

Sammlung von nichtgasförmigen Bestandteilen der Ausatemluft durch Ausfrieren

Von G. Becher⁽¹⁾, E. Beck⁽²⁾, M. Rothe⁽¹⁾, G. Neubauer⁽²⁾, E. Stresemann⁽³⁾

Dokumentation

Becher, G., Beck, E., Rothe, M., Neubauer, G., Stresemann, E.: Vorrichtung zur Sammlung von nichtgasförmigen Bestandteilen der Ausatemluft durch Ausfrieren. *mt-Medizintechnik* 117 (1997), Nr. 3, S. 89, 3 Bilder, 5 Tab., 17 Lit.-Ang.

Schlagwörter: Atemkondensatmethode / Mediatoranalytik / entzündliche Atemwegserkrankungen

Zusammenfassung

Die Beurteilung der endobronchialen Entzündung bei unterschiedlichen Grundkrankheiten wie Asthma bronchiale, Mukoviszidose und chronischer Bronchitis ist bislang angewiesen auf invasive Untersuchungstechniken wie die Bronchoskopie. Eine Bestimmung von Entzündungsmediatoren oder Zellmarkern ist gebunden an die bronchoalveoläre Lavage (BAL) oder die Gewinnung von induziertem Sputum. Diese Methoden sind aufwendig, für den Patienten belastend und nicht beliebig oft wiederholbar. Im übrigen beeinflussen sie die Meßparameter schon an sich.

In der Studie sollte geprüft werden, inwiefern eine Bestimmung von Mediatoren aus der Ausatemluft möglich ist. Dazu wurde ein Nichtrückatmungssystem konstruiert, das geeignet ist, die gesamte Ausatemluft durch eine Gefrieretrocknung von allen im Wasserdampf gelösten nichtgasförmigen Bestandteilen zu trennen.

In nachfolgender Analytik mittels RIA, EIA, GC-MS und Umsatzmessungen bestimmter Enzyme konnten Leukotriene (LTB₄, LTC₄DEF₄), bestimmte Interleukine (IL-8) und von Eosinophilen freigesetzte Mediatoren (ECP und EPX) nachgewiesen werden. Durch Kontrolle der Viskosität des Atemkondensates und der Amylaseaktivität konnten Verunreinigungen mit Sputum und Speichel ausgeschlossen werden.

1 Einführung

Die Lunge ist ein stoffwechselaktives Organ mit der Funktion des Gasaustauschs und verschiedenen endokrinen und anderen Funktionen wie

- ACE-Synthese,
- Arachidonsäuremetabolismus,
- Abwehr gegen Krankheitserreger,
- Clearancefunktionen der Atemwege und anderen.

Die Vielzahl der in der Lunge vorhandenen Zelltypen realisieren die dazu benötigten unterschiedlichen Funktionen wie Surfactantproduktion, Atemregulation und Abwehrreaktionen.

Es ist nicht zu unterschätzen, daß die Lunge durch die täglich geatmete Atemluft von 15 bis 25 m³ ein Organ ist, das sich mehr als jedes andere Organsystem mit der Umwelt auseinandersetzen muß. Ein Schutz vor Umwelteinflüssen, wie bei der Haut durch z.B. Bekleidung, Handschuhe und Hautschutzcreme, ist bei der Lunge mit Atemschutzmasken immer nur kurzzeitig möglich.

Im Kontrast dazu verschließt sich die Lunge weitgehend diffizilen diagnostischen Methoden. Nichtinvasive Methoden wie die Lungenfunktions-

diagnostik, Gaswechselanalysen und Belastungstests liefern nur Teilaspekte zur Funktion der Lunge. Die metabolischen Funktionen der Lunge sind nichtinvasiven Methoden nahezu vollständig verschlossen. Invasive diagnostische Methoden wie bronchologische Untersuchungen und Probennahme mittels einer bronchoalveolären Lavage (BAL) sind aufwendig, für den Probanden belastend und verändern die zu gewinnende Probe durch Reizung der Atemwege [17].

Das induzierte Sputum wird durch Atemwegsreizung mit hypertoner Salzhinhalation gewonnen, die auch als Provokationstest eingestuft werden kann. Durch solche Methoden werden geringfügige Effekte in den Atemwegen nivelliert und iatrogene Entzündungsreize gesetzt. Patienten mit chronisch entzündlichen Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale benötigen bei der Sputuminduktion eine antiobstruktive Vorbehandlung mit zumindest einem β -Mimetikum. Damit werden die im Sputum gesuchten Befunde schon verändert bzw. gehemmt.

