. *Aviat Space Environ Med* 2013; 84(11): 1191-5.
10. Chouker A, Feuerecker B, Matzel S et al. Psychoneuroendocrine alterations during 5 days of head-down tilt bed rest and artificial gravity interventions. *Eur J Appl Physiol* 2013; 113(8): 2057-65.
11. Chouker A, Thiel M, Baranov V et al. Simulated microgravity, psychic stress, and immune cells in men: observations during 120-day 6 degrees HDT. *J Appl Physiol (1985)* 2001; 90(5): 1736-43.
12. Chouker A, Thiel M, Lukashev D et al. Critical role of hypoxia and A2A adenosine receptors in liver tissue-protecting physiological anti-inflammatory pathway. *Mol Med* 2008; 14(3-4): 116-23.
13. Cirillo M, Stellato D, Heer M et al. Urinary albumin in head-down bed rest. *J Gravit Physiol* 2002; 9(1): P195-6.
14. Conkin J, Wessel JH, 3rd. Critique of the equivalent air altitude model. *Aviat Space Environ Med* 2008; 79(10): 975-82.
15. D'Alessandro A, Nemkov T, Sun K et al. AltitudeOmics: Red Blood Cell Metabolic Adaptation to High Altitude Hypoxia. *J Proteome Res* 2016; 15(10): 3883-3895.
16. Dai K, Wang Y, Yan R et al. Effects of microgravity and hypergravity on platelet functions. *Thromb Haemost* 2009; 101(5): 902-10.
17. de Aquino Lemos V, Antunes HK, dos Santos RV et al. High altitude exposure impairs sleep patterns, mood, and cognitive functions. *Psychophysiology* 2012; 49(9): 1298-306.
18. De Santo NG, Cirillo M, Kirsch KA et al. Anemia and erythropoietin in space flights. *Semin Nephrol* 2005; 25(6): 379-87.
19. Debevec T, Bali TC, Simpson EJ et al. Separate and combined effects of 21-day bed rest and hypoxic confinement on body composition. *Eur J Appl Physiol* 2014; 114(11): 2411-25.

20. Decking UK, Schlieper G, Kroll K et al. Hypoxia-induced inhibition of adenosine kinase potentiates cardiac adenosine release. *Circ Res* 1997; 81(2): 154-64.
21. DeRoshia CW, Greenleaf JE. Performance and mood-state parameters during 30-day 6 degrees head-down bed rest with exercise training. *Aviat Space Environ Med* 1993; 64(6): 522-7.
22. Donnelly SM, Miller JA. Losartan may modulate erythropoietin production. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2001; 2(4): 255-60.
23. Drury AN, Szent-Gyorgyi A. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart. *J Physiol* 1929; 68(3): 213-37.
24. Dunn CD, Lange RD, Kimzey SL et al. Serum erythropoietin titers during prolonged bedrest; relevance to the "anaemia" of space flight. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1984; 52(2): 178-82.
25. Eksuzian DJ. Psychological and behavioral health issues of long-duration space missions. *Life Support Biosph Sci* 1999; 6(1): 35-8.
26. Faris A, Spence DM. Measuring the simultaneous effects of hypoxia and deformation on ATP release from erythrocytes. *Analyst* 2008; 133(5): 678-82.
27. Feuerecker M, Feuerecker B, Matzel S et al. Five days of head-down-tilt bed rest induces noninflammatory shedding of L-selectin. *J Appl Physiol* (1985) 2013; 115(2): 235-42.
28. Fortney SM, Schneider VS, Greenleaf JE. The physiology of bedrest. In: Fregley, Blattei (eds.). *Handbook of Physiology, Sect IV, Environmental Physiology*. Oxford University Press. 1996. p. 889-939.
29. Fortney SM, Turner C, Steinmann L et al. Blood volume responses of men and women to bed rest. *J Clin Pharmacol* 1994; 34(5): 434-9.
30. Fredholm BB, AP IJ, Jacobson KA et al. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol Rev* 2001; 53(4): 527-52.
31. Freudenthaler SM, Schreeb K, Korner T et al. Angiotensin II increases erythropoietin production in healthy human volunteers. *Eur J Clin Invest* 1999; 29(10): 816-23.
32. Gao YX, Li P, Jiang CH et al. Psychological and cognitive impairment of long-term migrators to high altitudes and the relationship to physiological and biochemical changes. *Eur J Neurol* 2015; 22(10): 1363-9.
33. Gerber T, Borg ML, Hayes A et al. High-intensity intermittent cycling increases purine loss compared with workload-matched continuous moderate intensity cycling. *Eur J Appl Physiol* 2014; 114(7): 1513-20.
34. Goldstein DS, Vernikos J, Holmes C et al. Catecholaminergic effects of prolonged head-down bed rest. *J Appl Physiol* (1985) 1995; 78(3): 1023-9.
35. Gram M, Dahl R, Dela F. Physical inactivity and muscle oxidative capacity in humans. *Eur J Sport Sci* 2014; 14(4): 376-83.
36. Gunga HC, Kirsch K, Baartz F et al. Erythropoietin under real and simulated microgravity conditions in humans. *J Appl Physiol* (1985) 1996; 81(2): 761-73.
37. Hagemeyer E, Kemper K, Boos KS et al. On-line high-performance liquid affinity chromatography-high-performance liquid chromatography analysis of monomeric ribonucleoside compounds in biological fluids. *J Chromatogr* 1983; 282: 663-9.
38. Heinicke K, Prommer N, Cajigal J et al. Long-term exposure to intermittent hypoxia results in increased hemoglobin mass, reduced plasma volume, and elevated erythropoietin plasma levels in man. *Eur J Appl Physiol* 2003; 88(6): 535-43.

