Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr.v.Haunerschen Kinderspital

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr.med.D. Reinhardt

# Stickstoffmonoxid in der Ausatemluft und in der Nasenhöhle: Methodik und Anwendung im klinischen Alltag bei Kindern mit Asthma bronchiale

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Markus Koch

aus Tarnowitz

2002

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät**

**der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr.med. M.Griese

Mitberichterstatter: Prof. Dr.med. B.Walzog

Dekan: Prof. Dr.med. Dr.h.c. K.Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.2002

1. Einleitung 5

2. Methodik 7

2.1. Ablauf der Patientenvorstellung 7

2.2. Klinische Diagnostik-Methoden 7

2.2.1. Lungenfunktionsmessungen 7

2.2.1.1. Messungen in Ruhe 7

2.2.1.2. Laufbelastung 8

2.2.2. Allergie-Diagnostik 9

2.2.3. Anamneseerhebung 10

2.2.4. Schweregradeinteilung 11

2.2.5. Statistische Berechnungen 12

2.3. Methodik der NO-Bestimmung 12

2.3.1. NO in der oralen Ausatemluft (Exhaliertes NO, ENO) 12

2.3.1.1. Manöver 12

2.3.1.2. Nasale Verunreinigung 13

2.3.1.3. Flußabhängigkeit des ENO 14

2.3.1.4. Einfluß der Laufbelastung auf gemessenes ENO 18

2.3.2. Nasales NO (NaNO) 19

2.3.2.1. Manöver 19

3. Ergebnisse 21

3.1. Patientengut 21

3.2. Klinische Daten der Gesamtgruppe 22

3.3. Exhaliertes NO 23

3.3.1. Anamnese, Schweregrad des Asthmas 23

3.3.2. Lungenfunktion 26

3.3.3. Therapiemodulation 29

3.4. Nasales NO 34

3.4.1. Zusammenhang zwischen ENO und NaNO 34

3.4.2. Anamnese und Lungenfunktion 35

3.4.3. Allergische Rhinitis 37

3.4.4. Die Therapiemodulation 39

4. Diskussion 40

5. Zusammenfassung 46

6. Literatur 48

# 1. Einleitung

Endogenes Stickstoffmonoxid (NO) entsteht durch die Spaltung der Guanidingruppe des L-Arginins, wodurch NO und L-Citrullin gebildet werden. Katalysiert wird dieser Prozeß durch Stickoxidsynthetasen (NOS), von denen mindestens drei unterschiedliche Isoformen bekannt sind [12]. Die neuronale NOS (NOS1, nNOS) ist vor allen in den Nervenzellen aktiv, die endotheliale NOS (NOS3, eNOS) in den Zellen des Endothel. Beide Isoformen konnten jedoch auch in anderen Zellpopulationen nachgewiesen werden. Sowohl die nNOS als auch die eNOS werden durch Änderungen der intrazellulären Kalzium-Konzentration aktiviert. Sie produzieren nur geringe Mengen (pmol) des NO. Eine dritte Isoform, die induzierbare Synthetase (NOS2, iNOS), besitzt eine wesentlich höhere Aktivität (NO-Synthese im nmol-Bereich), die von der Kalzium-Konzentration unabhängig ist [7, 8, 17,19, 27, 39].

In menschlichen Atemwegen wird NO auf allen Etagen produziert. Eine Mischung aus dem in den tiefen Luftwegen freigesetzten NO (iNOS-abhängig) und dem alveolären NO (iNOS-unabhängig) kann in der Ausatemluft bestimmt werden [2, 4, 11, 21, 27, 28, 31, 32, 33, 42].

In früheren Untersuchungen wurden in den Atemwegen asthmatischer Patienten erhöhte Konzentrationen an NO gemessen [5, 6, 12, 14-16, 29, 36, 43]. Dies konnte auf die gesteigerte Aktivität der iNOS zurückgeführt werden. Es wurde daher schon früh vermutet, daß exhaliertes NO (ENO) als Marker für Entzündung in den Atemwegen [20] oder gar als neuer Lungenfunktionsparameter verwenden werden könnte [9].

Ziel dieser Studie war zunächst die Erarbeitung einer für Kinder mit allergischem Asthma bronchiale geeigneten Bestimmungsmethodik für ENO, die auch im klinischen Alltag durchgeführt werden kann. Im weiteren sollte überprüft werden, inwiefern die Konzentration des ENO bei der alltäglichen Betreuung von Asthmatikern einen verwertbaren Parameter darstellt. Vor allem bei Erwachsenen, aber auch im Kindesalter wurden bereits zuvor über Korrelationen zwischen ENO und der Diagnose eines Asthma bronchiale, der Häufigkeit der Beschwerden, der bronchialen Obstruktion [3], positiven Belastungstests [14], einer Gräserpollen-

Exposition [6], der Eosinophilie im Blut oder Sputum [41], der Konzentration des eosinophilen cationischen Proteins (ECP) [34], einem positiven Prick-Test [15] oder einer Therapie mit inhalativen Steroiden [16, 30], berichtet.

Allerdings wurden bis jetzt keine Untersuchungen durchgeführt, bei denen ENO als Entscheidungshilfe bei der therapeutischen Einstellung des kindlichen Asthma verwendet wurde. Die Entscheidung über das therapeutische Vorgehen ist abhängig von mehreren Faktoren, wie z.B. der Anamnese, den Ergebnissen der Lungenfunktionsmessung, den Sensibilisierungen gegenüber saisonalen und periannalen Allergenen, dem Wissen um frühere Exacerbationen, der individuellen psychologischen und sozialen Situation sowie der vermutlichen Mitarbeit (Compliance) des Patienten. Da all diese Einflußgrößen bei der Therapieentscheidung mit berücksichtigt werden, kann dieser Parameter selbst als Variable für die Patientenbetreuung betrachtet werden. Diese Variable ist allerdings recht schwierig zu standardisieren und könnte abhängig sein von der betreuenden Person, andererseits ist sie sehr alltagsnah. In dieser Studie sollte daher untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Variablen “therapeutische Empfehlung“ und dem geblindet und prospektiv bestimmten ENO besteht. Im weiteren Verlauf sollte auch überprüft werden, inwieweit ein Zusammenhang zwischen der in der Nasenhöhle gemessenen NO-Konzentration (NaNO) und dem ENO, den konventionell bei der Betreuung von Asthmatiker etablierten Parametern (Lungenfunktion, Anamnese ect.) oder der Therapieempfehlung besteht.

Dazu wurde eine Gruppe von Asthmatikern im Alter zwischen 4 und 16 Jahren, im Zeitraum zwischen April und November 1997 prospektiv untersucht. Neben einer ausführlichen Anamnese, einer allergologischen Diagnostik, einer klinischen Untersuchung und der Bestimmung der Lungenfunktionsparameter wurde auch die Konzentration des NO in der Ausatemluft sowie in der Nasenhöhle gemessen. Nach Ausschluß von alternativen Diagnosen und gleichzeitig bestehenden Infektionen der Luftwege wurden die erhobenen Daten hinsichtlich der vorgelegten Fragestellungen ausgewertet.

# 2. Methodik

## *2.1. Ablauf der Patientenvorstellung*

Allen Patienten, die im Untersuchungszeitraum zwischen April und November 1997 in der Asthma- und Allergie-Ambulanz der Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital zur Evaluation respiratorischer Beschwerden vorgestellt wurden, wurde die Möglichkeit angeboten, an der Untersuchung teilzunehmen.

In Rahmen jeder Patientenvorstellung wurde zunächst eine umfangreiche Anamnese einschließlich Familien- und Umweltanamnese erhoben. Anschließend folgte eine körperliche Untersuchung, die Überprüfung der Lungenfunktion in Ruhe, teilweise auch nach einer Laufprovokation und/oder nach der Inhalation eines kurzwirksamen β-Mimetikums. Danach wurde die NO-Messung durchgeführt, deren Ergebnisse dem behandelnden Arzt jedoch nicht vor der Entscheidung über die weitere Therapie mitgeteilt wurden. Anschließend wurde die allergologische Diagnostik (Prick und/oder RAST-Test) durchgeführt, bei entsprechendem Verdacht erfolgten zudem weitere serologische Untersuchungen zum Ausschluß alternativer Diagnosen. Zum Abschluß der Vorstellung wurden die erhobenen Ergebnisse (bis auf die NO-Werte) mit den Patienten und seinen Eltern besprochen und eine Therapieempfehlung mitgeteilt.

## *2.2. Klinische Diagnostik-Methoden*

### 2.2.1. Lungenfunktionsmessungen

#### 2.2.1.1. Messungen in Ruhe

Die Bestimmung der Lungenfunktionsparameter wurde am Masterlab (Jäger, Würzburg, Deutschland) durch geschultes und erfahrenes Personal durchgeführt. Die Messung erfolgte im Sitzen, alle Probanden benützten eine Nasenklemme. Es wurden jeweils eine Spirometrie

und eine Bodyplethysmographie durchgeführt. Dabei wurden die einzelnen Manöver 3 x durchgeführt und die Fluß-Volumen-Kurve nach der Hüllkurven-Methode ermittelt. Die Ergebnisse wurden für die Zwecke dieser Studie ausschließlich verwertet, wenn mindestens eine zwölfstündige Inhalationspause nach der letzten Gabe eines kurzwirksamen β-Mimetikums erfolgt war. Nicht verwertet wurden Messungen bei Patienten, die innerhalb dieser Frist inhaliert hatten, mit langwirksamen β-Mimetika, Theophyllin oder Leukotrienantagonisten behandelt waren sowie bei unzureichender Mitarbeit.

Die Messung galt als pathologisch im Sinne einer Obstruktion wenn mindestens einer der folgenden Werte erreicht wurde:

**Tabelle 1: Kriterien zu Beurteilung einer Lungenfunktion**

| Parameter | Wert in % des Soll |
|---|---|
| FEV1<br>(forciertes expiratorisches Volumen der 1. Sekunde) | < 80 |
| PEF<br>(expiratorischer Spitzenfluß) | < 80 |
| MEF 25/75<br>(gemittelter maximaler expiratorischer Fluß zwischen 75 und 25% der FVC (=MMEF)) | < 75 |
| SR<br>(spezifischer Atemwegswiderstand) | > 180 |
| wenn gleichzeitig | |
| FVC<br>(forcierte expiratorische Vitalkapazität) | 80-120 (= Normal) |

#### 2.2.1.2. Laufbelastung

Zur Überprüfung der bronchialen Hyperreagibilität wurde bei einen Teil der Probanden eine Laufbelastung nach folgendem Schema durchgeführt:

- Körperliche Untersuchung sowie Lungenfunktion und Pulsoxymetrie in Ruhe

- Freies Laufen auf ebener Strecke so rasch wie möglich über 6 Minuten, die Herzfrequenz sollte danach > 165/min liegen
- Auskultation und Pulsoxymetrie sofort nach dem Lauf
- nach 5 Minuten Pause Auskultation, Pulsoxymetrie und erneute Lungenfunktion

Eine Laufbelastung wurde als pathologisch gewertet, wenn die in Tabelle 2 gelisteten Kriterien erreicht, oder bei der Nachuntersuchung erstmalig Pfeifen, Giemen oder starker Reizhusten festgestellt wurden.

**Tabelle 2: Kriterien zur Beurteilung der Lungenfunktion nach einer Laufbelastung.**

| | Differenz zu Lungenfunktion in Ruhe (% des Ausgangswertes) |
|---|---|
| dFEV1 | > -20 |
| dPEF | > -20 |
| dMEF 25/75 | > -20 |
| dsR | > 100 |

### 2.2.2. Allergie-Diagnostik

Bei allen Patienten wurde eine allergologische Diagnostik durchgeführt als standardisierter Prick-Test mit 16 Allergenen. Getestet wurden: Ei (ganz), Kuhmilch, Nuß-Mischung, Gräser-, Birken-, Buchen-, Eichen-, Erlen-, Kräuter-Pollen, Epithelien von Hund, Katze, Pferd, Kaninchen, Gänsefedern, D. pteron., D. farinae, Aspergillus niger, Alternaria alternata (Bencard, Smithkline Beecham, Düsseldorf, Deutschland). Als positive Kontrolle wurde Histamin (1%) verwendet, als negative eine Glycerol-Puffer-Lösung. Die Reaktion wurde als positiv gewertet, wenn nach 15 Minuten die entstehende Quaddel um mind. 3 mm größer war als bei

der negativen Kontrollösung. Des weiteren erfolgte auch die Bestimmung des spezifischen IgE mittels ELISA (Sanofi-Pasteur, Freiburg, Deutschland).

### 2.2.3. Anamneseerhebung

Im Rahmen der klinischen Untersuchung wurden die Symptome des Asthma bronchiale (Pfeifen, Giemen, Husten, Bedarf an Zusatzmedikation in Form von kurzwirksamen β-Mimetika) erfragt und nach folgenden Schema quantifiziert [1]:

**1) Tagsüber in Ruhe**

0 = keine Beschwerden

1 = leichte Dyspnoe oder Pfeifen, keine Einschränkung der üblichen Aktivitäten

2 = deutliche Beschwerden, die meisten Aktivitäten jedoch möglich

3 = keine Aktivitäten möglich aufgrund der Beschwerden

**2) Nachts**

0 = keine Beschwerden

1 = 1 x wach pro Nacht oder morgens früher wach wegen Beschwerden

2 = 2-3 x wach pro Nacht aufgrund der Beschwerden

3 = die meiste Zeit wach aufgrund der Beschwerden

**3) Bei Belastung**

0 = keine Beschwerden

1 = keine Probleme beim Gehen, leichte Beschwerden bei Laufen/Sport, andere Aktivitäten nicht eingeschränkt

2 = Beschwerden bereits beim Gehen, nach Laufen/Sport zunehmend

3 = Beschwerden beim Gehen, kein Laufen/Sport möglich

### 2.2.4. Schweregradeinteilung

Basierend auf den anamnestischen Angaben sowie der Lungenfunktionsprüfung wurde der Schweregrad des Asthmas der Patienten den NIH- Kriterien entsprechend in 4 Stufen eingeteilt [36].

**Tabelle 3: Einteilung des Asthmas in Schweregrade nach Anamnese, Untersuchung und Lungenfunktion**

| | |
|---|---|
| **Stufe 4**<br>Schwer, persistierend | Lungenfunktion: FEV1 oder Peak-Flow < 60% des Soll oder<br>Anamnese in Ruhe = 3 oder<br>Anamnese bei Belastung = 3 oder<br>Anamnese bezüglich der nächtlichen Beschwerden > 1 |
| **Stufe 3**<br>Mäßig, persistierend | Lungenfunktion: FEV1 oder Peak-Flow < 80% des Soll oder<br>Anamnese in Ruhe = 2 oder<br>Anamnese bei Belastung = 2 |
| **Stufe 2**<br>Leicht, persistierend | Lungenfunktion: FEV1 und Peak-Flow > 80% des Soll und<br>Anamnese in Ruhe = 1 oder<br>Anamnese bei Belastung = 1 oder<br>Anamnese bezüglich der nächtlichen Beschwerden = 1 |
| **Stufe 1**<br>Leicht, intermittierend | Lungenfunktion: FEV1 und Peak-Flow > 80% des Soll und<br>Anamnese in Ruhe = 0 und<br>Anamnese bei Belastung = 0 und<br>Anamnese bezüglich der nächtlichen Beschwerden = 0 |

Die Zahlen 0 bis 3 bezüglich der Anamnese basieren auf dem im Kapitel 2.2.3 (Anamnese-erhebung) beschriebenen Schema.

### 2.2.5. Statistische Berechnungen

Die Werte von ENO sowie NaNO waren nicht normal verteilt. Daher wurden diese und die übrigen Daten als Median mit 25. und 75. Percentile (= Interquartillen Spanne) und der Anzahl n angegeben. Zur Korrelationsanalyse wurde der Spearman Rank-Test verwendet und Unterschiede von Häufigkeiten wurden mit dem $\chi^2$-Test berechnet. Unterschiede zwischen zwei Parametern wurden mit dem Mann-Whitney U-Test oder bei verbundenen Stichproben mit dem Wilcoxon Rank Sum-Test überprüft. Bei Vergleich mehrerer Gruppen wurde der nichtparametrische Jonckheere-Terpstra-Test benutzt. Die exakten p-Werte wurden mit der Monte Carlo Methode berechnet. Für alle Berechnungen wurde SPSS für Windows, Vers. 9.0.1,1999 benutzt.

## *2.3. Methodik der NO-Bestimmung*

Die Messungen wurden mit dem Gerät Logan LR 2000 (Rechester, Kent, UK) durchgeführt. Die Messung basiert auf der Chemilumineszenzanalyse. Der Meßbereich liegt zwischen 1 – 5000 ppb (parts per billion), die Antwortzeit beträgt < 0,65 s. Gleichzeitig wurden auch $CO_2$ bestimmt (Auflösung 0,1%, Antwortzeit 0,24 s) sowie der während der Messung erreichte Expirationsdruck und das ausgeatmete Volumen ermittelt. Das Meßgerät wurde mindestens einmal am Tag mittels einer zertifizierten Referenz NO-Gasprobe (100 ppb, BOC Gases, Guilford, UK) geeicht. Vor jeder Messung wurde die Konzentration des NO in der Umgebungsluft bestimmt, die bei allen Messungen unter 8 ppb lag.