Die vorgestellte Atemkondensatmethode gibt die Möglichkeit, ohne Belastung des Patienten aus der Lunge und den tiefen Atemwegen stammendes Material zu sammeln und einer Analyse zuzuführen. Sie könnte ein neues nichtinvasives diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von Veränderungen des Lungenstoffwechsels und des Entzündungsstatus der Lunge werden. Eine künftige Nutzung ist denkbar zur Erkennung und Aufdeckung des Gesundheitsrisikos durch inhalative Noxen und des Aktivitätsstadiums entzündlicher Atemwegs- und Lungenveränderungen. Damit könnte die Methode sowohl in der Umweltana-

¹⁾ FILT Forschungsgesellschaft für Lungen- und Thoraxerkrankungen mbH, Berlin
²⁾ Max Delbrück Centrum MDC, Berlin
³⁾ Institut für Arbeits- und Sozialmedizinische Allergiediagnostik, Bad Salzungen

lytik (biologisches Monitoring) als auch bei der Prävention umwelt- und arbeitsbedingter Schädigungen des Organismus Anwendung finden.

2 Beschreibung der Methode

Die vorgestellte Methode beinhaltet eine Vorrichtung zur Sammlung von nichtgasförmigen Bestandteilen der Ausatemluft (Atemkondensat). In einer Variante besteht das Sammelgerät aus einem doppelwandigen Rohr von 10 bis max. 100 cm Länge und einem Innendurchmesser von bis zu 2 cm, in dessen Wandung ein primärer oder sekundärer Kühlkreislauf verläuft, der im Probensammelrohr eine Temperatur von -20 bis -40 °C erzeugt. Dieses Kühlgerät ist außen mit einer Wärmeisolation versehen, die an den Enden für die Durchlässe des auswechselbaren Sammelrohres, den Anschlüssen des Kühlkreislaufes und proximal für den Ansatz eines Einatemventils und des Mundstückes durchbrochen ist (siehe Bild 1).

Das auswechselbare Probensammelrohr, welches in die zentrale Bohrung des Kühlmantels eingesetzt wird, besteht aus Teflon oder einem ähnlichen biologisch inerten, gegen Temperatur und Chemikalien beständigen Material. Am unteren Ende des Probensammelrohres kann im Nebenschluß ein zweites Sammelgefäß befestigt werden kann. In einer anderen Gerätevariante ist das Sammelrohr zu einem Rohrbündel vereint, wobei die Ausatemluft in einem Zentralkanal hineingeleitet wird, und am Ende in ein Bündel von gekühlten Luftleitkanälen verteilt wird. Der besondere Vorteil dieser Variante besteht in einer Querschnittserweiterung mit Flowverminderung. Damit werden die Durchflußzeit und die Kontaktfläche im Kühlsystem um den Faktor 3 bis 5 vergrößert (siehe Bild 2). Das Problem dieses Systems ist das Material und die Form des Probensammelgefäßes bezüglich Herstellung und Reinigung zur Wiederverwendung. Der Vorteil ist die äußere Formgebung und Größe, die eine direkte Einlage in eine Zentrifuge möglich macht.