39. Hellsten Y, Skadhauge L, Bangsbo J. Effect of ribose supplementation on resynthesis of adenine nucleotides after intense intermittent training in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286(1): R182-8.
40. Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* 2003; 24(3): 151-80.
41. Hoelzl A, Modulation von polymorphkernigen Leukozyten durch das Adenosin A2A-Rezeptorsystem bei Patienten mit Sepsis, in *Klinik für Anästhesiologie*. 2007, Ludwig-Maximilians-Universität: München.
42. Hofer T, Wenger H, Gassmann M. Oxygen sensing, HIF-1alpha stabilization and potential therapeutic strategies. *Pflugers Arch* 2002; 443(4): 503-7.
43. Jelkmann W. Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol Rev* 1992; 72(2): 449-89.
44. Kanikowska D, Sato M, Iwase S et al. Immune and neuroendocrine responses to head-down rest and countermeasures. *Aviat Space Environ Med* 2008; 79(12): 1091-5.
45. Keramidas ME, Mekjavic IB, Kolegard R et al. PlanHab: Hypoxia counteracts the erythropoietin suppression, but seems to exaggerate the plasma volume reduction induced by 3 weeks of bed rest. *Physiol Rep* 2016; 4(7).
46. Keramidas ME, Stavrou NA, Kounalakis SN et al. Severe hypoxia during incremental exercise to exhaustion provokes negative post-exercise affects. *Physiol Behav* 2016; 156: 171-6.
47. Kong T, Westerman KA, Faigle M et al. HIF-dependent induction of adenosine A2B receptor in hypoxia. *FASEB J* 2006; 20(13): 2242-50.
48. Laux LG, Schaffner P, Spielberger C. *Das State-Trait-Angst-Inventar, STAI*. 1. Aufl. Beltz, Weinheim. 1981.
49. Layland J, Carrick D, Lee M et al. Adenosine: physiology, pharmacology, and clinical applications. *JACC Cardiovasc Interv* 2014; 7(6): 581-91.
50. Leach CS, Alfrey CP, Suki WN et al. Regulation of body fluid compartments during short-term spaceflight. *J Appl Physiol (1985)* 1996; 81(1): 105-16.
51. Leach CS, Johnson PC. Influence of spaceflight on erythrokinetics in man. *Science* 1984; 225(4658): 216-8.
52. Li XY, Wu XY, Fu C et al. Effects of acute mild and moderate hypoxia on human mood state. *Space Med Med Eng (Beijing)* 2000; 13(1): 1-5.
53. Linden J. Molecular approach to adenosine receptors: receptor-mediated mechanisms of tissue protection. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 775-87.
54. Liu H, Zhang Y, Wu H et al. Beneficial Role of Erythrocyte Adenosine A2B Receptor-Mediated AMP-Activated Protein Kinase Activation in High-Altitude Hypoxia. *Circulation* 2016; 134(5): 405-21.
55. Liu Q, Zhou R, Chen S et al. Effects of head-down bed rest on the executive functions and emotional response. *PLoS One* 2012; 7(12): e52160.
56. Lundby C, Thomsen JJ, Boushel R et al. Erythropoietin treatment elevates haemoglobin concentration by increasing red cell volume and depressing plasma volume. *J Physiol* 2007; 578(Pt 1): 309-14.
57. Mairbaur H, Ruppe FA, Bartsch P. Role of hemolysis in red cell adenosine triphosphate release in simulated exercise conditions in vitro. *Med Sci Sports Exerc* 2013; 45(10): 1941-7.
58. Major A, Mathez-Loic F, Rohling R et al. The effect of intravenous iron on the reticulocyte response to recombinant human erythropoietin. *Br J Haematol* 1997; 98(2): 292-4.