### 2.3.1. NO in der oralen Ausatemluft (Exhaliertes NO, ENO)

#### 2.3.1.1. Manöver

Die Patienten wurden aufgefordert, maximal einzuatmen und danach in das Mundstück gegen einen Widerstand auszuatmen (VC-Manöver). Auf einem Monitor wurden kontinuierlich der

gemessene Druck am Mundstück, die Konzentration des NO sowie die des $CO_2$ dargestellt. Die ENO-Konzentration wurde dann nach folgenden Richtlinien abgelesen:

- konstanter Druck (wie unten angegeben 50 bzw. 100 mm $H_2O$) bei einem bekannten Widerstand und
- $CO_2$ Konzentration > 4,5 % und
- NO Konzentration mindestens 3 Sekunden auf konstantem Niveau (+/- 0,5 ppb) und in mindestens zwei Versuchen ebenfalls konstant, d.h.
- bei Werten > 50 ppb +/- 5%
- bei Werten < 50 aber > 10 ppb +/- 2%
- bei Werten < 10 ppb +/- 1%

Es wurden mindestens 2 Messungen durchgeführt und der mittlere Wert verwendet.

#### 2.3.1.2. Nasale Verunreinigung

Da die Konzentration des NO in der Nasenhöhle ca. 500 x höher ist als in der Ausatemluft der tieferen Atemwegen [2, 4, 11, 21, 27, 31, 32, 33, 42, 45] wurde der Proband bei jeder Messung aufgefordert, einen konstanten Munddruck zu erzeugen, um das Velum zu schließen. Der dafür optimale Druck war zuvor in einer Untersuchung an 10 Probanden ermittelt worden. Dazu wurden je eine Messung des NaNO und $CO_2$ bei einen Munddruck von 50 bzw. 100 mm $H_2O$ durchgeführt (Tabelle 4). Es wurden keine wesentlichen Unterschiede beobachtet. Der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben zeigte sowohl für die $CO_2$-Bestimmung ($p=0,43$), als auch für die NaNO-Bestimmung ($p=0,96$) keine signifikante Differenz. Diese Daten zeigten, daß für die Bestimmung der ENO-Konzentration ein Munddruck von 50 mm $H_2O$ geeignet ist und ENO ohne Verunreinigung aus der Nasenhöhle bestimmt werden kann. Alle weiteren Messungen wurden daher bei einem Expirationsdruck von 50 mm $H_2O$ durchgeführt.

**Tabelle 4: Nasale Konzentration von $CO_2$ und NO (=NaNO) bei einen Munddruck von 50 und 100 mm $H_2O$**

| Proben-Nr. | Munddruck 50 mm $H_2O$ | | Munddruck 100 mm $H_2O$ | |
|---|---|---|---|---|
| | $CO_2$ (%) | NaNO(ppb) | $CO_2$ (%) | NaNO(ppb) |
| 1 | 0 | 1200 | 0 | 1100 |
| 2 | 0,03 | 950 | 0,02 | 1400 |
| 3 | 0,19 | 2100 | 0,14 | 2100 |
| 4 | 0 | 1450 | 0 | 1480 |
| 5 | 0,17 | 950 | 0,08 | 920 |
| 6 | 0 | 1470 | 0,12 | 1400 |
| 7 | 0,01 | 1665 | 0,01 | 1670 |
| 8 | 0,06 | 1055 | 0,03 | 1070 |
| 9 | 0,18 | 3000 | 0,11 | 3000 |
| 10 | 0,05 | 1170 | 0,05 | 1190 |
| Median | 0,04 | 1325 | 0,04 | 1400 |
| 25 Perz. | 0 | 1028 | 0,008 | 1092 |
| 75 Perz. | 0,173 | 1773 | 0,113 | 1777 |

#### 2.3.1.3. Flußabhängigkeit des ENO

Um einen konstanten Munddruck über längere Zeit aufrechterhalten zu können, war der Einsatz unterschiedlicher Widerstände notwendig, damit auch bei Probanden mit kleinem Lungenvolumen oder Ausatemfluß (konstitutionell oder als Folge einer Lungenerkrankung) eine Messung durchgeführt werden konnte. Die über die Widerstände bei konstantem Druck erzeugten Flüsse wurden durch Mehrfachmessungen (50 pro Widerstand) an einen Pneumotachographen ermittelt.

Durch mehrfache Messungen am gleichen Tag konnten je nach Ausatemfluß unterschiedliche Konzentrationen des ENO bei demselben Probanden gemessen werden (Abbildung 1). Dabei zeigte sich eine deutliche, nichtlineare Abhängigkeit zwischen dem oral aufgebauten Fluß und der NO-Konzentration. In der Darstellung der Daten in einer doppel-logarithmischen Skala ergab sich ein linearer Zusammenhang (Abbildung 2), der statistisch sicher war (Regressionskoeffizient für alle Geraden $r^2$ >0,95). Die Steigung dieser Graden wurde errechnet und analog zu ENO und den anderen Parametern ausgewertet. Allerdings fanden sich keine Unterschiede oder Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Patientengruppen, so daß auf eine systematische Darstellung verzichtet wurde.

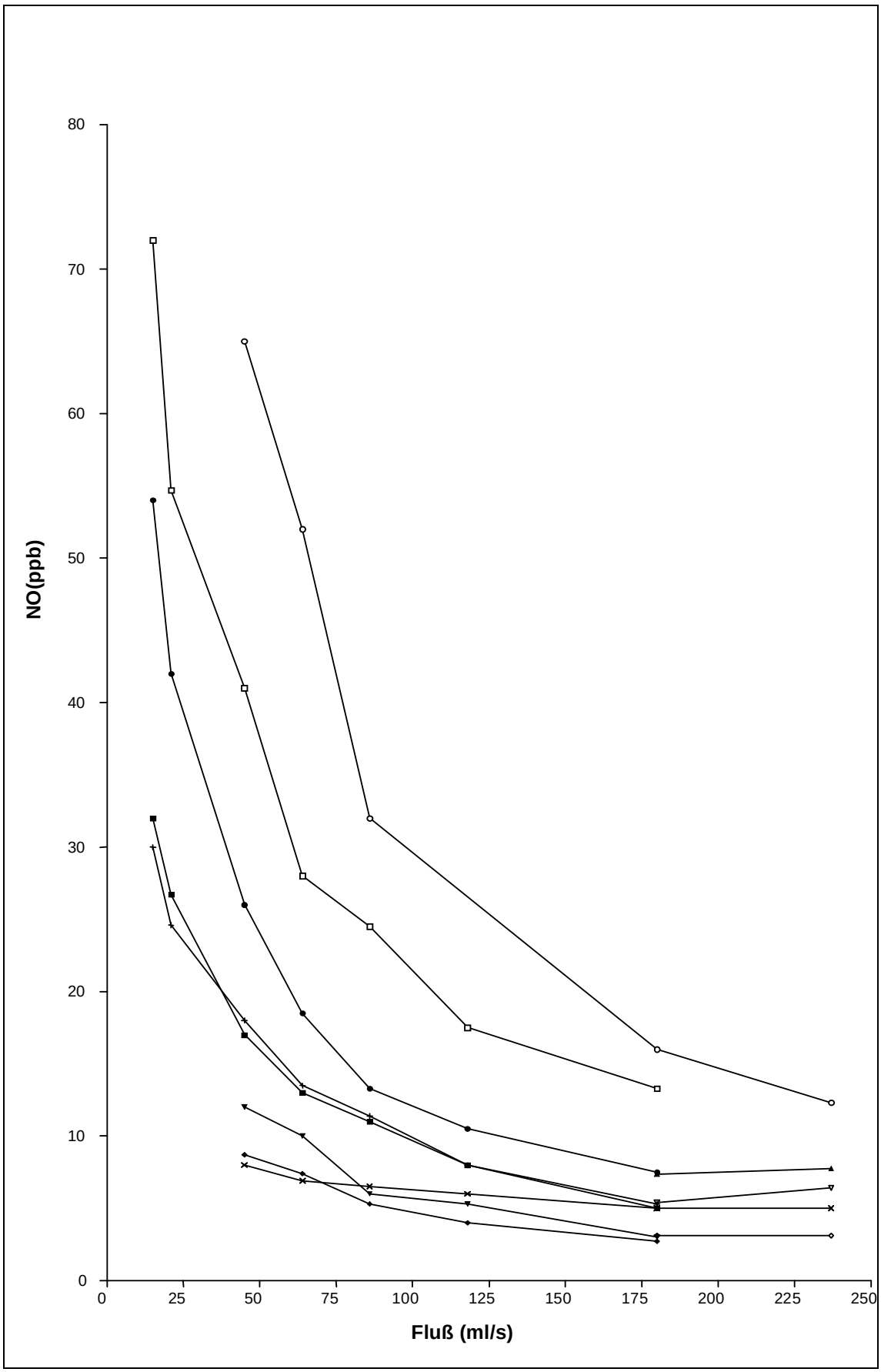



**Abbildung 1: ENO in Abhängigkeit vom Ausatemfluß bei gesunden Probanden. Lineare Skala.**

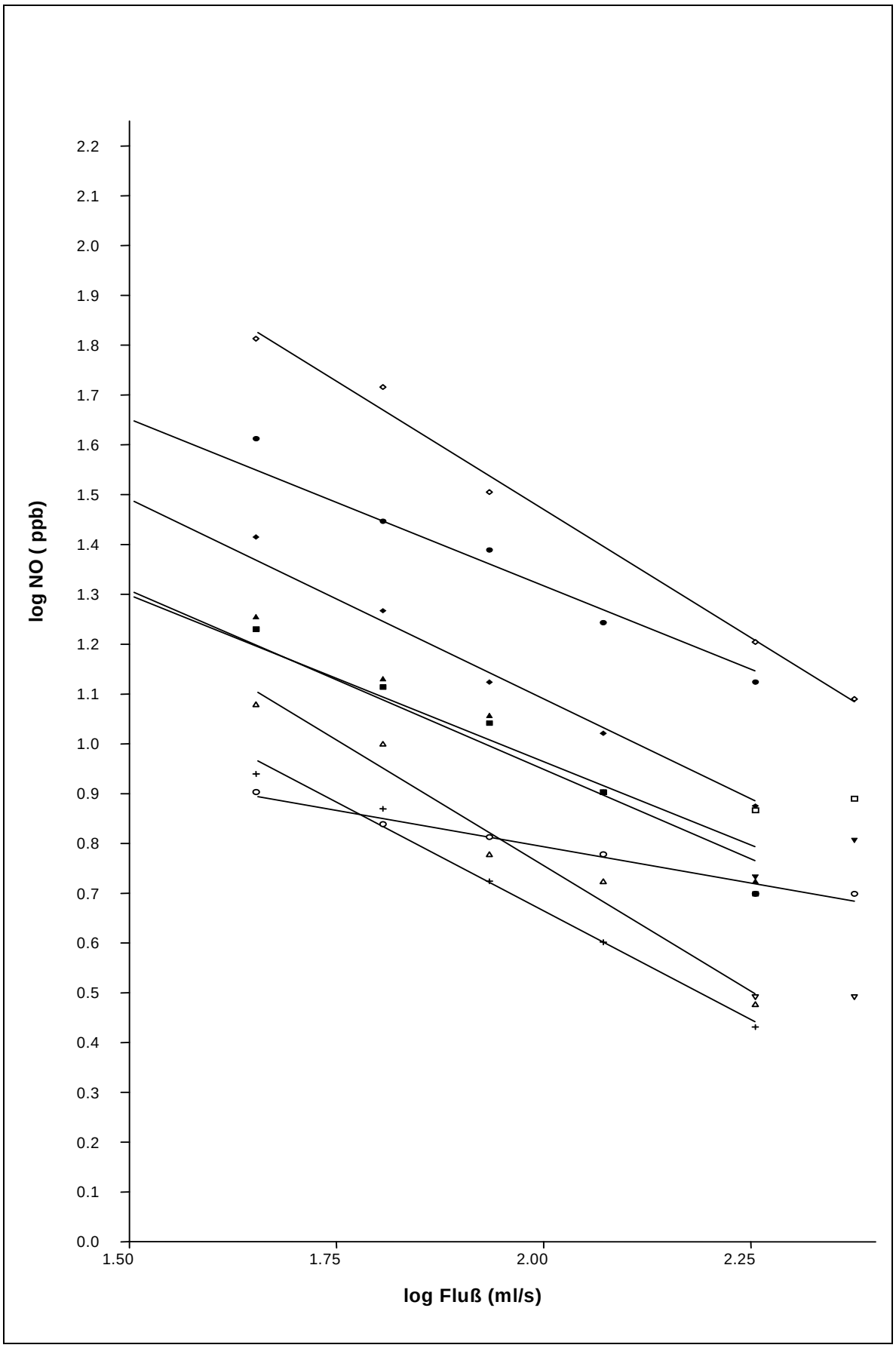



**Abbildung 2: ENO je nach Ausatemfluß bei gesunden Probanden. Gleiche Messungen wie in Abbildung 1, jedoch in einer Log-Skala für beide Achsen.**

#### 2.3.1.4. Einfluß der Laufbelastung auf gemessenes ENO

Neben einer Lungenfunktionsprüfung in Ruhe wurde bei einigen Probanden auch eine Laufbelastung durchgeführt, um zu überprüfen, ob eine bronchiale Hyperreagibilität besteht (zur Durchführung siehe Seite 8). Es stellte sich die Frage, ob durch die Laufprovokation die Konzentration des ENO geändert wird. Tabelle 5 zeigt die Werte von Personen, die zwar in Ruhe eine unauffällige Lungenfunktion hatten, 5 Minuten nach Laufbelastung jedoch Zeichen einer bronchialen Obstruktion aufwiesen und die Kriterien für das Bestehen eines hyperreagiblen Bronchialsystems erfüllten (Kriterien siehe Tabelle 2).

**Tabelle 5: ENO vor und nach Laufbelastung bei Patienten mit hyperreagiblem Bronchialsystem.**

| Proben-Nr. | ENO (ppb) in Ruhe | ENO (ppb) 5 Min. nach Lauf |
|---|---|---|
| 1 | 38 | 37 |
| 2 | 4 | 4 |
| 3 | 12 | 10 |
| 4 | 13 | 13 |
| 5 | 83 | 69 |
| 6 | 26 | 12 |
| 7 | 5 | 5 |
| 8 | 85 | 60 |
| 9 | 27 | 22 |
| 10 | 5 | 5 |
| Median | 19,3 | 12,5 |
| 25 Perz. | 5,2 | 4,6 |
| 75 Perz. | 49,3 | 42,8 |

Der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben zeigte einen signifikanten Unterschied (p=0,028). Eine submaximale Belastung führt bei Kindern mit bronchialer Hyperreagibilität zu einem Abfall des ENO 5 Minuten nach dem Lauf.

### 2.3.2. Nasales NO (NaNO)

#### 2.3.2.1. Manöver

Die Messung erfolgt, indem eine abdichtende Sonde in ein Nasenloch plaziert wird, während das zweite Nasenloch frei durchgängig bleibt. Der durch das Meßgerät erzeugte Sog von 250 ml/s erzeugt einen Luftfluß von außen über das freie Nasenloch zu dem Nasenloch, in dem sich die Meßsonde befindet. Während die Luft die Nase durchströmt, wird sie mit dem dort erzeugten NO angereichert.

Damit die Bestimmung korrekt durchgeführt werden kann, darf keine Luft aus den tieferen Atemwegen in die Nase gelangen, damit ein Verdünnungseffekt vermieden wird. Dazu sind zwei Techniken möglich:

- Atemstillstand nach tiefer Inspiration (Munddruck = 0 mm $H_2O$, $CO_2$ = 0%, NO über mindestens 5 Sekunden konstant +/- 5%)
- Ausatmung über den Mund nach tiefer Inspiration gegen einen Widerstand zur Erzeugung eines konstanten Munddrucks, um das Velum zu schließen (Ausatemmanöver, wie auf Seite 12 beschrieben)

Bei einem Munddruck ≥ 50mm $H_2O$ konnte bereits eine ausreichende Abgrenzung der Nasenhöhle gegenüber der tieferen Atemwegen erreicht werden. Nach einer Erhöhung des Munddruckes auf 100 mm $H_2O$ haben sich die Meßwerte nicht signifikant geändert (Tabelle 4).