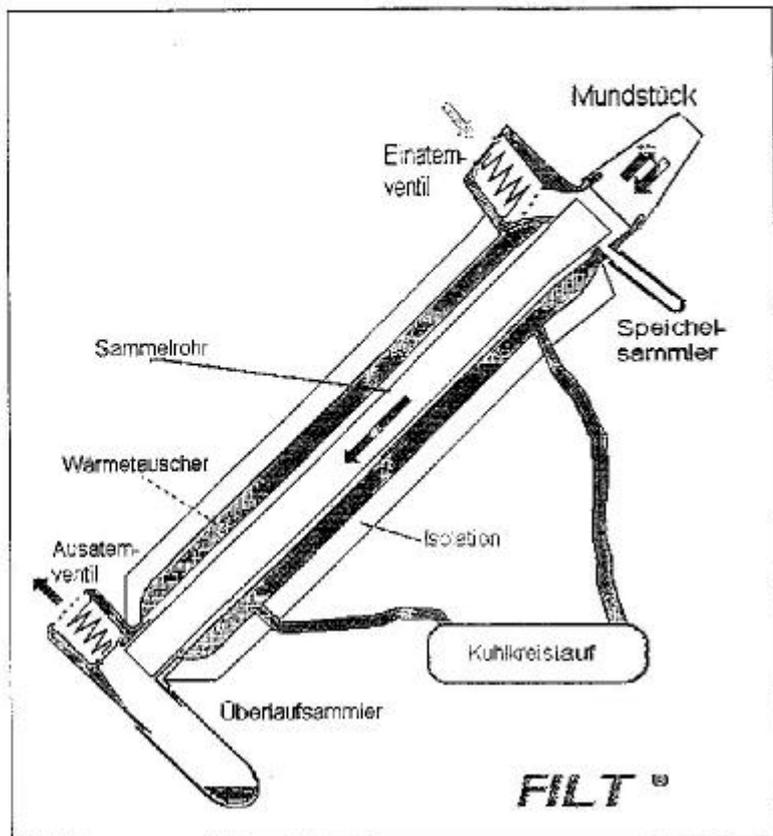


Bild 1: Prinzipieller Aufbau des Atemkondensatsammlers - Rohrkühler

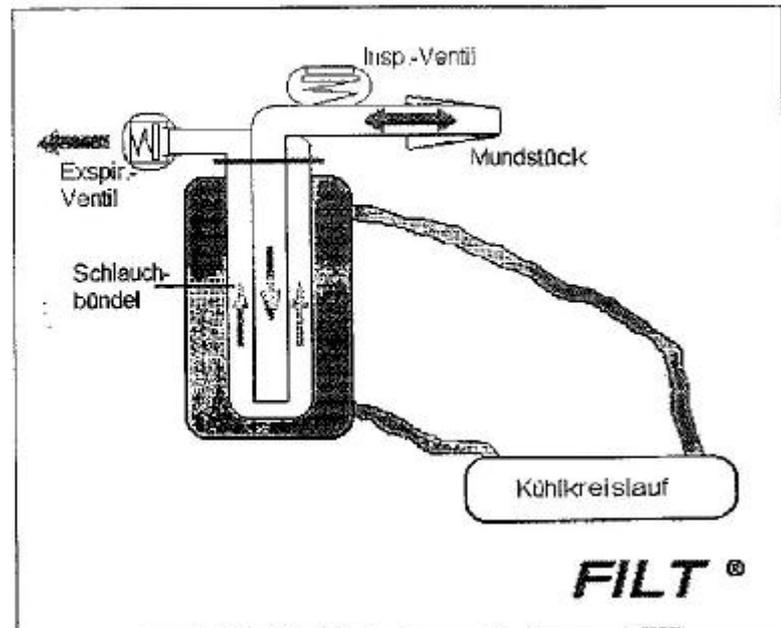


Bild 2: Prinzipieller Aufbau des Atemkondensatsammlers - Gegenstromkühler

Zum Sammeln des Atemkondensates wird die Ausatemluft durch ein Nichtrückatmungsventil in das Sammelrohr eingeleitet. Die Ausatemluft wird im Sammelrohr auf eine Temperatur von bis $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt, wobei Aerosole, Wasserdampf und alle anderen nichtgasförmigen Bestandteile als Kondensat an der inneren Wandung des Sammelrohres abgeschieden werden.

Die Vorrichtung ist so konstruiert, daß das Probensammelrohr im Mundstück frei beginnt, so daß Speichel nicht ins Probenröhrchen laufen kann sondern in einem das Probensammelrohr umhüllenden Zylinder aufgefangen wird. Eine suffiziente Probenmenge wird je nach geplanter Analytik nach 5 bis 15 min erreicht. Das Probensammelrohr bzw. Sammelgefäß werden aus dem Gerät entfernt, verschlossen und bis zur Analyse der Probe im Tiefkühlschrank aufbewahrt.

Die so gewonnene Probe kann mit Methoden der Gefriertrocknung, chemischen Fällungen oder Fraktionierungen weiter eingeeignet bzw. in unterschiedliche Stoffgruppen aufgespalten werden.

Mit den Methoden des Radioimmunoassay (RIA) und des Enzymimmunoassay (EIA) können ausgeatmete Mediatoren und Stoffwechselprodukte bestimmt werden (Leukotriene, Prostaglandine, Tumormarker, Antikörper, andere Gewebshormone und aus Zellen freigesetzte Mediatoren, Kohlenwasserstoffe).

Ferner sind Analysen mit vielen Analysemethoden, wie der Chromatographie, HPLC; Gaschromatographie, Massenspektrometrie, Elektrophorese u.ä. möglich, meist aber nur nach spezieller Aufkonzentration der Probe oder Derivatisierung des Substrates. Die analytische Besonderheit besteht im Vorkommen von vergleichsweise niedrigen Konzentrationen in einem praktisch wäßrigen Medium. Mit den für die Rechtsmedizin entwickelten hochempfindlichen Methoden einer DNA-Aufbereitung und Analyse sind auch DNA-Analysen möglich.

Die Methode kann dazu benutzt werden, Entzündungsreaktionen, Krebs-

wachstum, Allergien, degenerative Prozesse und auf den Organismus wirkende Umwelteinflüsse zu erkennen bzw. Hinweise zu ihrer Erkennung zu liefern. Dabei sind punktuelle Einmalbestimmungen und auch Verlaufsbeobachtungen möglich.

Die Methode ist für jeden Patienten bzw. Probanden zumutbar, und kann von jedem Patienten, der ohne fremde Hilfe atmen kann, beliebig oft durchgeführt werden. Der Zeitaufwand von bis zu 15 Minuten erscheint auch für Routineuntersuchungen und Screeningtests zumutbar. Bei Beschränkung auf einen Zielparameter (Doppelbestimmung mittels EIA aus $200\text{ }\mu\text{l}$ Material) reichen wenige Minuten Ruheatmung für ein suffizientes Probenvolumen.

Jede forcierte Atmung oder besondere Atemmanöver sind unnötig und sollten im Gegenteil vermieden werden, um eine belastungsbedingte Beeinflussung der Atemwegfunktion zu verhindern.

Bei Hustenreiz, Niesen oder starker Speichelansammlung kann die Probennahme jederzeit unterbrochen und später fortgesetzt werden. Die Nasenatmung sollte mit einer Nasenklemme verhindert werden.