59. Mao TY, Fu LL, Wang JS. Hypoxic exercise training causes erythrocyte senescence and rheological dysfunction by depressed Gardos channel activity. *J Appl Physiol* (1985) 2011; 111(2): 382-91.
60. McEwen BS. Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 840: 33-44.
61. Mekjavic, I. PlanHab Logo. Internet File. [http://files.planhab.webnode.com/200000332-451c94614f/PlanHab\\_logo2.jpg](http://files.planhab.webnode.com/200000332-451c94614f/PlanHab_logo2.jpg). (Letzter Abruf: 14.10.2015).
62. Mills PJ, Meck JV, Waters WW et al. Peripheral leukocyte subpopulations and catecholamine levels in astronauts as a function of mission duration. *Psychosom Med* 2001; 63(6): 886-90.
63. Mueller B, Basler HD. Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB). Weinheim, Germany: Belz, 1993.
64. National Aeronautics and Space Administration. Human Research Program. Lunar Analog Studies. Internet File. 2008 <http://www.dsls.usra.edu/meetings/hrp2008/pdf/Banners/FAPbanner2.pdf>. (Letzter Abruf: 24.2.2016).
65. National Aeronautics and Space Administration. Software, Robotics, and Simulation Division. MMU Pack. Internet File. <http://er.jsc.nasa.gov/seh/mmupack.gif>. (Letzter Abruf: 14.10.2015).
66. Ontyd J, Schrader J. Measurement of adenosine, inosine, and hypoxanthine in human plasma. *J Chromatogr* 1984; 307(2): 404-9.
67. OSC Planica. Internet File. <http://www.osc-planica.si/uploads/image/test/1000.JPG>. (Letzter Abruf: 31.3.2016).
68. Pavy-Le Traon A, Heer M, Narici MV et al. From space to Earth: advances in human physiology from 20 years of bed rest studies (1986-2006). *Eur J Appl Physiol* 2007; 101(2): 143-94.
69. Plagemann PG, Wohlhueter RM, al. e. Adenosine uptake, transport, and metabolism in human erythrocytes. *J Cell Physiol* 1985; 125(2): 330-6.
70. Poulsen SA, Quinn RJ. Adenosine receptors: new opportunities for future drugs. *Bioorg Med Chem* 1998; 6(6): 619-41.
71. Prisk GK. Microgravity. *Compr Physiol* 2011; 1(1): 485-97.
72. R&D Systems, Inc. Quantikine® IVD® ELISA. Human Erythropoietin Immunoassay (Bedienungsanleitung). Internet File. 2012 <https://resources.rndsystems.com/pdfs/datasheets/dep00.pdf>. (Letzter Abruf: 5.4.2016).
73. Raphael B, Lundin T, Weisaeth L. A research method for the study of psychological and psychiatric aspects of disaster. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1989; 353: 1-75.
74. Risso A, Ciana A, Achilli C et al. Neocytolysis: none, one or many? A reappraisal and future perspectives. *Front Physiol* 2014; 5: 54.
75. Roach R, Bartsch P, Hackett P et al. The Lake Louise AMS Scoring Consensus Committee. The Lake Louise acute mountain sickness scoring system. In: Sutton JR, Houston CS, Coates G, Burlington VT (eds) *Hypoxia and molecular medicine*. Queen City Printers, USA, pp 272–274 1993.
76. Rossaint R, Werner C, Zwißler B. Die Anästhesiologie. Allgemeine und spezielle Anästhesiologie, Schmerztherapie und Intensivmedizin. 3 ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2012. p. 1680.
77. Sawka MN, Young AJ, Rock PB et al. Altitude acclimatization and blood volume: effects of exogenous erythrocyte volume expansion. *J Appl Physiol* (1985) 1996; 81(2): 636-42.