Sowohl im Atemstillstand als auch beim Ausatmen gegen einen Widerstand mit einem Munddruck ≥ 50mm $H_2O$ wurden ähnliche Werte bei denselben Personen bestimmt (Tabelle 6); sowohl für das $CO_2$ (p=1) als auch für das NaNO (p=0,6) zeigte sich im Wilcoxon-Test kein

signifikanter Unterschied. Damit waren beide Techniken gleichwertig und die Entscheidung für das erste oder zweite Manöver nur von der Mitarbeit des Patienten abhängig.

**Tabelle 6: Vergleich der Konzentrationen von $CO_2$ und NaNO bei Atemstillstand und VC-Manöver**

| | Atemstillstand | | VC-Manöver | |
|---|---|---|---|---|
| Probe-Nr. | $CO_2$ (%) | NaNO (ppb) | $CO_2$ (%) | NaNO (ppb) |
| 990 | 0 | 560 | 0 | 531 |
| 968/969 | 0 | 1000 | 0 | 1000 |
| 1008 | 0,06 | 1730 | 0,07 | 1760 |
| 1025/1026 | 0,01 | 1315 | 0,01 | 1380 |
| 1028 | 0 | 1550 | 0 | 1580 |
| 997/998 | 0 | 780 | 0 | 813 |
| 1052/1053 | 0 | 790 | 0 | 780 |
| 1045/1046 | 0 | 1500 | 0 | 1500 |
| P 017/018 | 0 | 1380 | 0 | 1360 |
| P 026/027 | 0,01 | 2000 | 0 | 1930 |
| Median | 0 | 1347 | 0 | 1370 |
| 25. Perz. | 0 | 788 | 0 | 805 |
| 75. Perz. | 0,01 | 1595 | 0,003 | 1625 |

# 3. Ergebnisse

## *3.1. Patientengut*

Nachdem die Verfahren zur Bestimmung des ENO und NaNO etabliert worden waren, wurden zwischen April und November 1997 insgesamt 96 Patienten in die Untersuchung aufgenommen. Bei 84 Kindern konnte die Diagnose eines Asthma bronchiale gestellt werden. Diese Kinder hatten Episoden mit bronchialer Obstruktion, die nach Anwendung kurzwirksamer β-Mimetika reversibel waren. Bei 81 Patienten konnte aufgrund der Anamnese und der Diagnostik eine allergische Ursache der Beschwerden festgestellt werden. Zum Zeitpunkt der Vorstellung waren davon 74 Kinder ohne einen akuten Luftwegsinfekt (Abbildung 3).

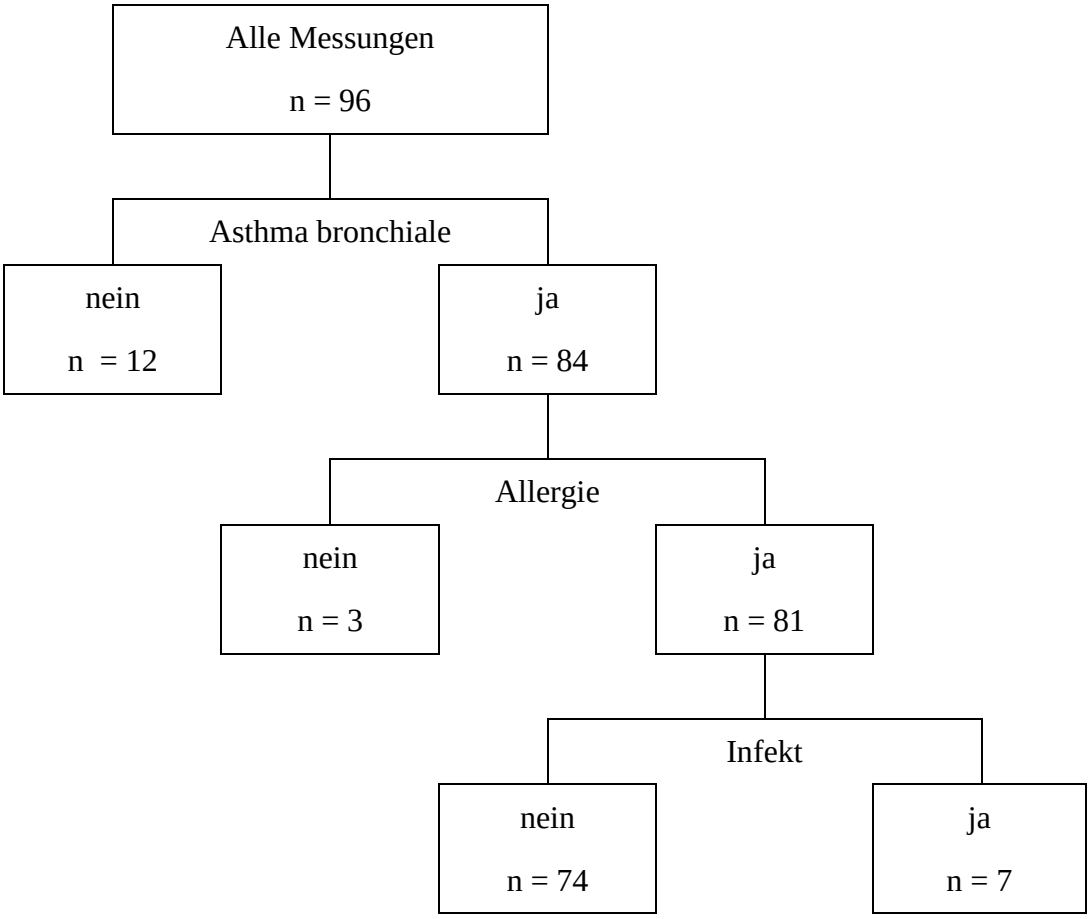



**Abbildung 3: Unterteilung der untersuchten Patienten nach Diagnose, Ätiologie der Beschwerden sowie Infekt-Anamnese, (**n = Patientenzahl)

Um den Einfluß zusätzlicher Parameter weitgehend auszuschließen wurden für die weiteren Überlegungen und statistischen Berechnungen lediglich jene Patienten berücksichtigt, bei denen die Diagnose eines allergischen Asthma bronchiale gestellt wurde und die zum Zeitpunkt der Vorstellung nicht an einen akuten Infekt der Luftwege erkrankt waren (n=74).

### *3.2. Klinische Daten der Gesamtgruppe*

Eine Zusammenfassung der Grunddaten innerhalb der näher untersuchten Gruppe von asthmatischen Kindern ohne einen akuten Luftwegsinfekt ist in Tabelle 7 dargestellt.

**Tabelle 7: Allgemeine Meßdaten der untersuchten Asthmatiker.**

| | Wert | Schwankungsbreite |
|---|---|---|
| Alter | 9,7 (7,9;11,2) [74] | 4-16 |
| Beschwerde-Score | 1,6 (1;2) [74] | 0-6 |
| Schweregrad des Asthmas | 2,3 (2;3) [74] | 0-4 |
| FEV1 (% des Solls) | 96,8 (88;105) [64] | 34-134 |
| MEF 25/75 (% des Solls) | 74,4 (55;92)[64] | 11-137 |
| FVC (% des Solls) | 98 (91;107) [64] | 57-145 |
| ENO (ppb) | 18,8 (7,3;23,5) [74] | 2,5-94 |
| NaNO (ppb) | 1220 (1000;1700) [45] | 120-4100 |

Diese Gesamtgruppe wurde nun hinsichtlich des potentiellen Einflusses der verschiedenen Parameter untersucht. Dazu wurden bei bekannter inhibitorischer Wirkung der Steroide auf die iNOS insbesondere zwei Gruppen gebildet: Patienten die bereits vor der aktuellen Vorstellung mit inhalativen Steroiden behandelt wurden (n=27), und solche, die keine Therapie hatten oder zumindest keine Steroide erhalten haben (n=47). Für diese Subgruppen erfolgte zusätzlich eine getrennte Auswertung.

### *3.3. Exhaliertes NO*

#### 3.3.1. Anamnese, Schweregrad des Asthmas

Zunächst wurde untersucht, ob eine Abhängigkeit von der klinischen Symptomatik oder einer zusätzlichen allergischen Rhinitis bestand. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen dem ENO der Asthmatiker mit oder ohne akute Symptomatik [ENO 10,5 (8;16) ppb, n= 14 versus 13,3 (7;26) ppb, n=60, p=0,3622] festgestellt werden. Auch hatte das Vorhandensein einer allergischen Rhinitis [ENO 10 (6;22) ppb, n= 34 versus 14,3 (8;26) ppb, n=40, p=0,237] keinen Einfluß auf die ENO-Werte.

Der Schweregrad des Asthmas wurde nach den NIH-Kriterien eingeteilt (Tabelle 8). Obgleich eine tendentielle Steigerung des ENO mit zunehmendem Schweregrad des Asthmas beobachtet wurde, konnte keine signifikante Korrelation gefunden werden ($r^2$=0,1392, p=0,2468).

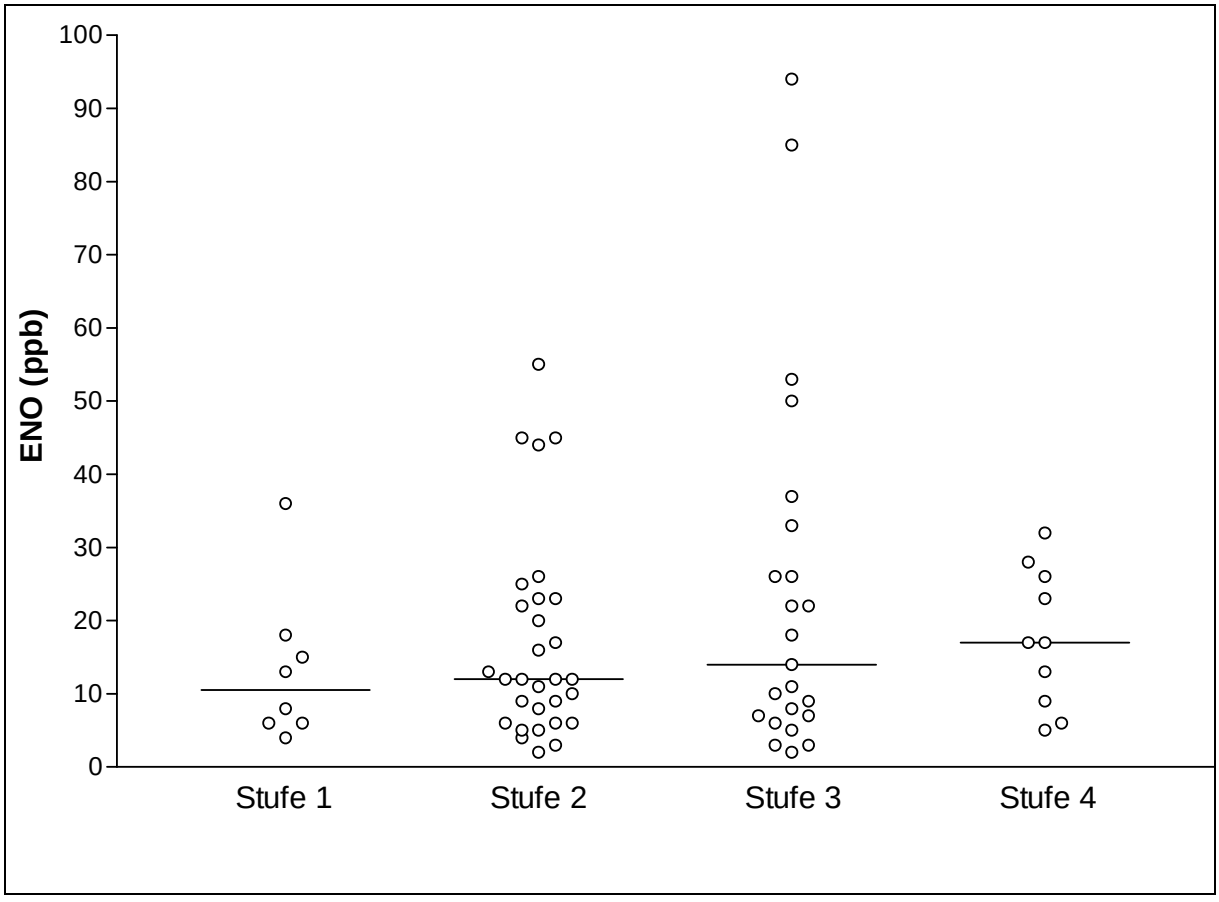



**Abbildung 4: ENO nach Schweregrad des Asthmas. Linie markiert den Median.**

Auch konnte in der Varianzanalyse kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen nachgewiesen werden (p=0,26). Wie die Einzelwerte in der Abbildung 4 zeigen, hing dies damit zusammen, daß eine breite Streuung innerhalb der Patientengruppen eines Schweregrades beobachtet wurde. Im Gegensatz dazu zeigten die Parameter Anamnese-Score (p=0,00001), FEV1 (p=0,0028) und MEF 25/75% (p=0,033) statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen mit unterschiedlichem Schweregrad des Asthma (Tabelle 8).

**Tabelle 8: ENO, NaNO, Anamnese-Score sowie Lungenfunktionsparameter nach Schweregrad des Asthma bronchiale.**

| | Leicht intermittierend Stufe1 | Leicht persistierend Stufe 2 | Mäßig persistierend Stufe 3 | Schwer persistierend Stufe 4 | p |
|---|---|---|---|---|---|
| ENO (ppb) | 11 (6,18) [8] | 12,3 (7;23) [30] | 14,4 (7,33) [23] | 17,3 (8;27) [10] | 0,26 |
| Anamnese-Score | 0 (0;0)[8] | 1 (1;2) [30] | 2 (1;2) [23] | 3 (2;5) [10] | 0,00001 |
| FEV1 (% d. Soll) | 98 (99;104) [8] | 103 (95;109) [25] | 94 (87;103) [19] | 74 (61;100) [9] | 0,0028 |
| MEF (% d. Soll) | 70 (65;103) [8] | 75 (57;91) [25] | 72 (55;87) [19] | 47 (28;73) [9] | 0,033 |
| FVC (% d. Soll) | 98 (91;115) [8] | 103 (98;111) [25] | 95 (85;101) [19] | 78 (62;98) [9] | 0,01 |
| NaNO (ppb) | 1445 (1110;1765) [8] | 1350 (1000;1759) [20] | 1195 (1025;1500) [12] | 760 (550;1500) [7] | 0,1 |

Da Steroide starken Einfluß auf die NO-Synthese haben können, wurde deren Effekt genau untersucht. Wie in Abbildung 5 dargestellt, variierten auch in den Untergruppen von Patienten mit und ohne Einnahme inhalativer Steroide die ENO-Werte etwas mit dem Schweregrad der Erkrankung. Es konnten jedoch ebenfalls keine statistisch signifikanten Differenzen zwischen den vier Untergruppen gefunden werden (Tabelle 9). Auch der direkte Vergleich der Konzentration des ENO zwischen den Patienten mit entsprechendem Schweregrad der Erkrankung ohne und mit Steroiden zeigte, ähnlich wie bei dem Vergleich der gesamten Gruppen (p=0,065), keine signifikanten Unterschiede.