Den Probanden sollte man während 10 min vor Abnahme des Atemkondensates keine forcierten Atemmanöver (FEV₁, FVC, MVV) durchführen lassen.

Das Atemminutenvolumen wird vorher in Ruhe bestimmt. Eine kontinuierliche Messung des AMV während der Probensammlung erscheint als nicht unbedingt notwendig, da man davon ausgehen kann, daß jeder Mensch innerhalb von 15 min eine suffiziente Atmung vorlegt, die dem Ruheumsatz unter aeroben Bedingungen entspricht. Bei kurzen Probennahmezeiten ist der Ausatemfluß und das Atemvolumen über einen Feed-Back-Mechanismus mit einem am Expirationsventil aufgesetzten Spirometer (z.B. modifizierter Asthma-Monitor Fa. Jaeger) zu kontrollieren. Dem Patienten wird dabei über eine LED-Anzeige die Einhaltung eines vorgegebenen Ausatemflusses angezeigt.

Es sind gegenwärtig nur wenige Gegenanzeigen für die Abnahme des Atemkondensates denkbar, die zu meist iatrogenen Natur sind:

- Bronchologische Untersuchung bis 1 Woche danach,
- Unspezifischer bronchialer Provokationstest (Histamin, Metacholin, Azetylcholin) am gleichen Tag,
- Inhalativer Allergentest bis drei Tage danach – es sei denn, mit dem Atemkondensat sollen die Wirkungen dieser Untersuchungen kontrolliert werden,
- Globalinsuffizienz der Atmung mit Notwendigkeit einer Atemunterstützung.

Durch die geforderte Ruheatmung des Patienten handelt es sich um eine Methode, bei der die gewünschte Probe nicht durch die Sammelmethode verändert wird, wie es z.B. auch bei forciertem Atmen, Vitalkapazitätsmanövern oder Hyperventilation der Fall wäre.

Das technisch aufwendige Herunterkühlen der gesamten Ausatemluft garantiert ein nahezu vollständiges Ausfrieren der nichtgasförmigen Bestandteile. Vorteilhaft ist hierfür die Wirbelbildung im engen Stromkanal, Stromumlenkung und Querschnittsveränderungen, welche die Kontaktzeit der Luft mit der Wandung verlängern. Punktuelle oder kleinflächige Kühlung an einem Störkörper würde dagegen bei einfacher Luftführung immer eine unklare Fraktionierung der Probe bedeuten, ohne die Möglichkeit der Rückrechnung auf die Konzentration im nativen Kondensat.

3 Bauteile sowie Bestandteile der Atemkondensat-Sammelvorrichtung

- Doppelwandiges isoliertes Kühlrohr mit Kühlkreislauf und zentraler Bohrung für paßgerechten Einsatz des Probenröhrchens;
- Kryostat (z.B. Haake);
- Ein- und Ausatemventil;
- X-förmiges Ansatzstück für Ein-Ausatemventil, Sammelröhrchen

und Mundstück mit interner Luftführung (z.B. Fa. Jaeger);

- Probensammelschläuche bzw. -röhrchen mit ca. 10 mm ID.

Das Kaltluftprovokationsgerät *Rhes* der Firma *Jaeger* ist inzwischen mit der Option Atemkondensatsammlung verfügbar bzw. nachrüstbar.

4 Ergebnisse

4.1 Modelluntersuchungen

In einem Modellaufbau wurde ein in einem Ultraschallvernebler erzeugtes Thermoaerosol (40 °C, 100 % Wasserdampfsättigung) durch das Sammelssystem geleitet, mit einem Durchfluß von 10 l pro Minute. Volle Wasserdampfsättigung bei etwa 37 °C bedeutet einen Wasserdampf-Partialdruck von 47 mm Hg, was einem Wassergehalt von rund 6,2 % in der Luft entspricht. Nach Umrechnung entsprechend der Molmasse enthalten 10 l Luft dann etwa 0,5 ml Wasser, nach 15 Minuten würde das bei 150 l Luft etwa 7,47 ml Wasser entsprechen.

Ein Kondensat von 7,47 ml in 15 min wäre also die theoretisch mögliche 100-%ige Ausbeute. Tatsächlich wurden die in **Tabelle 1** zusammengestellten Kondensatmengen erzielt, ausreichend für mehrfache Analysen.

4.2 Überprüfung an Probanden

Die Methode wurde an einer Gruppe Freiwilliger auf Durchführbarkeit überprüft und validiert. Von Patienten und gesunden Probanden im Alter zwischen 20 und 60 Jahren wurden ein bzw. mehrere Atemkondensate gewonnen.

- In sieben Fällen war das gewonnene Primärkondensat zu wenig für die Messung von Leukotrien B₄.
- Bei 113 Proben wurde eine für eine Analyse ausreichende Menge gewonnen.
- Bei einem Patienten wurde eine Verlaufsbeobachtung mit sieben Proben realisiert.