78. Scheuring RA, Conkin J, Jones JA et al. Risk assessment of physiological effects of atmospheric composition and pressure in Constellation vehicles. *Acta Astronautica* 2008; 63: 727-739.
79. Schubert P, Komp W, Kreutzberg GW. Correlation of 5' -nucleotidase activity and selective transneuronal transfer of adenosine in the hippocampus. *Brain Research* 1979; 168(2): 419-424.
80. Shehab RL, Schlegel RE, Schiflett SG et al. The NASA Performance Assessment Workstation: cognitive performance during head-down bed rest. *Acta Astronaut* 1998; 43(3-6): 223-33.
81. Siems W, Mueller M, Garbe S et al. Damage of erythrocytes by activated oxygen generated in hypoxic rat liver. *Free Radic Res Commun* 1987; 4(1): 31-9.
82. Sigaud D, Fortrat JO, Allevard AM et al. Changes in the sympathetic nervous system induced by 42 days of head-down bed rest. *Am J Physiol* 1998; 274(6 Pt 2): H1875-84.
83. Sikora J, Orlov SN, Furuya K et al. Hemolysis is a primary ATP-release mechanism in human erythrocytes. *Blood* 2014; 124(13): 2150-7.
84. Sitkovsky MV, Lukashev D, Apasov S et al. Physiological control of immune response and inflammatory tissue damage by hypoxia-inducible factors and adenosine A2A receptors. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 657-82.
85. Smith SM. Red blood cell and iron metabolism during space flight. *Nutrition* 2002; 18(10): 864-6.
86. Smith SM, Heer M, Shackelford LC et al. Bone metabolism and renal stone risk during International Space Station missions. *Bone* 2015; 81: 712-20.
87. Smorawinski J, Kaciuba-Uscilko H, Nazar K et al. Effects of three-day bed rest on metabolic, hormonal and circulatory responses to an oral glucose load in endurance or strength trained athletes and untrained subjects. *J Physiol Pharmacol* 2000; 51(2): 279-89.
88. Spielberger C, Gorush R, Lushene R. STAI Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Consulting Psychologists Press, Palo Alto, CA. 1970.
89. Spielberger C, Gorush R, Lushene R et al. Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Consulting Psychologists Press, Palo Alto, CA. 1983.
90. Stavrou NA, McDonnell AC, Eiken O et al. Psychological strain: examining the effect of hypoxic bedrest and confinement. *Physiol Behav* 2015; 139: 497-504.
91. Stephan D. Prospektive Studie über die Dependenz des Narkoseverlaufs und der postoperativen Genesung von präoperativem Angstniveau, Kontrollüberzeugung und anderen psychologischen Faktoren. Medizinisch Psychologisches Institut, Marburg, Germany. 1988.
92. Stoll C, Kapfhammer HP, Rothenhausler HB et al. Sensitivity and specificity of a screening test to document traumatic experiences and to diagnose post-traumatic stress disorder in ARDS patients after intensive care treatment. *Intensive Care Med* 1999; 25(7): 697-704.
93. Stowe RP, Mehta SK, Ferrando AA et al. Immune responses and latent herpesvirus reactivation in spaceflight. *Aviat Space Environ Med* 2001; 72(10): 884-91.
94. Stowe RP, Sams CF, Pierson DL. Effects of mission duration on neuroimmune responses in astronauts. *Aviat Space Environ Med* 2003; 74(12): 1281-4.
95. Stowe RP, Yetman DL, Storm WF et al. Neuroendocrine and immune responses to 16-day bed rest with realistic launch and landing G profiles. *Aviat Space Environ Med* 2008; 79(2): 117-22.