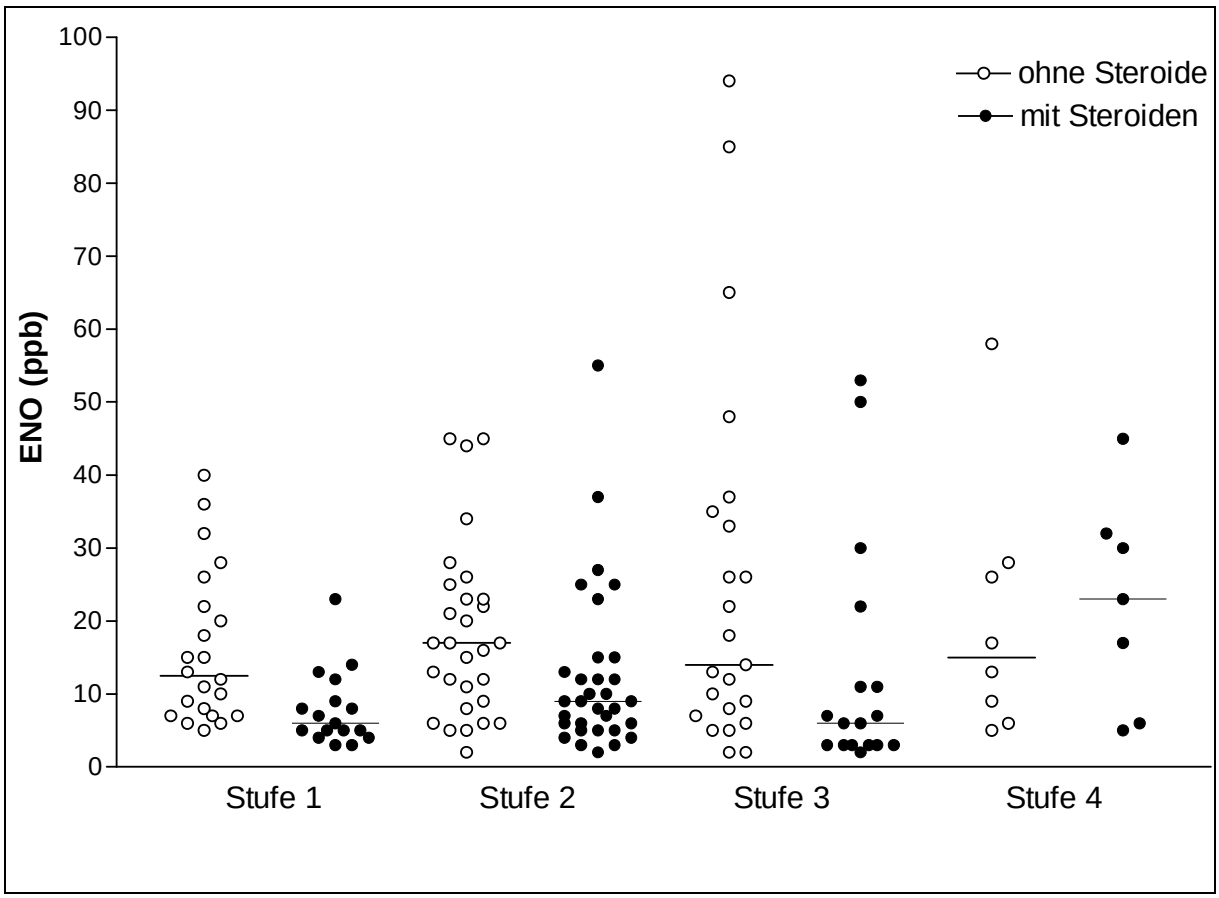



**Abbildung 5: ENO nach Schweregrad des Asthmas in Abhängigkeit von der bisherigen inhalativen Therapie. Linie markiert den Median.**

**Tabelle 9: Konzentration des ENO nach Schweregrad des Asthmas und bisheriger Therapie**

| | Leicht intermittierend Stufe 1 | Leicht Persistierend Stufe 2 | Mäßig persistierend Stufe 3 | Schwer persistierend Stufe 4 | p |
|---|---|---|---|---|---|
| keine Steroide | 15 (13;18,5) [5] | 16 (9;23) [14] | 20 (9,2;33) [14] | 13,5 (6,2;26) [7] | 0,98 |
| Steroide | 6,2 (4;8,5) [3] | 10 (5;12,5) [12] | 7,7 (6,3;22) [9] | 23 (17,32) [3] | 0,1315 |
| Signifikanz der Differenz | 0,1382 | 0,14 | 0,2544 | 0,182 | |

In den Zeilen 1 und 2 wird der Vergleich innerhalb der Schweregrad-Gruppen bei Therapie mit respektive ohne Steroide dargestellt. Die entsprechenden p-Werte in der 6. Spalte wurden mittels Jonckheere-Terpstra-Test für mehrere nichtparametrische Gruppen berechnet. Zeile 3 präsentiert die p-Werte für die Differenzen der ENO-Konzentration bei Patienten mit gleichem Schweregrad zwischen den Gruppen mit respektive ohne inhalative Steroide, die für jedes Paar mittels Mann-Whitney U-Test berechnet wurden .

### 3.3.2. Lungenfunktion

Bei jeder Patientenvorstellung wurde ein Lungenfunktionstest bestehend aus der Spirometrie und der Bodyplethysmographie durchgeführt. Die einzelnen Manöver wurden jeweils 3 x durchgeführt, daraus wurde nach der Hüllkurven-Methode die Fluß-Volumen-Kurve ermittelt und der Atemwegswiderstand errechnet. Bei insgesamt 64 Patienten waren die Ergebnisse der Lungenfunktionstestung verwertbar. Nach Berücksichtigung der altersbezogenen Sollwerte für die Lungenfunktion ergab sich bei 45 Patienten bereits in Ruhe ein pathologischer Befund. Abbildung 6 zeigt die Beziehung zwischen FEV1 und ENO, Abbildung 7 die Beziehung zwischen MEF25/75 und ENO. Für beide Lungenfunktionsparameter bestand keine Korrelation mit der ENO-Konzentration (FEV1/ENO $r^2$=0,0; MEF 25/75/ENO $r^2$=0,0064).

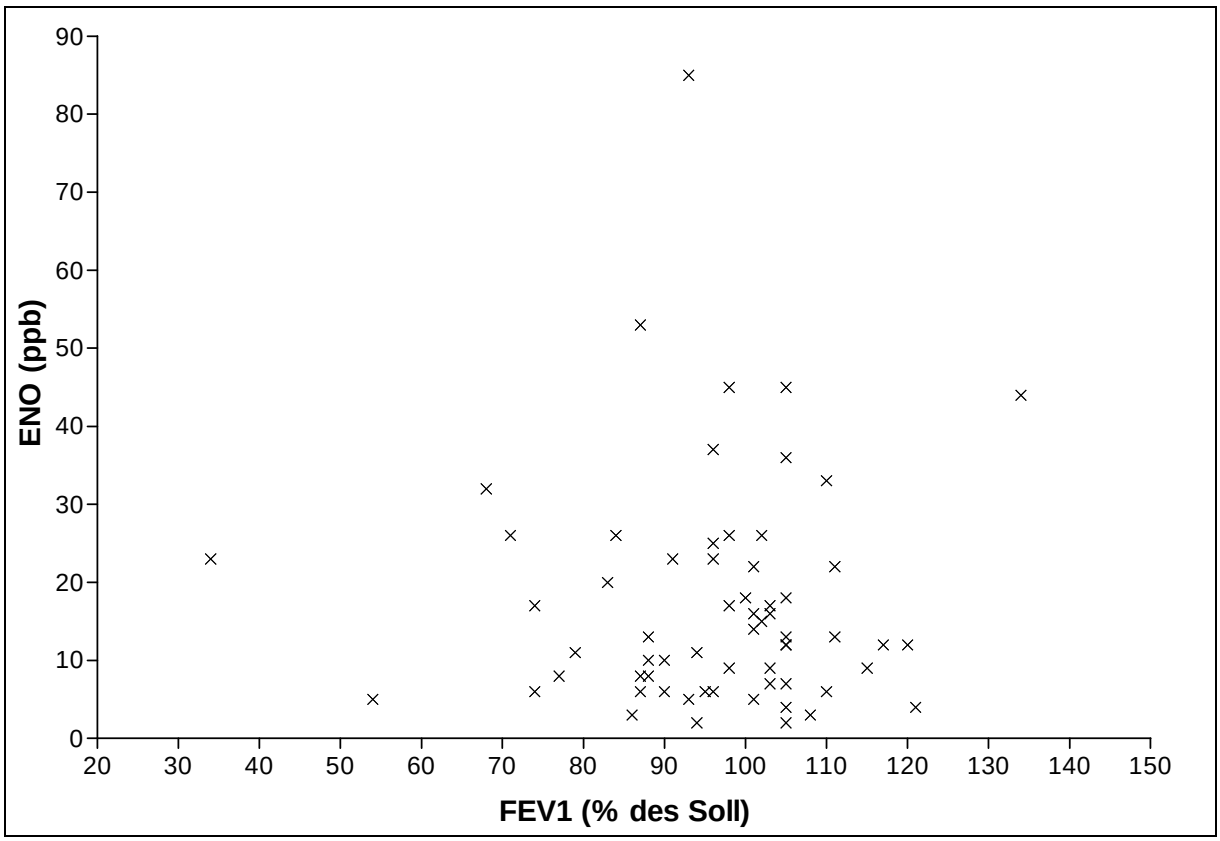



**Abbildung 6: Konzentration des ENO in Abhängigkeit von FEV1.**

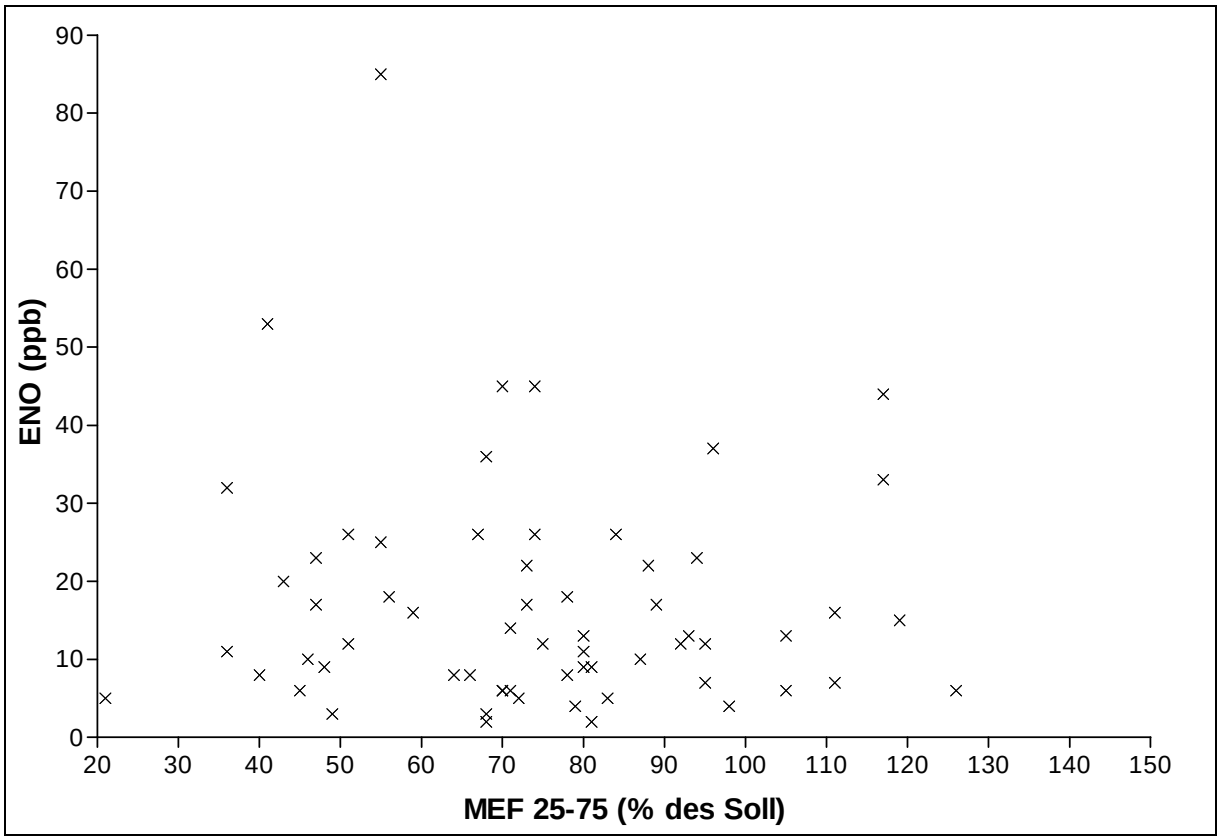



**Abbildung 7: Konzentration des ENO in Abhängigkeit von MEF 25-75%**

Abbildung 8 zeigt die ENO-Werte getrennt für Patienten mit einer Obstruktion in der Lungenfunktion und für Patienten ohne diese Auffälligkeit. Zwar wurden bei den Kindern mit Obstruktion häufig höhere ENO-Werte bestimmt, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant (p=0,29). Die gleiche Berechnung für FEV1 (p=0,87) und MEF25/75 (p=0,15) ergab ebenfalls keine signifikante Differenz.

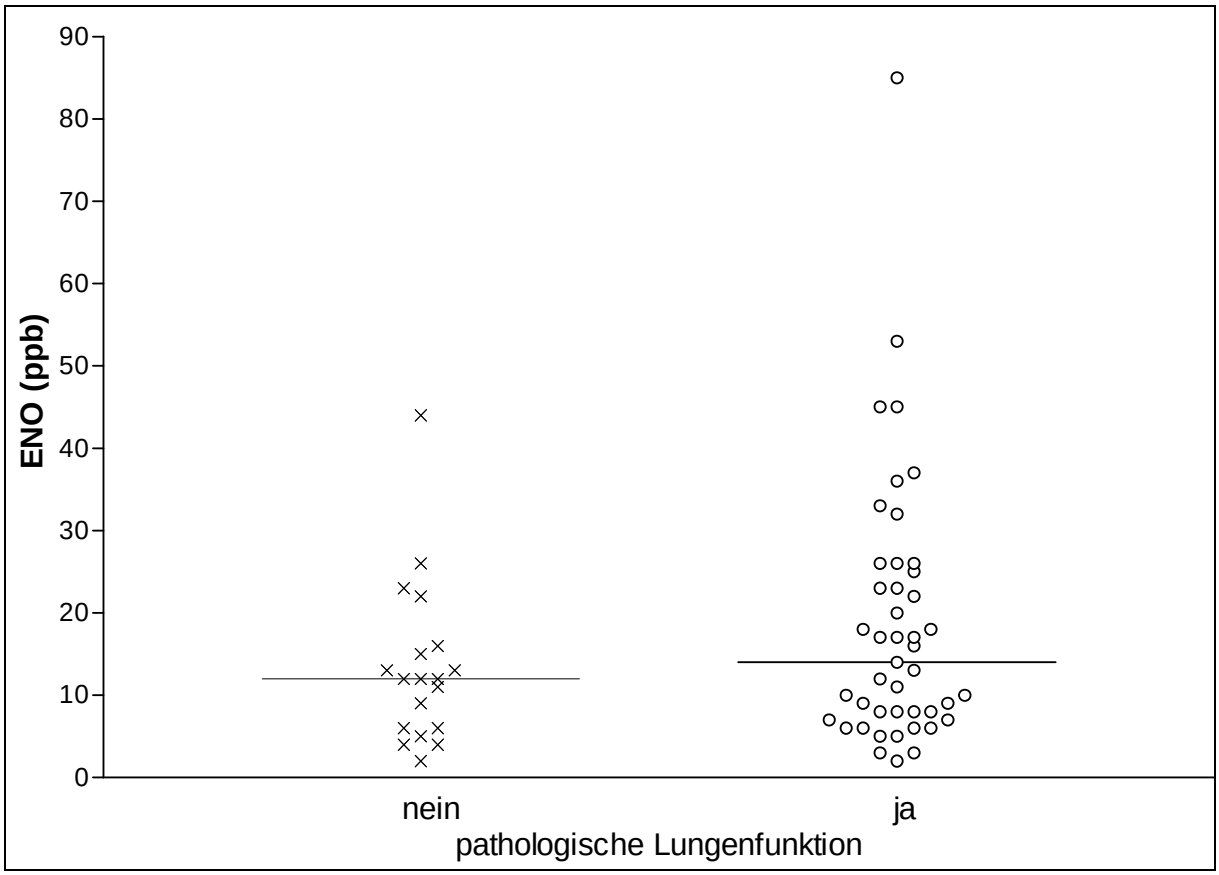



**Abbildung 8: ENO entsprechend den Ergebnissen der Lungenfunktion. Linie markiert den Median.**

Auch nach der Aufteilung in Gruppen, mit und ohne Steroidtherapie (Abbildung 9) zeigte die Überprüfung der Differenz der ENO-Konzentration zwischen Patienten mit pathologischer Lungenfunktion gegenüber Patienten ohne solche Auffälligkeiten bei beiden Subgruppen keine Signifikanz (ohne Steroide p=0,44, mit Steroiden p=0,39).