	Aerosol Temp (°C)	Flow (l/min)	Aqua-Eintrag (ca. ml)	Sammelrohr (cm) / Temp (°C)	Kondensatmenge (ml)	geschätzte Ausbeute (% Aqua)
Aqua im Ultraschallvernebler	40,0	10,0	7,5	55 / - 21,0	2,2	29
isoton NaCl-Lsg im Ultraschallvernebler	40,0	10,0	7,5	55 / - 22,7	2,3	30
Raumluft mit 40 % Luftfeuchte	24,0	10,0	1,8	55 / - 22,6	0,3	17

Tabelle 1: Erreichte Kondensatmengen im Modellaufbau Atemkondensat mit Thermoaerosol bei 15 min Sammelzeit

	gesunde Kontrollen	Bronchial-Asthma gesamt	chronische Bronchitis	Rhinitis	andere Lungenerkrankg	Diabetes & Lungenerkrankg	Reizhusten n.n.b.
n	14	50	28	6	4	5	6
MW	281,77	951,33	843,57	321,25	695,45	3499,6	669,72
SEM	47,93	246,5	245,47	83,13	295,01	1503,54	198,17

Tabelle 2: Mittlere LTB₄ Konzentration im Atemkondensat bei 113 Patienten mit unterschiedlichen Diagnosen und Kontrollpersonen. Einige Patienten mit Mehrfachdiagnosen sind mehrfach zugeordnet. (LTB₄ in pg/ml des Primärkondensates)

	Stadium I	Stadium II	Stadium III
n	16	27	8
MW (pg/ml)	478,625	734,73 p < 0,05	4046,63 p < 0,01
SEM	167,687	214,102	186,64

Tabelle 3: Mittlere LTB₄ Konzentrationen im Atemkondensat bei Asthmatikern in unterschiedlichen Stadien des Asthma bronchiale (entsprechend Int. Konsensus Bericht)

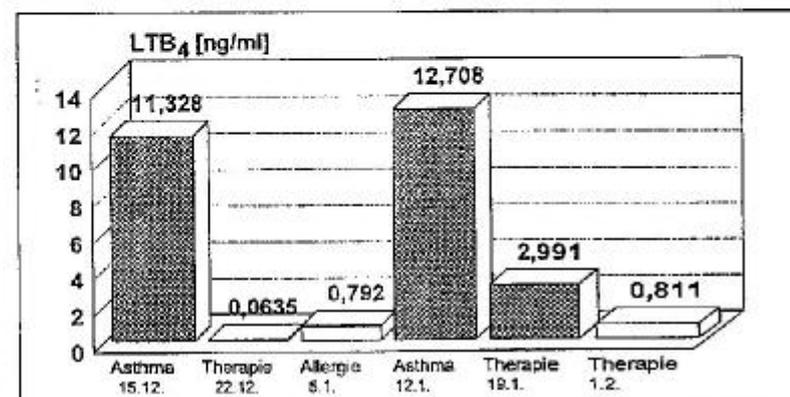


Bild 3: LTB₄ Konzentrationen im Atemkondensat bei einem Patienten mit Asthma bronchiale in Krankheitsphasen mit unterschiedlichem Schweregrad

- In allen Proben, auch bei Gesunden, war Leukotrien B₄ nachweisbar.

In der **Tabelle 2** sind die mittleren Konzentrationen in den Versuchsgruppen dargestellt.

In **Tabelle 3** wird die Leukotrien B₄ Konzentration im Atemkondensat bei Asthmatikern bei unterschiedlichem Asthmaschweregrad dargestellt.

4.3 Qualitätssicherung

In zusätzlichen Untersuchungsreihen wurden Atemkondensatproben auf eine mögliche Verunreinigung durch Speichel oder Sputum untersucht.

Dazu wurde zum einen die Viskosität der Proben mit einem Mikro-Kugelfallviskosimeter (Fa. Haake) überprüft.

Jeder in **Tabelle 4** angegebene Meßwert einer Probe ist der Mittelwert aus sechs Messungen der Viskosität jeder Probe.

Mit der Bestimmung der Amylaseaktivität mittels der Jod-Stärke-Reaktion in Proben von Atemkondensat, forciertem Atemkondensat, Speichel und Bronchiallavage wurde versucht, eine mögliche Beimengung von Speichel im Atemkondensat zu verifizieren (vgl. **Tabelle 5**). Die Bronchiallavage und der Speichel wurden zur Abtrennung der Zellen zentrifugiert.

Es zeigte sich, daß im Atemkondensat, auch nach Gewinnung unter forcierter Expiration (30 forcierte Vitalkapazitätsmanöver), keine Amylaseaktivität zu finden ist. Im Gegensatz dazu fand sich eine signifikante Aktivität im Überstand von Bronchialspüllösungen. Hier ist noch unklar, ob es sich um durch die Mundpassage mit dem Bronchoskop eingeschleppte Amylase aus dem Mundraum oder in den Atemwegen sezernierte Amylase handelte. In dreimal wiederholten Bronchialspülungen war kein Unterschied der Amylaseaktivitäten zu finden (vorläufige Ergebnisse). Die Speichelproben konnten im verwendeten Meßansatz mit Jod-Stärkelösung wegen ihrer starken Aktivität nur in einer Verdünnung von 1:10 gemessen werden.