96. Synnestvedt K, Furuta GT, Comerford KM et al. Ecto-5'-nucleotidase (CD73) regulation by hypoxia-inducible factor-1 mediates permeability changes in intestinal epithelia. *J Clin Invest* 2002; 110(7): 993-1002.
97. Tanaka M, Mizumura K, Sato J et al. Psychological and physiological changes during isolation and confinement: I. Group dynamics and member interaction. *Environ Med* 1998; 42(1): 4-7.
98. Thiel M, Sitkovsky M, Chouker A. Stress, Hypoxia, and Immune Responses. In: Chouker A (ed.). *Stress Challenges and Immunity in Space: From Mechanisms to Monitoring and Preventive Strategies*. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin. 2012.
99. Trudel G, Payne M, Madler B et al. Bone marrow fat accumulation after 60 days of bed rest persisted 1 year after activities were resumed along with hemopoietic stimulation: the Women International Space Simulation for Exploration study. *J Appl Physiol* (1985) 2009; 107(2): 540-8.
100. Tschuor C, Asmis LM, Lenzlinger PM et al. In vitro norepinephrine significantly activates isolated platelets from healthy volunteers and critically ill patients following severe traumatic brain injury. *Crit Care* 2008; 12(3): R80.
101. Udden MM, Driscoll TB, Pickett MH et al. Decreased production of red blood cells in human subjects exposed to microgravity. *J Lab Clin Med* 1995; 125(4): 442-9.
102. Van Beaumont W, Greenleaf JE, Juhos L. Disproportional changes in hematocrit, plasma volume, and proteins during exercise and bed rest. *J Appl Physiol* 1972; 33(1): 55-61.
103. Vlajkovic SM, Housley GD, Thorne PR. Adenosine and the Auditory System. *Curr Neuropharmacol* 2009; 7(3): 246-56.
104. von Wussow U, Klaus J, Pagel H. Is the renal production of erythropoietin controlled by the brain stem? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289(1): E82-6.
105. Vorob'ev VE. Changes in oxygen supply and utilization in head-down tilted humans. *Aviakosm Ekolog Med* 2004; 38(1): 48-52.
106. Weisaeth L. Torture of a Norwegian ship's crew. The torture, stress reactions and psychiatric after-effects. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1989; 355: 63-72.
107. Whitson PA, Charles JB, Williams WJ et al. Changes in sympathoadrenal response to standing in humans after spaceflight. *J Appl Physiol* (1985) 1995; 79(2): 428-33.
108. Yang S, Zhang L. Glucocorticoids and vascular reactivity. *Curr Vasc Pharmacol* 2004; 2(1): 1-12.
109. Zimmermann H, Braun N, Kegel B et al. New insights into molecular structure and function of ecto-nucleotidases in the nervous system. *Neurochemistry International* 1998; 32(5-6): 421-425.

## 7. Anhang

### 7.1. Blutbild

Tabelle 7: Blutbild

		BDC	2	5	14	21	R 2	R 4
<b>Erythrozyten</b> (Mio./ $\mu$ l)	HBR	5,2 $\pm$	5,62 $\pm$	5,92 $\pm$	6,22 $\pm$	6,08 $\pm$	5,38 $\pm$	5,15 $\pm$
		0,33	0,33	0,41	0,37	0,48	0,44	0,56
	NBR	5,16 $\pm$	5,58 $\pm$	5,57 $\pm$	5,6 $\pm$	5,52 $\pm$	5,42 $\pm$	4,83 $\pm$
		0,37	0,39	0,37	0,34	0,44	0,82	0,37
<b>Hämoglobin</b> (g/dl)	HBR	14,63 $\pm$	15,84 $\pm$	16,54 $\pm$	17,5 $\pm$	17,09 $\pm$	15,33 $\pm$	14,73 $\pm$
		0,74	0,95	1,06	1,03	1,13	1,15	1,65
	NBR	14,6 $\pm$	15,83 $\pm$	15,8 $\pm$	16,05 $\pm$	15,72 $\pm$	15,37 $\pm$	13,91 $\pm$
		0,91	1,03	1,03	1,13	1,26	2,03	1,08
<b>Hämatokrit</b> (%)	HBR	43,93 $\pm$	47,31 $\pm$	49,63 $\pm$	51,11 $\pm$	50,58 $\pm$	44,91 $\pm$	43,26 $\pm$
		2,11	2,55	2,97	2,84	3,31	3,71	4,77
	NBR	44,15 $\pm$	47,92 $\pm$	47,48 $\pm$	47,41 $\pm$	46,42 $\pm$	45,47 $\pm$	40,75 $\pm$
		2,62	2,95	2,71	3,21	3,38	6,31	2,88
<b>Thrombozyten</b> (Tsd./ $\mu$ l)	HBR	206,14 $\pm$	233,86 $\pm$	245,21 $\pm$	260,29 $\pm$	237,36 $\pm$	210,14 $\pm$	190,36 $\pm$
		76,65	68,12	51,08	66,18	82,19	80,03	82,1
	NBR	197,92 $\pm$	204,77 $\pm$	215,08 $\pm$	221,08 $\pm$	200 $\pm$	171,38 $\pm$	197,15 $\pm$
		45,5	49,37	64,21	75,07	69,38	73,27	66,12
<b>Retikulozyten</b> (Tsd./ $\mu$ l)	HBR	79,41 $\pm$	86,66 $\pm$	122,43 $\pm$	112,76 $\pm$	98,73 $\pm$	91,75 $\pm$	88,57 $\pm$
		23,54	20,98	36,67	37,7	29,4	29,05	33,97
	NBR	61,75 $\pm$	79,16 $\pm$	91,42 $\pm$	71,22 $\pm$	69,39 $\pm$	68,99 $\pm$	64,97 $\pm$
		12,06	18,13	27,64	15,11	13,65	21,56	16,28
<b>MCV</b> (fl)	HBR	84,64 $\pm$	84,44	84,06 $\pm$	82,36 $\pm$	83,51 $\pm$	83,63 $\pm$	84,04 $\pm$
		4,66	$\pm$ 5,1	4,62	5,11	5,34	4,97	5,12
	NBR	85,98 $\pm$	85,99 $\pm$	85,38 $\pm$	84,62 $\pm$	84,13 $\pm$	84,11 $\pm$	84,55 $\pm$
		4,68	4,52	4,55	3,83	3,81	4,2	4,53
<b>MCH</b> (pg)	HBR	28,19 $\pm$	28,28 $\pm$	28,05 $\pm$	28,2	28,22	28,56 $\pm$	28,62 $\pm$
		1,9	1,92	2,06	$\pm$ 1,96	$\pm$ 2,2	2,15	2,07
	NBR	28,44 $\pm$	28,44 $\pm$	28,41	28,68	28,48	28,48 $\pm$	28,85 $\pm$
		1,96	1,91	$\pm$ 2	$\pm$ 1,91	$\pm$ 1,89	2,01	2,03
<b>MCHC</b> (g/dl)	HBR	33,29 $\pm$	33,49 $\pm$	33,33 $\pm$	34,22 $\pm$	33,76 $\pm$	33,97 $\pm$	33,97 $\pm$
		0,59	0,55	0,98	0,54	0,89	0,85	0,76
	NBR	33,02 $\pm$	33,04 $\pm$	33,26	33,72	33,78 $\pm$	33,83 $\pm$	34,08 $\pm$
		0,79	0,73	$\pm$ 0,8	$\pm$ 0,9	1,09	0,97	0,82

Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (SD); HBR = Hypoxische Bettruhe, NBR = Normoxische Bettruhe; BDC = Baseline-Daten, R 2/4 = 2/4 Tage nach Ende der Intervention; MCV = Mittleres korpuskuläres Volumen, MCH = Mittleres korpuskuläres Hämoglobin, MCHC = Mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration

## **8. Danksagung**

Das Zustandekommen der vorliegenden Arbeit wäre ohne die Unterstützung und das Engagement vieler Personen nicht möglich gewesen.

Meinen besonderen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Alexander Choukèr für die Überlassung des Themas und die engagierte Betreuung aussprechen.

Frau Dr. Claudia Strewe danke ich für Ihre Motivation, Hilfestellung und fachliche Anregungen bei der Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Dr. med. Alexander Crispin aus dem Institut für medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie danke ich im Namen der gesamten Arbeitsgruppe für die Hilfe bei der statistischen Analyse.

Mein ganz besonderer Dank gilt Marion Hörl für ihre große Hilfsbereitschaft während allen Phasen dieser Arbeit und die tatkräftige Unterstützung bei der Vorbereitung, Gewinnung und Analyse der Proben in München und Planica.

Des Weiteren möchte ich mich ganz herzlich bei Iva Kumprej, Camilla Ladinig und Sandra Matzel aus dem Labor der anästhesiologischen Forschung im Klinikum Großhadern sowie Hans Wagnmüller aus der EDV-Abteilung bedanken, die mir stets bei der praktischen Durchführung zur Seite standen.

Mein größter Respekt gilt den Probanden, die durch ihre hervorragende Kooperationsbereitschaft und ihr Engagement diese Studie erst ermöglichten.

Mein Dank gilt weiterhin der Europäischen Kommission, die das Projekt im Rahmen des Framework 7 Forschungsrahmenprogramms finanzierte.

Meiner Familie und Freundin möchte ich für den stetigen Rückhalt beim Erstellen dieser Arbeit und während meiner gesamten Ausbildung danken.

Ein großer Dank zum Schluss gebührt Stephan Kuntscher, der mir jederzeit bei allen Fragen mit Rat und Tat zur Seite stand. Danke Stephan!

## Eidesstaatliche Versicherung

Zeller, Raphael

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Die Auswirkungen von Hypoxie und simulierter Schwerelosigkeit auf das purinerge,  
hämatologische und psychoneuroendokrine System**

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, 18.09.19

---

Ort, Datum

Raphael Zeller

---

Unterschrift Doktorand