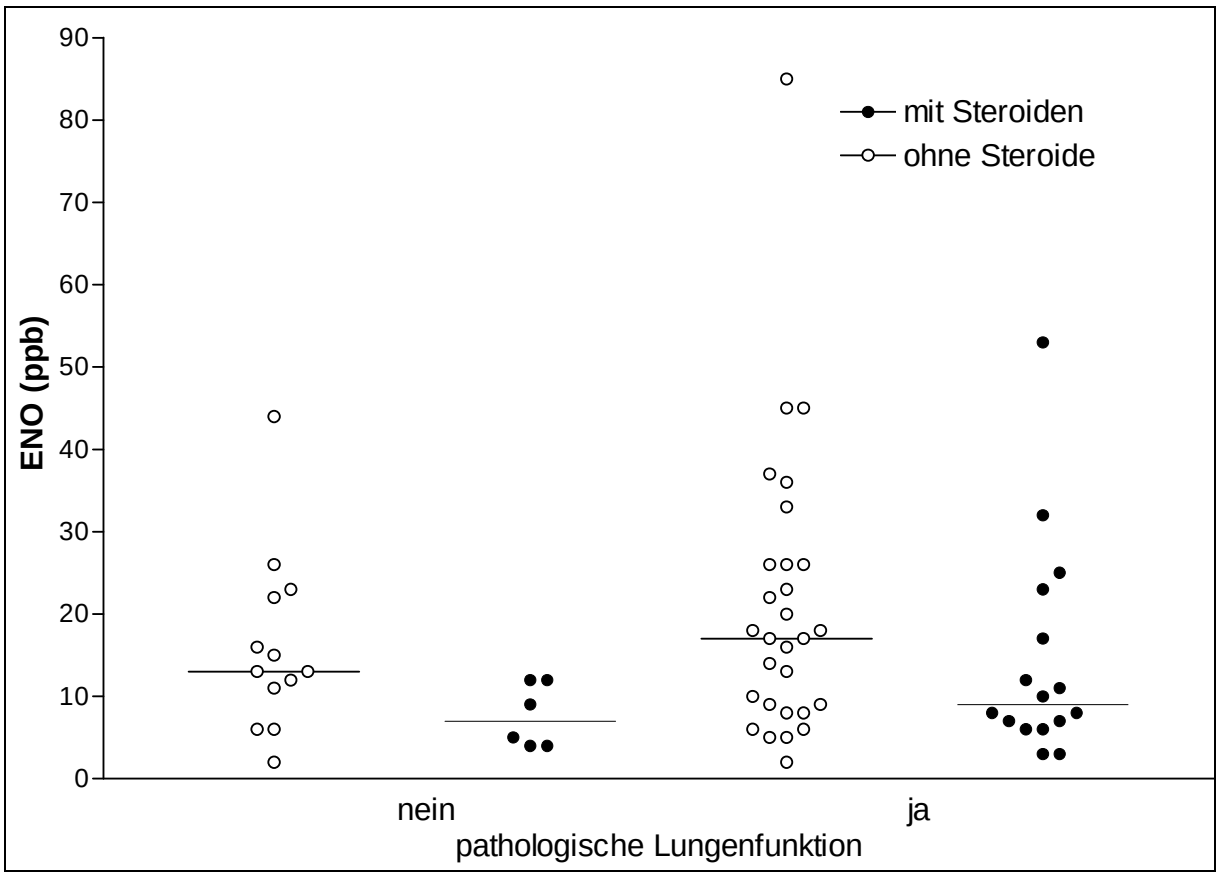



**Abbildung 9: ENO und pathologische Lungenfunktion in Abhängigkeit von der bisherigen inhalativen Therapie. Linie markiert den Median.**

Bei insgesamt 20 Patienten mit unauffälliger Lungenfunktion in Ruhe wurde bei dem Verdacht auf ein hyperreagibles Bronchialsystem oder Belastungsasthma eine Laufbelastung mit anschließender Zweituntersuchung durchgeführt. Bei 7 Patienten zeigte sich auch nach dem Lauf kein pathologischer Befund, 13 Patienten zeigten nach der Laufbelastung deutliche Zeichen einer bronchialen Obstruktion. Die Differenz der ENO-Konzentration vor der Laufbelastung zwischen diesen beiden Gruppen war jedoch nicht signifikant (p=0,87).

Demnach kann eine Aussage über eine mögliche bronchiale Hyperreagibilität auf der Basis der ENO-Werte nicht gemacht werden.

### 3.3.3. Therapiemodulation

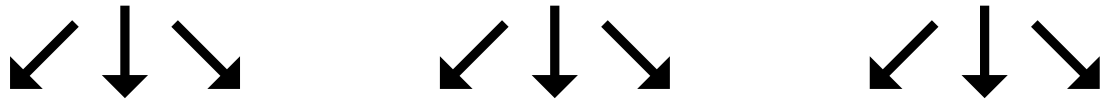
Die am Ende jeder Vorstellung erteilte Therapieempfehlung basierte auf der Anamnese, dem körperlichen Untersuchungsbefund und der Lungenfunktion. Im Einzelfall wurden darüber-

hinaus bestehende Sensibilisierungen, die Mitarbeit der Patienten, frühere Exacerbationen sowie die individuelle psychologische und soziale Situation mitberücksichtigt. Damit stellt diese Therapieempfehlung selbst einen sehr alltagsnahen Parameter der Asthmatiker-Betreuung dar. Der Entscheidungsweg ist in der Tabelle 10 dargestellt.

**Tabelle 10: Status der Patienten und therapeutische Entscheidung**

| Anamnese und klinische Untersuchung | Lungenfunktionstest |
|---|---|

| Beide unauffällig<br>n = 4 | Eins von beiden auffällig<br>n = 33 | Beide auffällig<br>N = 37 |
|---|---|---|



| Reduktion | Unverändert | Steigerung |
|---|---|---|
| n = 3 | n = 1 | n = 0 |

| Reduktion | Unverändert | Steigerung |
|---|---|---|
| n = 11 | n = 11 | n = 11 |

| Reduktion | Unverändert | Steigerung |
|---|---|---|
| n = 5 | n = 7 | n = 25 |

Bei 19 Patienten wurde die Therapie (falls zuvor durchgeführt) reduziert oder gar beendet bzw. es wurde von einer Therapie abgesehen. Bei weiteren 19 Patienten wurde die Therapie unverändert fortgeführt, bei 36 Kindern wurde sie gesteigert. In Abbildung 8 wird die Konzentration des ENO in Abhängigkeit von der Therapieentscheidung dargestellt.

Im Mann-Whitney U-Test zeigte sich zwischen den Gruppen „Reduktion“ und “Unverändert“ sowie „Unverändert“ und „Steigerung“ keine signifikante Differenz. Der Unterschied zwischen „Reduktion“ und „Steigerung“ (p=0,0087; Tabelle 12) sowie zwischen allen 3 Gruppen (p=0,0107; Tabelle 11) waren signifikant. Abbildung 11 zeigt die Konzentration des ENO in Abhängigkeit von der Therapieempfehlung getrennt für die Patienten, die keine Steroide erhalten haben und für die Kinder, die mit Steroiden vorbehandelt waren. Es konnte keine signifikante Differenz zwischen den Untergruppen gefunden werden (p=0,077 für die Gruppe mit Steroiden; p=0,293 für die Gruppe ohne Steroide).

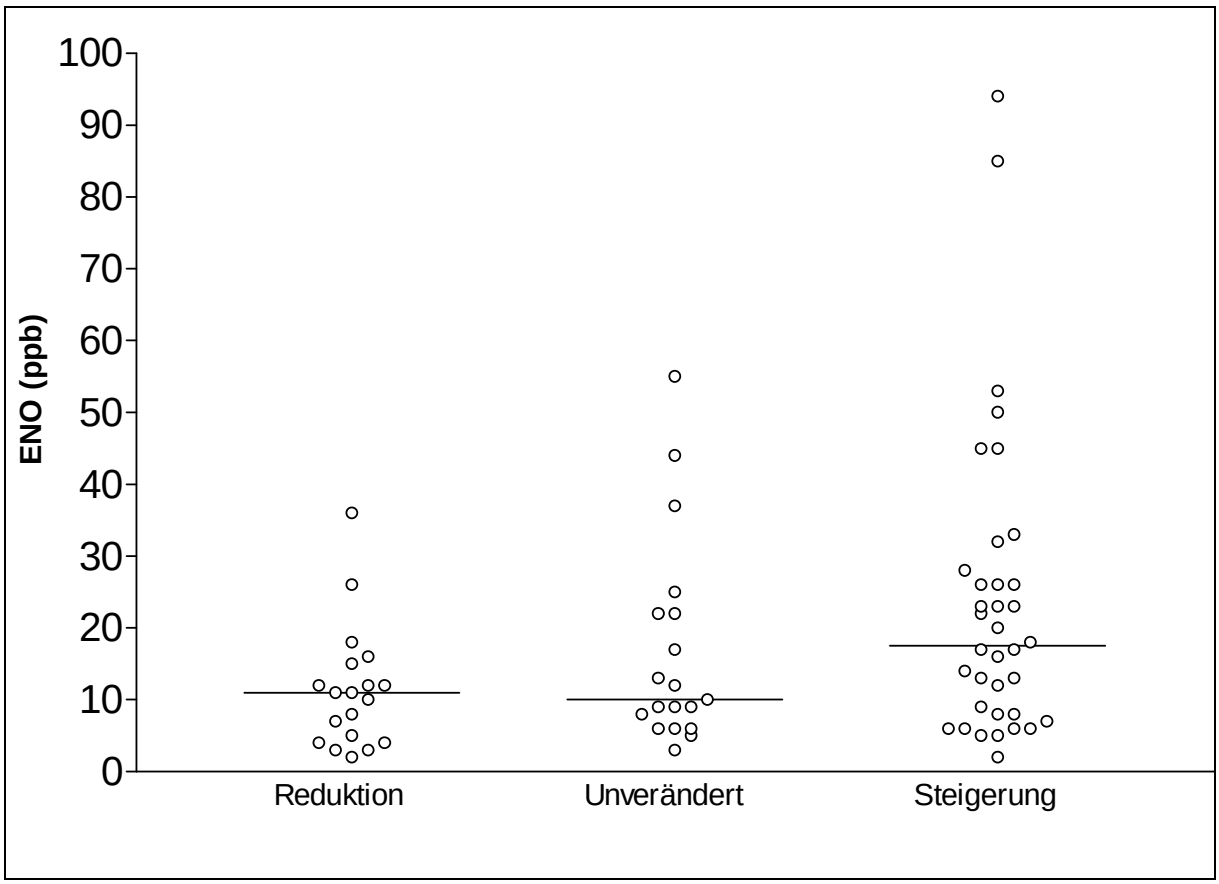



**Abbildung 10: ENO je nach Therapie-Modulation. Linie markiert den Median.**

**Tabelle 11: ENO je nach Therapiemodulation und bisheriger Therapie.**

| | Reduktion/Ende/keine Therapie | Unverändert | Steigerung | p |
|---|---|---|---|---|
| alle Patienten | 11 (4,7;15) [19] | 10,5 (6,3;22) [19] | 17,75 (8;27,5) [36] | **0,0107** |
| Ohne Steroide | 15 (10;18,5) [9] | 12,8 (9,22) [10] | 17,5 (8,7;26) [28] | 0,2933 |
| Mit Steroiden | 8,1 (4;12) [10] | 9,5 (6,3;22) [9] | 20,3 (6,8;41) [8] | 0,0777 |

Auch die Differenz zwischen den Gruppen „Reduktion“, „Unverändert“ und „Steigerung“ ergab nur bei den mit Steroiden behandelten Patienten zwischen der Gruppe „Reduktion“ und „Steigerung“ einen signifikanten Unterschied (p=0,05). Zwischen allen anderen Untergruppen konnte keine statistisch belegbare Differenz gefunden werden (Tabelle 12).

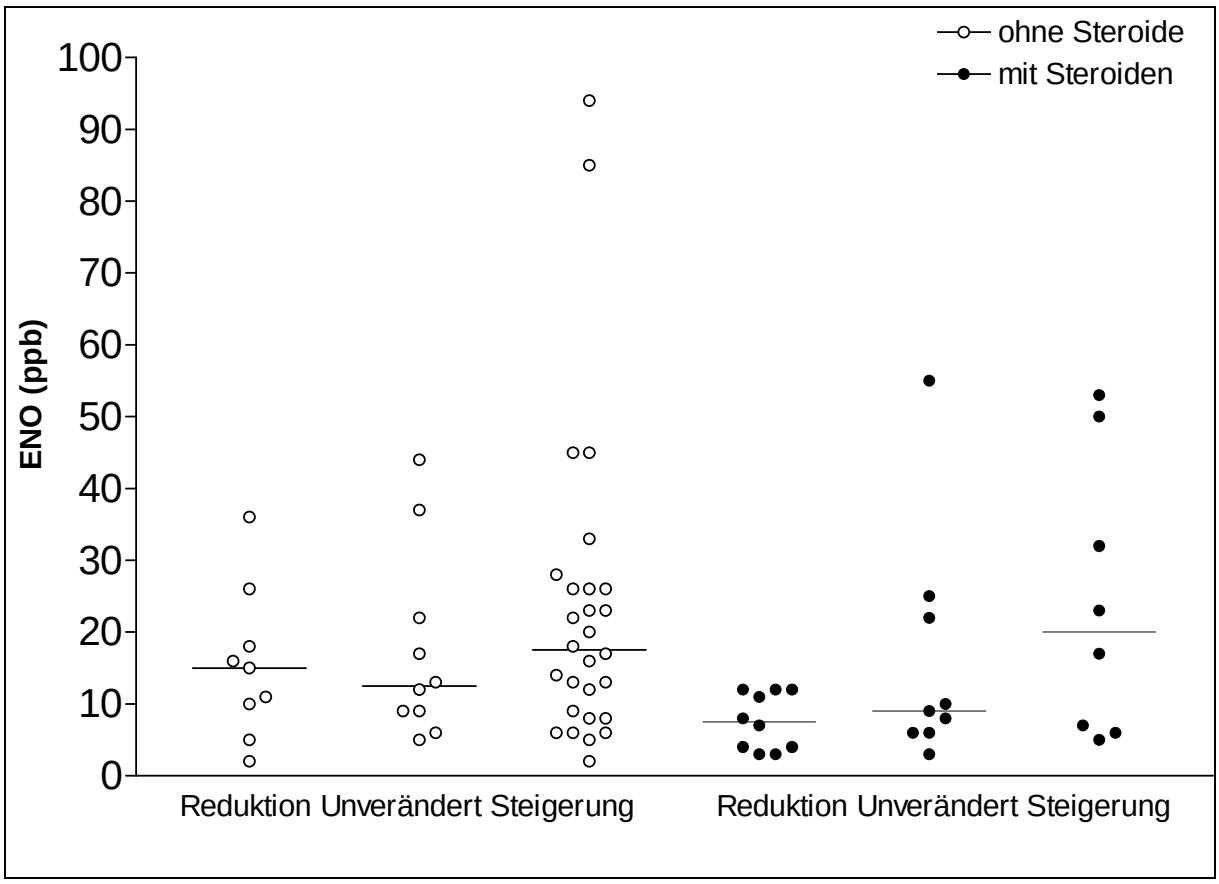



**Abbildung 11: ENO-Konzentration nach bisheriger Therapie und Therapie-Modulation. Linie markiert den Median.**

**Tabelle 12: Signifikanz der Differenz der ENO-Konzentration nach bisheriger Therapie und aktuellen Empfehlung zur weiteren Behandlung.**

| Differenz der ENO-Konzentration zwischen: | Alle Patienten | Bisherige Therapie | |
|---|---|---|---|
| | | ohne Steroide | mit Steroiden |
| „Reduktion“ und „Unverändert“ | 0,31 | 0,93 | 0,36 |
| „Reduktion“ und „Steigerung“ | **0,0087** | 0,4 | **0,05** |
| „Unverändert“ und „Steigerung“ | 0,22 | 0,43 | 0,56 |

Anders als für ENO zeigte sich ein enger Zusammenhang zwischen der empfohlenen Therapieänderung und der Anamnese (p= 0,0009), dem Anamnese-Score (p=0,0003) sowie einer pathologischen Lungenfunktion (p=0,02).

Bei insgesamt nicht-normal verteilten Werten für das ENO zeigten sich in allen Gruppen einige Messungen im sehr niedrigen Bereich. Nachdem mit derselben Methodik in einer parallelen Untersuchung Messungen an gesunden Probanden durchgeführt worden waren, wurde aus diesen Daten der Schwellenwert für normale Kinder (Median ± 2-fache Standardabweichung) errechnet. Der obere Wert lag bei 13 ppb und wurde im weiteren als obere cut-off-Grenze verwendet. Dabei zeigte sich, daß bei 24 von 36 Patienten, deren Therapie gesteigert wurde, eine ENO-Konzentration > 13 ppb gemessen wurde. Im Gegensatz dazu lag nur bei 13 von 37 Patienten, deren Therapie unverändert blieb oder reduziert wurde, die gemessene ENO-Konzentration über 13 ppb (p=0,0127; Tabelle 13).

**Tabelle 13: Anzahl der Patienten mit normalen oder abweichenden ENO-Werten, Lungenfunktionswerten, sowie Anamnesen in Beziehung zur empfohlenen Therapie-Modulation**

| | Steigerung | Unverändert | Reduktion | Sensitivität | Spezifität |
|---|---|---|---|---|---|
| Alle Messungen | 36 | 19 | 18 | | |
| ENO > 13 ppb | 24 | 8 | 5 | 0,67 | 0,65 |
| ENO < 13 ppb | 12 | 11 | 13 | | |
| FEV1 < 80% | 6 | 1 | 1 | 0,17 | 0,78 |
| FEV1 > 80% | 26 | 12 | 17 | | |
| MEF25/75 < 75% | 21 | 9 | 8 | 0,59 | 0,46 |
| MEF25/75 > 75% | 15 | 10 | 11 | | |
| Beschwerden **ja** | 34 | 15 | 11 | 0,94 | 0,32 |
| Beschwerden **nein** | 2 | 4 | 8 | | |

Die Sensitivität wurde berechnet als Verhältnis der Anzahl der Patienten, deren Therapie gesteigert wurde zu der Anzahl der Patienten mit positivem (pathologischen) Test. Die Spe-

zifität entspricht dem Verhältnis der Patienten, deren Therapie reduziert oder unverändert gelassen wurden zu der Anzahl der Patienten, die einen negativen (unauffälligen) Test hatten.