	Aqua dest.	Ruhe-AKO	forciertes AKO	AKO + 2% Saliva	AKO + 10% Saliva
Kugel 3,175 mm Ø, Fallzeit in sec., bei 22 °C					
n	6	9	3	2	3
MW	4748	4738	4719	5032	5115
SD	109	219	22	16	227
Kugel 3,06 mm Ø, Fallzeit in sec., bei 22 °C					
n	5	6	n.d.		
MW	711	698			
SD	24	20			

Tabelle 4: Relative Viskosität von Atemkondensaten im Vergleich zu Aqua und Speichel

	Nit. Kontrolle	AKO in Ruhe	forciertes AKO	Überstand der BAL	Speichel 1:10
n	10	6	5	3	7
MW	0,391	0,389	0,365	0,564	0,748
SD	0,022	0,012	0,017	0,153	0,109

Tabelle 5: Relative Amylaseaktivität in Proben aus dem Atemtrakt

4.4 Sonstige Anwendungen

Die zur Sammlung des Atemkondensates beschriebene Methode läßt sich leicht modifiziert auch in industriellen und anderen kommerziellen Anwendungsgebieten verwenden.

Bei einer Vielzahl industrieller Prozesse entstehen als End- und Zwischenprodukte chemische Verbindungen, die in Reaktionsgefäßen als Gasphase oder Aerosol auftreten.

Mit der in der *FLT* entwickelten Methode ist es möglich, aus geschlossenen Reaktionsgefäßen, z.B. Fermentatoren, eine Aerosolprobe abzusaugen und sofort für eine spätere Analyse einzufrieren.

Mit der Methode ist eine kostengünstige zeitversetzte Analyse möglich, wenn Biosensoren am Ort nicht verfügbar bzw. zu teuer sind. Die Methode kann aber auch mit Biosensoren kombiniert werden. Ein weiterer Vorteil ist bei der vorgestellten Methode die Asservierung der Probe selbst

und nicht nur eines sekundär gewonnenen Meßergebnisses.

Für die Nutzung wird das unter AKO beschriebene Sammeisystem mit einer Kolbenpumpe oder einer ähnlich genauen Absaugpumpe kombiniert, die ein bestimmtes Gas- bzw. Aerosolvolumen aus dem Reaktionsgefäß absaugt. Das abgeseugte und von den zu analysierenden Stoffen abgetrennte Gas könnte dem Reaktionsgefäß im Sinne eines geschlossenen Kreislaufes auch wieder zugeführt werden.

5 Diskussion

In der vorgestellten Variante eines Atemkondensatsammlers ist nach Modelluntersuchungen eine Substratausbeute von 30 % des Wasserdampfeintrags möglich. Damit erscheint die Methode durchaus geeignet, suffiziente Proben aus der Ausatemluft zu gewinnen, bei einem vertretbaren technischen Aufwand.

Es war ohne Schwierigkeiten möglich, bei fast allen Probanden suffiziente Probenmengen bei 15 min Ruheatmung zu gewinnen. Das verwendete Atemkondensatgerät, eine Eigenentwicklung der *FILT*, war in der Handhabung unkompliziert. Die Patienten hatten auch bei nachgewiesener Einschränkung der Atemparameter (Schweregrad Stadium III des Asthma bronchiale) keine Probleme mit der Durchführung der geforderten Ruheatmung am Gerät.

Die gemessenen Leukotrien B_4 Konzentrationen waren bei den einzelnen Versuchsgruppen deutlich unterschiedlich. Die Unterschiede zwischen Asthma Stadium III und Asthma Stadium I und der gesunden Kontrollen sowie den Rhinitikern waren signifikant.

Es fand sich eine enge Korrelation zwischen LTB_4 im Atemkondensat und dem Asthmaschweregrad. Bei Patienten mit Asthma Schweregrad III (in Anlehnung an Int. Consensus Report) fand sich die rund 9-fache Konzentration von LTB_4 im Vergleich zum Stadium I. In individuellen Verläufen konnte diese Beziehung auch im Einzelfall nachgewiesen werden (Bild 2).

Die Korrelation der LTB_4 -Werte mit einem Atemfunktionswert (FEV_1) war nur gering. Dieser Befund ist in weiteren Untersuchungen mit Einbeziehung objektiver Funktionsparameter zu kontrollieren. In erster Linie muß allerdings vermutet werden, daß die FEV_1 keine enge Korrelation zu Entzündungsprozessen der Atemwege aufweist. Dieser Befund ist klinisch durchaus bei z.B. akuten und chronischen Bronchitiden bekannt.

Der LTB_4 -Spiegel im Atemkondensat bei entzündlichen Veränderungen der oberen Atemwege (Rhinitis) entsprach den Werten der gesunden Kontrollpersonen.