## *3.4. Nasales NO*

Parallel zu der Messung der ENO-Konzentration wurde auch die Konzentration des NO in der Nasenhöhle (NaNO) ermittelt. Eine Verdünnung der nasalen NO-Konzentration durch die Ausatmung wurde durch einen kurzen Atemstillstand oder durch ein Ausatem-Manöver gegen einen Widerstand (Velumschluß) verhindert.

Bei insgesamt 45 Patienten mit allergischem Asthma bronchiale ohne einen akuten Luftwegsinfekt und ohne eine topische Therapie mit steroidhaltigen Nasentropfen/Nasenspray wurden verwertbare Ergebnisse abgeleitet. Die Grunddaten sind in Tabelle 7 dargestellt.

### 3.4.1. Zusammenhang zwischen ENO und NaNO

Bei den 45 Asthmatikern wurde der vermutete Zusammenhang zwischen der NO-Konzentration in der Ausatemluft und in der Nasenhöhle untersucht (Abbildung 12). Eine Korrelation dieser beiden Parameter wurde jedoch nicht gefunden ($r^2$=0,0079).

Auch nach der Aufteilung der Patientengruppe in Abhängigkeit von der bisherigen Therapie (mit und ohne inhalative Steroide) zeigten ENO und NaNO keine Korrelation ($r^2$ = 0,076 ohne inhalative Steroide; $r^2$ = 0,000 mit Steroiden).

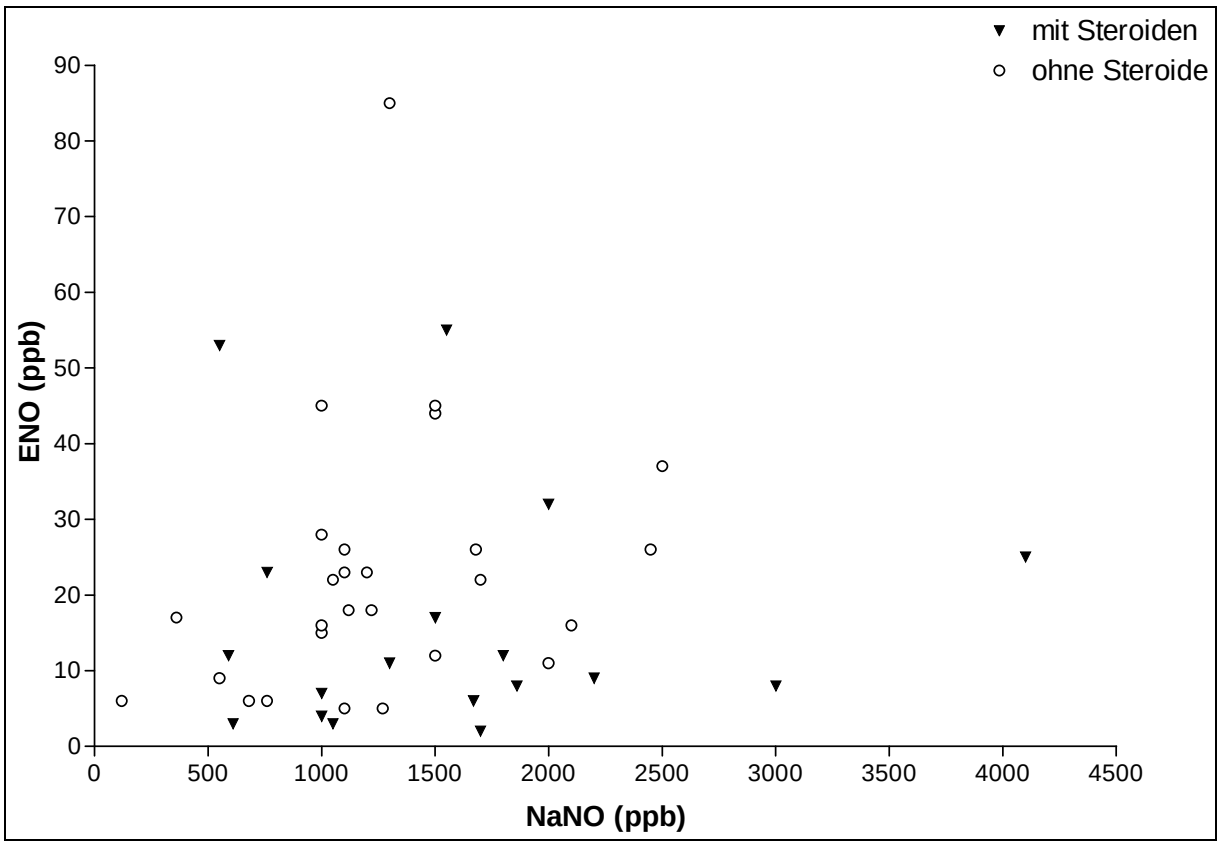



**Abbildung 12: Korrelation zwischen ENO und NaNO (beide in ppb) in Abhängigkeit von der bisherigen Therapie.**

### 3.4.2. Anamnese und Lungenfunktion

Ähnlich wie bei der Auswertung des ENO wurden die Patienten, bei denen NaNO gemessen wurde, in unterschiedliche Schweregrade des Asthmas (nach NIH-Kriterien) eingeteilt (Abbildung 13). Die Unterschiede der NaNO-Konzentrationen zwischen diesen vier Untergruppen war jedoch nicht signifikant (p=0,1, Tabelle 8).

Auch konnte kein Zusammenhang zwischen NaNO und weiteren klinischen Parametern, die zur Beurteilung des Asthmas erhoben wurden, wie z.B. einer positiven Anamnese bezüglich asthmatischer Beschwerden oder neiner pathologische Lungenfunktion, gefunden werden (Tabelle 14).

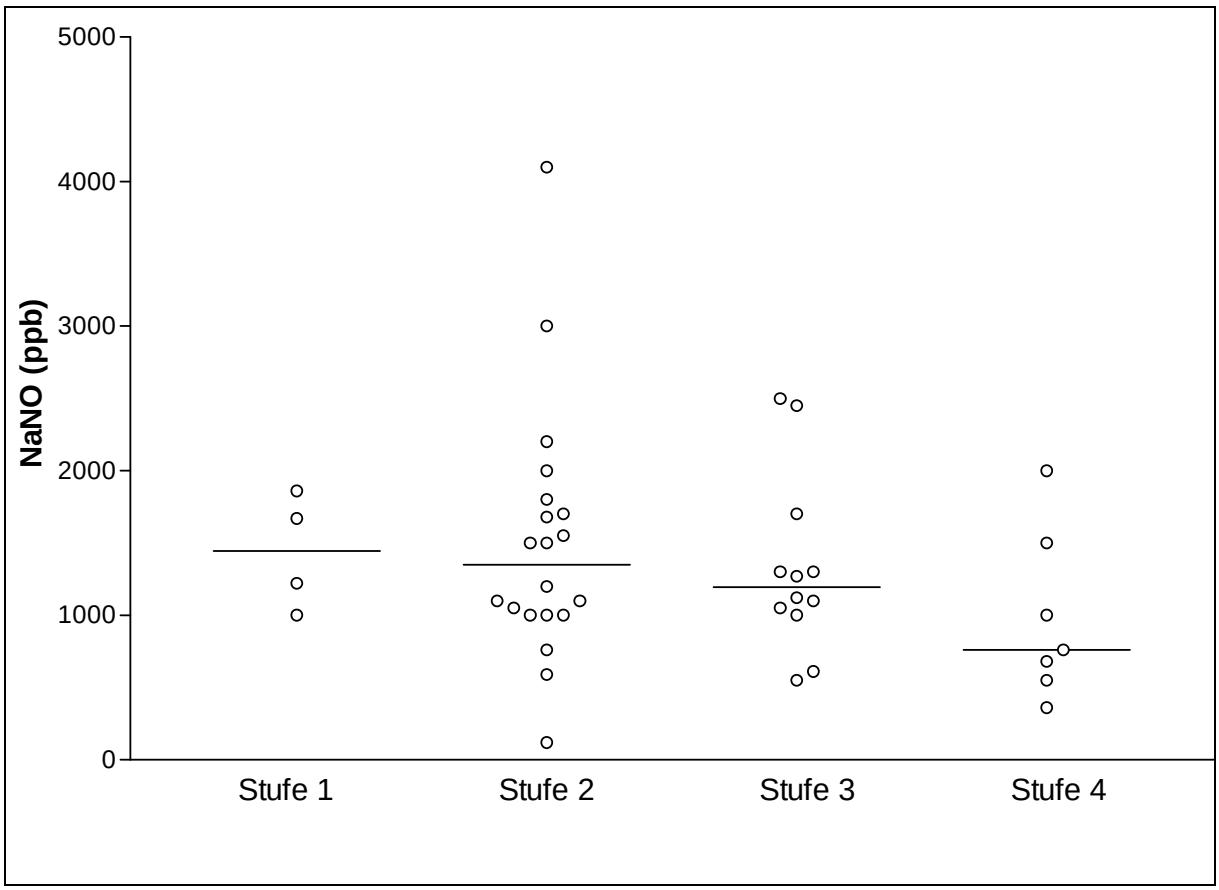



**Abbildung 13: NaNO bei unterschiedlichen Schweregraden des Asthma bronchiale. Linie markiert den Median.**

**Tabelle 14: Statistische Beziehung zwischen NaNO, Lungenfunktion und Anamnese bezüglich asthmatischer Beschwerden**

| | ja | nein | p |
|---|---|---|---|
| Therapie mit Steroiden | 1120 (1000;1500) [27] | 1525 (1000;1860) [18] | 0,468 |
| Pathologische Lungenfunktion | 1100 (1000;1500) [13] | 1300 (1000;1750) [28] | 0,382 |
| Beschwerden | 1485 (1170;1980) [8] | 1100 (1000;1680) [37] | 0,159 |

### 3.4.3. Allergische Rhinitis

Bei 22 von 45 Patienten mit verwertbaren NaNO-Messungen wurde aufgrund der Anamnese sowie des klinischen Befundes die Diagnose einer allergischen Rhinitis gestellt. Die Beziehung zwischen dieser Diagnose und dem gemessenen NaNO war nur sehr locker (Abbildung 14). Bei tendentiell etwas höherer NaNO-Konzentration bei Patienten mit einer allergischen Rhinitis war die errechnete Differenz nicht signifikant (p=0,1842).

Um einen möglichen Einfluß der durchgeführten Steroid-Therapie auf die NO-Synthetase in der Nasenhöhle zu beurteilen, wurde diese Auswertung auch getrennt für die Asthmatiker mit inhalativen Steroiden (p=0,34) sowie ohne Steroide (p=0,26) durchgeführt (Abbildung 15), ohne jedoch eine signifikante Differenz zu erhalten (
Tabelle 15).

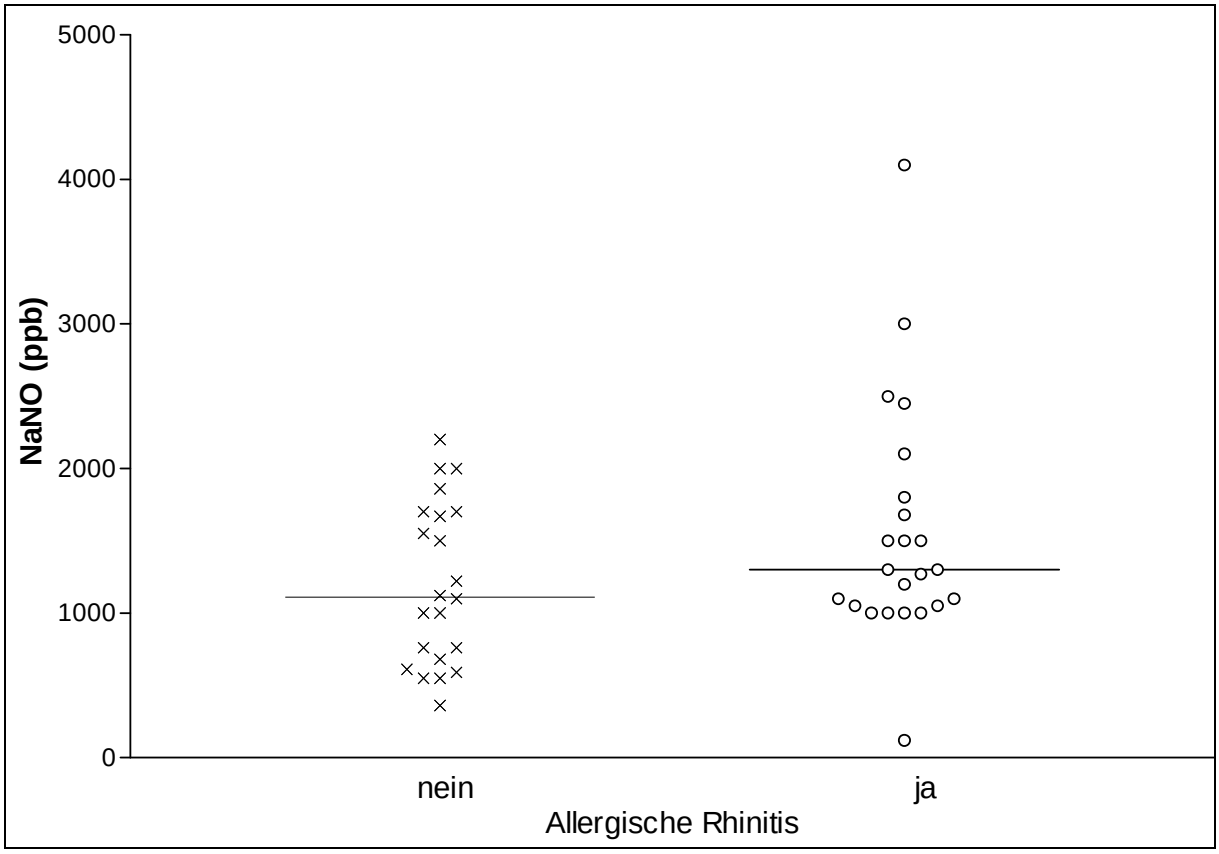



**Abbildung 14: NaNO bei Patienten mit Asthma bronchiale für Patienten mit respektive ohne eine allergische Rhinitis**

**Tabelle 15: NaNO in Abhängigkeit von bestehender allergischen Rhinitis und bisheriger inhalativen Therapie**

| | Besteht allergische Rhinitis? | | |
|---|---|---|---|
| | ja | nein | p |
| Alle | 1110 (680;170) [22] | 1300 (1050;1800) [23] | 0,1842 |
| keine Therapie mit inhalativen Steroiden | 1100 (680;1500) [11] | 1235 (1025;1590) [16] | 0,26 |
| Inhalative Therapie mit Steroiden | 1550 (610;1860) [11] | 1500 (1050;3000) [7] | 0,34 |

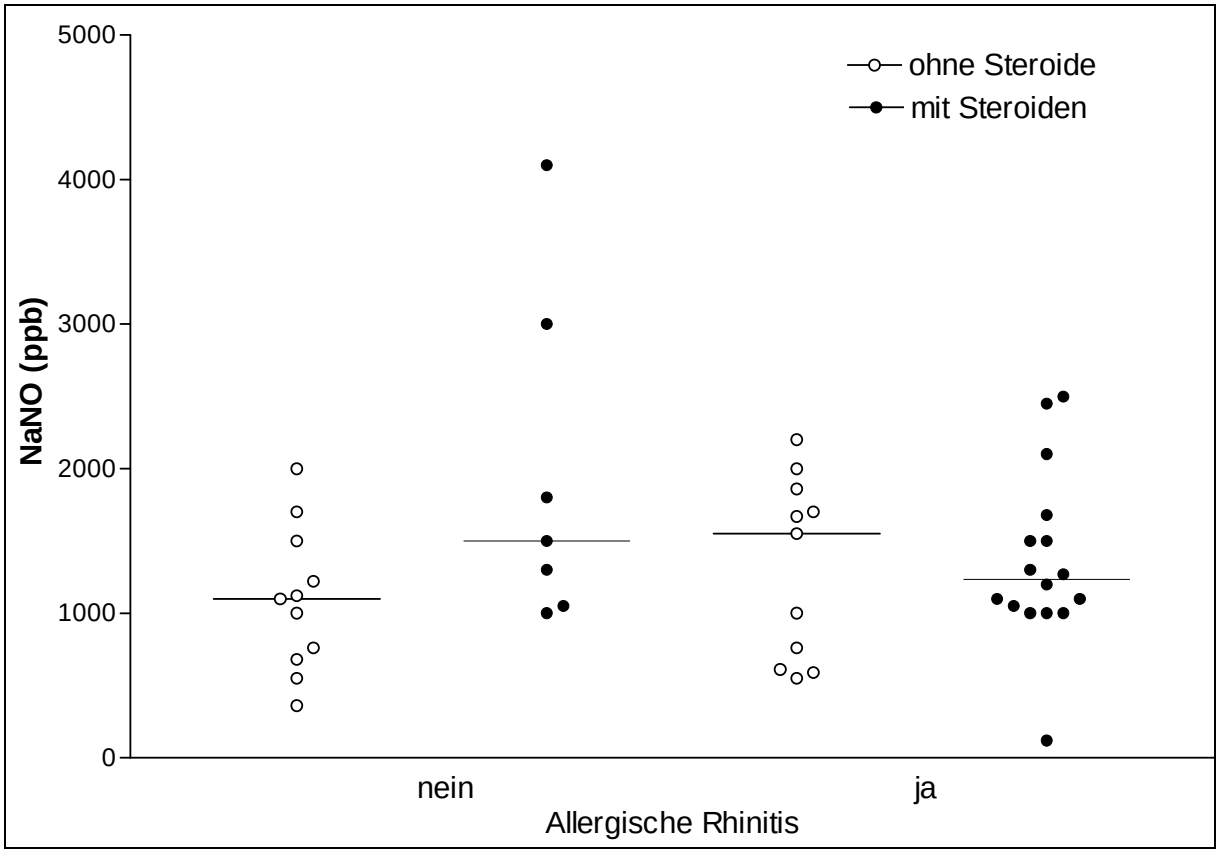



**Abbildung 15: NaNO bei Patienten mit Asthma bronchiale. Getrennte Darstellung für Patienten ohne und mit einer allergischen Rhinitis, sowie ohne und mit inhalativer Steroidtherapie. Linie markiert den Median.**

### 3.4.4. Die Therapiemodulation

Die zum Abschluß jeder Patientenvorstellung empfohlene Therapie-Änderung wurde ebenfalls als ein Parameter der Patientenbetreuung herangezogen. Ähnlich wie bei den ENO-Messungen wurde auch überprüft, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen mit unterschiedlichen Therapieempfehlungen bezogen auf das nasale NO besteht.

Es zeigte sich eine starke Überlappung der NaNO-Konzentration zwischen den einzelnen Gruppen (Abbildung 16: „Reduktion“ 1200 (1000;1800) [13]; „Unverändert“ 1550 (1100;2500) [9]; „Steigerung“ 1120 (760;1670) [24]); der Unterschied war nicht signifikant (p=0,42).

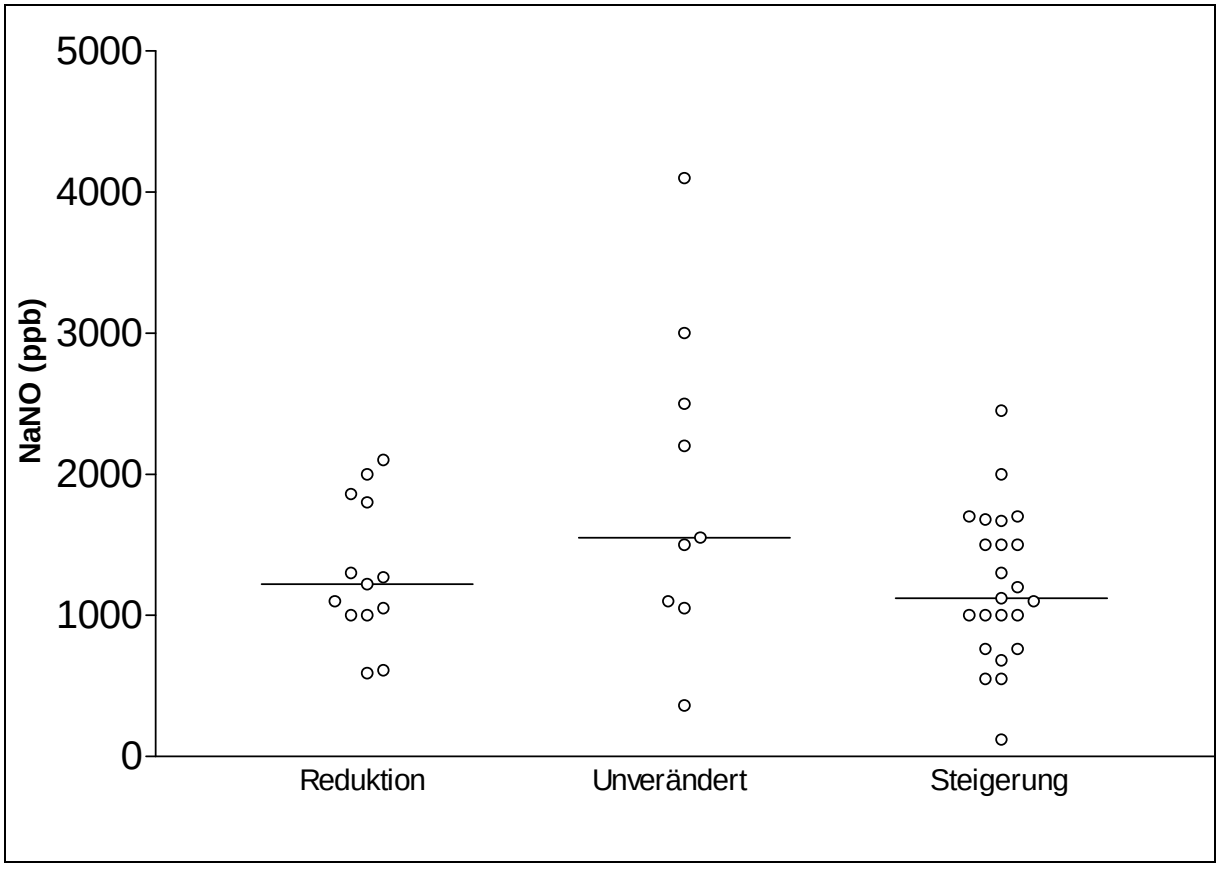



**Abbildung 16: NaNO und Therapieentscheidung. Linie markiert den Median**

Auch der direkte Vergleich zwischen jeweils nur zwei Gruppen zeigte keine signifikante Differenz („Reduktion“ vs. „Unverändert“ p=0,159; „Reduktion“ vs. „Steigerung“ p=0,557; „Unverändert“ vs. „Steigerung“ p=0,084).

# 4. Diskussion

Ziel dieser Untersuchung war zunächst die Erarbeitung einer für Kinder geeigneten, alltagsgerechten und zuverlässigen Bestimmungsmethode für die Konzentration von NO sowohl in den tiefen Atemwegen (ENO), als auch in der Nasenhöhle (NaNO). Das Ausatemmanöver gegen einen Widerstand von 50 mm $H_2O$-Säule verhinderte eine Verunreinigung der Ausatemluft mit NaNO und ermöglichte eine Messung des NO in der Nasenhöhle ohne einen Verdünnungseffekt. Standardmäßig wurden der Ausatemfluß auf 184 ml/s und der Munddruck von 50 mm $H_20$ bei allen Patienten festgelegt. Beide Parameter konnten problemlos durch alle Kinder unabhängig von der Ausprägung der bronchialen Obstruktion erzeugt und über die nötige Zeit aufrechterhalten werden. Die durchgeführten Messungen zeigten ein eindeutiges Plateau für die NO-Konzentration über mindestens 3 Sekunden. Durch die relativ hohe Flußgeschwindigkeit war zwar die gemessene ENO-Konzentration relativ niedrig, die bei Mehrfachmessungen beobachteten Schwankungen waren jedoch sehr gering. Bei den so durchgeführten Messungen an gesunden Probanden sowie Kindern mit Asthma bronchiale zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit zwischen den gemessenen Konzentrationen des ENO und dem erzeugten Fluß am Mundstück, ähnlich wie bereits bei Erwachsenen beschrieben [10]. Bereits während der Erprobungsphase der Meßtechnik zeigte sich bei Kindern mit belastungsabhängiger Obstruktion ein Abfall des ENO 5 Minuten nach einer Laufbelastung. Ein Anstieg des ENO erst in der Spätphase der allergischen Reaktion wurde bereits für inhalative Provokationen mit Allergenen beschrieben [26]. Weitere Untersuchungen der ENO nicht nur nach 5 Minuten, sondern auch in der Spätphase sollten in künftigen Untersuchungen klären, ob ein ähnliches Phänomen für die Laufprovokation beobachtet werden kann.

Auch bei der Bestimmung des NaNO konnten mit einer einfachen Technik (je nach Mitarbeit des Patienten durch einen kurzen Atemstillstand oder durch ein Ausatemmanöver wie bei der Bestimmung des ENO) reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. Sowohl die Messung des ENO als auch die NaNO-Bestimmung wurden problemlos in den Klinikalltag integriert.

Als nächstes wurden in einer blinden, prospektiven Untersuchung bei Asthmatikern die Zusammenhänge zwischen ENO und den bei der Betreuung von Asthmatikern etablierten Parametern untersucht. Die ENO-Konzentration wurde als neuer, aussagekräftiger Parameter zur Beurteilung der Entzündung der Atemwege (wie z.B. Asthma bronchiale) postuliert. Es wurde daher eine Korrelation zwischen ENO und der Anamnese, der körperlichen Untersuchung und den Lungenfunktionstests erwartet.

Bei den Messungen an unseren Patienten war vor allem eine Verteilung der ENO-Konzentration über einen großen Bereich auffällig. Unabhängig davon, ob nun eine Einteilung der Patienten nach dem Schweregrad der Erkrankung, nach den klinischen Parametern wie z. B. der Lungenfunktion oder nach anamnestisch bestehenden Beschwerden vorgenommen wurde, überlappten die Meßwerte zwischen diesen Gruppen stark. Dies betraf vor allem die niedrigen Konzentrationen die in jeder Gruppe genau so wie bei gesunden Probanden gemessen werden konnten. Daher erlaubten die erhobenen Werte keine diagnostische Aussage für den einzelnen Patienten.

Dies beruhte zum Teil darauf, daß die gemessenen ENO-Konzentrationen nicht-normal verteilt waren, was bereits bei früheren Messungen gezeigt wurde [14, 41]. Niedrige Werte konnten sowohl bei Patienten mit schwerem, persistierendem Asthma als auch bei Kindern mit milden Beschwerden gemessen werden. Ähnliches galt bei sehr hohen ENO-Konzentrationen, wenn auch deren Häufigkeit mit steigendem Schweregrad der Erkrankung etwas anstieg. Damit kann die Hypothese, ENO könne als wichtiger Parameter für die klinische Diagnostik bei der Betreuung von an Asthma erkrankten Kindern angewendet werden kann, derzeit nicht bestätigt werden.

Die erhobenen Daten müssen jedoch unter Berücksichtigung folgender Aspekte interpretiert werden: die Einteilung des Asthma bronchiale nach den NIH-Kriterien, die auch mittlerweile in Deutschland akzeptiert wird [46], vereint zwar die Ergebnisse der Lungenfunktion und die klinisch und anamnestisch bestehenden Beschwerden, die den Schweregrad der Erkrankung

einschätzen lassen, wurde formal jedoch nicht validiert. Ähnlich wie zuvor bei Messungen an Erwachsenen berichtet, konnte kein enger Zusammenhang zwischen der ENO-Konzentration und dem Schweregrad des Asthmas bestätigt werden [13]. Das Ergebniss war unabhängig von der Therapie mit inhalativen Steroiden, da eine Aufteilung der Patienten-Gruppe in Abhängigkeit von der bisherigen Therapie (mit/ohne Steroide) ähnliche Ergebnisse zeigte. Wie in früheren Untersuchungen berichtet, bestand auch bei uns kein Zusammenhang zwischen Lungenfunktionsparametern (FEV1, MEF27/75) und ENO. Zwar war die Patienten-Gruppe eindeutig definiert, unsere Messungen stammten jedoch von Patienten mit allergischem Asthma bronchiale ohne akute Symptomatik. Womöglich spielen hier weitere, noch nicht näher bekannte spezifische Faktoren eine wichtige Rolle. Ziel weiterführender Studien könnte es daher sein, neue, spezifische Faktoren zu finden, die Kinder mit hohem ENO eindeutig identifizieren können.

Die gemessene ENO-Konzentration stellt das Endprodukt der kontinuierlichen Produktion von NO in den Atemwegen und der Elimination des kurzlebigen NO dar. Sie hängt damit nicht nur von der Aktivität der induzierbaren NO-Synthetase ab, welche durch die Entzündung in den Atemwegen moduliert wird. Da NO als ein Radikal hochreaktiv ist, liegt seine Halbwertszeit im Gewebe im Bereich von Sekunden. Durch die Reaktion mit $O_2$ kann Peroxinitrit entstehen, das über Nitrit in Nitrat weiter umgewandelt werden kann. Desweiteren kann NO mit schwefelhaltigen Verbindungen reversible Verbindungen zu S-Nitrosothiolen eingehen. Es kann auch mit der DNS sowie mit vielen häm- und nichthämenthaltenden Metalloproteinen (wie z.B. Hämoglobin, Myoglobin, Lipoxygenase, Zöruloplasmin und anderen) reagieren. Auch einige andere Verbindungen, wie z.B. das Oxidans $H_2O_2$, können mit NO reagieren [24] und zu dessen raschem Abbau beitragen. Durch die zunehmende Schleimproduktion mit steigendem Schweregrad des Asthmas wird die Freisetzung von NO in das Lumen der Atemwege blockiert [18, 23]. Auch eine nichtlineare Abhängigkeit zwischen der

Induktion der NO-Synthetase und der Entzündung in den Luftwegen kann für den fehlenden Zusammenhang zwischen ENO und dem Schweregrad des Asthmas mitverantwortlich sein.

Die Therapie-Empfehlung, die am Ende jeder Patientenvorstellung gegeben wurde, berücksichtigt neben der Anamnese, dem körperlichen Untersuchungsbefund und der Messung der Lungenfunktion auch die Art der Sensibilisierung des Patienten, seine vermutete Mitarbeit, die Erfahrungen mit früheren akuten Exacerbationen sowie die individuelle psychosoziale Situation. Dadurch kann diese Empfehlung selbst als ein Parameter in der Betreuung der Asthmatiker angesehen werden. Aufgrund von früheren Untersuchungen wurde erwartet, daß ENO zum verbesserten Monitoring der Asthma-Therapie beitragen könne. Deshalb wurde eine enge Korrelation beider Parameter erwartet. Bei der Auswertung der Daten zeigten sich jedoch nur vereinzelt signifikante Differenzen zwischen den ENO-Konzentrationen bei Patienten in den Gruppen mit unterschiedlichen Therapieempfehlungen. Auch hier bestand eine starke Überlappung der ENO-Konzentration innerhalb der drei Gruppen mit vielen niedrigen oder normalen Werten. Verglichen mit der Anamnese sowie der Lungenfunktion war zwar die Spezifität und Sensibilität des ENO für die therapeutische Entscheidung relativ hoch, verglichen mit anderen Parametern jedoch nicht ausreichend für den Gebrauch im klinischen Alltag. Ähnlich wie die Einteilung des Asthmas in unterschiedliche Schweregrade waren auch die therapeutischen Empfehlungen nach der Patientenvorstellung nicht validiert. Aus der klinischen Erfahrung kann jedoch berichtet werden, daß durch eine Steuerung der Therapie, die auf den nationalen und internationalen Empfehlungen basiert, eine klinisch gute Einstellung der Patienten möglich war. Es wurden alle Hinweise, Symptome sowie die Ergebnisse der Lungenfunktionstests, entsprechend den allgemein anerkannten Erfahrungen und dem Konzept der chronischen Entzündungsreaktion der Luftwege, berücksichtigt.

Desweiteren zeigte sich ein relativ niedriges ENO bei einer Gruppe von Kindern mit klinisch bestehender Symptomatik oder auffälliger Lungenfunktion, die zu einer Steigerung der Therapie führten (Tabelle 13, Abbildungen 10 und 11). Diese niedrige ENO Konzentration

war nicht durch den Einsatz von inhalativen Steroiden bedingt (9 von 12 Kindern, bei denen die Therapie gesteigert wurde und die gleichzeitig ENO < 13 ppb hatten, wurden nicht mit Steroiden behandelt). Es ist möglich, daß diese Kinder eine Untergruppe der Asthmatiker darstellen, die andere Merkmale aufweisen als die restlichen Patienten. Dies sollte in weiteren Studien untersucht und detaillierter verfolgt werden.

Als weiteres Ziel sollte überprüft werden, inwieweit ein Zusammenhang zwischen der ENO- und der in der Nasenhöhle gemessenen NO-Konzentration bestand. Es wurde erwartet, daß bei starker Ausprägung des Asthmas und insbesondere bei Beteiligung der oberen Luftwege auch das NaNO ansteigen wird.