Auch bei gesunden Probanden wird offenbar ständig eine geringe Menge LTB_4 gebildet. Das könnte als Ergebnis einer ständigen unterschwelligen Stimulation der mediatorfreisetzenden Zellen durch vielfältige inhalative Umwelttoxine angesehen werden. Bei Kälbern mit einer Virus-

pneumonie (RSV-Virus) konnte *Reinhold et al.* [2] eine Korrelation zwischen dem klinischen Bild, der bronchialen Reaktivität und der Leukotrienkonzentration im Atemkondensat nachweisen.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Atemkondensatmethode geeignet erscheint, die Bildung bzw. Freisetzung von Mediatoren aus den Atemwegen quantitativ zu erfassen.

Welche weiteren Mediatoren und Moleküle bzw. Partikel aus dem Atemkondensat zu analysieren sind und auch klinische Relevanz bekommen, bleibt weiteren Studien vorbehalten. In eigenen Pilotuntersuchungen wurden $LT-CDEF_4$, ECP, EPX, IL-8, IL-6, DNA-Stränge und Stressproteine (HSP) im Atemkondensat gefunden.

Weiter gibt es Hinweise, daß auch Proteine bis ca. 50 kD Molekulargewicht, Peptide und Phospholipide und längerketige Kohlenhydrate zu erfassen sind (*Manke*). *Manke* berichtete weiter über die Messung von Cu/Zn-SOD in Atemkondensaten. Von anderen Gruppen wurde der Nachweis von Wasserstoffperoxid [5, 16, 13, 14] sowie Noradrenalin und Laktat [15] geführt. Zwischen der Schwere einer Atemwegsentzündung und der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Ausatemluft gibt es eine deutliche Korrelation (*Dohman, Dekujzen*). Andere Gruppen konnten eine ähnliche Beziehung zwischen oxidativen Prozessen in den Atemwegen, der Lipidperoxidation, und Exhalation von Alkenen zeigen [7], hier allerdings in der Gasphase.

Die Atemkondensatmethode könnte zu einem Verfahren ausgebaut werden, mit welchem routinemäßig bisher nur invasiv zu erreichende Parameter der Atemwege nichtinvasiv erfaßt werden. Ein besonderer Vorteil liegt darin, daß die Proben nicht durch die Sammelmethode an sich beinflußt und verdünnt werden, wie es bei der BAL und der Sputumgewinnung der Fall ist.

Das vorgestellte Gerät ist auch in der gegenwärtigen Laborvariante routinetauglich.

Die Methode soll dazu benutzt werden, Entzündungsreaktionen, Krebswachstum, Allergien, degenerative Prozesse und auf den Organismus wirkende Umwelteinflüsse zu erkennen bzw. Hinweise zu ihrer Erkennung zu liefern. Dabei sind punktuelle Einmalbestimmungen und auch ggf. engmaschige Verlaufsbeobachtungen mit Mehrfachbestimmungen möglich.

Die Methode ist für jeden Patienten bzw. Probanden zumutbar, und kann von jedem Patienten der ohne fremde Hilfe atmen kann, beliebig oft durchgeführt werden. Der geringe Zeitaufwand und die geringen Anforderungen an den Probanden machen die Methode auch für Routineuntersuchungen und Screeningtests zumutbar.

Durch die geforderte Ruheatmung des Patienten handelt es sich um eine Methode, bei der die gewünschte Probe nicht durch die Sammelmethode verändert wird, wie es z.B. bei forcierten Atemmanövern der Fall wäre.

Verwendete Abkürzungen:

AKO	Atemkondensat
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
ECP	Eosinophil Cationic Protein
EPX	Eosinophilic Protein X
FEV_1	Forciertes expiratorisches Volumen in 1 sek
FVC	Forcierte Vitalkapazität
MVV	maximale willkürliche Ventilation
IL	Interleukin
LTB_4	Leukotrien B_4
$LT-CDEF_4$	Leukotrien C_4, D_4, E_4, F_4 - Gemisch

Literatur

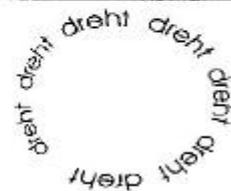
- [1] *Becher, G.; Schütte, W.; Öhlmann, K.; Rothe, M.; Beck, E.; Neubauer, G.; Stresemann, E.:* Leukotrienes in Breathing Condensate Released During Bronchial Challenge Test with allergen. ERS Ann. Congress, Stockholm Sept. 7-11, 1996. Eur Resp J 9 Suppl 23 (1996) 417s