Nach Ausschluß der bereits mit topischen nasalen Steroiden vorbehandelten Patienten konnte kein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von ENO und NaNO nachgewiesen werden. Auch zeigte sich keine signifikante Erhöhung des NaNO bei Patienten mit höherem Schweregrad des Asthmas. Die Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne eine allergische Rhinitis waren ebenfalls nicht signifikant. Insgesamt scheint auch die Therapie mit inhalativen Steroiden, die häufig zur einer klinischen Besserung einer allergischen Rhinitis beiträgt, die Konzentration des nasalen NO nicht wesentlich zu beeinflussen.

Ähnlich wie bei ENO konnte kein Zusammenhang des nasalen NO mit der klinisch getroffenen Therapieempfehlung gefunden werden.

Auch diese Ergebnisse sollten nur unter Berücksichtigung der oben aufgeführten Aspekte zur Synthese, Freisetzung, hohen Reagibilität sowie der kurzen Halbwertszeit des NO interpretiert werden. Es gelten auch hier die Einschränkungen bezüglich der fehlenden Validierung für die Einteilung des Asthmas in Schweregrade oder die therapeutische Empfehlung. Des weiteren war die Anzahl der verwertbaren NaNO-Messungen nicht so hoch wie die der ENO-Werte und es ergaben sich nach der Aufteilung der Patienten in die unterschiedliche Untergruppen zum Teil sehr niedrigen Fallzahlen. Mit diesen Einschränkungen konnte die Bestimmung der

NaNO-Konzentration nicht zur Erweiterung der Diagnostik bei Asthma bronchiale und allergischer Rhinitis beitragen.

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, wird ENO durch die Glucocorticosteroide reduziert. In dieser Untersuchung konnten jedoch keine klaren und konstanten signifikanten Unterschiede zwischen Patientengruppen mit ohne eine entsprechende Therapie gezeigt werden. Dies könnte auch ein Hinweis darauf sein, daß nicht alle Patienten die empfohlene Medikation verläßlich durchgeführt hatten, was jedoch nicht objektiviert werden kann. Die Möglichkeit, ENO als eine Variable zur Therapiesteuerung bzw. Überprüfung der Adhärenz zur Medikation mit inhalativen Steroiden einzusetzen, muß in weiteren Untersuchungen überprüft werden.

Die Messungen des ENO zeigten einen signifikanten, jedoch recht losen Zusammenhang zwischen Therapieempfehlung und ENO. Kein signifikanter Zusammenhang konnte dagegen mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und den Ergebnissen der Lungenfunktionsmessung gefunden werden. Die hohe Erwartung, NO als neuen, aussagekräftigen Parameter der Entzündungsreaktion in den Atemwegen in der Klinik-Routine einsetzen zu können, bestätigte sich in dieser Untersuchung nicht. Wenn es auch logisch erscheint, daß eine Therapie, die sich am Grad der Entzündungsreaktion der Atemwege orientiert, zu einem guten therapeutischen Erfolg führt [44], sind die Bedingungen, unter denen ENO als ein verläßlicher Entzündungmarker der Atemwege verwendet werden kann, noch festzulegen.

# 5. Zusammenfassung

Stickoxid (NO) ist ein zentraler Mediator in der Steuerung einer Vielzahl von Reaktionen im Körper, wobei massive Erhöhungen von NO insbesondere bei Entzündungsvorgängen beobachtet werden. Initiale Messungen von NO in der Ausatemluft von Erwachsenen hatten eine erhöhte Konzentration bei Asthmatikern gezeigt. Aufgrund dieser Beobachtung wurde exhaliertes NO als ein potentieller praktischer Parameter für die Betreuung von Kindern mit Asthma untersucht.

In dieser Studie wurde zunächst eine zuverlässige und kindgerechte Technik zur Gewinnung der Ausatemluft ohne Verunreinigungs- oder Verdünnungseffekt zur Bestimmung von NO mittels eines online Chemilumineszenzverfahren erarbeitet. Danach wurde mit dieser Technik eine Gruppe von 74 Asthmatikern genauer untersucht. Neben der Anamnese, der körperlichen Untersuchung und der Lungenfunktionstestung wurde bei den Patienten prospektiv und geblindet die Konzentration des NO in der Ausatemluft und in der Nasenhöhle bestimmt. Erwartet wurde ein starker Zusammenhang zwischen den für die Betreuung von Asthmatikern etablierten Parametern (Anamnese, körperliche Untersuchung, Lungenfunktion in Ruhe und nach einer Laufbelastung) und dem NO. Anhand der erhobenen Daten konnte dieser Zusammenhang jedoch nicht statistisch belegt werden. Auch wenn einige signifikante Zusammenhänge gesehen wurden, war die erwartete Korrelation des ENO mit der therapeutischen Empfehlung, die am Ende jeder Patientenvorstellung erteilt wurden, recht lose. Auch nasales NO korrelierte nicht mit den oben genannten Parametern. Ebenfalls bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Konzentration des NO in der Ausatemluft und dem in der Nasenhöhle.

Das Fehlen relevanter Zusammenhänge zwischen den untersuchten Parametern und NO kann auf vielen Faktoren beruhen. Am wahrscheinlichsten ist, daß der durch NO erfaßte Aspekt der asthmatischen Entzündungsreaktion nicht oder allenfalls partiell durch die konventionellen Variablen beschrieben wird.

Innerhalb der untersuchten Patienten zeigte sich auch eine Gruppe, die einerseits deutliche Symptome des Asthmas aufwiesen, ohne daß eine erhöhte Konzentration an ENO gemessen werden konnte oder die ENO-Synthese durch die Verabreichung von Steroiden unterdrückt worden war. Dies deutet darauf hin, daß wahrscheinlich weitere, noch nicht bekannte Merkmale eine bestimmte Gruppe von Asthmatikern charakterisieren, die sich durch niedriges ENO auszeichnet. Aufgrund der in dieser Arbeit erhobenen Daten kann in Übereinstimmung mit der Literatur nicht die hohe Erwartung, die in NO als einen neuen Parameter bei der Betreuung von Asthmatikern gesetzt wurde, erfüllt werden. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Rolle von NO bei der Betreuung von Asthmatikern zu definieren.

## 6. Literatur


1. Agertoft L, Pedersen S (1997) A randomized, double blind dose reduction study to compare the minimal effective dose of budesonid Turbohaler and fluticasone propionate Diskhaler. J. Allergy Clin Immunol 99: 773-780
2. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM (1993) Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. Eur Respir J; 6:1368–1370
3. Artlich A, Busch T, Lewandowski K, Jonas S, Gortner L, Falke K (1999) Childhood asthma: exhaled nitric oxide in relation to clinical symptoms. Eur Respir J. 13: 1396-1401
4. Baraldi E, Azzolin NM, Cracco A, Zacchello F (1999) Reference values of ex-haled nitric oxide for healthy children 6–15 years old. Pediatr Pulmonol; 27:54–58
5. Baraldi E, Azzolin NM, Zanconao S, Dario C, Zacchello F (1997) Corticosteroids decrease exaled nitric oxide in children with acute asthma. J. Pediatr 131: 381-385
6. Baraldi E, Carra S, Dario C, Azzolin N, Ongaro R, Marcer G, Zacchello F (1999) Effect of natural grass pollen exposure on exhaled nitric oxide in asthmatic children. Am J Respir Crit Care Med 159: 262-266
7. Barnes PJ (1996) Transcription factors and inflammatory disease. Hosp Pract; 31:93–96
8. Barnes PJ, Belvisi MG (1993) Nitric oxide and lung disease. Thorax; 48:1034–1043
9. Barnes PJ, Kharitonov S (1996) Exhaled nitric oxide: a new lung function test. Thorax 51: 233-237
10. Beck J, Griese M., Latzin P, Reinhardt D (1999) Characteristics of flow dependency of nitric oxide in exhaled air in children with cystic fibrosis and asthma. Eur J Med Res 4: 335-340
11. Borland C, Cox Y, Higenbottam T (1993) Measurement of exhaled nitric ox-ide in man. Thorax; 48:1160–1162
12. Byrnes CA, Dinarevic S, Shinebourne EA, Barnes PJ (1997) Exhaled nitric oxide measurements in normal and astmatic children. Pediatr Pulmonol 24:312-318

13. Chan-Yeung M, Obata H, Dittrick M, Chan H, Abboud R (1999) Airway inflammation, exhaled nitric oxide, and severity of asthma in patients with western cedar asthma. Am J Respir Crit Care Med 159: 1434-1438
14. Frank T, Adisesh A, Pickering A, Morrison J, Wright T, Francis H, Fletcher A, Frank P, Hannaford P (1998) Relationship between exhaled nitric oxide and childhood asthma. Am J Respir Crit Care Med 158: 1032-1036
15. Franklin PJ, Taplin R, Stick SM (1999) A community study of exhaled nitric oxide in healthy children. Am J Respir Crit Care Med 159: 69-73
16. Fuglsang G, Vikre-Jorgensen J, Agertoft L, Pederen S (1998) Effect of salmeterol treatment on nitric oxide level in exhaled air and dose-response to terbutaline in children with mild asthma. Pediatr Pulmonol 25: 314-321
17. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS (1994) The biology of nitrogen oxides in the airways. Am J Respir Crit Care Med; 149:538–551
18. Grasemann H, Ioannidis I, de Grooot H, Ratjen F (1997) Metabolites of nitric oxide in the lower respiratory tract of children. Eur J Pediatr 156:575-578
19. Guo FH, Comhair SA, Zheng S, Dweik RA, Eissa NT, Thomassen MJ, Calhoun W, Erzurum SC (2000) Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and post-transla-tional regulation of NO synthesis. J Immunol; 164:5970–5980
20. Gustafsson LE (1998) Exhaled nitric oxide as a marker in asthma. Eur RespirJ 11: 49s-52s
21. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S (1991) Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. Biochem Biophys Res Commun;181: 852–857
22. Hamid Q, Springali DR, Riveros-Moreno V, Chanez P, Howarth P, Redington A, Bousqurt J, Godard P, Holgate S, Polak JM (1993) Induction of nitric oxide sythase in asthma. Lancet 342: 1510-1513

23. Ho L, Innes J, Greening A (1998) Exhaled nitric oxide is not elevated in the inflammatory airways diseases of cystic fibrosis and bronchiectasis. Eur J Respir Dis 12: 1290-1294
24. Horvath 1, Donelly L, Kiss A, Kharitonov S, Lim S, Chung KF, Barnes PJ (1998) Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. Am J Respir Crit Care Med 158: 1042-1046
25. Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ (1997) Exhaled and nasal nitric oxide measurement: recommendations. Eur Respir J 10: 1683-1693
26. Kharitonov S, O´Connor BJ, Evans DJ, Barnes PJ (1995) Allergen-induced late asthmatic reactions are associated with elevation of exhaled nitric oxide. Am J Resp Crit Care Med 151:1894-1899
27. Kharitonov SA, Chung FK, Evans DJ, O'Connor BJ, Barnes PJ (1996) The elevated level of exhaled nitric oxide in asthmatic patients is mainly derived from the lower respiratory tract. Am J Respir Crit Care Med; 153:1773–1780
28. Kharitonow S, Barnes PJ Exhaled Markers of Pulmonaly Disease (2001) Am J Respir Crit Care Med 163: 1693-1722
29. Lanz M, Leung DM, McCormick DR, Harbeck R (1997) Comparison of exhaled nitric oxide, serum eosinophilic cationic protein, and soluble Interleukin-2 receptor in exacerbations of pediatric asthma. Pediatr Pulmonol 24: 305-311
30. Lanz MJ, Leung DYM, White CW (1999) Comparison of exhaled nitric oxide to spirometry during emergency treatment of asthma exacerbations with glucocorticoids in children. Ann Allergy Asthma Immunol 82: 161-164
31. Lundberg JO, Weitzberg E (1999) Nasal nitric oxide in man. Thorax; 54:947–952
32. Massaro AF, Gaston B, Kita D, Fanta C, Stamler JS, Drazen JM (1995) Expired nitric oxide levels during treatment of acute asthma. Am J Respir Crit Care Med; 152:800–803

33. Massaro AF, Mehta S, Lilly CM, Kobzik L, Reilly JJ, Drazen JM (1996) Elevated nitric oxide concentrations in isolated lower airway gas of asth-matic subjects. Am J Respir Crit Care Med; 153:1510–1514
34. Mattes J, Storm van's Graveesande K, Reining U, Alving K, Ihorst G, Henschen M, Kuehr J (1999) NO in exhaled air is correlated with markers of eosinophilic airway inflammation in corticoid-dependent childhood asthma. Eur RespirJ 13: 1391-1395
35. Motulsky H (1995) Intuitive biostatistics, Oxford University Press, New York
36. Murphy S, Bleecker ER, Boushey H, Buist AS, Busse W, Clark NM, Eigen H, Ford JG, Janson S, Kelly HW, Lemanske RF Jr., Lopez CC, Martinez F, Nelson HS, Nowak R, Platts-Mills TAE, Shapiro GG, Stoloff S, Weiss K (1997) Expert panel report II: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. NIH Publ.No.97-405lA, Bethesda, pp 1-50
37. Nathan C, Xie QW (1994) Regulation of biosynthesis of nitric oxide. J Biol Chem 1994;269:13725–13728
38. Nelson BV, Sears S, Woods J, Ling CY , Hunt J (1997) Expired nitric oxide as a marker for childhood asthma. J Pediatr 130: 423-427
39. Reinhard D, (1999) Asthma bronchiale im Kindesalter, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
40. Robbins RA, Barnes PJ, Springall DR, Warren JB, Kwon OJ, Buttery LD, Wilson AJ, Geller DA, Polak JM (1994) Expression of inducible nitric oxide in human lung epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun; 203:209–218
41. Salome CM, Roberts AM, Brown NJ, Dermand J, Marks GB, Woolcock AJ (1999) Exhaled nitric oxide measurements in a population sample of young adults. Am J Respr Crit Care Med 159: 911-916

42. Schedin U, Frostell C, Persson MG, Jakobsson J, Andersson G, Gustafsson LE (1995) Contribution from upper and lower airways to ex-haled endogenous nitric oxide in humans. Acta Physiol Scand; 39:327–332
43. Silvestri M, Spallarossa D, Frangova Yourukova V, Battistini E, Fregonese B, Rossi GA (1999) Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild intermittent asthma. Eur Respir J 13: 321-326
44. Sont JK, Willems LNA, Bel EH, van Kirken HJM, Vandenbroucke JP, Sterk PJ, and the AMPUL study group (1999) Clinical control and histopathological outcome of asthma when using airway hyperresponsiveness as an additional guide to long-term treatment. Am J Respr Crit Care Med 159: 1043-1051
45. Thomas SR, Kharitonov SA, Scott SF, Hodson ME, Barnes PJ (2000) Nasal and exhaled nitric oxide is reduced in adult patients with cystic fibro-sis and does not correlate with cystic fibrosis genotype. Chest; 117:1085–1089
46. Wettengel R, Berdel D, Hofniann , Krause J, Kogel C, Leupold W, Lindemann H, Magnusson (1998) Empfehlungen zur Asthmatherapie bei Kindern und Erwachsenen. Pneumologie 52: 590-601
47. Xie Q, Kashiwarbara Y, Nathan C (1994) Role of transcription factor NF-kB/Rel in induction of nitric oxide synthase. J Biol Chem; 269:4705–4708
48. Yates DH, Kharitonov SA, Thomas PS, Barnes PJ (1996) Endogenous nitric oxide is decreased in asthmatic patients by an inhibitor of inducible nitric oxide synthase. Am J Respir Crit Care Med 154: 247-250

# Lebenslauf

| | |
|---|---|
| Name: | Markus Koch |
| Geburtsdatum: | 21.06.69 |
| Geburtsort: | Tarnowitz (Tarnowskie Gory), Oberschlesien |
| Eltern: | Antonie und Rudolf Kucharczyk |
| Religion: | römisch-katholisch |
| Familienstand: | Ledig |
| Staatsangehörigkeit: | Deutsch |
| | |
| 1976 - 1984 | Grundschule in Randsdorf (Wieszowa) |
| 1984 – 1988 | Gymnasium in Hindenburg (Zabrze) |
| Mai 1988 | Hochschulreife |
| 1988 – 1990 | Medizinstudium an der Schlesischen Medizinischen Akademie in Kattowitz (Katowice) |
| 18.09.90 | Übersiedlung nach Deutschland |
| 01.02.91 - 31.07.91 | Sprachkurs der GFBA in Nürnberg |
| 1.10.91 - 23.05.96 | Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen-Nürnberg |
| 23.05.96 | Ärztliche Prüfung |
| 1.08.96-31.11.97 | Arzt im Praktikum in der Kinderpoliklinik der LMU in München |
| 1.12.97-31.07.99 | Assistenzarzt im Sozialpädiatrischen Zentrum Inn-Salzach in Altötting |
| 1.08.99-31.12.2001 | Assistenzarzt in der Kinderabteilung des KKH Alt/Neuötting |
| Seit 01.01.2002 | Oberarzt im Sozialpädiatrischen Zentrum Inn-Salzach in Altötting |

Altötting, den 17.06.02 Markus Koch