- [2] *Reinhold, Petra, Becher, G.; Elschner, M.; Rothe, M.*: Relationship between an increase of Leukotriene-B₄ in exhalation and the degree of airway responsiveness in clinically healthy and BRSV-infected animals. ERS Ann. Congress, Stockholm Sept. 7-11, 1996, Eur Resp J 9 Suppl. 23 (1996) 417s
- [3] *Becher, G., Stresemann, E.; Schütte, W.; Rothe, M.; Beck, E.; Neubauer, G.; Lichey, J.; Hillebrand, T.*: The Breathing condensate is a non invasive diagnostic tool for airway diseases by measuring non-volatile substances. ERS Ann. Congress, Stockholm Sept. 7-11, 1996, Eur Resp J 9 Suppl. 23 (1996) 74s
- [4] *Becher, G.; Beck, E.; Engels, V.; Winsel, K.*: Das Atemkondensat als Methode zur nichtinvasiven Erfassung von Entzündungsmediatoren aus den unteren Atemwegen. 84. Arbeitstagung der AG Pathophysiologie der Atmung, 31.03.-01.04.1995, Kloster Banz.
- [5] *Dohman, AW, Black HR, Royall JA*: Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in paediatric patients with asthma. Am Rev Respir Dis ; 148 (1993) 955-960.
- [6] Int. consensus report about diagnosis and management of asthma. Natl. Heart, Lung and Blood Institute, NIH, Bethesda, Maryland 20892, Publ. No. 92-3091, March 1992.
- [7] *Van Gossum A, Decuyper J.*: Breath alkanes as an index of lipid peroxidation. Eur Resp J 2 (1989) 787-791.
- [8] *Scheideler L, Manke H-G, Schwulera U, Inacker O, Hammerle H.*: Detection of non-volatile macromolecules in breath. Am Rev Respir Dis 148 (1993) 778-784.
- [9] *Becher, G.; Winsel, K.; Beck, E.; Stresemann, E.*: Leukotriene B₄ in breathing condensate of patients with bronchopulmonary diseases and in normals. J. Appl. Cardiopulm. Pathophysiol. 5 (1995) 215-219
- [10] *Manke, H.-G.; Wenz, H.*: Anwendung eines Cu/Zn SOD ELISAs an Kondensaten der Ausatemluft zum Nachweis von Zellschädigungen der inneren Lungenoberfläche. Fachinfo Boehringer Ingelheim Products Partnership Heidelberg, The News, 7 April (1996) 6-8.
- [11] *Becher, G.; Beck, E.; Winsel, K.*: Leukotriene C4, D4, E4, F4 in the Breathing Condensate of asthmatics in relation to Bronchial Challenge Test. Poster D19 - 613, ATS Meeting 1995, May 20.-24., Seattle, Respir Crit Care Med, 151(1995) 4; A679.
- [12] Patentschriften
Anmelder und Patentinhaber: **FILT Forschungsgesellschaft mbH**
Erfinder: *Dr. Becher, Dr. Winsel, Herr Neubauer, Prof. Stresemann*
Patentanmeldung 195 05 504.7 Verfahren und Vorrichtung zum Sammeln von ausgeatmetem Atemkondensat, Offenlegungsschrift DE 195 05 504 A1 vom 16.11.1995
Patentanmeldung 195 09 732.7 Verfahren und Vorrichtung zum Sammeln von Mikroorganismen und Fermentationsprodukten
Offenlegungsschrift DE 195 09 732 A1 vom 16.11.1995
- [13] *Antczak, A.; Nowak, D.; Krol, M.; Pietras, T.; Shariati, B.; Biaiasiewicz, P.*: Content of H₂O₂ and TBA-reactive Products in Expi- red Breath Condensate of Asthmatic Patients. ERS Ann. Congress, Stockholm Sept. 7-11, 1996, Eur Resp J 9 Suppl 23 (1996) 447s.
- [14] *Jöbsis, Q.; Raatgeep, H.C.; Hermans, P.W.M.; de Jongste, J.C.*: Exhaled Air Hydrogen Peroxide is not Increased in Asthmatic Children. ERS Ann. Congress, Stockholm Sept. 7-11, 1996; Eur Resp J 9 Suppl. 23 (1996) 242s.
- [15] *Jelenina, L.; Goncharova, V.; Docenko, E.; Vishniakova, L.; Guembitskaia, T.*: The importance of biogenic amines in the pathogenesis of cystic fibrosis (CF). ERS Ann. Congress, Stockholm Sept. 7-11, 1996, Eur Resp J 9 Suppl. 23 (1996) 181s.
- [16] *Dekhuijzen, P.N.R.; Ahen, K.H.; Dekker, I.; Aarts, L.P.H.J.; Wielders, P.L.M.L.; Bast, A.; van Herwaarden, C.L.A.*: Increased Concentration of Exhaled Hydrogen Peroxide in Patients with Stable and Unstable COPD. ATS/ALA Int. Conf. New Orleans, May 10-15, 1996. Respir Crit Care Med 153, No. 4(1996) A732.
- [17] *Loos, U.; Labedzki, L.; Weiss, J.M.*: Schädigung des pulmonalen Surfactant-Systems nach bronchoalveolärer Lavage? Klin. Prax. Pneumol. 41(1987) 868-869

Anschrift des Verfassers:

Dr. med. Gunther Becher
FILT Forschungsgesellschaft
für Lungen- und Thoraxerkrankungen
mbH
Karower Str. 11, Haus 205
13 125 Berlin

Wenn sich das
Personalkarussell



Ihr Stellenangebot in der



0 22 03 / 9 11 80-73 (Frau Karafiol)